

Ação de altas diluições dinamizadas no crescimento micelial de *Beauveria bassiana*

Action of high dilutions dinamized on the mycellial growth of Beauveria bassiana

GARBIN, Egabriel¹; BOFF, Pedro²; BOFF, Mari Inês Carissimi¹

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

RESUMO EXPANDIDO

Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação das altas diluições dinamizadas de *Arsenicum album*, *Baryta carbonica*, *Calcarea fluorica*, *Kali iodatum*, *Lilium tigrinum*, *Pulsatilla*, *Sepia succus*, *Staphisagria* e *Thuja occidentalis* sobre o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Os tratamentos, todos na potência de 30CH e água destilada esterilizada (testemunha) foram homogeneizados ao meio de cultura Batata- Dextrose- Agar, na proporção de 5%, imediatamente antes da solidificação. Após a solidificação do BDA o fungo foi inoculado e as placas de Petri incubadas em câmara climatizada BOD (25°C) durante 72 horas. As avaliações do crescimento micelial foram transformadas em IVCM. As altas diluições dinamizadas de *Pulsatilla* e *Sepia succus* apresentaram o maior IVCM (0,05 mm/dia), enquanto a *Calcarea fluorica* apresentou o IVCM foi de apenas 0,01. Os resultados obtidos indicaram efeito promissor de altas diluições dinamizadas IVCM de *B. bassiana*.

Palavras-chave: controle microbiano; fungos entomopatogênicos; preparados homeopáticos.

Introdução

O controle microbiano utiliza bactérias, fungos, vírus, protozoários e nematódeos e se insere no processo de transição para a agricultura ecológica como uma alternativa ao manejo fitossanitário e também como biorremediadores do ambiente exposto ao uso dos agrotóxicos (ESCUDERO-LEYVA et al., 2022). Desta forma, o controle biológico presta grande serviço ecossistêmico no processo de re-estabilização dos sistemas agropecuários (KORÁNYI et al., 2022). Entretanto, a maioria dos agentes de controle microbiano não atingem a bioeficiência desejada de 100%, principalmente quando passam por período de armazenagem (SLININGER et al., 2003).

Segundo Yussef et al. (2021), os microrganismos de controle biológico são persistentes no ambiente de inoculação/ aplicação, porém em condições climáticas e ecológicas favoráveis a seu desenvolvimento. Os mesmos vão se multiplicando no ambiente, reduzindo as populações de pragas e, desta forma, o agricultor não



necessita re-aplicar, reduzindo os custos de produção além de obter o benefício de reequilibrar o agroecossistema libertando-o dos agrotóxicos.

O modo de ação dos fungos entomopatogênicos sobre os insetos-praga depende de esporulação dos propágulos (conídios) que após aderirem à parede celular secretam enzimas com propriedade de degradar a cutícula e em contato com o hemolinfa se multiplica, afetando as condições fisiológicas e metabólicas do hospedeiro para seu benefício (BARRA et al., 2015). A efetividade tende a cair com o tempo de armazenamento. Desta forma, é necessário aprofundar estudos e testar/avaliar métodos e substâncias que possam favorecer o potencial de multiplicação dos agentes de controle microbianos.

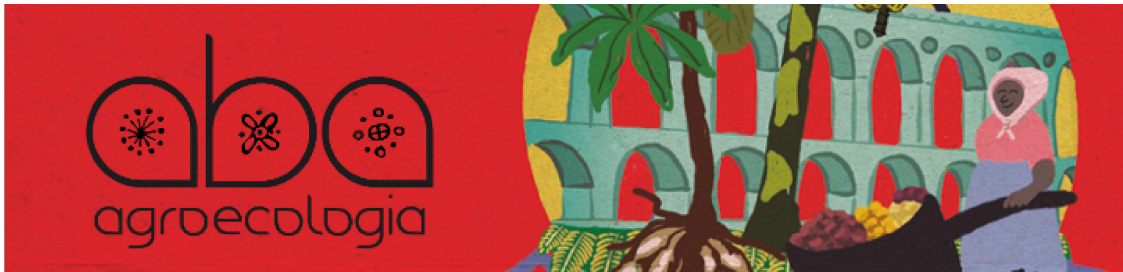
Estudos com reativadores biológicos como é o uso de altas diluições dinamizadas, poderão incrementar o índice de velocidade de crescimento micelial de fungos entomopatogênicos, permitindo aumentar a quantidade de esporos nas formulações. Em sistemas de produção orgânica, as altas diluições dinamizadas podem ser utilizadas sem restrição, veiculadas ou não em formulações comerciais (BRASIL, 2014). Isto porque não carregam moléculas e são ambientalmente seguras (MORENO, 2006). Conforme Hahnemann (2006), as altas diluições dinamizadas atuam para equilibrar e harmonizar o desenvolvimento de todos os organismos vivos, inclusive os controladores microbianos de pragas e doenças que convivem em lavouras e pomares.

Em processos de transição agroecológica dos sistemas de cultivo, a utilização de controladores microbianos é uma alternativa para promoção da estabilização do sistema perante o desequilíbrio das populações de pragas. A melhoria na multiplicação dos controladores microbianos, também permitirá um maior custo benefício aos agricultores que aderem a esse manejo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de altas diluições dinamizadas sobre o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do fungo *Beauveria bassiana* *in vitro*.

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 experimental inteiramente casualizado, com dez tratamentos e três repetições. Os tratamentos foram constituídos por *Arsenicum album*, *Baryta carbonica*, *Calcarea fluorica*, *Kali iodatum*, *Lilium tigrinum*, *Pulsatilla*, *Sepia succus*, *Staphisagria* e *Thuja occidentalis*, todas na potência de 30CH (CH= ordem de diluição centesimal hahnemanniana) e o controle por água destilada e esterilizada. A escolha das altas diluições dinamizadas foi baseada na analogia com a Matéria Médica Homeopática (LATHOUD, 2010), sendo as matrizes 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 *B. bassiana* cultivadas em meio de Batata- Dextrose-



Agar (BDA) e incubadas por 15 dias em câmara incubadora (BOD) a 25 °C e fotofase de 12 horas, até a esporulação completa das colônias desenvolvidas.

Na instalação do bioensaio, cada tratamento, na proporção de 5% , foi homogeneizado ao meio de cultura Batata- Dextrose- Agar (BDA) antes da solidificação e vertido em placas de Petri. No centro das placas que continham 20 mL do meio de cultura foi depositado um disco de 0,7 mm de diâmetro, colonizado com *B. bassiana*. As placas foram acondicionadas em câmara incubadora (BOD) a 25 °C sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação do crescimento micelial foi realizada pela mensuração do diâmetro da colônia até 72 horas após a repicagem, com o auxílio de paquímetro digital. Os valores obtidos foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial, utilizando a fórmula $\Sigma(D-D_a)/N$, descrita por Carvalho et al. (2011) onde: IVCN = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial; D = diâmetro médio atual da colônia; D_a = diâmetro médio da colônia do dia anterior; N = número de dias após a inoculação. 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

As altas diluições dinamizadas de *Arsenicum album*, *Pulsatilla*, *Sepia succus* e *Staphysagria* na potência de 30CH diferiram estatisticamente com um índice de velocidade de crescimento micelial, em média maior que 0,040 quando comparado com *Calcarea fluorica* que obteve 0,010 (Figura 1). Damini et al. (2014) observou que *Staphysagria* 6, 30 e 100CH, também, promoveu o aumento de unidades formadoras de colônias do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Isso demonstra a potencialidade dos tratamentos que tiveram incrementos no índice de velocidade de crescimento micelial em relação a *Calcarea fluorica*, influenciando positivamente os parâmetros biológicos de multiplicação do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

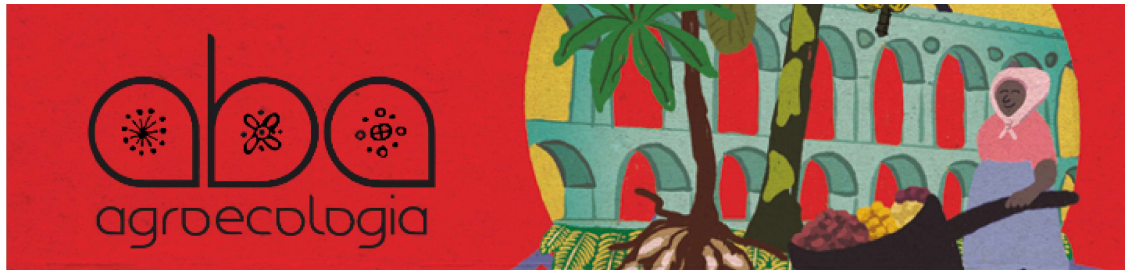
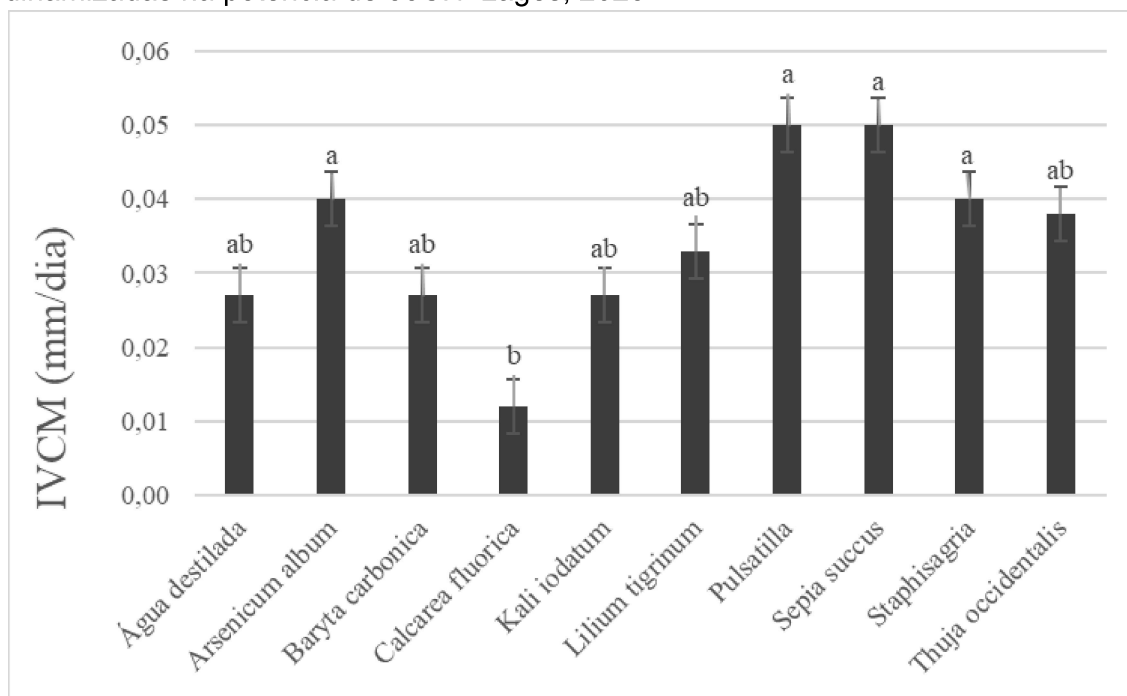


Figura1-Índice de velocidade de crescimento micelial do fungo entomopatogênico de *Beauveria bassiana* (ICBBbas004) cultivado no meio BDA com altas diluições dinamizadas na potência de 30CH. Lages, 2023.



Os resultados demonstram que as altas diluições dinamizadas testadas na potência de 30CH, promoveram variações no índice de velocidade de crescimento micelial do fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Demandando desta forma a necessidade do aprofundamento nas pesquisas, como por exemplo, testar diferentes dinamizações daquelas que demonstraram incrementos no índice de velocidade de crescimento micelial. Embora tenha utilizado o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, Damini et al. (2016) também verificou variações na germinação de conídios, unidades formadoras de colônias, crescimento vegetativo e produção de conídios quando testou o efeito das altas diluições dinamizadas de *Kali iodatum* 100CH, *Staphisagria* 6, 30 e 60CH e *Thuja occidentalis* 200CH.

Os formulados biológicos têm uma curta viabilidade de seus propágulos (MEYER et al., 2019), a legislação exige ao menos seis meses de validade para os produtos comercializados (BRASIL, 2011). Portanto, estudos com altas diluições dinamizadas são promissoras, ao fato de que podem estimular a multiplicação e parâmetros biológicos de agentes fúngicos entomopatogênicos. O incremento na multiplicação do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, como neste estudo, integra duas técnicas utilizadas na produção orgânica de alimentos o controle microbiano e as altas diluições dinamizadas que segundo Bonato et al. (2012) estimulam e equilibram os organismos vivos, promovendo melhorias e/ ou mudanças em seu comportamento de multiplicação.



Melhores padrões na multiplicação dos controladores microbianos fúngicos contribuem para uma melhor eficiência de sua ação sobre insetos- praga, o que garante a melhor efetividade do manejo e indiretamente contribui para difundir a

adesão a essa estratégia de controle. Permitindo com que o agricultor quando opte por esse manejo ecológico não tenha que se expor a químicos, nem o agroecossistema e os alimentos nele produzidos, possam apresentar resíduos tóxicos oriundos da utilização de agrotóxicos para o manejo de pragas. Sendo assim, o uso de entomopatógenos fúngicos tratados com altas diluições dinamizadas é uma estratégia sustentável que coopera com a produção agroecológica.

Conclusões

As altas diluições dinamizadas de *Arsenicum album*, *Pulsatilla*, *Sepia succus* e *Staphisagria* testadas na potência de 30CH mostraram tendência de incremento no índice de velocidade de crescimento micelial do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

A alta diluição dinamizada de *Calcarea fluorica* 30CH reduziu significativamente o índice de velocidade de crescimento micelial do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Agradecimentos

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

CAPES e CNPq pelas bolsas concedidas à primeira e última autora respectivamente.

Referências bibliográficas

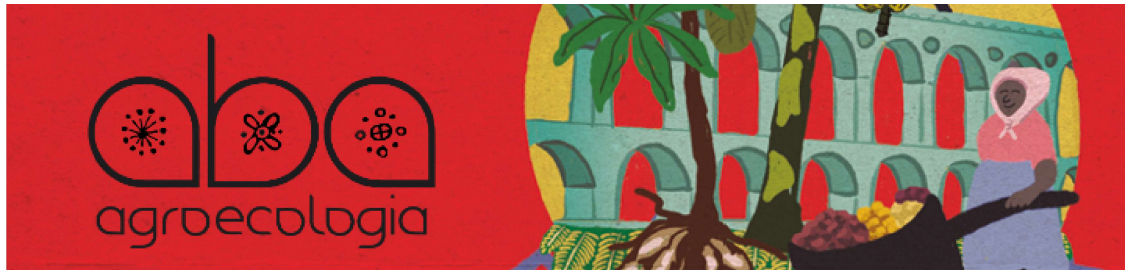
BRASIL. **Farmacopeia Homeopática Brasileira**. São Paulo: Atheneu. ed. 3, p. 364, 2011.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 17 de 2014**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-17-de-18-de-junho-de-2014.pdf/view>>. Acesso em: 13 de set. 2022.

BARRA, P.; ETCHEVERRY, M.; NESCI, A. Improvement of the insecticidal capacity of two *Purpureocillium lilacinum* strains against *Tribolium confusum*. **Insects**, v. 6, n. 1, p. 206–223, 2015.

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

CARVALHO, R. R. C. et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *Thielaviopsis paradoxa* isolado de coqueiros em Sergipe. **Scientia Plena**. v, 7. n, 9. p, 5. 2011.



DAMIN, S. et al. 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.

DAMIN, S. et al. In vitro assay on homeopathic solutions on *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok (Ascomycota: Clavicipitaceae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, n. 0, p. 1–8, 2016.

ESCUADERO-LEYVA, E. et al. Tolerance and Biological Removal of Fungicides by *Trichoderma* Species Isolated From the Endosphere of Wild Rubiaceae Plants. **Frontiers in Agronomy**, v. 3, n. February, p. 1–14, 2022.

HAHNEMANN, S. **Escritos Menores de Samuel Hahnemann**. São Paulo: Organon. p. 766, 2006.

KORÁNYI, D. et al. Urbanization hampers biological control of insect pests: A global meta-analysis. **Science of the Total Environment**, v. 834, n. March, p. 0–7, 2022.

KUMAR, V. et al. Compatibility and efficacy of *Isaria fumosorosea* with Horticultural Oils for Mitigation of the Asian citrus psyllid, *diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Insects**, v. 8, n. 4, p. 1–11, 2017.

LATHOUD, J. A. **Estudos de matéria médica homeopática**. Editora Organon. São Paulo. ed. 3, p. 937, 2010.

MEYER M. C, et al. *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, p. 538, 2019.

MORENO, J. A. Homeopatia Popular. Hipocrática Hahnemanniana. Belo Horizonte, p. 269, 2006.

SLININGER, P. J. et al. Discovery and development of biological gentes to control crop pests. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 183–195, 2003.

YUSSEF, K. et al. Synergistic effect of a novel chitosan/silica nanocomposites based formulation against gray mold of table grapes and its possible mode of action. **Int. J. Biol. Macromol.** p. 247–258, 2019.