



Multiplicação *in vitro* de *Beauveria bassiana* favorecida por altas diluições dinamizadas

In vitro multiplication of *Beauveria bassiana* favored by high dynamized dilutions

GARBIN, Egabriel¹; BOFF, Pedro²; MATSUMURA, Aida Terezinha Santos³; DAL BELLO, Thais¹; BOFF, Mari Inês Carissimi¹

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina- CAV, egabrielgarbin123@gmail.com, thaisdalbello1@gmail.com, mari.boff@udesc.br; ² Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, boff.pedro@yahoo.com.br; ³ ICB BIOAGRITEC, aida@ufrgs.br

RESUMO EXPANDIDO

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

Resumo: O controle microbiano de pragas é um método que facilmente pode ser implementado em agroecossistemas. No entanto, sua utilização é dependente do tempo de viabilidade dos propágulos. Assim, é necessário desenvolver formulações entomomicrobianas que tenham sua eficiência prolongada. A utilização de altas diluições dinamizadas (ADD) pode ser uma estratégia para aumentar a multiplicação e a vida útil dos agentes microbianos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as ADD na multiplicação de *Beauveria bassiana*. Os tratamentos constituíram-se das ADD de *Arsenicum album*, *Baryta carbonica*, *Calcarea fluorica*, *Kali iodatum*, *Lilium tigrinum*, *Pulsatilla*, *Sepia succus*, *Staphisagria* e *Thuja occidentalis*, todas na potência de 30CH, e água destilada. Os tratamentos foram adicionados na proporção de 5% no meio de cultura Batata- Dextrose-Agar, sobre o qual foi inoculada a *B. bassiana*. Após 48 horas de incubação observou-se que o tratamento *Kali* promoveu um incremento de 42% nas colônias de *B. bassiana*.

Palavras-chave: controle microbiano; insetos; preparados homeopáticos.

Introdução

A demanda por alimentos saudáveis e livres de resíduos de agrotóxicos vem sendo uma exigência dos consumidores e com isso há favorecimento para o uso de técnicas e produtos não residuais, como por exemplo, a utilização de agentes de controle microbiano (JARRETT et al., 2022). O controle biológico engloba benefícios para toda a cadeia alimentar, tais como, a seletividade que preserva os inimigos naturais, sua biodegradabilidade, baixa toxicidade e também, na maioria das vezes, são economicamente mais acessíveis (KORÁNYI et al., 2022). O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* tem papel importante no manejo integrado de insetos-praga em ecossistemas agropecuários. O mesmo produz quitinases e proteases que favorecem a penetração em seus hospedeiros, fator importante para a caracterização da virulência do agente microbiano (MASCARIN; JARONSKI, 2016).

A despeito de ocupar boa parte do mercado de biopesticidas, os fungos entomopatogênicos, segundo Slininger et al. (2003), não atingem bioeficiência desejada. Por sua vez, Alves et al. (2010) afirmam que com o passar do tempo, os



fungos entomopatogênicos, cultivados em meios de cultura no laboratório, podem reduzir sua virulência após repicagens sucessivas. Desta forma, é necessário buscar métodos que melhorem o sistema de produção, ampliando a persistência e viabilidade dos agentes microbianos para o controle de pragas. Considerando o universo da agricultura sutil (WRIGHT et al., 2021), o uso de altas diluições dinamizadas pode ser uma estratégia promissora para melhorar parâmetros biológicos e a manutenção da virulência de fungos entomopatogênicos. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito de altas diluições dinamizadas sobre a produção de propágulos do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

Metodologia

O estudo foi conduzido no Laboratório de Homeopatia e Saúde Vegetal da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina- Epagri, Lages/ SC. O material utilizado, neste estudo, foi a cepa ICBBbas004 do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, pertencente ao Banco de Cepas da Empresa ICB BIOAGRITEC Ltda.

O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram constituídos pelas seguintes altas diluições dinamizadas: *Arsenicum album*, *Baryta carbonica*, *Calcarea fluorica*, *Kali iodatum*, *Lilium tigrinum*, *Pulsatilla nigricans*, *Sepia succus*, *Staphisagria* e *Thuja occidentalis*, todas na potência de 30CH (CH= ordem de diluição centesimal hahnemanniana). O tratamento controle consistiu-se de água destilada e esterilizada. A escolha das altas diluições dinamizadas foi realizada através de analogia com a Matéria Médica Homeopática (MACEDO, 2010). As matrizes das altas diluições dinamizadas utilizadas foram obtidas em farmácias e derivadas em solução de água destilada esterilizada, seguindo a metodologia descrita na Farmacopeia Homeopática Brasileira (BRASIL, 2011).

Como fonte de inóculo foram utilizadas estruturas vegetativas e reprodutivas do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* cultivadas em meio de Batata-Dextrose- Agar (BDA) e incubadas por 15 dias em câmara incubadora (BOD) a 25 °C e fotófase de

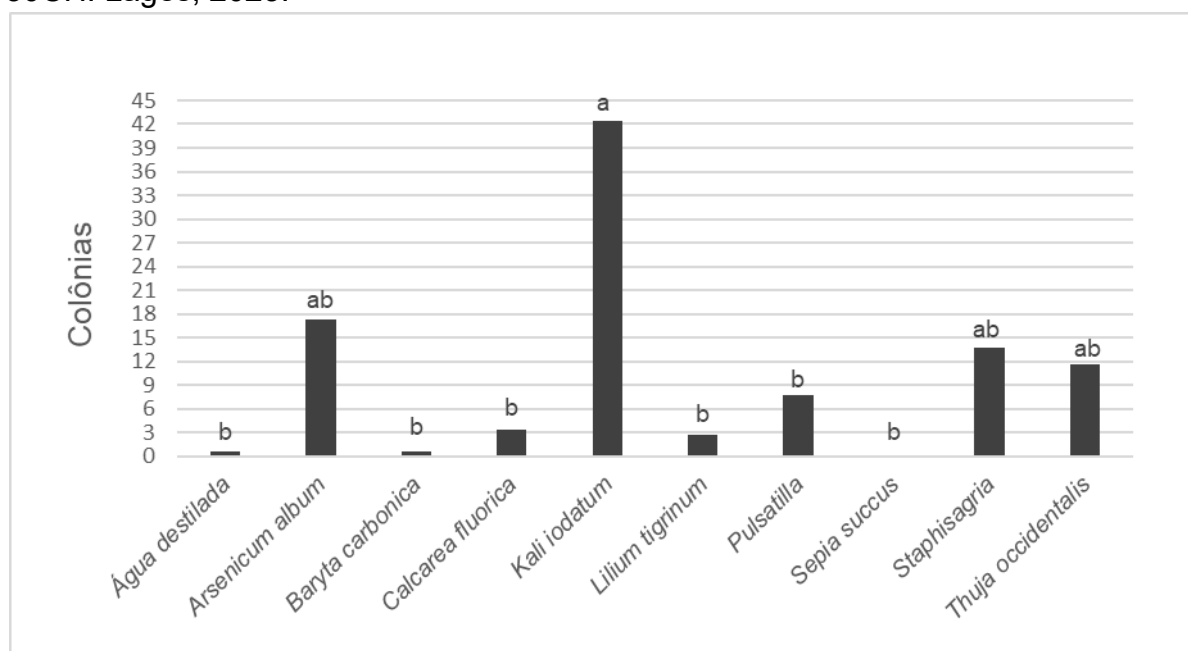
12 horas, até a esporulação completa das colônias desenvolvidas. Após este período, foram selecionadas dez placas e coletado de cada um disco 0,7 mm de diâmetro, sendo estes adicionados a um volume de 50 mL de solução salina a 1,5% acrescida de (0,01%) de Tween 80 e agitados até a mistura ficar homogênea. Para cada um dos dez tratamentos foram utilizadas três placas com 20 mL de BDA previamente homogeneizadas, antes da solidificação, com 5% para cada um dos tratamentos. Em cada placa foi distribuído 1 mL da solução de inóculo, espalhado com alça de Drigalski e incubadas em câmara incubadora (BOD) a 25 °C com fotófase de 12 horas. Após 48h foi realizada a contagem das colônias desenvolvidas. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5%, com auxílio do software estatístico SISVAR.



Resultados e Discussão

A produção de colônias da *B. bassiana* tratadas com a alta diluição dinamizada *Kali iodatum* 30CH, diferiu estatisticamente da testemunha (Figura 1), gerando 42 colônias no período de 48 horas após a inoculação. Mesmo demonstrando incrementos nos valores das unidades formadoras de colônia os tratamentos *Arsenicum album*, *Staphisagria* e *Thuja occidentalis*, não diferiram estatisticamente entre si e nem dos demais tratamentos, inclusive, da testemunha (Figura 1). A potencialidade das altas diluições dinamizadas sobre o aumento da viabilidade dos agentes fúngicos de controle microbiano foi, também, verificada por Damin et al. (2014). Esses autores verificaram que *Calcarea carbonica* 30CH, *Kali iodatum* 100CH, *Phosphorus* 3CH, *Silicea* 30CH, *Staphisagria* 6, 30 e 100CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuja occidentalis* 200CH promoveram aumento das unidades formadoras de colônia do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Figura 1- Número de colônias de *Beauveria bassiana* (ICBBbas004) desenvolvidas em cada um dos tratamentos com as altas diluições dinamizadas na potência de 30CH. Lages, 2023.



Conforme Bonato (2012), o processo de dinamização, necessário para a produção das altas diluições dinamizadas, propicia a bioatividade do preparado homeopático, agindo sobre os organismos vivos de maneira individualizada. Essa hipótese de individualização pode justificar a variação de respostas da *Beauveria bassiana*, onde os tratamentos mostraram efeito não significativo, quando comparados ao tratamento controle somente com água. No estudo conduzido, a ação individualizada e positiva sobre as colônias do fungo entomopatogênico *B. bassiana* ocorreu com o tratamento de *Kali iodatum* 30CH, que estimulou o crescimento de colônias.



A matéria prima da homeopatia *Kali iodatum* por ser um sal mineral é considerada importante para a estruturação celular (LATHOUD, 2010). A partir disso, é demonstrada a potencialidade dessa alta diluição dinamizada em influenciar os atributos biológicos de fungos entomopatogênicos. Desta forma, é possível que as altas diluições dinamizadas contribuam positivamente no incremento da produção e das características qualitativas de propágulos dos agentes de controle microbiano, habilitando-os a ultrapassar barreiras naturais sem perder sua patogenicidade e virulência até alcançar seu alvo de controle (ROHRLICH et al., 2018). O incremento da capacidade de multiplicação, a persistência no campo e a eficiência são fatores importantes para que o uso de fungos entomopatogênicos que possam, cada vez mais, serem implementados no manejo de agrossistemas e de modo particular na produção orgânica de alimentos.

Conclusões

A alta diluição dinamizada de *Kali iodatum* 30CH proporciona o aumento do número de colônias do fungo entomopatogênico *Beuaveria bassiana*, apontando que o uso de altas diluições dinamizadas pode se constituir como um método eficiente na prática de preparados biológicos a base *B. bassiana*. A partir desse resultado é apontado a necessidade da continuidade dos estudos, verificando os efeitos da persistência, da infectividade e virulência do fungo entomopatogênico *B. bassiana* tanto em condições de laboratório como a campo.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida à primeira autora.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina- FAPESC (Projeto PAP 2021, conv. FAPESC/2021TR879).

Referências bibliográficas

ALVES, Roberto T.; FARIA, Marco. **Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos**. Planaltina (DF), Embrapa Cerrados, p. 26-31, 2010.

BONATO, Carlos M. **Homeopatia simples: alternativas para a agricultura familiar**. Marechal Cândido Rondon: Líder, p. 36, 2012.

BRASIL. **Farmacopeia Homeopática Brasileira**. São Paulo: Atheneu. ed. 3, p. 364, 2011.

DAMIN, Silvana; ALVES, Luis F. A.; ALEXANDRE, Talita M.; BONINI, Andreia K.; BONATO, Carlos M. Preparados homeopáticos sobre a atividade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae). **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 9, n. 3, p. 41–53, 2014.



JARRETT, Benjamin J. M.; LINDER, Shelley; FANNING, Philip D.; ISAACS, Rufus; SZÚCS, Marianna. Experimental adaptation of native parasitoids to the invasive insect pest, *Drosophila suzukii*. **Biological Control**, v. 167, n. January, p. 0–6, 2022.

KORÁNYI, Dávid; EGERER, Monika; RUSCH, Adrien; SZABÓ, Borbála; BATÁRY, Péter. Urbanization hampers biological control of insect pests: A global meta-analysis. **Science of the Total Environment**, v. 834, n. March, p. 0–7, 2022.

MACEDO, HELOISA H. **Estudos de matéria médica homeopática**. Editora Organon. São Paulo. ed. 3, p. 937, 2010.

MASCARIN, Gabriel M.; JARONSKI Stefan T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World J Microbiol Biotechnol**. v. 32, n. 177, p. 1–26, 2016.

ROHRLICH, Clara; MERLE Isabelle; HASSANI, Issa M.; VERGER, Manon; ZUIN, Michel; BESSE, Samantha; ROBÈNE, Isabelle; NIBOUCHE, Samuel; COSTET, Laurent. Variation in physiological host range in three strains of two species of the entomopathogenic fungus *Beauveria*. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, p. 1–15, 2018.

SLININGER, Patricia J.; BEHLE, Robert W.; JACKSON, Mark A.; SCHISLER, David A. Discovery and development of biological gentes to control crop pests. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 183–195, 2003.

WRIGHT, Julia. **Subtle Agroecologies Farming With the Hidden Half of Nature**. CRC Press. ed. 1, p. 342, 2021.