

# Controle de *Hypothenemus hampei* com *Bacillus* spp

*Control of Hypothenemus hampei with Bacillus spp*

LETÍCIA MARIANE PIMENTA DE LIMA

Discente do curso de Agronomia (UNIPAM)  
E-mail: leticiapimenta@unipam.edu.br

WALTER VIEIRA DA CUNHA

Professor orientador (UNIPAM)  
E-mail: walter@unipam.edu.br

---

**Resumo:** A boca-do-café é uma das pragas mais importantes do cafeeiro, podendo causar prejuízos no peso, na qualidade do grão e na bebida. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a mortalidade de *Hypothenemus hampei* submetido aos produtos químicos, biológicos e cepas de *Bacillus* spp. O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética e Biotecnologia (GENEB), do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Foram constituídos oito tratamentos e quatro repetições, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste Tukey a 5%. Observou-se que o tratamento à base de Clorpirifós, da cepa de *Bacillus* spp 2 e do produto à base de *Beauveria bassiana* obtiveram os melhores resultados, portanto neste estudo, eles foram mais eficazes para o controle do inseto, por ocasionarem maior mortalidade quando comparados com os demais tratamentos.

**Palavras-chave:** Broca-do-café. Bactéria. Mortalidade.

**Abstract:** The coffee borer is one of the most important pests of the coffee tree, which can cause losses in weight, in the quality of the beans and in the beverage. The present work aims to evaluate the mortality of *Hypothenemus hampei* submitted to chemical, biological products and *Bacillus* spp. The experiment was conducted at the Genetics and Biotechnology Laboratory (GENEB), at Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Eight treatments and four replications were carried out in a completely randomized design. The data obtained were submitted to analysis of variance and Tukey test at 5%. It was observed that the treatment based on Chlorpyrifos, the *Bacillus* spp 2 strain and the product based on *Beauveria bassiana* obtained the best results, therefore, in this study, they were more effective for insect control, as they cause higher mortality when compared to other treatments.

**Keywords:** Coffee borer. Bacterium. Mortality.

---

## 1 INTRODUÇÃO

A cafeicultura brasileira é responsável atualmente por cerca de um terço da produção mundial e ocupa a segunda posição entre os maiores consumidores da bebida no mundo. Dos estados brasileiros, Minas Gerais é o maior produtor, correspondendo a

50% da produção total do país. Hoje no Brasil, estima-se que 80,7% do total da área cultivada sejam de café arábica, o que gira em torno de 1,74 milhões de hectares. Porém, estima-se que ocorra um aumento de 10,3% na área em formação devido à bialidade negativa do café, período em que ocorre baixa produtividade e, assim, os produtores optam por melhorar a lavoura dando ênfase às áreas mais antigas e de baixa produtividade (CONAB, 2019).

Um dos fatores que afeta negativamente a produção é a incidência de pragas. São três as principais pragas que afetam a cafeicultura brasileira: ferrugem, *Hemileia vastatrix*, bicho mineiro *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Meneville) e broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Mesmo com existência de outras pragas, estas se tornam as principais por estarem distribuídas de forma ampla na maioria das lavouras. Dentre as pragas citadas, a broca se destaca por penetrar no grão em todos os seus estádios de maturação, o que afeta intensamente sua qualidade (KROHLING *et al.*, 2017).

De acordo com Almeida *et al.* (2003), o controle dessas pragas é feito com o uso de defensivos que eleva consideravelmente o custo de produção devido ao aumento no número de aplicações, que, por consequência, prejudicam o ambiente causando sua contaminação. Além disso, devido às intensas aplicações, as pragas se tornam mais resistentes ao uso dos produtos químicos e a mortalidade de seus inimigos naturais aumenta, tornando seu combate mais difícil (REIS; SOUZA, 1998).

Dentre os produtos químicos usados para controle do inseto está o Endosufan, responsável por 100% de mortalidade nas lavouras. Porém sua aplicação causou problemas sérios à saúde humana e ao ambiente, fazendo com que seu uso fosse proibido nas lavouras brasileiras em 2013 (FERNANDES *et al.*, 2014).

Levando em consideração este cenário, os pesquisadores brasileiros têm se preocupado em fazer o controle das pragas do cafeeiro de forma eficiente e sustentável. Atualmente no mercado biológico, tem-se utilizado o fungo *Beauveria bassiana* Bals. Vuill (Deuteromycota: Hyphomycetes), que se mostrou favorável para controle da broca (VEJA *et al.*, 2009). No entanto, custear este tipo de controle acaba se tornando inviável, pois o índice de mortalidade que este produto causa se encontra abaixo do nível de dano econômico, fazendo com que seu valor se encontre equivalente ao benefício que se espera utilizando-o (NEVES; HIROSE, 2005).

Segundo Alencar (2015), as bactérias do gênero *Bacillus* têm ganhado grande espaço no âmbito do controle biológico por auxiliar na diminuição de pragas em muitas culturas. Como esse gênero de bactérias atua bem no controle de lepidópteros utilizando o *Bacillus thuringiensis*, elas podem também se tornar eficazes para controlar a *Hypothenemus hampei*, que pertence à ordem das Coleoptera, família das Scolytidae.

O café é uma cultura de agregado valor e importante para o mercado brasileiro. Contudo, alguns fatores como clima, temperatura, incidência de chuvas e umidade, bem como microrganismos e insetos podem influenciar negativamente na produtividade. Entre os fatores bióticos que prejudicam o cafeeiro, destaca-se a broca do café, causando grandes perdas por danificar a qualidade do grão.

Fica evidente a necessidade de pesquisas voltadas ao controle de *Hypothenemus hampei*, com objetivo de conhecer melhor seus hábitos e proporcionar um controle mais eficiente. O uso de novas cepas à base de *Bacillus* sp no controle da broca do café se torna

necessário por possibilitar modernas formas no manejo do inseto, fazendo com que a qualidade do grão melhore, elevando a qualidade do produto.

O presente trabalho teve como objetivo comparar e avaliar o potencial do uso de produtos químicos, produtos biológicos e produtos à base de *Bacillus* spp extraídos de solos da região do Alto Paranaíba (MG), na mortalidade de *Hypothenemus hampei*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética e Biotecnologia (GENEB), do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Os insetos foram obtidos por meio da coleta de grãos brocados na Fazenda São Lourenço, localizada em Patos de Minas, região do Alto Paranaíba, Minas Gerais.

Esta lavoura produz grãos da linhagem IAC 99, pertencentes à variedade Catuaí Vermelho, que foram plantados com o espaçamento de um metro entre plantas e quatro metros entre linhas, resultando em um total de 2.500 plantas ha<sup>-1</sup>.

Foram colhidos os grãos que apresentaram a incidência de broca, independentemente do estágio de maturação. Após a colheita, eles foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio a 5% por um minuto. Esse processo de esterilização impede que microrganismos indesejáveis se propaguem posteriormente. Após esse processo, os grãos foram lavados em água corrente por cinco minutos retirando por completo a solução (HIROSE; NEVES, 2002). Para retirar as brocas, os grãos foram abertos manualmente com o bisturi.

O experimento foi instalado em uma sala com temperatura controlada entre 26 ± 2° C e umidade relativa de 60 ± 10%. Para alimentar os insetos, desenvolveu-se a dieta artificial 140 (VILLACORTA; BARRERA, 1993), como descrita na Tabela 1.

**Tabela 1:** Composição da dieta artificial utilizada para a criação de *H. hampei*

Ingredientes	Quantidade
Pó de café	100,0 g
Caseína	20,0 g
Ágar Bacteriológico	21,0 g
Açúcar	12,0 g
Levedura de torula	20,0 g
Nipagim	1,0 g
Sorbato de K	1,0 g
Etanol	10,0 mL
Formaldeído	2,0 mL
Água deionizada	650 mL

Fonte: Villacorta; Barrera, 1993.

Esta dieta foi distribuída em placas de Petri de vidro transparente, com 78,5 cm<sup>2</sup>, sendo estas autoclavadas por 20 minutos a 120°C, esterilizando o recipiente de qualquer microrganismo. Em cada placa, foram colocadas 5 brocas e 2 tabletes de dieta, cada um com dois cm<sup>2</sup>.

Para preparar a solução do fungo, utilizou-se um produto comercial, que possui como base *B. bassiana*. Esse produto foi misturado em 300 mL de água destilada e levado ao agitador magnético até ser diluído completamente.

As bactérias do gênero *Bacillus* foram obtidas do acervo do próprio laboratório. Para o seu crescimento, utilizou-se do meio de cultura Lb Broth Miller (7,5g), diluído também em 300 mL de água destilada utilizando o agitador magnético. Posteriormente, com o auxílio de um pipetador, pipetou-se 1 mL de bactérias em 50 mL da solução e colocados em erlenmeyer, seguindo para a mesa agitadora na velocidade de 50 rotações por minuto (rpm) por 24 h.

O princípio ativo de Clorpirifós deverá ser diluído em 300 mL de água destilada nas proporções de 1,0 L ha<sup>-1</sup>, de acordo com o indicado na bula do produto.

As dietas receberam 0,5 mL do total de cada solução, sendo essa medida distribuída igualmente em 0,25 mL em cada tablete por placa, de acordo com cada tratamento. Após a montagem das placas e o preparo das dietas com as respectivas soluções, as unidades experimentais receberam cinco brocas e posteriormente foram fechadas com um filme plástico e, em seguida, envolvidas em papel alumínio para que assim não ocorresse a incidência de luz.

O experimento foi composto por oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 parcelas (Tabela 2). O delineamento experimental utilizado foi o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC).

**Tabela 2:** Representação dos tratamentos, Patos de Minas, MG, 2019

Tratamentos	Descrição
T1	Controle (Água destilada)
T2	<i>Beauveria bassiana</i>
T3	Clorpirifós
T4	Cepa de <i>Bacillus</i> spp 1
T5	Cepa de <i>Bacillus</i> spp 2
T6	Cepa de <i>Bacillus</i> spp 3
T7	Cepa de <i>Bacillus</i> spp 4
T8	Cepa de <i>Bacillus</i> spp 5

Fonte: elaborada pelos autores, 2020.

Após a montagem do experimento, a análise de mortalidade foi feita a cada três dias durante um período de 12 dias. Nos dias de avaliação, uma placa de cada tratamento foi aberta para contabilizar o número de brocas mortas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias foram comparadas no teste Tukey a 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão apresentados na Tabela 3 os resultados do experimento conduzido no período de 12 dias. Nota-se que o tratamento à base de Clorpirifós, a cepa de *Bacillus* spp 2 e o produto à base de *Beauveria bassiana* obtiveram resultado satisfatório por

ocasionarem maior mortalidade da broca-do-café quando comparados com os demais tratamentos.

As médias dos tratamentos Clorpirifós, *Bacillus* spp 5 e *B. bassiana* não se diferenciam entre si estatisticamente. Em relação aos demais tratamentos, nota-se que a porcentagem de mortalidade é menor que 70%.

**Tabela 3:** Mortalidade (%) causada na broca-do-café por produtos químicos e biológicos, Patos de Minas, MG, 2019

Tratamentos	Mortalidade (%)
Clorpirifós	100 a
Cepa <i>Bacillus</i> spp 2	80 ab
<i>Beauveria bassiana</i>	75 abc
Cepa <i>Bacillus</i> spp 3	65 bc
Cepa <i>Bacillus</i> spp 1	50 cd
Cepa <i>Bacillus</i> spp 4	35 de
Cepa <i>Bacillus</i> spp 5	15 e
Água destilada	10 e

CV.: 19,26%. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Fonte: dados da pesquisa, 2020.

Segundo Mota (2017), foi alcançado até 80% de mortalidade de *H. hampei* quando testadas armadilhas de autoinoculação contendo *B. bassiana*. Outros autores como Santinato *et al.* (2017) e Ono, Camargo e Hass (2017) testaram a aplicabilidade do fungo sobre a broca-do-café e consideraram eficácia desse produto de 89 a 93%, e 68%, respectivamente.

No presente trabalho, a mortalidade obtida com o uso do fungo foi de 75%, o que corresponde a um valor superior ao encontrado por Ono, Camargo e Hass (2017), tornando o resultado obtido equivalente aos previamente citados.

As cepas de *Bacillus* spp 3, 1, 4 e 5 apresentaram respectivamente 65, 50, 35 e 15% de mortalidade ao fim do experimento. Em relação às cepas de *Bacillus* spp 1, 4 e 5, apenas a mortalidade encontrada na cepa 1 chegou a atingir 50% no período de condução. Alencar (2015), que desenvolveu um estudo com a finalidade de testar o controle de *Alphitobius diaperinus* (COLEÓPTERA: TENEBRIONIDAE) submetido a subespécies de *Bacillus thuringiensis*, obteve mortalidade igual a 55%. De acordo com o autor, os resultados mostrados em seu experimento são insignificantes, o que torna, portanto, as mortalidades encontradas nas cepas 1, 4 e 5 irrelevantes.

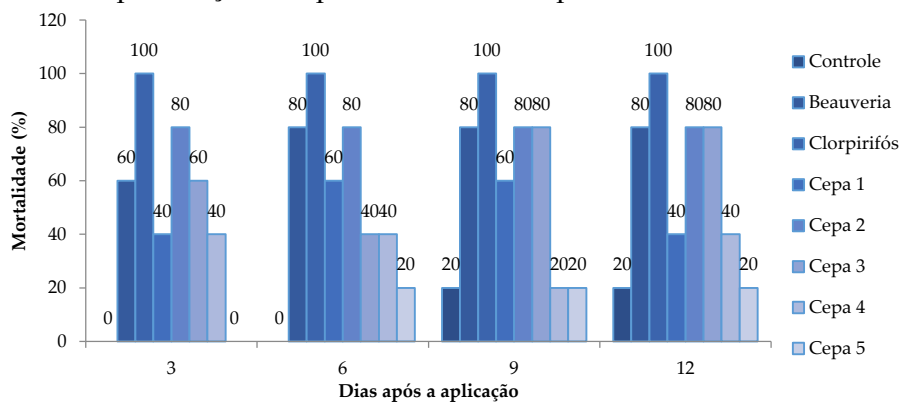
A respeito da cepa 3, a mortalidade obtida foi de 65% nos 12 dias de condução. Estudo desenvolvido por Alves (2011), em bioensaio utilizando *B. thuringiensis* para a mortalidade de coleópteros como o bicudo do algodoeiro e a broca do café, a mortalidade ideal considerada ideal foi acima de 70%. Ainda considerando os dados encontrados pelos pesquisadores citados anteriormente, a cepa de *Bacillus* spp 2 apresentou potencial de mortalidade superior a 70%, sendo mais eficaz que as demais cepas se comparando aos produtos com o princípio de Clorpirifós e o biológico à base do fungo *B. bassiana*.

De acordo com o estudo proposto por Martins (2009), que avaliou a mortalidade de *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro), COLEÓPTERO CURCULIONIDAE,

aplicando as dietas artificiais destas insetos estirpes de *B. thuringiensis*, foram encontrados 100, 95 e 88% de mortalidade em três isolados de Bt. (ZORZETTI, 2015). Além disso, ao se analisarem 34 isolados de *B.thuringiensis*, 12 estirpes se destacaram sendo consideradas como eficazes e tóxicas quando usadas para o controle de *A. grandis* e *H. hampei*, obtendo-se mortalidades que variaram entre 96% a 100% Dessa forma, surgem novos cenários em relação ao uso dessas bactérias no mercado de produtos biológicos. As bactérias do gênero *Bacillus* têm como característica grande capacidade de formar esporos, o que é favorável para a produção de produtos em escala comercial. Apesar de este gênero apresentar grande variação de características, muitas espécies são consideradas potenciais para o controle de insetos. Com a formação dos esporos, são produzidos antibióticos capazes de se multiplicarem no interior do inseto, causando graves infecções levando-os à morte. O efeito de mortalidade nas brocas que foi proporcionado por *Bacillus* spp. pode ser variável entre as famílias dos Coleópteros. A justificativa pode estar relacionada à espécie de inseto, características de virulência de cada bactéria e o efeito proporcionado pelo antibiótico em cada indivíduo (ANDRADE; HABIB, 1986; MENDELECK, 1993; PAGNO, 2009; ALENCAR, 2015).

Quando analisado o tempo de ação do produto (Figura 1), o tratamento com o princípio de Clorpirifós atingiu o auge da mortalidade das brocas nos primeiros três dias logo após a montagem do experimento. O fungo *Beauveria bassiana* e as cepas de *Bacillus* spp 2 e 3 apresentaram valores aproximados nos três primeiros dias após a aplicação. A mortalidade das brocas evoluiu aos 6 dias para o tratamento com *B. bassiana* e cepa de *Bacillus* 2, porém houve uma redução para a cepa de *Bacillus* 3. Ao nono dia de condução, a mortalidade nos três tratamentos citados se estabilizou. Não ocorreu mortalidade significativa nas cepas de *Bacillus* spp 1, 4 e 5. Estes tratamentos apresentaram estabilidade na mortalidade no sexto dia, sendo que as cepas 1 e 4 apresentaram queda na mortalidade no nono dia de condução. Contudo, a cepa de *Bacillus* spp 5 apresentou baixa mortalidade e se estabilizou no sexto dia de condução. O fungo *Beauveria bassiana* atingiu valores semelhantes de mortalidade em relação às cepas de *Bacillus* 2. Após 6 dias, o fungo controlou 80% das brocas apresentando grande eficiência quando comparada estatisticamente ao produto comercial Clorpirifós e a cepa de *Bacillus* spp 2.

**Figura 1:** Tempo de ação dos produtos testados para o controle da broca-do-café



Fonte: dados da pesquisa, 2020.

O fungo *B. bassiana* se caracteriza como um inseticida biológico de contato. Após entrar em contato com o inseto, os conídios do fungo penetram na cutícula do inseto através de uma combinação de pressão enzimática. Ao longo do processo de infecção, ocorre a liberação de toxinas no interior dos insetos responsáveis pelos danos nos hospedeiros. A morte do inseto ocorre devido à digestão de tecidos internos e pela ação de micotoxinas que são lançadas na hemolinfa do inseto (STURMER *et al.*, 2015).

#### 4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que o tratamento à base de Clorpirifós, de *Bacillus* spp 2 e de *Beauveria bassiana* são mais eficazes para o controle do inseto por ocasionarem maior mortalidade quando comparados com demais tratamentos.

#### REFERÊNCIAS

- ALENCAR, R. V. de. **Associação de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)**. 2015. 56 f. (Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2015.
- ALMEIDA, J. E. M. *et al.* Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 79-84, jan./mar. 2003.
- ALVES, M. de C. **Identificação e caracterização de genes cry3, vip1, vip2 E vip1/vip2 em isolados de *Bacillus thuringiensis* e toxicidade em larvas de *Anthonomus grandis* (Boheman, 1883) (Coleoptera: Curculionidae)**. 2011. 83 f. (Dissertação de Mestrado em Agronomia – Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, 2011.
- ANDRADE, C. F. S.; HABIB, M. E. M. Bactérias Entomopatogênicas. *In*: ALVES, S. B. *et al.* **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1986. cap. 7, p. 127-170.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Café**, v. 6 – Safra 2019, n. 1, jan. 2019 – Primeiro Levantamento, Brasília, p. 1-62, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>.
- CURE, J. R. *et al.* Fenologia e dinâmica populacional da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) relacionadas às fases de desenvolvimento do fruto. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3. Londrina, set. 1998.
- FERNANDES, F. L. *et al.* Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 8, p. 587-594, 2014.

HIROSE, E.; NEVES, P. M. O. J. Técnica para criação e manutenção da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 1, n. 31, p. 161-164, fev. 2002.

KROHLING, C. A. *et al.* Controle da broca-do-café com o inseticida verismo® em café arábica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 43, 2017, Poços de Caldas. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2017. 1-3 p.

MARTINS, E. S. **Estudo da atividade de proteínas Cry, derivadas de *Bacillus thuringiensis* ativas para inseto-praga do algodoeiro.** 2009. 158 f. (Tese de Pós-Graduação em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

MENDELECK, E. **Patologia e alterações histológicas causadas por *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* em cinco coleópteros pragas de cereais armazenados.** 1993. 116 F. Tese de Mestrado em ciências biológicas. UNICAMP, Campinas, 1993.

MOTA, L. H. C. **Estratégias de utilização de *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) para o manejo de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae).** 2017. 117 f. (Tese de Doutorado em Ciências – Área de Concentração: Entomologia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2017.

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

ONO, E. K.; CAMARGO, S. L. F.; HASS, A. Eficiência do inseticida Trebon 100 SC (Etofenproxi 100 g/L) em associação a formulação de enxofre elementar ou *Beauveria bassiana* no controle da broca do café (*Hypothenemus hampei*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 43., 2017, Poços de Caldas. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2017. p. 1-2

PAGNO, R. S. **Avaliação do potencial antagônico de isolados de *Bacillus* spp no controle de fungos fitopatogênicos, causadores de podridões no período pós-colheita da maçã.** Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, 2009.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. Manejo integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. **Inf. Agropecu.**, Belo Horizonte, v. 19, p. 17-25, 1998.

SANTINATO, R. *et al.* *Beauveria bassiana* koopert aplicada em lavoura de café, na ausência de fungicidas, para controle da broca do café, nas condições de sul de Minas e cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 43., 2017, Serra Negra. **Anais...** Brasília: Embrapa Café, 2017. p. 1-2.



STURMER, A. T. *et al.* Estabilidade de proteases produzidas pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Journal of Health Sciences**, [S. l.], v. 5/6, n. 1, p. 85-88, 2015.

VILLACORTA, A.; BARRERA, J. F. Nova dieta merídica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 405-409, 1993.

ZORZETTI, J. **Seleção e caracterização morfológica e molecular de isolados de *Bacillus thuringiensis* virulentos a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**. 2015. 97 f. (Tese de Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.