



NICOLAS DA COSTA TIOSSO

**EFICIÊNCIA DE CONTROLE DE *Hypothenemus hampei* POR ISOLADOS DE
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS EM LABORATÓRIO**

LAVRAS

2022

Nicolas da Costa Tiosso

**EFICIÊNCIA DE CONTROLE DE *Hypothenemus hampei* POR ISOLADOS DE
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS EM LABORATÓRIO**

Trabalho de conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Lavras, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Coorientador(a): MSc. Ana Paula Ananias Antunes

LAVRAS

2022

A toda minha família... Avós, Tios, Primos, Amigos e Irmãos.

Aos meus Pais, Luiz e Alba, e companheira Laila.

Aos meus sonhos e futuro profissional.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Luiz e Alba. Seu apoio, carinho e confiança durante toda a minha caminhada acadêmica foi indispensável. Cada conselho e aprendizado dado foi de suma importância para moldar o meu ser. Tenho plena consciência de que sem eles, não estaria onde estou hoje. Minha eterna gratidão.

A toda a minha família, que me mandaram mensagens, abraços e palavras afetuosas. Puderam proporcionar os pilares emocionais com os quais me sustentar.

A minha amiga e companheira, Laila. Que me ajudou e me inspirou em todos os momentos de indecisão e que me guiou a ser uma pessoa melhor. O peso dessa trajetória foi mais leve ao seu lado.

A meus amigos Uberlandenses, Bruna, Fernando, Matheus e João Paulo. Que, apesar da distância, sempre mantiveram contato comigo, compartilharam das minhas angústias e me ofereceram tantos momentos de felicidade. Tenho sorte de tê-los em minha vida.

Ao meu orientador, Professor Bruno. Que sempre se mostrou extremamente paciente e atencioso. Agradeço a oportunidade de poder trabalhar na área onde mais gosto.

A minha coorientadora, M. Sc. Ana Paula. Que, independentemente do momento, sempre teve a vontade de me ajudar, seja no dia a dia do laboratório, assim como na escrita. Foi um prazer poder aprender contigo.

Ao DEN, lugar de pessoas extremamente acolhedoras. A experiência que tive no laboratório foi única.

A UFLA, por proporcionar a bagagem técnica e teórica tal qual tenho hoje, além dos ótimos momentos de amadurecimento e autoconhecimento.

À todos, muito obrigado!

RESUMO

A cafeicultura se destaca como uma das atividades agrícolas de maior importância no Brasil, o qual é ranqueado como o maior exportador e produtor de café no mundo. A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) é considerada o principal problema fitossanitário no que se refere à perda de qualidade e peso dos grãos, além de ser uma praga de difícil controle. Neste contexto, objetivou-se com este trabalho avaliar em laboratório o efeito de três isolados de fungos entomopatogênicos sobre a mortalidade de *H. hampei*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal de Lavras em condições ambientais controladas. Os tratamentos foram constituídos do controle (água) e de três isolados de fungos entomopatogênicos, aqui identificados como 296, 315 e 83. Os produtos foram diluídos em água destilada na concentração de 50 mg para 500 ml de água, utilizando 10 repetições em delineamento inteiramente casualizado, as quais foram compostas por placas de Petri forradas com papel filtro, cinco fêmeas de *H. hampei* e um fruto de café no estágio verde-cana. A aplicação dos tratamentos foi feita por meio da rápida imersão das brocas, confinadas em um tecido voile em um béquer contendo cada suspensão bioinseticida avaliada. Foi determinada a taxa de mortalidade de *H. hampei* após 10 dias através da abertura dos frutos e contagem visual dos insetos vivos e mortos no interior. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pela análise de variância e a eficiência de controle calculada pela fórmula de Abbott. Houve diferenças significativas para a mortalidade de *H. hampei*, de modo que os três isolados de fungos entomopatogênico proporcionaram o maior número de brocas mortas quando comparadas a testemunha, e não diferiram entre si, com eficiências de controle variando de 43 a 63%. Diante dos resultados, os isolados de fungos entomopatogênicos proporcionaram eficácia promissora para uso no controle biológico da broca-do-café.

Palavras-chave: broca-do-café; controle biológico; controle microbiano; MIP.

ABSTRACT

Coffee farming stands out as one of the most important agricultural activities in Brazil, which is ranked as the largest exporter and producer of coffee in the world. The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) is considered the main phytosanitary problem, causing quality and weight loss in coffee beans, and it is a challenging pest to control. With that in mind, the objective of this study was to evaluate the laboratory effect of three isolates of entomopathogenic fungi on the mortality of *H. hampei*. The experiment was conducted at the Plant Resistance and Integrated Pest Management Laboratory of the Federal University of Lavras under controlled environmental conditions. The treatments consisted of a control group (water) and three isolates of entomopathogenic fungi, identified here as 296, 315, and 83. The products were diluted in distilled water at a concentration of 50 mg per 500 ml of water, using 10 replications in a completely randomized design, which were composed of Petri dishes lined with filter paper, five female *H. hampei*, and one green coffee fruit. The treatments were administered by rapidly immersing the borers confined in a voile fabric in a beaker containing each evaluated bioinsecticide suspension. The mortality rate of *H. hampei* was determined after 10 days by opening the fruits and visually counting the live and dead insects inside. The data obtained were statistically analyzed by analysis of variance, and the control efficacy was calculated using Abbott's formula. There were significant differences in the mortality of *H. hampei*, with the three isolates of entomopathogenic fungi resulting in a higher number of dead borers compared to the control, however they did not differ among themselves, with control efficiencies ranging from 43 to 63%. Based on the results, the isolates of entomopathogenic fungi showed promising efficacy for use in the biological control of the coffee berry borer.

Key words: coffee berry borer; biological control; microbial control; IPM.

Lista de Figuras

Figura 1 - Tratamentos preparados e mantidos em BOD para posterior avaliação.....	14
Figura 2 - Placa de Petri forrada com papel filtro, 5 fêmeas adultas de <i>H. hampei</i> e um fruto no estágio verde cana.....	15
Figura 3 – Adultos de <i>H. hampei</i> confinados em tecido voile.	16
Figura 4 – Número médio de adultos vivos de <i>Hypothenemus hampei</i> após aplicação de 3 bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos via imersão em laboratório. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2022.	17
Figura 5 – Resultados da eficiência de controle de <i>Hypothenemus hampei</i> , em porcentagem, após aplicação de 3 bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos via imersão em laboratório. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2022.	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 <i>Hypothenemus hampei</i>	10
2.2 Uso de fungos entomopatogênicos no manejo de <i>Hypothenemus hampei</i>.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Condições experimentais	14
4 RESULTADOS.....	17
5 DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÕES	19
7 REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

A relevância do café na economia brasileira é indiscutível, cuja bebida destaca-se como segunda mais consumida mundialmente, atrás somente da água. De acordo com a Organização Internacional do Café (OIC), o Brasil se apresenta entre os top 15 países que mais consome café no mundo. Além disso, em questão de produção, distingue-se como o maior exportador e produtor de café, posição que ocupa há mais de 150 anos. Cerca de 40% de toda a produção global é proveniente de lavouras brasileiras, salientando assim sua importância na economia nacional e internacional. (BRAINER; XIMENES, 2021).

O cafeeiro é uma planta perene e de ciclo bienal, podendo medir de dois a cinco metros na fase adulta. Durante seu longo ciclo de vida, a planta entrará em contato com vários agentes bióticos comprometedores da sanidade e do vigor. Neste contexto, um dos desafios fitossanitários do cultivo de café, especial ou comercial, é o manejo de insetos pragas. A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), se distingue por ser o inseto-praga mais prejudicial da cultura mundialmente, causando mais de US\$500 milhões de dólares em perdas anuais, tanto em qualidade quanto em rendimento do produto (JOHNSON *et al.*, 2020).

A broca-do-café é originária da África Central, podendo ser encontrada em praticamente todos os principais países produtores de café (VEGA *et al.*, 2009; JOHNSON *et al.*, 2020). Pertencente à família Curculionidae e Ordem Coleoptera, as fêmeas adultas alcançam cerca de 1,5mm de comprimento, enquanto que os machos são menores, com 1,0mm e inaptos ao voo devido às asas posteriores serem pouco desenvolvidas. O dano do inseto aos grãos é consequência do seu ciclo de vida, uma vez que a broca-do-café só consegue sobreviver e reproduzir dentro dos frutos do cafeeiro. As fêmeas perfuram o endosperma do grão ainda verde, maduro ou seco e ovipositam em galerias formadas nos grãos. As larvas se alimentam e se desenvolvem na semente do fruto (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2013). Por conta de passar a maior parte do seu ciclo de vida dentro do grão, o controle da broca-do-café se torna um obstáculo, tanto por métodos químicos ou biológicos (VEGA *et al.*, 2009).

De acordo com LUZ *et al.* (2019), o método de controle químico da praga, apesar de amplamente estudado, ainda apresenta eficácia variável pelo uso incorreto e falta de treinamento. As opções eficientes de controle químico foram reduzidas após a retirada do inseticida endossulfan do mercado, inseticida altamente tóxico, porém, com alta eficiência de controle da broca-do-café (LUZ *et al.* 2019). A eficiência de controle proporcionada pelos inseticidas disponíveis é de aproximadamente 80%, e os ingredientes ativos de maior aplicação são em maioria à base de clorpirifós, abamectina e ciantraniliprole (PALERMO JUNIOR *et al.*,

2016). Visando melhorar a taxa de controle e evitar o agravamento do impacto na saúde humana e ambiental, assim como retardar a evolução de resistência nas populações da broca-do-café, é necessária a adoção de outras estratégias de manejo.

Portanto, uma alternativa à dependência do controle químico amplamente empregado nas lavouras brasileiras para o controle de *H. hampei* é através do uso de fungos entomopatogênicos, dos quais se destaca *Beauveria bassiana* como um dos mais utilizados em todo o mundo (VEGA *et al.*, 2009). No entanto, de acordo com VEGA *et al.* (2009), poucos estudos foram conduzidos para avaliar a taxa de mortalidade da broca-do-café sob condição de infecção natural por *B. bassiana* em campo, sendo que as pesquisas feitas apontam taxas de virulência que variam desde <1% até 60%, em países como Brasil, Índia, Colômbia e México. Souza (2020) aponta que essas altas variações nas taxas de mortalidade seriam atribuídas às diferentes condições climáticas, de modo que as maiores taxas de infecção acontecem em condições climáticas favoráveis, como temperaturas moderadas, extensos períodos de alta umidade e baixa insolação. Além disso, outros fungos entomopatogênicos podem ser promissores para o controle da broca-do-café, merecendo novos estudos para avaliar a eficiência de controle da praga.

O presente trabalho visou avaliar em condições de laboratório a taxa de mortalidade de *H. hampei* com aplicação de três isolados de fungos entomopatogênicos codificados. Os resultados deste trabalho contribuirão por enriquecer as informações sobre a virulência dos isolados desses fungos para uso no manejo integrado da broca-do-café.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Hypothenemus hampei*

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae), é a principal praga das lavouras cafeeiras em todo o mundo (JOHNSON *et al.*, 2020). Isso se deve aos danos diretos causados ao grão de café em função da alimentação dos adultos e larvas, e aos danos indiretos oriundos da proliferação de fungos e microrganismos, influenciando aspectos organolépticos na bebida ou causando queda prematura dos frutos. Embora seja prevalente nas lavouras da América Central e do Sul ano após ano, sua origem remonta à região da África Equatorial, onde foi descrita pelo entomologista austríaco Ferrari (LAURENTINO, COSTA 2004).

O gênero *Hypothenemus* é um dos mais vastos da família Curculionidae, com cerca de 181 espécies descritas. No entanto, a maioria das espécies do gênero *Hypothenemus* são pouco conhecidas, sendo que no geral apresentam-se como pequenos besouros com menos de 2mm

de comprimento, de ocorrência em clima tropical e subtropical e que se alimentam formando galerias em material vegetal, costumeiramente madeira (JOHNSON *et al.*, 2020). A broca-do-café *H. hampei* se distingue de outras espécies do gênero *Hypothenemus* por conta das seguintes características morfológicas: pronoto estreitamente arredondado com setas mistas e algumas ligeiramente achatadas; cerdas proeminentes em fileiras unisseriadas, sendo longas, estreitas e ligeiramente achatadas; declividade no élitro arredondada, sem transição clara no disco élitro; um sulco frontal amplo e indistinto ou nenhum sulco na cabeça (VEGA *et al.*, 2015).

O período de desenvolvimento da broca-do-café, desde a postura até a emergência do indivíduo adulto, tem duração média de 27 a 30 dias (GALLO *et al.*, 1988 *apud* LAURENTINO, COSTA, 2004). De acordo com MUÑOZ (1989), a duração completa do ciclo biológico é sujeita às condições ambientais e biológicas, podendo variar de 20 a 37 dias. Neste período, a broca-do-café passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto, apresentando assim metamorfose completa, ou holometabolia.

Para realização de seu ciclo reprodutivo, a fêmea fecundada utiliza sua mandíbula para perfurar a região da coroa do fruto do café e ali depositar seus ovos. As larvas, que eclodem desses ovos, alimentam-se das sementes do fruto, sendo que os ovos são brancos e as larvas também apresentam essa coloração. À medida que as pupas se desenvolvem, sua cor vai mudando de branco para amarelo-pálido, até que se transformam em adultos. O macho mede entre 1,0 e 1,25 mm de comprimento, enquanto a fêmea pode medir entre 1,4 e 1,85mm, sendo capaz de voar graças às suas asas posteriores desenvolvidas. A fêmea tem a capacidade de colocar, em média, 74 ovos ao longo da fase adulta, que dura cerca de 156 dias. Ela deposita média de dois ovos por dia, sendo que o número máximo de ovos que ela deposita por grão é 20. A praga pode gerar até sete gerações por ano, o que está diretamente relacionado ao ciclo produtivo do café (MATIELLO *et al.*, 2020). Laurentino e Costa (2004) ainda ressaltam que, por conta de seu ciclo biológico curto e alta taxa de proliferação, o inseto-praga se apresenta como importante problema fitossanitário em cerca de todos os grandes países produtores de café, em especial aqueles cujas lavouras se apresentam em topografia acidentada ou relevo declivoso, o que impede a aplicação de controle químico de forma mecanizada.

Matiello *et al.* (2020) relatam quatro tipos de prejuízos diretos causados pelo ataque da broca-do-café, sendo eles: queda prematura dos frutos, apodrecimentos das sementes, redução do peso dos frutos e perda de qualidade (aspecto, tipo, bebida). No geral, a perfuração e posterior oviposição acontece após a granação dos frutos, cerca de 90 dias após a florada uniforme do cafezal (janeiro-fevereiro). Frutos em fases iniciais de desenvolvimento sofrem perfurações, porém devido à alta quantidade de água no seu interior, não há oviposição. As

fêmeas adultas tem preferência pelos frutos em umidade entre 40-80% e teor de matéria seca acima de 20%. Por conta disso, a oviposição tende a acontecer em maiores quantidades em frutos maduros ou secos, que atendem a esta predileção do inseto (LAURENTINO, COSTA, 2004; VEGA, INFANTE, JOHNSON, 2015). Frutos comprometidos, quando em estágio aquoso, logo ficam avermelhados e caem, em grande quantidade. Lavouras de *coffea canephora* são especialmente suscetíveis a queda de grãos, sendo que frutos novos brocados podem atingir índice de até 46% de queda, em proporção de 3:1 de frutos caídos para frutos que permaneceram na planta. Os danos indiretos do ataque da broca, por sua vez, referem-se a todas as consequências da perfuração e injúria dos frutos, como aceleração da fenologia dos grãos, proliferação de fungos e microrganismos que afetam

O controle populacional da broca-do-café é desafiador, tendo que vista que o acasalamento, desenvolvimento e a postura ocorrem dentro do grão. Dessa forma, a janela de atuação que se mostra mais eficaz para emprego de estratégias que obedecem aos pilares do manejo integrado de pragas (controle cultural, comportamental, genético, varietal, biológico e químico) se dá no período de busca da fêmea por novos grãos nos quais pode ovipositar. A época de maior atividade da broca, geralmente, é entre os meses de dezembro a fevereiro, intervalo conhecido como “período de trânsito” da broca-do-café, no qual as fêmeas adultas ainda não se alojaram dentro dos frutos e encontram-se sobrevoando a lavoura. No entanto, esse espaço de tempo pode variar dependendo das condições edafoclimáticas do local (VEGA *et al.*, 2015 [2009]; MATIELLO *et al.*, 2020;).

O conjunto de múltiplas técnicas de manejo integrado, que incluem o controle cultural, mecânico, químico, biológico e genético são, portanto, geralmente recomendados a fim de diminuir a população da praga consistentemente, ano após ano (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 2013).

2.2 Uso de fungos entomopatogênicos no manejo de *Hypothenemus hampei*

Vários estudos observaram, em condições de campo, a colonização da broca-do-café por diversos organismos, como *Beauveria bassiana*, *Spicaria javanica* e *Metharizium anisoplae* (MATIELLO *et al.*, 2020; BENASSI, 1989; VIJAYALAKSHMI, 2013). ALMEIDA; ROCHA; BATISTA FILHO (2007) ressalta a especificidade, seletividade, compatibilidade com outros métodos e segurança ambiental como vantagens para seu uso. No entanto, sua disseminação e infecção podem variar de modo substancial em relação as condições climáticas da região, tais quais umidade relativa, radiação solar, precipitação e vento (LAURENTINO, COSTA, 2004). No estado de Rondônia, por exemplo, foi observada a

porcentagem média de virulência, em condições naturais, menor que 1% (COSTA *et al.*, 2002). Na Índia, por outro lado, foram relatadas porcentagens de até 60%, ou seja, uma diferença bem expressiva (BALAKRISHNAN *et al.*, 1994 *apud.* VEGA *et al.*, 2009). Dessa forma, tendo em vista a riqueza de diferentes microclimas no território nacional, acoplada a instabilidade de resultados em campo, infere uma certa dificuldade na previsão do comportamento de *B. bassiana* em determinada região. Alguns estudos foram feitos visando aprimorar a virulência, resistência, permanência ou atratividade do fungo no campo, com resultados variados. Souza *et al.* (2020) ponderou a aplicação de *B. bassiana* associada a emulsificantes, a fim de amplificar a viabilidade do fungo, porém não houve resultados significativos na mortalidade do inseto. SILVA (2021) analisou o impacto de caulim associado a *B. bassiana* na preferência de *H. hampei*, encontrando resultados significativos em condições laboratoriais. Outra metodologia investigou a possibilidade de endofitismo do fungo, estabelecendo um agente de biocontrole sistêmico na planta, com resultados positivos, mas com estabelecimento pouco duradouro na planta (POSADA *et al.*, 2006). De acordo com Vega *et al.* (2009), o desenvolvimento de metodologia confiável e consistente para inoculação da planta seria ideal para garantir resultados permanentes e sistêmicos de controle, utilizando *B. bassiana* como endossimbionte.

A compreensão aprofundada do mecanismo de ação de agentes de controle biológico é de extrema importância para a pesquisa e o desenvolvimento de estratégias eficazes no enfrentamento das pragas agrícolas. A elucidação meticulosa do mecanismo de ação do fungo *B. bassiana*, por exemplo, revela um processo intrincado que engloba desde a adesão à cutícula do inseto até a produção de metabólitos específicos, culminando no colapso do sistema imunológico do hospedeiro (DANNON *et al.*, 2020).

Pertencente ao filo Ascomycota, o fungo *B. bassiana* é um patógeno para diversas ordens de inseto, como Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera, Hymenoptera, Homoptera, Hemiptera e Orthoptera (Li *et al.*, 2001). Produz esporos assexuados, denominados de conídios, de coloração branco amarelada, com longos filamentos e hifas de diâmetro entre 2.5 μ m e 25 μ m. Além disso, o fungo pode desenvolver diferentes tipos de conídios, dependendo da presença de oxigênio. Em ambientes aeróbicos, os conídios são esféricos ou ovais, enquanto que em anaerobiose, o fungo produz blastósporos ovais. A disseminação dos esporos acontece por meio do vento, da chuva e também por insetos vetores (ORTIZ-URQUIZA, KEYHANI, 2013).

A infecção inicia-se pela aderência das formas de dispersão do fungo (conídios) em qualquer parte da cutícula do hospedeiro por forças químicas e eletrostáticas. A subsequente penetração das camadas cuticulares acontece pela expressão de uma variedade de enzimas (proteases, quitinases, etc) promovendo a germinação e expansão do fungo, que produz

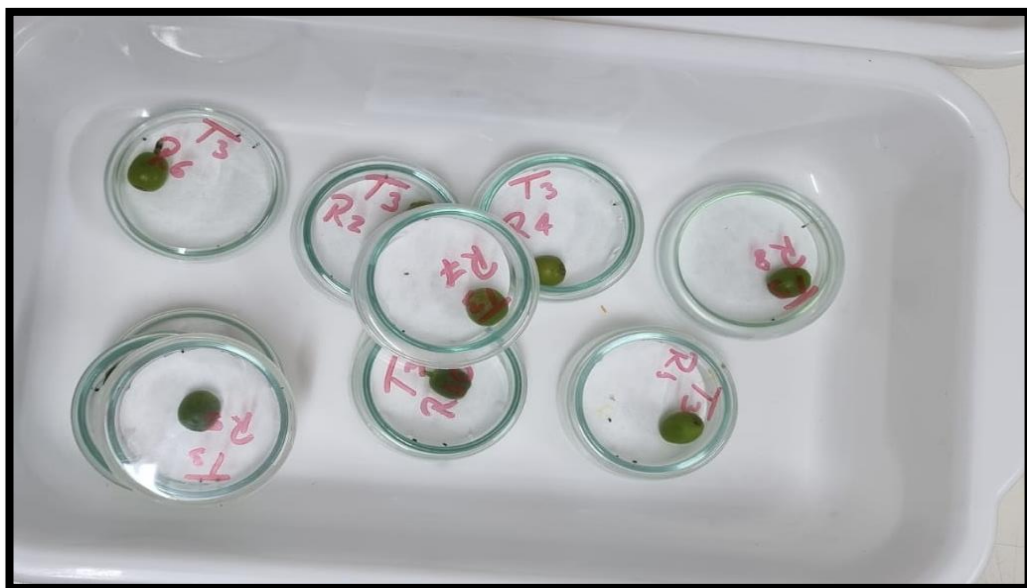
estruturas especializadas capazes de introduzir-se no tegumento do inseto, até chegar em um ambiente rico em nutrientes, a hemolinfa. Na hemolinfa, o fungo passa por uma diferenciação morfo genética, deixando de crescer em filamentos e assumindo a forma de células únicas, semelhantes a leveduras, denominadas hifas blastospóricas. Essas estruturas exploram estrategicamente os nutrientes, colonizam os tecidos internos e afetam o sistema imunológico do hospedeiro. Durante essa fase da infecção, o fungo pode secretar metabólitos tóxicos que ajudam a superar os mecanismos de defesa imunológica do inseto para garantir a colonização bem-sucedida. Esses eventos culminam na morte e mumificação do hospedeiro. Por fim, conidiósporos se desenvolvem na carcaça do inseto, esporulando e se dispersando os conídios após alguns dias (DANNON et al., 2020; ORTIZ-URQUIZA, KEYHANI, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições experimentais

O experimento foi conduzido entre agosto e dezembro de 2022, no Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo Integrado de Pragas (LARP-MIP), localizado no Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O experimento foi conduzido em câmara climática do tipo BOD sob condições ambientais controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR $60 \pm 10\%$; 24h escotofase).

Figura 1 - Tratamentos preparados e mantidos em BOD para posterior avaliação.



Fonte: Autoral.

3.2 Tratamentos, repetições e delineamento experimental

Os tratamentos avaliados neste estudo consistiram em um controle negativo (água) e três isolados de fungos entomopatogênicos, previamente identificados como 296, 315 e 83. Os produtos foram diluídos em béquer contendo 500 mL de água destilada para 50 mg de produto. Dessa forma, a concentração final do produto foi de 1×10^5 mg/L.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento, totalizando 40 placas como unidades amostrais. Cada repetição foi composta por placas de Petri forradas com papel filtro seco, cinco fêmeas de *H. hampei* e um fruto de café no estágio verde-cana. Desse modo, foram utilizados para cada tratamento 50 insetos. As fêmeas de *H. hampei* utilizadas no estudo foram coletadas a partir de frutos infestados em plantas de café arábica do campo experimental na Universidade Federal de Lavras, em lavouras livres da aplicação de inseticidas. A abertura dos grãos e coleta dos insetos foi feita em laboratório, sendo os mesmos mantidos sob dieta artificial Cenibroca (PORTILLA, 1999) até a execução do bioensaio.

Figura 2 - Placa de Petri forrada com papel filtro, 5 fêmeas adultas de *H. hampei* e um fruto no estágio verde cana.



Fonte: Autoral.

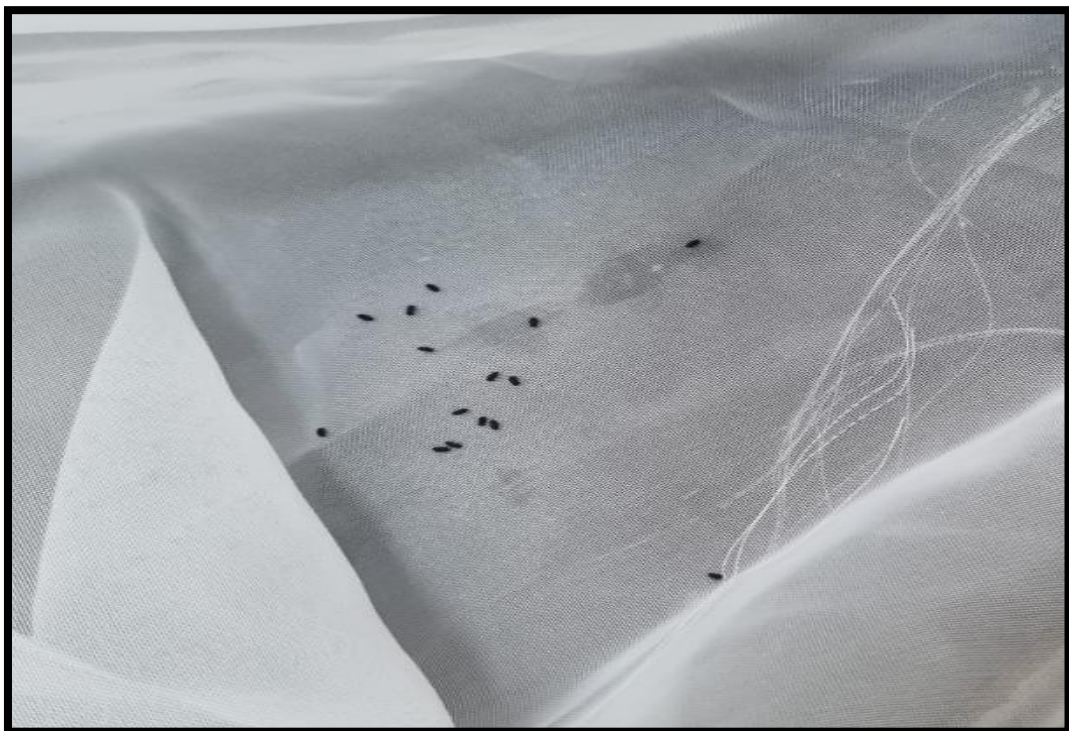
3.3 Aplicação dos tratamentos e avaliação da mortalidade de *H. hampei*

A aplicação dos tratamentos foi realizada por meio da imersão dos insetos, os quais foram confinados em um tecido *voile* e imersos por cerca de 30 segundos nas suspensões dos

bioinseticidas microbianos avaliados, . Em seguida, os insetos foram transferidos para as placas de Petri juntamente com os frutos de café arábica devidamente esterilizados em álcool 70%.

Após 11 dias da montagem do bioensaio e aplicação dos tratamentos, foi realizada a avaliação dos efeitos na mortalidade de *H. hampei*. A avaliação foi determinada através da abertura dos frutos, com auxílio de estilete, e da contagem visual dos insetos vivos e mortos em seu interior.

Figura 3 – Adultos de *H. hampei* confinados em tecido voile.



Fonte: Autoral.

3.4 Análise dos dados

Os dados obtidos de número de insetos sobreviventes nos diferentes tratamentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando significativo as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A análise foi realizada no software Statistica v. 10. Também foram obtidos a partir dos dados de número de insetos vivos nos diferentes tratamentos e testemunha a eficiência de controle (%) dos bioinseticidas por meio da fórmula de Abbott (1925), onde:

$$\text{Eficiência de controle (\%)} = \frac{(C - T)}{C} \times 100$$

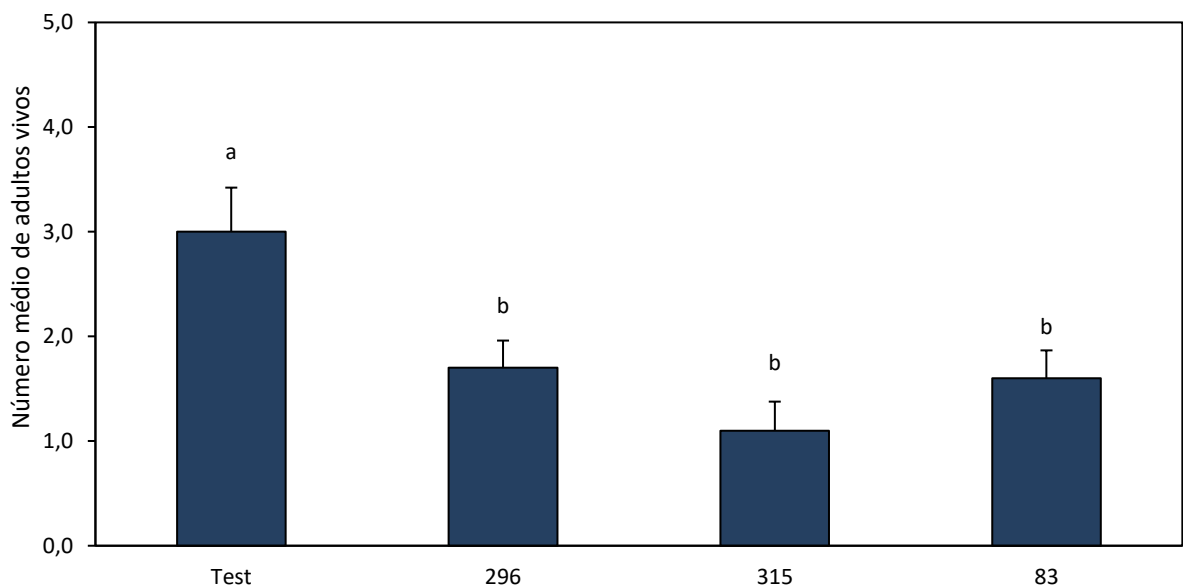
onde, C = número de insetos vivos no controle negativo (água), e T = número de insetos vivos em cada tratamento avaliado.

4 RESULTADOS

Houve diferença significativa entre a testemunha e os bioinseticidas aplicados. Os resultados apresentados na Figura 1 indicam que todos os bioinseticidas microbiológicos diferenciaram significativamente da testemunha (apenas água). O teste de Tukey a 5% de significância mostra que, 11 dias após aplicação, todas as fêmeas adultas da broca-de-café expostas aos produtos à base de fungos entomopatogênicos (296, 315 e 83) revelaram menores taxas de sobrevivência quando comparados à testemunha. Os tratamentos que obtiveram maior e menor número médio de adultos vivos foram o 296 e 315, com média de 1,7 e 1,1 adultos vivos, respectivamente. No entanto, é possível verificar que não houve diferença significativa entre os tratamentos de bioinseticidas quando comparados entre si.

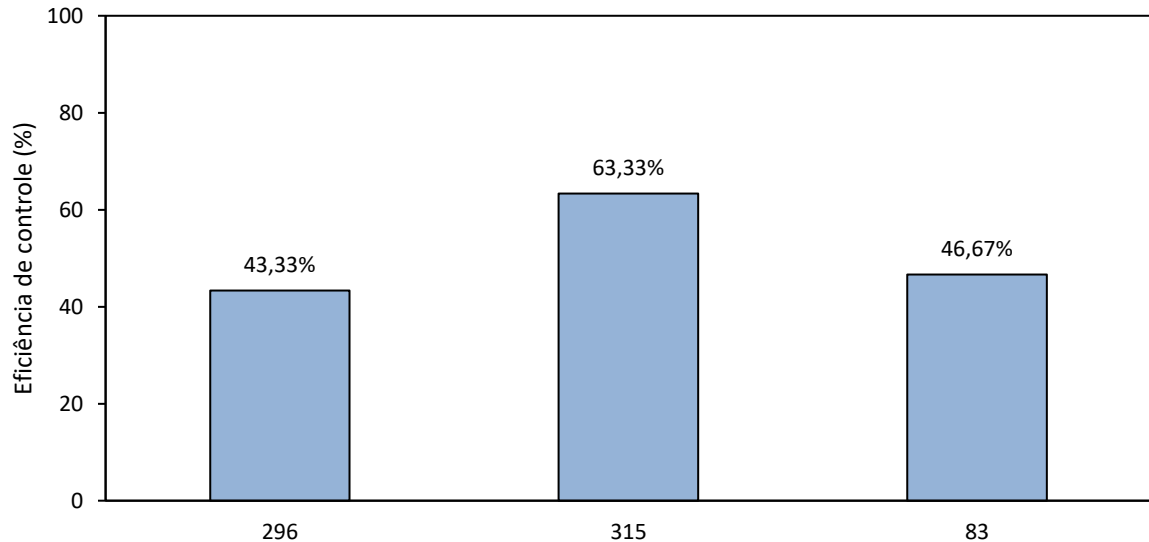
Os resultados na Figura 2 apresentam as médias da eficiência de controle da broca-do-café (%) entre os tratamentos pela fórmula de Abbott. É possível verificar que a taxa de controle, descontando a mortalidade natural obtida na testemunha, variou entre 43,33% a 63,33%. Assim, apesar de não ter havido diferença significativa no número de adultos da broca-do-café sobreviventes, o tratamento com o fungo codificado 315 foi o mais virulento, com 63,33% de controle.

Figura 4 – Número médio de adultos vivos de *Hypothenemus hampei* após aplicação de 3 bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos via imersão em laboratório. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2022.



Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 5 – Resultados da eficiência de controle de *Hypothenemus hampei*, em porcentagem, após aplicação de 3 bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos via imersão em laboratório. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2022.



5 DISCUSSÃO

Os resultados do experimento na avaliação da sobrevivência de adultos vivos expostos a isolados de fungos entomopatogênicos apontaram entre média a alta eficiência de controle (40%-60%), em concordância com o estudo realizado por SAMUELS; PEREIRA; GAVA (2002), no qual a mortalidade cumulativa de brocas-do-café após 10 dias, quando expostas ao fungo *Beauveria bassiana*, variou entre 50%-95%, dependendo do isolado. O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* também foi avaliado, com eficiência de 46%. Outro estudo similar por VERA *et al.* (2011), porém em condições de campo, encontrou mortalidade de cerca de 40%, redução na infestação por planta entre 30%-50%, assim como redução de 55%-75% na população de *H. hampei* dentro dos grãos após 30 dias de pulverização de plantas de café com isolados de *B. bassiana*.

No entanto, FERREIRA; JUNIOR; SOUZA (2022) aponta que os níveis de controle por *B. bassiana* são fortemente influenciados pelas condições climáticas e condições de cultivo, com oscilação alta entre valores baixos (20%) a altos (75%). Essa afirmação é corroborada por VEGA; INFANTE; JOHNSON (2015), no qual ressalta que um dos maiores empecilhos para sucesso de fungos entomopatogênicos é a exposição a raios ultravioletas e baixos níveis de umidade relativa do ar, responsáveis por inviabilizar ou retardar a disseminação e desenvolvimento dos fungos inoculados. A partir disso, especulo que a falta de adoção generalizada de métodos de controle biológicos baseados em fungos entomopatogênicos nas

regiões produtoras de café nacional é dada pela alta oscilação de controle, assim como da imprevisibilidade das condições climáticas, ano a ano. Para fins de comparação, o controle químico, ainda amplamente utilizado como principal forma de controle da broca, tem bons resultados. Alguns exemplos são Cyantraniliprole, clorpirifós e abamectina, com eficácia entre 60%-80% quando aplicados isoladamente (LUZ *et al.*, 2019) ou em associação (SAN JUAN *et al.*, 2018).

Tendo em vista as variáveis possivelmente responsáveis por alta oscilação de eficácia de *B. bassiana* em campo, como vulnerabilidade a raios UV ou dependência de condições climáticas favoráveis, diferentes abordagens foram elaboradas. Um estudo por SOUZA *et al.* (2020), por exemplo, analisou a associação de emulsificantes com *B. bassiana* a partir do pressuposto de que tais agentes podem agir como protetores aos esporos dos fungos contra adversidades, de forma a encapsular os esporos e garantir maior viabilidade em campo. Os resultados, porém, não mostraram diferença significativa na mortalidade dos insetos nos tratamentos com agentes emulsificantes. Outras possibilidades incipientes de associação como o uso de prebióticos (ANTUNES, 2023) ou de partículas de caulim (SILVA, 2021), visando impacto na atratividade, preferência ou sobrevivência de *H. hampei*, foram estudadas, com resultados promissores.

Portanto, os resultados citados até então com fungos entomopatogênicos, em especial *B. bassiana*, evidenciam um cenário promissor, com resultados satisfatórios para controle de *H. hampei*. Além disso, representa uma alternativa mais sustentável e que deve ser preferida em contrapartida ao uso deliberado de inseticidas químicos. O experimento se enquadra em uma gama de estudos cujo alvo é testar a patogenicidade de vários fungos entomopatogênicos de forma a selecionar os isolados mais virulentos para posterior teste em campo. Dessa forma, novos estudos devem ser feitos a fim de melhor entender o comportamento dos fungos quando expostos a diferentes condições climáticas, assim como sua influência em outros aspectos fisiológicos da broca-do-café (postura, reprodução, desenvolvimento, seletividade, etc).

6 CONCLUSÕES

- Em condições de laboratório, todos os tratamentos à base dos fungos entomopatogênicos codificados (296, 315, 83) se mostraram eficazes para o controle de *H. hampei* em laboratório, com eficiência variando entre 43%-63%.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. E. M.; ROCHA, T. C.; BATISTA FILHO, A. DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA EXTRAÇÃO FÍSICA DE CONÍDIOS DE METARHIZIUM ANISOPLIAE E BEAUVERIA BASSIANA PARA FORMULAÇÃO PÓ SECO E MOLHÁVEL DE BIOINSETICIDAS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 369–371, out. 2007.

ANTUNES, A. P. A. ATRATIVIDADE E DESENVOLVIMENTO DE *Hypothenemus hampei* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A PREBIÓTICOS ISOLADOS E ASSOCIADOS A *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. [s.l: s.n.]. Acesso em: 1 jul. 2023.

COSTA, J. N. M. et al. OCORRÊNCIA DE *Beauveria Bassiana* (BALS.) VUILL. EM BROCA-DO-CAFÉ (*Hypothenemus hampei*, FERRARI) NO ESTADO DE RONDÔNIA, BRASIL. **ACTA AMAZONICA**, v. 32, n. 3, p. 517–519, 2002.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 90, n. 6, p. 453–465, dez. 2000.

DANNON, H. F. et al. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, v. 3, n. 1, 30 ago. 2020.

FERREIRA, C. C.; JUNIOR, J. S. Z.; SOUZA, M. N. Métodos de manejo da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) (in portuguese). **Tópicos em Agroecologia**, v. 3, n. 1, p. pp. 163-186, fev. 2022.

JOHNSON, M. A. et al. Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*), a Global Pest of Coffee: Perspectives from Historical and Recent Invasions, and Future Priorities. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 882, 12 dez. 2020.

LAURENTINO, E.; COSTA, J. N. M. Descrição e caracterização biológica da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari 1867) no Estado de Rondônia. **Embrapa Rondonia**, v. 90, n. 0103-9865, mar. 2004.

LI, Z. et al. Discovery and demonstration of the teleomorph of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus. **Chinese Science Bulletin**, v. 46, n. 9, p. 751–753, maio 2001.

LUZ, E. C. A. et al. ESTUDO DA EFICIÊNCIA DE INSETICIDAS NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ *Hypothenemus hampei*. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, v. 0, n. 0, 20 set. 2019.

MATIELLO, J. B. et al. **Cultura De Café No Brasil**. 1. ed. [s.l.] Fundação Procafé, 2020.

OLIVEIRA, I. P. DE; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, C. S. F. P. DE. **Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento**. [s.l.: s.n.]. Acesso em: 12 maio. 2023.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. O. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357–374, 1 set. 2013.

PALERMO JUNIOR, J. A. et al. **EFICIÊNCIA NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (*Hypothenemus hampei*), COM ASSOCIAÇÕES DE INSETICIDAS**. [s.l.] Faculdade de Agronomia Manoel Carlos Gonçalves-Esp. Santo do Pinhal-SP, 2016. Acesso em: 12 maio. 2023.

SAMUELS, R. I.; PEREIRA, R. C.; GAVA, C. A. T. Infection of the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian Isolates of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, n. 5, p. 631–635, out. 2002.

SAN JUAN, R. et al. **ESTUDO DA EFICIÊNCIA DE CONTROLE DE INSETICIDAS À BROCA-DO-CAFÉ**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/11595/114_44-CBPC-2018.pdf?sequence=1>.

SILVA, F. V. **O IMPACTO DO FILME DE PARTÍCULAS CAULIM ASSOCIADO AO FUNGO *Beauveria bassiana* SOBRE A SELEÇÃO HOSPEDEIRA DE *Hypothenemus hampei* EM CAFÉ**. [s.l.: s.n.]. Acesso em: 12 maio. 2023.

SOUZA, R. A. DE et al. Mortality of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* in Field, with Pre and Post Application of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Associated to Emulsifiers. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 7, n. 5, p. 80–85, 2020.

VEGA, F. E. et al. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 2, n. 2, p. 129–147, 2009.

VEGA, F. E. et al. A Potential Repellent Against the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 6, 1 nov. 2017.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A. J. **Chapter 11 - The Genus *Hypothenemus*, with Emphasis on *H. hampei*, the Coffee Berry Borer**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124171565000113?via%3Dihub>>. Acesso em: 12 maio. 2023.

VERA, J. T. et al. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as a control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) emerging from fallen, infested coffee berries on the ground. **Biocontrol Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 1–14, jan. 2011.

VIJAYALAKSHMI, C. K.; TINTUMOL, T.; SAIBU, U. Coffee Berry Borer, *Hypothenemus Hampei* (Ferrari): A Review. **International Journal of Innovative Research & Development**, v. 2, n. 13, 2013.

VOORA, V. et al. **Global Market Report: Coffee**. [s.l.] International Institute for Sustainable Development, 2 jun. 2019. Acesso em: 11 maio. 2023.