

Isolados de fungos entomopatogênicos na mortalidade da broca-do-café em laboratório

Isolates of entomopathogenic fungi in the mortality of coffee berry borer in the laboratory

THAIGORU SOARES DE SOUSA
Discente do curso de Agronomia (UNIPAM)
E-mail: thaigorusouares@gmail.com

WALTER VIEIRA DA CUNHA
Professor orientador (UNIPAM)
E-mail: walter@unipam.edu.br

Resumo: *Hypothenemus hampei* é um inseto pertencente à ordem Coleoptera, sendo considerado atualmente uma das principais pragas da cafeicultura mundial devido às perdas quantitativas e qualitativas causadas na produção do café Arábica e Conilon. Essa praga exige a adoção de táticas de monitoramento e controle eficientes. Entre os métodos de controle da broca-do-café, está o uso de fungos entomopatogênicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de 31 isolados de fungos entomopatogênicos na mortalidade da broca-do-café em laboratório e o seu potencial conidiogênico. Na primeira etapa, foi realizada a seleção de isolados mais virulentos ao inseto, em que as brocas foram imersas em solução de conídios ajustada a 10^8 conídios/mL de cada isolado e o tratamento controle (água estéril). Os tratamentos foram incubados em ambiente climatizado e, após sete dias, foi realizada a avaliação de mortalidade e mortalidade confirmada, verificada em câmara úmida. Os isolados que causaram maior mortalidade foram selecionados para uma segunda etapa, de avaliação de conidiogênese. Essa etapa foi realizada transferindo-se os insetos que apresentavam aspecto de esporulação para tubos contendo solução Tween 0,2% na proporção de 1 inseto/mL, agitando e adicionando em câmara de Neubauer para realizar a contagem dos conídios. Dos 31 isolados iniciais, 30 apresentaram mortalidade superior ao tratamento controle e 17 se mostraram mais eficientes, diferenciando-se estatisticamente dos demais. Na avaliação de conidiogênese, observou-se que não há relação entre produção de conídios e virulência dos isolados.

Palavras-chave: *Beauveria*; conidiogênese; controle biológico; *Metarhizium*.

Abstract: *Hypothenemus hampei* is an insect belonging to the order Coleoptera and is currently considered one of the main pests in worldwide coffee production, causing quantitative and qualitative losses in both Arabica and Conilon coffee. Effective monitoring and control tactics are required to manage this pest. Among the methods for controlling coffee berry borers, the use of entomopathogenic fungi is an option. The aim of this study was to evaluate the efficiency of 31 isolates of entomopathogenic fungi on coffee berry borer mortality in a laboratory and their conidial production potential. In the first stage, the most virulent isolates to the insect were selected, in which the borers were immersed in a solution of conidia adjusted to 10^8 conidia/mL of each isolate and the control treatment (sterile water). The treatments were incubated in a controlled environment, and after seven days, mortality and confirmed mortality were evaluated in a humid chamber. The isolates that caused the highest mortality were selected for a second

stage, evaluating conidial production. This stage involved transferring the insects that showed signs of sporulation to tubes containing a 0.2% Tween solution at a ratio of 1 insect/mL, agitating the solution and counting the conidia in a Neubauer chamber. Of the initial 31 isolates, 30 showed higher mortality rates than the control treatment, and 17 were more efficient, statistically different from the others. In the evaluation of conidial production, there was no relationship between conidial production and virulence of the isolates.

Keywords: *Beauveria*; conidial production; biological control; *Metarhizium*.

1 INTRODUÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, é a praga que propicia mais danos na produção do cafeeiro (PEREIRA, 2020). Entre os danos causados pela broca, destacam-se a queda de frutos nos estágios de chumbinho a verde aquoso, a redução do peso das sementes e a perda de qualidade devido aos grãos brocados (MATIELLO, 2008). Apesar de eficiente e bastante utilizado, o controle químico pode gerar problemas como maior risco de contaminação ambiental, aumento nos custos de produção, além de ser, na maioria das vezes, incompatível com outros métodos de controle (MENDES *et al.*, 2011).

Dessa forma, a utilização do Manejo Integrado de Pragas (MIP) com ênfase na tática do controle biológico tem adquirido importância nas últimas décadas, pois promove uma maior sustentabilidade e viabilidade ecológica no agrossistema (GOMES *et al.*, 2018). O controle biológico é definido como uma ação de inimigos naturais sobre uma população de pragas, resultando em sua diminuição (POLANCZYK, 2004). Dentro do segmento do controle biológico, surgiram os microrganismos entomopatogênicos, especialmente fungos, vírus e bactérias (FATORETTO *et al.*, 2007).

Os fungos entomopatogênicos podem ser frequentemente encontrados causando altos níveis de infecção natural da broca-do-café em campo (MOTA, 2017). Eles são capazes de colonizar diversas espécies de insetos, causando com frequência, epizootias em condições naturais. Esses patógenos também diferem de outros grupos por terem a capacidade de infectar todos os estágios de desenvolvimento dos hospedeiros (SOUZA, 2019). Atualmente, os fungos entomopatogênicos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* são mais estudados no controle de pragas.

No Brasil, o fungo *Beauveria bassiana* tem sido o mais utilizado para o combate de *Hypothenemus hampei* nas lavouras cafeeiras (LOPES, 2004). Diversos estudos relatam a patogenicidade de diferentes isolados do fungo sobre a broca-do-café (SOUZA, 2019). Esse entomopatógeno pode ser frequentemente encontrado causando altos níveis de infecção natural do inseto em campo, sendo uma estratégia com grande potencial e deve ser viabilizada (MOTA, 2017). Já as principais vantagens da utilização do *Metarhizium anisopliae* no controle biológico de insetos está a facilidade de produção das suas unidades infectivas em escala comercial, a facilidade de aplicação em condições de campo, o baixo custo decorrido de sua utilização e, principalmente, o reduzido impacto ambiental (ORLANDELLI; PAMPHILE, 2011).

Considerando-se os danos e perdas econômicas que a broca-do-café causa na cafeicultura brasileira e mundial, estudos sobre como combatê-la de maneira mais eficiente têm sido intensificados. Até o presente momento, o controle dessa praga em

campo é feito, em sua maioria, com inseticidas químicos. Porém, devido à crescente preocupação com o meio ambiente, torna-se necessária a adoção de práticas sustentáveis de controle. Sendo assim, estudos nesse âmbito tornam-se relevantes, destacando-se o controle biológico com entomopatógenos. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de isolados de fungos entomopatogênicos na mortalidade da broca-do-café em laboratório e o seu potencial conidiogênico.

2 METODOLOGIA

O estudo foi conduzido na empresa NOOA Ciência e Tecnologia, na cidade de Patos de Minas (MG), no ano de 2022. A empresa está localizada na Rodovia BR 365, s/n, Km 428 à direita mais 3 km, zona rural. A montagem e a condução foram realizadas no laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento.

2.1 ORIGEM E OBTENÇÃO DOS ISOLADOS

Foram utilizados 31 isolados de fungos entomopatogênicos, sendo oito provenientes do Instituto Biológico de São Paulo - SP (IBCB), três da Universidade Federal de Uberlândia - campus Monte Carmelo (UFU) e vinte da NOOA Ciência e Tecnologia Agrícola (NCT). Os fungos foram preservados pela técnica de Castellani (1939).

2.2 SELEÇÃO DOS ISOLADOS

Os isolados foram repicados em placas de Petri contendo meio Ágar Batata Dextrose (BDA) e, em seguida, incubados em BOD até atingirem a esporulação (sete a dez dias). Quando constatada a esporulação, com auxílio de uma espátula, os esporos foram retirados das placas de cada isolado e colocados separadamente em tubos de ensaio identificados, contendo 5mL de solução estéril de água destilada + Tween 0,2%.

A solução contendo conídios foi agitada em agitador Vortex e peneirada em peneira de 100 mesh. Logo em seguida, a concentração das soluções foi verificada em câmara de Neubauer e ajustada para $2,0 \times 10^8$ conídios por mL, adicionando mais solução Tween ou conídios quando necessário. Com todas as concentrações ajustadas, 0,6 mL de solução de cada isolado foi adicionada em tubos criogênicos de 2 mL para realizar o tratamento dos insetos.

Para realização do experimento, foram selecionadas 15 fêmeas adultas de broca-do-café proveniente de criação em dieta artificial fornecidas pela empresa NOOA. Elas foram colocadas dentro dos tubos criogênicos contendo a solução de conídios dos fungos. Os tubos foram levemente agitados durante 15 segundos e, em seguida, os insetos junto com a solução foram transferidos para potes plásticos de 30 mL com tampa, contendo três pedaços de papel mata-borrão de 2 cm² esterilizados, para absorver a solução de conídios. O tratamento controle foi feito com solução de água destilada esterilizada + Tween 0,2%.

Após 30 minutos, os insetos foram transferidos para outro pote plástico (igual ao anterior), contendo um pedaço de dieta artificial e um pedaço de papel mata-borrão

de 1,5 cm² umedecido com 0,2 mL de água destilada esterilizada para manter um microclima úmido dentro dos potes. A cada 48 h foram adicionados mais 0,1 mL de água destilada estéril. Os potes foram colocados em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 80 ± 10% regulada com umidificador de ar, durante 7 dias. A manutenção da umidade do ar e de dentro dos potes serviu para dar condições necessárias para a germinação dos esporos.

Passados 7 dias, foi realizada a avaliação dos bioensaios, separando os insetos vivos e mortos com auxílio de um pincel nº 00. Foi realizada a avaliação de mortalidade total através da contagem de indivíduos mortos, e a mortalidade foi confirmada observando os insetos com crescimento micelial e esporulação característica do isolado do fungo. Insetos mortos sem colonização aparente foram desinfestados superficialmente por 15 segundos em solução de NaClO 1% e colocados em papel toalha para secarem. Em seguida, os insetos foram transferidos para câmaras úmidas feitas com caixa Gerbox e algodão embebido com água destilada estéril. As câmaras úmidas foram fechadas e incubadas por 5 dias, a 25 °C, para confirmar se houve morte por colonização (FERREIRA, 2022).

O bioensaio foi realizado com 31 isolados de fungos entomopatogênicos mais o tratamento controle, totalizando 32 tratamentos (Tabela 1). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições e com 15 insetos por parcela.

Tabela 1: Tratamentos utilizados no bioensaio de mortalidade de broca-do-café. NCT (NOOA Ciência e Tecnologia); UFU (Universidade Federal de Uberlândia; IBCB (Instituto Biológico de São Paulo), Patos de Minas (MG)

Bioensaio I			
Tratamento	Fungo	Isolado	Origem
T ₁	Controle	-	-
T ₂	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 14	NCT
T ₃	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 13	NCT
T ₄	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 04	NCT
T ₅	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 05	NCT
T ₆	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 06	NCT
T ₇	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 07	NCT
T ₈	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 08	NCT
T ₉	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 09	NCT
T ₁₀	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 10	NCT
T ₁₁	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 11	NCT
T ₁₂	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 12	NCT
T ₁₃	<i>Fusarium</i> sp.	UFUMCF 01	UFU
T ₁₄	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 15	NCT
T ₁₅	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 15.1	NCT
T ₁₆	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 16	NCT
T ₁₇	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 17	NCT
T ₁₈	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 18	NCT
T ₁₉	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 19	NCT
T ₂₀	<i>Beauveria</i> sp.	UFU 01	UFU

ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NA
MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ EM LABORATÓRIO

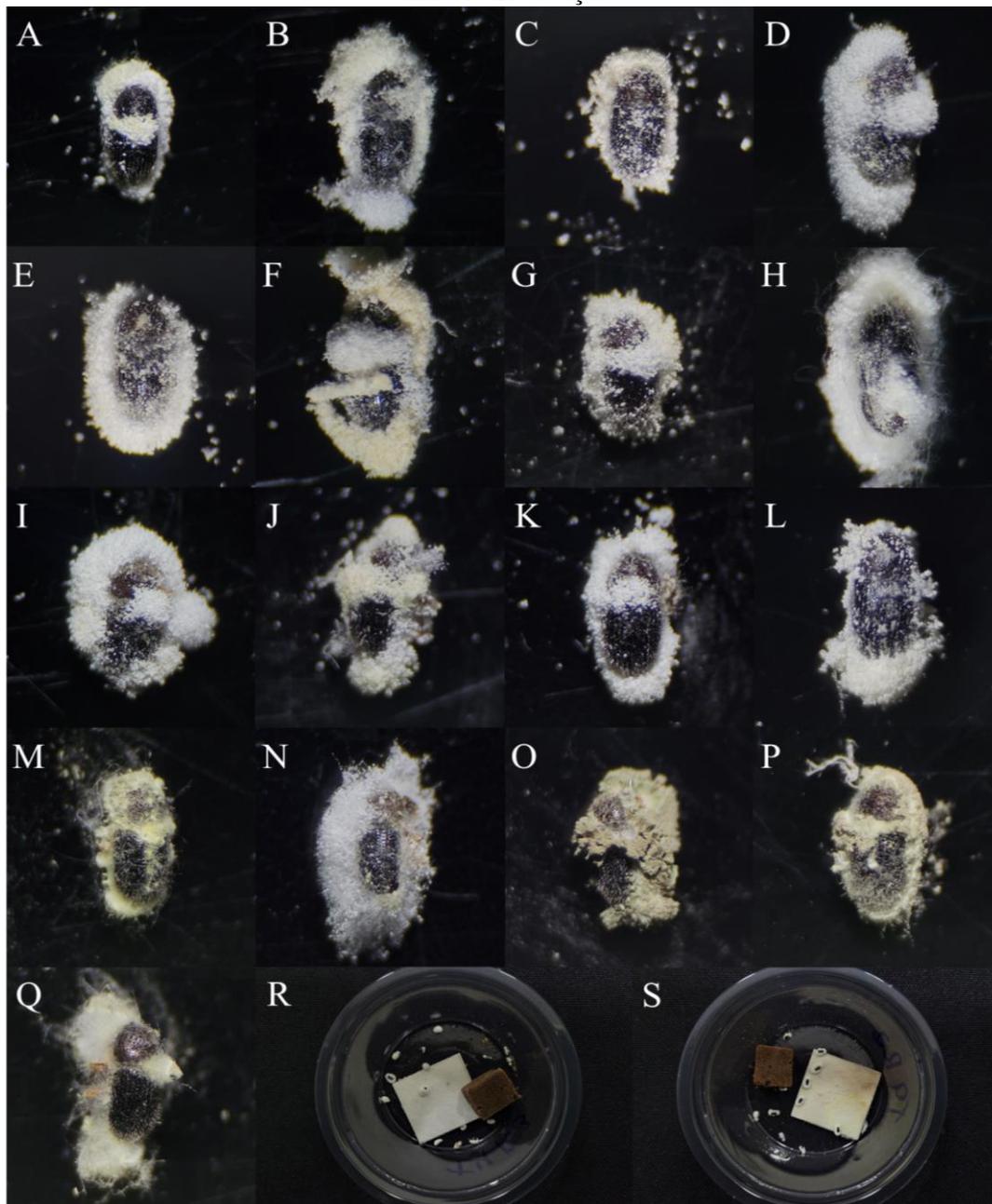
T ₂₁	<i>Beauveria</i> sp.	UFU 03	UFU
T ₂₂	<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 66	IBCB
T ₂₃	<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 170	IBCB
T ₂₄	<i>Cordyceps</i> sp.	NCTC 01	NCT
T ₂₅	<i>Paecilomyces</i> sp.	NCTP 02	NCT
T ₂₆	<i>Paecilomyces</i> sp.	NCTP 08	NCT
T ₂₇	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 353	IBCB
T ₂₈	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 348	IBCB
T ₂₉	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 364	IBCB
T ₃₀	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 383	IBCB
T ₃₁	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 391	IBCB
T ₃₂	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 425	IBCB

Os dados de mortalidade, em porcentagem, foram transformados para arc-sen ($\arcsin((x+0,5)/100)$) de acordo com Steel e Torrie (1980). Logo em seguida, foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Jarque-Bera e à homocedasticidade pelos testes de Bartlett e Cochran. Posteriormente, atendidos os pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F e, constatando significância, foram comparados através do teste Scott-Knott ao nível de 5%, com auxílio do software Speed Stat (CARVALHO *et al.*, 2020).

2.3 TESTE DE CONIDIOGÊNESE

Do experimento anterior, dos tratamentos que se destacaram estatisticamente no parâmetro de mortalidade confirmada, os insetos colonizados foram submetidos à câmara úmida. Essa câmara foi realizada colocando um pedaço de papel mata-borrão de 1,5 cm² umedecido com 0,2 mL de água destilada estéril dentro de cada pote. Os insetos foram mantidos durante 7 dias em câmara úmida, tempo necessário para que os isolados que os colonizaram apresentassem aspecto de esporulação, ou seja, conidiogênese (Figura 1).

Figura 1: Conidiogênese dos isolados de fungos entomopatogênicos. (A) UFU 01; (B) NCTB 09; (C) NCTB 06; (D) NCTB 12; (E) NCTB 04; (F) NCTB 07; (G) NCTB 13; (H) UFU 03; (I) NCTB 11; (J) NCTB 05; (K) NCTB 10; (L) NCTB 14; (M) IBCB 348; (N) NCTB 08; (O) IBCB 364; (P) IBCB 391; (Q) IBCB 353; (R e S) colonização das brocas após sete dias de incubação



A avaliação de conidiogênese foi realizada com 17 tratamentos (Tabela 2) e 4 repetições, a partir dos isolados que apresentaram maior taxa de mortalidade, identificados pela análise estatística do teste de seleção. Para cada repetição, foi transferido um inseto de cada uma das repetições do experimento anterior, totalizando seis insetos em cada tubo, contendo 6 mL de solução de água destilada + Tween 0,2%, seguindo a proporção de um inseto por mL de solução. Em seguida, os tubos foram

agitados em agitador Vortex durante 1 minuto, e a solução foi transferida para câmara de Neubauer para realizar a contagem de conídios (NEVES; HIROSE, 2005).

Tabela 2: Tratamentos utilizados em teste de conidiogênese de isolados de fungos entomopatogênicos utilizados no bioensaio de mortalidade de broca-do-café. Patos de Minas (MG)

Teste de conidiogênese					
Tratamento	Fungo	Isolado	Tratamento	Fungo	Isolado
T ₁	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 14	T ₁₀	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 11
T ₂	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 13	T ₁₁	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 12
T ₃	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 04	T ₁₂	<i>Beauveria</i> sp.	UFU 01
T ₄	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 05	T ₁₃	<i>Beauveria</i> sp.	UFU 03
T ₅	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 06	T ₁₄	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 353
T ₆	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 07	T ₁₅	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 348
T ₇	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 08	T ₁₆	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 364
T ₈	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 09	T ₁₇	<i>Metarhizium anisopliae</i>	IBCB 391
T ₉	<i>Beauveria</i> sp.	NCTB 10			

Os dados de conidiogênese foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Jarque-Bera e à homocedasticidade pelos testes de Bartlett e Cochran. Posteriormente, atendidos os pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F e, constatando significância, foram comparados através do teste Scott-Knott ao nível de 5%, com auxílio do software Speed Stat (CARVALHO *et al.*, 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SELEÇÃO DE ISOLADOS

No bioensaio de seleção de isolados de fungos entomopatogênicos, foi possível observar que houve diferença significativa de todos os isolados de *Beauveria* sp. e *Metarhizium anisopliae* em relação ao tratamento controle (Tabela 3). Entretanto, os isolados NCTB 07, NCTB 04, IBCB 364, NCTB 05, NCTB 13, NCTB 09, NCTB 10, NCTB 08, UFU 03, NCTB 06, NCTB 11, IBCB 348, NCTB 14, UFU 01, IBCB 353, NCTB 12 e IBCB 391 destacaram-se, apresentando mortalidade superior aos outros isolados e ao controle. Os isolados UFUMCF 01, NCTP 02 e NCTP 08 não se diferenciaram do controle, indicando que, nesse experimento, não são eficientes na mortalidade da broca-do-café.

Tabela 3: Valores médios de mortalidade confirmada da broca do café obtida em testes com isolados de fungos entomopatogênicos. Patos de Minas (MG)

Tratamento	Mortalidade confirmada (%)	Tratamento	Mortalidade confirmada (%)
NCTB 07	93,6	IBCB 391	75,0
NCTB 04	91,1	IBCB 383	63,5
IBCB 364	90,2	NCTC 01	62,5
NCTB 05	88,4	NCTB 15.1	59,9
NCTB 13	88,3	NCTB 18	54,2
NCTB 09	85,3	NCTB 17	53,3
NCTB 10	84,4	NCTB 19	46,0
NCTB 08	84,0	IBCB 66	37,5
UFU 03	83,5	NCTB 15	35,5
NCTB 06	80,7	IBCB 425	34,3
NCTB 11	80,1	NCTB 16	29,0
IBCB 348	80,0	IBCB 170	20,6
NCTB 14	79,4	NCTP 08	4,1
UFU 01	78,8	NCTP 02	1,0
IBCB 353	78,8	UFUMCF 01	0,0
NCTB 12	75,9	Controle	0,0
CV (%) =	22,9		

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,05$).

Entre os 31 isolados testados para o controle da broca, os que apresentaram maior mortalidade foram os fungos entomopatogênicos dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium*. Atualmente no Brasil, todos os produtos registrados para o controle dessa praga são à base de isolados desses dois gêneros. No total, são 5 isolados de *Beauveria bassiana* e 1 de *Metarhizium anisopliae* registrados (AGROFIT, 2022).

Os valores de mortalidade confirmada variaram de 20,6 a 93,6% entre os isolados de *Beauveria* sp. (Tabela 4). Em trabalho semelhante, La Rosa *et al.* (1997), utilizando a mesma concentração de 10^8 conídios/mL, encontraram valores de mortalidade confirmada que variaram de 20,1 a 100%, testando isolados de *Beauveria bassiana* em broca-do-café, resultado aproximado ao encontrado neste trabalho.

Muitos trabalhos já foram feitos com o objetivo de selecionar fungos entomopatogênicos virulentos à broca-do-café. Em todos os trabalhos encontrados, os isolados que apresentaram maior mortalidade ao inseto foram dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium*. Diversos outros trabalhos foram realizados associando esses dois fungos à mortalidade de outros insetos, como *Mahanarva fimbriolata*, *Coralimela brunnea*, *Conotrachelus humeropictus* e *Plutella xylostella* (BAPTISTUSSI, 2010; CUNHA *et al.*, 2008; MENDES *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2003).

Nos experimentos de Lecuona *et al.* (1986), o fungo *Metarhizium anisopliae* mostrou-se patogênico para a broca-do-café em laboratório, apresentando mortalidade corrigida acima de 60% na concentração $1,5 \times 10^8$ após quatro dias de incubação. Já Neves e Hirose (2005), em trabalho visando à mortalidade da broca-do-café, selecionaram 11

isolados de *B. bassiana* com mortalidade confirmada acima de 60% na concentração de $2,5 \times 10^7$ conídios/mL seis dias após inoculação.

Para prosseguir com o teste de conidiogênese, foram selecionados os isolados que apresentaram mortalidade confirmada acima de 75%. Esses isolados foram os que se diferenciaram dos demais tratamentos de acordo com a análise estatística.

3.2 TESTE DE CONIDIOGÊNESE

A avaliação de conidiogênese foi realizada com os isolados selecionados no teste de seleção. Observou-se que quatro isolados de *Beauveria* (NCTB 05, NCTB 08, NCTB 11, NCTB 12) demonstraram maiores níveis de conídio por inseto, havendo diferença estatística quanto aos demais tratamentos (Tabela 4). Além disso, foi possível observar também que todos os isolados que apresentaram menores níveis de conidiogênese são do gênero *Metarhizium*, em exceção ao isolado NCTB 08, de *Beauveria*. De certa forma, esse resultado pode estar relacionado com a diferença de tamanho entre os conídios dos dois gêneros. Segundo Saldanha *et al.* (2022), os conídios de *Beauveria bassiana* apresentam largura e comprimento médio de $2,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$, respectivamente. Já para os conídios de *Metarhizium anisopliae* foi encontrada largura média de $2,5 \mu\text{m}$, e, em relação ao comprimento, os conídios apresentaram média de $6,39 \mu\text{m}$ (SALDANHA *et al.*, 2022; BORGES, 1985; GARCÍA *et al.*, 2014). Baseando-se nessas informações, há uma diferença de 255,6% no tamanho, sendo assim, os isolados de *Metarhizium* precisam de mais volume ou maior massa de conídios para chegar à mesma concentração dos isolados de *Beauveria*.

Tabela 4: Valores médios de conidiogênese dos isolados de fungos entomopatogênicos, Patos de Minas (MG)

Tratamento	Conidiogênese		Tratamento	Conidiogênese	
	Conídio/inseto			Conídio/inseto	
UFU 01	8825000	a	NCTB 05	4690000	b
NCTB 09	7490000	a	NCTB 10	4235000	c
NCTB 06	7327500	a	NCTB 14	4122500	c
NCTB 12	6710000	a	IBCB 348	2427500	d
NCTB 04	6165000	b	NCTB 08	2223750	d
NCTB 07	6102500	b	IBCB 364	2182500	d
NCTB 13	5447500	b	IBCB 391	1722500	d
UFU 03	5392500	b	IBCB 353	1355000	d
NCTB 11	4875000	b			
CV (%) =		25,1			

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p > 0,05$).

A conidiogênese está diretamente relacionada com a dispersão dos propágulos infectivos viáveis (conídios) para um novo hospedeiro. Representa a fase mais importante na relação entre patógeno e hospedeiro devido à ação de alguns fatores abióticos que podem reduzir ou anular a viabilidade dos conídios, como temperatura, umidade e radiação. Em estudo realizado por Edginton *et al.* (2000), observando a relação

entre viabilidade de conídios e exposição à luz solar, chegaram à conclusão de que conídios de *B. bassiana* são completamente desativados após 1h de exposição. Desse modo, quando se tem maior número de conídios produzidos por cadáver, compensaria, parcialmente, a elevada possibilidade de a maioria não sobreviver para colonizar um novo hospedeiro, em caso de microclima não favorável.

Os isolados UFU 01, NCTB 09, NCTB 06 e NCTB 12 tiveram o maior desempenho na conidiogênese sobre a broca-do-café, superando os demais tratamentos. Observa-se que a virulência não está diretamente relacionada com a produção de conídios, visto que a maior produção não foi a dos isolados mais eficientes na mortalidade. Esses resultados são compatíveis com os de Neves e Hirose (2005), que também observaram que o isolado mais eficiente em produção de conídios não é o mais virulento entre os isolados testados. Dalvi (2008), testando quatro isolados de *Beauveria* para o controle da broca-do-café, obteve resultados inversamente proporcionais entre a mortalidade de isolados e a produção de conídios. Desse modo, é possível afirmar que, no presente estudo, não houve relação entre a produção de conídios e a virulência dos isolados à *H. hampei*.

4 CONCLUSÃO

Dos 31 isolados testados, 13 isolados de *Beauveria* e 4 isolados de *Metarhizium* causaram mortalidade acima de 75% da broca-do-café, em laboratório, demonstrando potencial de controle dessa praga. Não há relação entre produção de conídios no cadáver da broca-do-café e a virulência desses isolados.

REFERÊNCIAS

AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

BAPTISTUSSI, R. C. **Efeitos de inseticidas biológicos (óleo de nim, *Azadirachta indica*, e entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*) sobre a cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar sob cultivo orgânico, em relação à mortalidade natural**. 2010. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2010.

BORGES, V. E. **Estudo de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, 1883 para controle de cigarrinhas-das-pastagens**. 1985. 99 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1985.

CARVALHO, A. M. X. *et al.* SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 20, n. 3, p. e327420312, 2020.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Arlington, v. 42, p. 225-226, 1939.

CUNHA, F. *et al.* Patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* (bals.) Vuill. (cg 432) e *Metarhizium anisopliae* (metsch.) Sorok (uel50) em larvas de *Coralimela brunnea* Thumb. (coleoptera: chrysomelidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 293-300, set. 2008.

DALVI, L. P. **Coleta, caracterização molecular e seleção de isolados de *Beauveria bassiana* visando ao controle da broca-do-café no Espírito Santo**. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia; Recursos Florestais), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2008.

EDGINTON, S. *et al.* Photoprotection of *Beauveria bassiana*: testing simple formulations for control of the coffee berry borer. **International Journal of Pest Management**, [S. l.], v. 45, n. 3, p. 169-176, 2000.

FATORETTO, J. C. *et al.* Associação de bioensaios e caracterização molecular para seleção de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* efetivos contra *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 737-745, out. 2007.

FERREIRA, J. S. **Criação massal da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), e potencial de controle com fungos entomopatogênicos**. 2022. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

GARCÍA, M. A. G. *et al.* Aislamiento y caracterización morfológica de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. **Horizonte Sanitário**, Villahermosa, v. 10, n. 2, p. 21-28, ago. 2014.

GOMES, J. M. *et al.* Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) por bactérias. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 13, n. 2, p. 156-162, abr. 2018.

LA ROSA, W. *et al.* Virulence of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes) Strains Against the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 90, n. 6, p. 1534-1538, dez. 1997.

LECUONA, R. E. *et al.* Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., à broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, São Paulo, v. 15, p. 21-27, dez. 1986.

LOPES, B. R. Produção e comercialização de *Beauveria bassiana* para o controle da broca-do-café no Brasil. In: MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ, 2004, Londrina. **Anais [...]**. Londrina: Manejo da Broca-do-café, 2004. p. 249-254.

MATIELLO, J. D. **Perdas no rendimento e qualidade de *Coffea canephora* devido a *Hypothenemus hampei***. 2008. 48 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

MENDES, S. M. *et al.* Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, mar. 2011.

MENDES, A. C. B. *et al.* Infecção de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler (Coleoptera:Curculionidae) por *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no solo. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, n. 4, p. 531-531, dez. 2001.

MOTA, L. H. C. **Estratégias de utilização de *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) para o manejo de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae)**. 2017. 116 f. Tese (Doutorado em Entomologia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 77-82, fev. 2005.

ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A. Fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de controle biológico de insetos pragas. **Revista de Saúde e Biologia**, Maringá, v. 6, n. 2, p. 79-82, maio 2011.

PEREIRA, R. M. C. **Tecnologia de aplicação de *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) no controle de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae)**. 2020. 112 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio), Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Instituto Biológico, São Paulo, 2020.

POLANCZYK, R. A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. 2004. 144 f. Tese (Doutorado em Ciências), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SALDANHA, M. A. *et al.* Caracterização morfofisiológica de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de *Oncideres impluviata*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 776-792, jun. 2022.

SILVA, V. C. A. *et al.* Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, Recife, v. 32, n. 4, p. 653-658, dez. 2003.

SOUZA, R. A. de. **Métodos de manejo para Broca-do-café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**. 2019. 66 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2019.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2. ed. New York: Mc Graw Hill, 1980. 633 p.