

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - ICIAG

MARCELO LUIZ DA MOTA

VIRULÊNCIA DE CONÍDIOS AÉREOS E BLASTÓSPOROS DE *Beauveria Bassiana* A
BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI), EM CONDIÇÕES
LABORATORIAIS

Monte Carmelo – MG

2024

MARCELO LUIZ DA MOTA

VIRULÊNCIA DE CONÍDIOS AÉREOS E BLASTÓSPOROS DE *Beauveria Bassiana* A
BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI), EM CONDIÇÕES
LABORATORIAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais – Mestrado, área de concentração em Agricultura e informações Geoespaciais, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

MONTE CARMELO – MG
2024

MARCELO LUIZ DA MOTA

VIRULÊNCIA DE CONÍDIOS AÉREOS E BLASTÓSPOROS DE *Beauveria Bassiana* A
BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI), EM CONDIÇÕES
LABORATORIAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Informações Geospaciais – Mestrado, área de concentração em Agricultura e informações Geospaciais, para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 28 de agosto de 2024.

Banca examinadora:

Dr^a. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho – UFU.

Dr^o. Flávio Lemes Fernandes - UFV

Dr^o. Edson Simão – UFU.

MONTE CARMELO
2024

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M917 Mota, Marcelo Luiz da, 1994-
2024 VIRULÊNCIA DE CONÍDIOS AÉREOS E BLASTÓSPOROS DE
Beauveria Bassiana A BROCA-DO-CAFÉ, Hypothenemus hampei
(FERRARI), EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS [recurso
eletrônico] / Marcelo Luiz da Mota. - 2024.

Orientadora: Vanessa Andaló.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Agricultura e Informações
Geoespaciais.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2024.678>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Agronomia. I. Andaló, Vanessa ,1977-, (Orient.).

II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em
Agricultura e Informações Geoespaciais. III. Título.

CDU: 631

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agricultura e Informações Geoespaciais				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	28/08/2024	Hora de início:	8 h	Hora de encerramento:	10h45min
Matrícula do Discente:	32212AIG007				
Nome do Discente:	Marcelo Luiz da Mota				
Título do Trabalho:	Virulência de conídios aéreos e blastósporos de <i>Beauveria bassiana</i> a broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari), em condições laboratoriais				
Área de concentração:	Informações geoespaciais e tecnologias aplicadas à produção agrícola				
Linha de pesquisa:	Sistemas Integrados de Produção Vegetal				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Manejo integrado de pragas a partir de métodos convencionais e geotecnologia				

Reuniu-se na sala virtual da plataforma Microsoft Teams, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais assim composta: Professores(as) Doutores(as): Vanessa Andaló Mendes de Carvalho, orientadora do candidato Marcelo Luiz da Mota; Edson Simão - ICIAG/UFU, Flávio Lemes Fernandes - UFV/Campus Rio Paranaíba.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu ao discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Andalo Mendes de Carvalho, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/08/2024, às 10:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Edson Simão, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/08/2024, às 14:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flávio Lemes Fernandes, Usuário Externo**, em 28/08/2024, às 14:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5648790** e o código CRC **FA8A6249**.

Referência: Processo nº 23117.056044/2024-68

SEI nº 5648790

AGRADECIMENTOS

A conclusão desta dissertação representa a realização de um sonho e a superação de muitos desafios. Agradeço a Deus pela força e discernimento concedidos. Isso não seria possível sem o apoio e a orientação de várias pessoas, às quais expresso meus mais sinceros agradecimentos.

Primeiramente, a minha família, por serem a base, por toda a motivação e encorajamento. De maneira muito especial a Valdir e Lenice, Irene, Pedro e Carolina, que não mediram esforços para que essa fase fosse concluída com sucesso. À Monara, minha amada companheira e braço direito em toda essa caminhada.

Aos colegas Jéssyca Gonçalves, Ana Carolina e João Paulo, pelo apoio e suporte na execução do trabalho em campo e no laboratório. Agradeço também a Juliana Ferreira por toda a contribuição técnica e por todos os ensinamentos e materiais compartilhados.

Agradeço o apoio adicional do Lucas Silva, pelas valiosas discussões técnicas, compartilhamento de conhecimentos e execução dos ensaios. Ao Fabio Janoni, por aceitar o convite para participar do projeto e por todas as contribuições técnicas. Ao professor André Firmino, por compartilhar grande parte dos isolados.

Ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais e a Universidade Federal de Uberlândia Campus Monte Carmelo, pela oportunidade e pela estrutura, sobretudo os Laboratórios de Entomologia e de Fitopatologia da UFU.

Agradeço profundamente à professora Vanessa Andaló, pela orientação, incentivo, e contribuições essenciais na execução deste projeto e na minha formação acadêmica.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais FAPEMIG pelo apoio financeiro e pela bolsa de mestrado concedida.

BIOGRAFIA

Marcelo Luiz da Mota, nascido em 31 de julho de 1994 em Luziânia, é Engenheiro Florestal pela Universidade Federal de Uberlândia campus Monte Carmelo. Durante a graduação, desenvolveu projetos de pesquisa de Iniciação Científica nas áreas de Entomologia e Silvicultura. Foi estagiário em desenvolvimento de produtos biológicos e multiplicação *on farm* de bioinsumos. Possui experiências profissionais na área de serraria e marcenaria e na coordenação de produção e pesquisa de microrganismos de interesse agrônomo na região MATOPIBA, onde atuou após a graduação, até ingressar no Programa de Pós-graduação em Agricultura e Informações Geoespaciais da UFU.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Cafeicultura.....	2
2.2 Broca-do-café	3
2.3 Manejo da broca-do-café	4
2.4 Fungos entomopatogenicos	6
2.5 O gênero <i>Beauveria</i>.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Criação da broca-do-café.....	8
3.2 Obtenção e preservação dos fungos entomopatogênicos	9
3.3 Avaliação da produção de conídios aéreos em meio sólido.....	11
3.4 Obtenção de blastósporos	11
3.5 Virulência de conídios e blastósporos	12
3.6 Virulência de diferentes concentrações de blastósporos	12
3.7 Análise estatística.....	13
4 RESULTADOS	13
4.1 Concentração de conídios aéreos em meio de cultura sólido.....	13
4.2 Virulência de conídios aéreos e blastósporos	14
4.3 Virulência de diferentes concentrações de blastósporos	15
5 DISCUSSÃO	16
6 CONCLUSÃO.....	18
REFERÊNCIAS	19

RESUMO

A demanda por produções agrícolas sustentáveis e alimentos sem resíduos químicos impulsiona o desenvolvimento de produtos biológicos. O objetivo deste estudo foi selecionar isolados de *Beauveria bassiana* para o controle de *H. hampei* e avaliar a patogenicidade de seus conídios aéreos e blastósporos. Foram avaliados 15 isolados, adquiridos a partir de insetos colonizados naturalmente, coletados em diferentes municípios. Selecionaram-se os isolados com maior produtividade de conídios aéreos em meio de cultura sólido. Os isolados selecionados foram avaliados quanto à patogenicidade de conídios aéreos e blastósporos, aplicados com Torre de Potter na concentração de 1×10^9 sobre fêmeas adultas de *H. hampei*. Também foi avaliada a mortalidade causada por suspensão de blastósporos nas concentrações de $1,7 \times 10^6$; $1,7 \times 10^7$; $1,7 \times 10^8$; $1,7 \times 10^9$ e sobrenadantes do fermentado líquido. Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições contendo dez insetos cada. Todos os isolados foram patogênicos, a mortalidade confirmada variou de 71,7 a 81,7 % para blastósporos e 43,3 a 56,7% para conídios aéreos. Os sobrenadantes não causaram mortalidade confirmada. A Concentração responsável por causar 50% de mortalidade confirmada (CL_{50}) por blastósporos foi de 1×10^8 . Os isolados Bv1 e Bv4 possuem patogenicidade e produtividade de conídios aéreos semelhantes à cepa comercial e possuem potencial no manejo integrado da broca-do-café.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, controle biológico, fermentação líquida, fungo entomopatogênico, inseticida biológico.

ABSTRACT

The growing demand for sustainable farming and pesticide-free food production has driven the development of biological control products. In this study, we aimed to select *Beauveria bassiana* isolates for controlling *H. hampei* and assess the pathogenicity of their propagules. Fifteen isolates were collected from naturally infected insects across various municipalities and evaluated for their yield of airborne conidia. The pathogenicity of the airborne conidia and blastospores of these isolates were then tested by applying them to adult female *H. hampei* using a Potter Tower spray tower at a concentration of 1×10^9 . We also assessed the mortality caused by blastospore suspension at various concentrations and liquid fermentation supernatants. The experiments followed a completely randomized design with six replicates per treatment, and each replicate contained ten insects. All isolates demonstrated pathogenicity, with mortality rates ranging from 71.7 to 81.7 and 43.3 to 56.7% for blastospores and airborne conidia, respectively. The supernatants did not cause mortality. The median lethal concentration (CL50) for blastospores was determined to be 1×10^8 . The Bv1 and Bv4 isolates exhibited strong pathogenicity and produced airborne conidia comparable with the commercial strain, indicating their potential for use in integrated pest management strategies.

Keywords: *Coffea arábica*, biological control, liquid fermentation, entomopathogenic fungus, bioinsecticide.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura possui importante função econômica e social, atua na geração de empregos e renda em diversos setores da agroindústria (Fehr et al., 2012). O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, dentre as principais dificuldades enfrentadas pelos cafeicultores estão os prejuízos causados pela presença de pragas e doenças. A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), é considerada uma praga chave na cafeicultura mundial, pois se alimenta dos frutos em todos os estádios de maturação (Damon, 2000).

Este inseto é capaz de reduzir o valor comercial dos grãos infestados, tendo em vista a redução do peso dos frutos e da qualidade da bebida (Zorzetti et al., 2012; Reis, 2002).

A dificuldade de controle da praga proporcionou um aumento na taxa de infestação de *H. hampei* nas regiões produtoras de café. Novas formas de controle precisaram ser desenvolvidas, impulsionando as pesquisas voltadas a novas moléculas ou formas de manejo para o controle da broca-do-café. Ainda hoje, os cafeicultores carecem de produtos com eficiência, menores custos e baixo impacto ambiental.

Uma estratégia de grande potencial no manejo integrado da broca-do-café é a utilização de fungos entomopatogênicos. A *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Hypocreales: Cordycipitaceae) é um dos fungos entomopatogênicos mais estudados e utilizados mundialmente no controle biológico (Faria e Wraight, 2007). Seu uso geralmente é feito de maneira inundativa, o que torna necessária uma produção em massa e a estabilização dos propágulos com adequada viabilidade e virulência (Jackson et al., 2010, Mascarin e Jaronski, 2016).

Existem diferentes métodos de produção massal, como a fermentação sólida, semissólida e a fermentação líquida, que podem resultar na produção de micélio, conídios aéreos, blastósporos ou conídios submersos, a depender do método e do meio de cultura (Jackson, 1997; Mascarin et al., 2015).

Conídios aéreos são os principais propágulos formulados como ativos de produtos à base de fungos entomopatogênicos (Faria e Wraight, 2007). São produzidos por meio de fermentações sólidas, geralmente utilizando cereais como principal substrato, em um processo oneroso de mão de obra e espaço (Mascarin et al., 2019).

A fermentação líquida é uma alternativa para otimizar a multiplicação de fungos de interesse agrícola, tornando o processo mais rápido, barato e eficiente (Iwanicki et al., 2023). Também conhecido como cultivo submerso, pode induzir o fungo *B. bassiana* a produzir

propágulos infecciosos como blastósporos e conídios submersos (Mascarin e Jaronski, 2016). Além disso, o produto fermentado líquido pode favorecer a morte dos insetos por conter enzimas e metabólitos (Jaronski e Mascarin, 2017).

No Brasil, existem 25 produtos microbiológicos registrados para o controle de broca-do-café, contendo *B. bassiana* como base da formulação, puro ou em adição à *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hypocreales: Cordycipitaceae, Clavicipitaceae), todos formulados a partir de conídios aéreos como ingrediente ativo (Agrofit, 2024). São poucas as informações sobre o uso de propágulos submersos no controle de *H. hampei*. Um melhor entendimento sobre a produção e virulência destes propágulos pode contribuir para que sejam formulados como ingrediente ativo em produtos comerciais (Gotti et al., 2023).

Além disso, a variabilidade genética dos fungos deve ser explorada a fim de que sejam identificados aqueles isolados com maior potencial de uso no controle das pragas, considerando a especificidade patógeno-hospedeiro (Ferreira et al., 2023). Os isolados mais adequados são aqueles que expressam uma combinação de maior produção, viabilidade e virulência dos propágulos.

Portanto, este estudo objetivou selecionar isolados nativos de *Beauveria* spp. com base na produção de conídios aéreos e comparar a virulência de seus respectivos conídios aéreos e blastósporos sobre fêmeas adultas de *H. hampei* em condições de laboratório.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cafeicultura

A cafeicultura se destaca, historicamente, no Brasil, por ser o maior produtor e exportador mundial de café (Conab, 2024). Com destaque para a região do Cerrado Mineiro, área consolidada pela adoção de uma cafeicultura moderna e tecnológica, que tem como resultado, altas produtividades e qualidade de bebida (Ortega, 2011).

No entanto, a depender dos sistemas de cultivo, o cafeeiro está sujeito ao ataque de diversas pragas e doenças, condições climáticas adversas ou desequilíbrio biológico, que podem causar danos à produção. São muitas as espécies de ácaros e insetos presentes nos cafezais, a maioria não causa prejuízos econômicos e são controladas por inimigos naturais, enquanto outras podem se tornar pragas (Bustillo, 1990).

Os três principais problemas fitossanitários da cultura do café no Brasil estão amplamente distribuídos, o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* Guérin-Méneville

(Lepidoptera: Lynetiidae), a ferrugem *Hemileia vastatrix* (Berk e Broome) (Basidiomycota, Pucciniales), que acometem as folhas do cafeeiro, e a broca-do-café (*H. hampei*) que atacam os frutos.

O preço do café está associado a parâmetros qualitativos. Portanto, fatores como a integridade, a composição química dos grãos, colheita, processamento e armazenamento podem afetar diretamente a qualidade da bebida (Lopes et al., 2000). A infestação de *H. hampei* prejudica a rentabilidade da cafeicultura, pois causa a redução no volume de grão colhido, além de afetar negativamente nas qualidades físicas e organolépticas dos grãos (Camilo, Olivares e Hernández, 2003).

Os besouros constroem galerias nos frutos, destruindo parcialmente ou totalmente as sementes. O ataque pode resultar na queda dos frutos, na redução do peso e da qualidade do café (Gallo et al., 2002). Além de que os furos podem servir como porta de entrada para micro-organismos que deterioram os grãos, potencializando os danos (Benassi, 1989).

O controle químico é o método mais utilizado no Brasil, mas o uso de agrotóxicos aumenta o risco de contaminação ambiental e pode ser incompatível com outros métodos de controle (Mendes et al., 2011).

Nas últimas décadas, têm crescido a importância e o uso do Manejo Integrado de Pragas (MIP), com destaque para as técnicas de controle biológico, que promovem uma maior sustentabilidade dos agrossistemas (Gomes et al., 2018). A recente preocupação quanto aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos tem impulsionado o desenvolvimento de estudos e produtos para o controle biológico na América Latina (Alves e Lopes, 2008).

2.2 Broca-do-café

Hypothenemus hampei possui como centro de origem a região da África, foi relatada pela primeira vez no Brasil em 1922, no estado de São Paulo, a partir de sementes infestadas, devido a uma falha no serviço quarentenário (Souza e Reis, 1997). Desde o seu descobrimento, tem sido relatado como um dos maiores percalços da cafeicultura mundial (Baker, 1999). É a praga que mais causa danos à produção da cafeicultura mundial (Vega et al., 2009; Pereira, 2020).

A broca-do-café, além de afetar tanto a produtividade, quanto a qualidade dos grãos, é uma das pragas de maior dificuldade de controle por suas características biológicas e permanência no interior dos frutos. Os danos se iniciam após as fêmeas adultas colonizarem os frutos. São construídos orifícios, geralmente na região da coroa dos frutos, onde ocorre a

oviposição. Após a eclosão, as larvas começam a consumir o endosperma das sementes (Vega, 2008).

Dentro dos frutos, ocorre o acasalamento entre irmãos, geralmente em uma proporção sexual de 10 fêmea para cada 1 macho (Vega et al., 2015) As asas dos machos são atrofiadas, forçando a permanência no fruto por todo o seu ciclo (Souza e Reis, 1997). Essa característica faz com que esses insetos sejam alvos difíceis de serem atingidos (Jaramillo et al., 2006). Já as fêmeas maduras e fecundadas conseguem buscar e colonizar novos frutos, podendo viver mais de 150 dias (Laurentino e Costa, 2004). A alta longevidade e fecundidade fazem com que os insetos consigam atravessar o período de entressafra e infestem os frutos do ano seguinte (Gallo et al., 2002).

Os ovos são brancos, com brilho leitoso e forma elíptica. O período larval é de aproximadamente 14 dias e a fase de pupa cerca de 7 dias. Os adultos são besouros pretos brilhantes, com as mandíbulas e as pernas de cor castanha, corpo cilíndrico e ligeiramente recurvado na região posterior. Os machos possuem cerca de 1,2 mm e as fêmeas com aproximadamente 1,7 mm (Souza e Reis, 1997).

2.3 Manejo da broca-do-café

Com o intuito de reduzir populações da broca-do-café, o controle deve ser feito pela integração de vários métodos, adotando o Manejo integrado de Pragas (MIP). Um programa de MIP para *H. hampei* deve incluir além do constante monitoramento da distribuição da praga no espaço e no tempo, práticas de controle cultural e controle biológico (Aristizábal et al., 2023).

A principal fonte para altas infestações das lavouras são os frutos que ficam no solo e na planta após a colheita (Bustillo et al., 1998). Quando necessário, a colheita deve ser realizada mais de uma vez, efetuando o chamado “repasse”, pois a broca sobrevive e reproduz nos frutos remanescentes. A erradicação de lavouras abandonadas e o plantio com maior espaçamento favorecem o controle da praga.

Baseado no comportamento dos insetos, o controle comportamental também pode ser incluído no manejo do inseto. Alguns modelos de armadilhas têm sido testados, alguns com materiais recicláveis, como garrafa Pet, preferencialmente de cor vermelha por ser mais atrativa (Fernandes et al., 2011).

Tendo em vista que as fêmeas de *H. hampei* são atraídas por compostos fenólicos (Silva et al., 2006), o uso de armadilhas de interceptação de voo, com iscas de álcool para captura e

monitoramento pode ajudar a identificar o período de trânsito da broca (Aristizábal et al., 2015). Além de permitir avaliar a distribuição espaço-temporal dos insetos na área.

Já o controle biológico atua na regulação de uma população por meio de seus inimigos naturais, buscando manter a densidade populacional de pragas abaixo do nível de dano econômico, com baixo impacto ambiental (Bortolotto et al., 2015; Junior et al., 2018).

O controle químico consiste no uso de inseticidas com ação efetiva no período de trânsito da população de insetos na lavoura. É realizado com a utilização de agrotóxicos sintéticos, que pode ser o meio mais eficiente em causar mortalidade nos insetos. Esse método é recomendado quando se observa de 3% a 5% de frutos atacados pela broca (Souza et al., 2013). Porém, seu uso inadequado pode resultar em surgimento de populações resistentes e consequente redução da eficiência do produto, além de eliminar a fauna benéfica e favorecer a contaminação do solo, água e seres vivos (Santos et al., 2013).

O controle biológico pode ser utilizado de maneira concomitante ao químico, desde que os últimos sejam seletivos à praga alvo (Parra e Zucchi, 2004). O MIP de *H. hampei* deve ser elaborado com objetivo de reduzir o uso de inseticidas químicos quanto for possível (Oliveira et al., 2006).

O uso de produtos biológicos favorece a redução no uso de inseticidas químicos (Morandi e Bettioli, 2009). Reduz o impacto ambiental da atividade e os riscos à saúde, favorecendo uma produção de alimentos com melhor qualidade e menos resíduos (Araújo Jr., et al., 2018). Contribui também para atender requisitos de certificações que agregam valor aos produtos agrícolas, reduzindo os resíduos químicos nos produtos agrícolas (Soares et al., 2009).

A eficácia, somada à rápida produção e ampla ação, torna os fungos entomopatogênicos, uma alternativa de grande potencial no controle microbiológico contra insetos (Rocha et al., 2021). Esses organismos controlam populações de insetos praga em ambientes naturais e em ecossistemas agrícolas, sendo importantes agentes do equilíbrio ecológico (Alves et al., 1998).

Apesar dos desafios na produção e registro de bioinseticidas, o mercado segue em aquecimento. O setor de bioinsumos é um dos que mais tem crescido e recebido investimentos em pesquisa, impulsionando a agricultura e a indústria. (Almeida et al., 2019)

Existem, atualmente no Brasil, 47 produtos registrados para o controle de *H. hampei* na cultura do cafeeiro. A maior parte deles utilizam como ingrediente ativo: acetamiprido (neonicotinóide) + bifentrina (piretroide); Clorpirifós (organofosforado); Azadiractina (Tetranortriterpenoide); Ciantraniprole (antranilamida); Etanol (álcool alifático) + metanol (álcool alifático); Acetamiprido (neonicotinóide) + fenpropatrina (piretroide); Acetamiprimido (neonicotinoide) + bifentrina (piretroide); Acetamiprimido (neonicotinoide) + lambda-

cialotrina (piretroide); Espinosade (espinosinas); Etofenproxi (éter difenílico); Ciantraniprole (antranilamida); Metaflumizone (semicarbazone); Abamectina (avermectina) + clorantroprole (antranilamida); Etiprole (fenilpirazol); Lufenurom (benzoiluréia) + profenofós (organofosforado); Azadiractina (tetranortriterpenóide); Isocloseram (isoxazoline); Malationa (organofosforado); Indoxacarbe (oxadiazina) + novalurom (benzoiluréia); Bifentrina (piretroide) + clorantroprole (antranilamida) (Agrofit, 2024).

Já os produtos microbiológicos somam 27 registros para o controle de *H. hampei*, contendo *B. bassiana* como base da formulação, puro ou em adição à *Metarhizium anisopliae*, todos eles formulados a partir de conídios aéreos como ingrediente ativo (Agrofit, 2024). O isolado IBCB66 compõe grande parte desses produtos, além de outros, registrados também para o controle de insetos praga de outras culturas agrícolas (Agrofit, 2024). *Beauveria bassiana* é considerado o agente natural de controle microbiano com maior potencial de uso contra essa praga (La Rosa et al., 1997). A patogenicidade de isolados de *B. bassiana* foi relatada contra *H. hampei* em vários estudos (Souza, 2019).

2.4 Fungos entomopatogênicos

A maior parte dos fungos entomopatogênicos pertencem a ordem Hypocreales, são capazes de produzir diversas estruturas e metabólitos secundários que favorecem a virulência (Zhang et al., 2020). São comumente observados, causando epizootias entre populações de artrópodes, despertando o interesse do uso destes microrganismos no controle de espécies de importância econômica (Khan et al., 2012). Algumas espécies podem ser encontradas causando infecções naturais em *H. hampei* em campo (Mota, 2017).

Os fungos possuem um amplo espectro de ação, capacidade de infectar o hospedeiro em todos os estádios de desenvolvimento, rápida multiplicação e eficiente dispersão no ambiente (Khan et al., 2015). Foram os primeiros agentes biológicos a serem usados no controle de pragas agrícolas em grande escala (Delgado e Murcia-Ordóñez, 2011).

A maioria dos produtos microbiológicos à base de fungos, são formulados a partir de *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Cordyceps fumosorosea* (Wize, 1904) (Hypocreales: cordycipitaceae) e *Lecanicillium* (W. Gams e Zare, 2001), que são os mais estudados para esta finalidade (Faria e Wraight, 2007). Os conídios aéreos são os propágulos mais utilizados como ativos de produtos formulados, são geralmente multiplicados em substratos sólidos como cereais (Leite et al., 2003), embora exista uma tendência para a substituição dos sistemas

tradicionais de produção de conídios aéreos por sistemas de produção mais eficientes para atender à crescente demanda do mercado.

A fermentação líquida é uma alternativa que possibilita reduzir os riscos de contaminação, controlar diversos parâmetros do cultivo, melhorar o escalonamento e reduzir o custo de produção (Iwanick et al., 2023). Resulta na produção de outros propágulos com características diferentes dos conídios aéreos, a depender do fungo, do meio de cultura e das condições de fermentação.

De maneira genérica, a ação dos fungos entomopatogênicos inclui os estágios de adesão, germinação, formação de apressório, formação de haustório, penetração, colonização e dispersão (García et al., 2008). A infecção se inicia quando o inseto ingere ou entra em contato com o propágulo (Alves et al., 2008). O fungo produz metabólitos secundários que auxiliam no processo de colonização e infecção, além de suprimir o desenvolvimento de outros fungos naquele local (Chandler, 2017).

2.5 O gênero *Beauveria*

Fungos entomopatogênicos do gênero *Beauveria* (Hypocreales: Cordycipitaceae) são mundialmente estudados e utilizados no controle biológico de pragas agrícolas (Zimmermann, 2007). *Beauveria bassiana* é considerado o agente de controle microbiano mais promissor no controle da broca do café (La Rosa et al., 1997). Já foi observado causando a morte de *H. hampei* em diversos países e relatado em várias regiões do Brasil (Alves, 1998).

Beauveria bassiana é o agente causal de muscardine branca em insetos (Pauli et al., 2011). O cadáver de espécimes atacado geralmente fica coberto por uma camada branca de micélio e conídios sobre o tegumento e entre as articulações (Castillo et al., 2012). É capaz de acometer um amplo espectro de hospedeiros, principalmente pertencentes às ordens Coleoptera, Diptera, Lepidoptera e Hemiptera (Pedrini et al., 2013).

Produtos comerciais, à base de conídios aéreos de *B. bassiana*, estão disponíveis no Brasil para o controle de muitas espécies de insetos praga (Almeida, 2020). Esses propágulos são geralmente fermentados em substratos sólidos, nutritivos e estéreis (Jaronski e Mascarin, 2017). O arroz é o mais comum, tendo em vista o custo-benefício em fermentações sólidas de fungos para a obtenção de conídios aéreos (Ottati-De-Lima, et al., 2010). As maiores limitações deste processo consistem no maior custo de produção e maior tempo de fermentação, quando comparado com a fermentação líquida (Mascarin et al., 2015).

A fermentação líquida torna o processo mais rápido, eficiente e barato (Iwanicki et al., 2023). Porém, os propágulos produzidos via cultivo líquido de *B. bassiana*, podem ser hifas, conídios submersos e/ou blastósporos. Esses dois últimos podem apresentar virulência semelhante ou superior aos conídios aéreos (Bernardo et al., 2018; Basso, 2023). Outros estudos ressaltam a capacidade dos blastósporos colonizarem plantas endofiticamente, podendo induzir mecanismos de defesa das plantas (Sui et al., 2022).

Na natureza, os blastósporos são formados apenas internamente aos insetos hospedeiros após a infecção, agindo diretamente na sua morte, enquanto os conídios aéreos são formados externamente sobre os cadáveres dos insetos contaminados para fins de propagação no meio ambiente (Roy et al., 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia (LABEN), Campus Monte Carmelo. Foi estabelecida a criação massal de *H. hampei*, para obtenção de uma quantidade suficiente de insetos, em condições de sanidade e idades semelhantes para utilização nos experimentos (Ferreira et al., 2023).

3.1 Criação da broca-do-café

A criação foi iniciada a partir da coleta de frutos brocados em áreas de cafeeiro com alta infestação e ausência de aplicação de fungos entomopatogênicos. Os frutos foram desinfestados com hipoclorito de sódio (NaClO) 5% por três minutos, em seguida, lavados em água corrente e secos em papel toalha.

As fêmeas adultas, com aspecto vigoroso, foram acondicionadas em 20 espécimes por recipientes de polietileno de 30 mL fechados com tampa contendo cubos de dieta artificial. Os frascos foram mantidos em sala com temperatura aproximadamente 27°C e mantidas no escuro. Após 90 dias, os insetos foram transferidos para novos recipientes com o objetivo de aumentar a população. Insetos com indícios de contaminação foram imediatamente descartados.

A alimentação dos insetos foi constituída pela dieta de Portilla (1999) modificada. Composta por 1 L de água, 10g de ágar, 150g de café cru moído, 10g de sacarose, 15g de caseína, 15g de levedo de *Candida utilis*, 10mL de etanol, 1g de ácido benzoico, 0,5g de vitaminas de vanderzant, 0,8g de Sais de Wesson, 1mL de formaldeído 37% e 1,5g de benomil.

Os ingredientes foram autoclavados separadamente e, posteriormente, homogeneizados. A mistura foi vertida em recipiente plástico, cortada em cubos de aproximadamente 1 cm³, em seguida foi seca em estufa à 55° C por cerca de 10 horas até atingir umidade entre 63% a 68% e exposta à luz UV da capela de fluxo laminar por 20 minutos e disposta em geladeira (Ferreira et al., 2023).

3.2 Obtenção e preservação dos fungos entomopatogênicos

Os isolados avaliados são originários de áreas de cafeicultura sem uso de produtos biológicos, de diferentes municípios de Minas Gerais (Figura 1). Foram coletados espécimes de *H. hampei* naturalmente acometidos por muscardine branca, com exceção do isolado IBCB66, que é uma cepa comercial usualmente encontrada em produtos formulados no Brasil e é proveniente do Instituto Biológico de São Paulo, SP (Tabela 1). Foram realizados isolamentos diretos até a obtenção de culturas monospóricas. A identificação a nível de gênero foi realizada com base nas características morfológicas das colônias pela observação dos conidióforos, conídios e hifas (Rehner et al., 2011).

Os fungos foram repicados em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados em BOD a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 12h de fotoperíodo até a completa conidiogênese. Fragmentos de meio de cultura colonizados em plena esporulação foram preservados em solução de água destilada e glicerol 10% e armazenados em criotubos de 2 mL em freezer a -80°C.

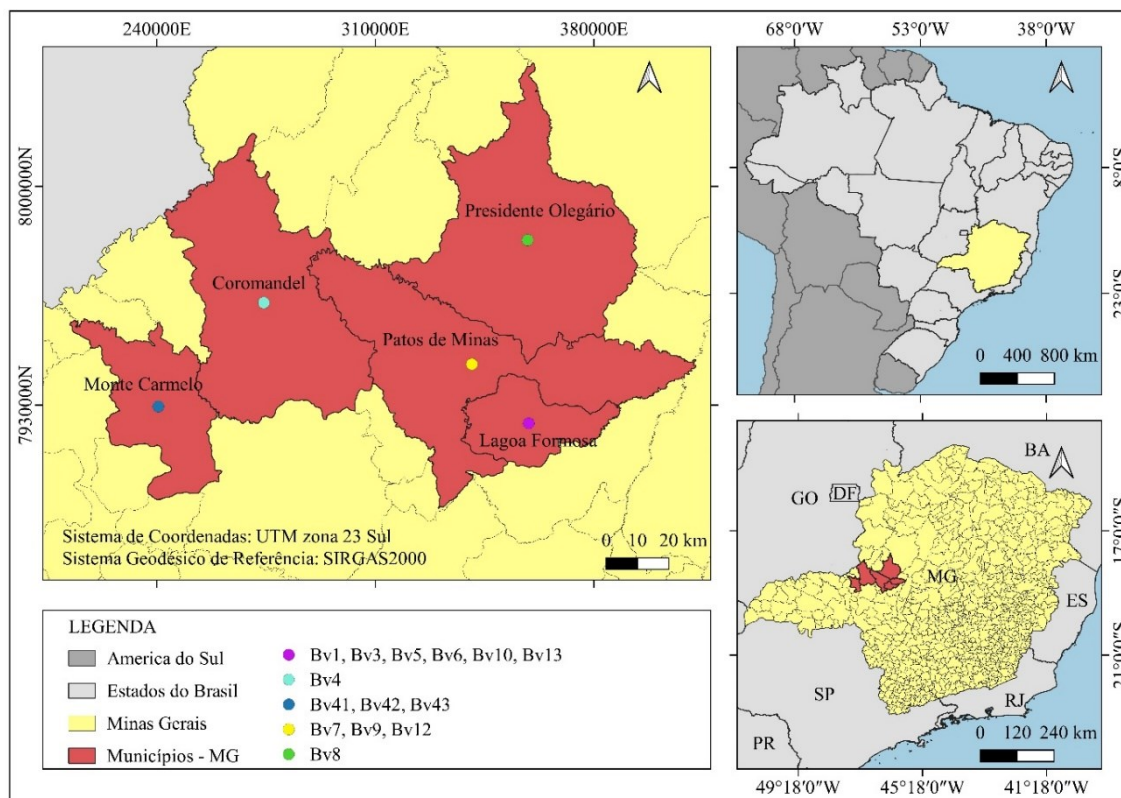


FIGURA 1 - Local de origem dos isolados de *Beauveria* sp. coletados em lavouras de café, sem uso de produtos biológicos, em diferentes municípios de Minas Gerais.

TABELA 1 - Origem e hospedeiros dos isolados fúngicos utilizados em experimento para controle da broca-do-café em laboratório. Monte Carmelo, MG, 2024.

Código do Isolado	Hospedeiro	Espécie	Origem
IBCB66	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	São José do Rio Pardo - SP
Bv1	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv3	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv4	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Coromandel - MG
Bv5	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv6	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv7	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Patos de Minas - MG
Bv8	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Presidente Olegário - MG
Bv9	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Patos de Minas - MG
Bv10	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv12	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Patos de Minas - MG
Bv13	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Lagoa Formosa - MG
Bv41	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Monte Carmelo - MG
Bv42	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Monte Carmelo - MG
Bv43	<i>H. hampei</i>	<i>Beauveria</i> sp.	Monte Carmelo - MG

3.3 Avaliação da produção de conídios aéreos em meio sólido

Os fungos foram repicados em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA e incubados por 15 dias a $27 \pm 2^\circ \text{C}$ em fotoperíodo de 12 horas em B.O.D. O ensaio com os 15 isolados foi realizado em triplicata e delineamento inteiramente casualizado, para cada placa foi determinada a concentração de conídios por mL.

Após a conidiogênese, o meio de cultura colonizado foi superficialmente lavado, raspando os conídios aéreos com 10 mL de água estéril adicionada de Tween 20 a 0,02 % e acondicionados em tubos tipo Falcon. A concentração de conídios aéreos foi quantificada em microscópio óptico de luz com auxílio de câmara de Neubauer, conforme Alfenas e Mafia (2007).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade com a utilização do programa Speed Stat (Carvalho et al., 2020) a fim identificar os isolados que mais produziram conídios aéreos em meio de cultura BDA.

3.4 Obtenção de blastósporos

A fermentação líquida para a produção de blastósporos foi realizada em frascos Erlenmeyer de 250 mL, com 100 mL do meio de cultura, inoculados com seis discos de meio de cultura BDA plenamente colonizados. Os erlenmeyers foram fechados com rolha de algodão hidrófobo e incubados em *shaker* orbital a 250 rpm por 4 dias em temperatura média de 28°C .

A composição por litro do meio de cultura líquido foi de: 16g de glicose, 3,64g de extrato de levedura, 4g de KH_2PO_4 , 0,8g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,6g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,016g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,014g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Mascarin et al., 2014).

Após o desenvolvimento do fungo, foi feita a filtragem em dupla camada de gaze para separar o micélio. O fermentado líquido foi transferido para tubos Falcon para a padronização da concentração com câmara de Neubauer e utilização nos ensaios. Os sobrenadantes foram coletados na parte superior da suspensão, após centrifugação dupla por 5 minutos a 3000 rpm.

3.5 Virulência de conídios e blastósporos

Os três isolados selecionados no teste de produção de conídios aéreos foram repicados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados em B.O.D. à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por 15 dias até o completo desenvolvimento das colônias.

Os testes de patogenicidade com conídios aéreos e blastósporos foram realizados em datas diferentes, sendo os dois experimentos constituídos por quatro tratamentos (três isolados fúngicos e o controle) e seis repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

Para cada repetição, foram utilizadas dez fêmeas adultas de *H. hampei*. As suspensões contendo os diferentes propágulos foram padronizadas em concentração de 1×10^9 com auxílio do hemacitômetro do tipo Neubauer e homogeneizadas antes da aplicação. Para o controle, foi aplicada solução de água com Tween 20 a 0,02 %.

Foram utilizados insetos com o mesmo tempo de desenvolvimento e que apresentavam comportamento e morfologia normais. Em seguida, 3 mL de cada suspensão foi pulverizada com Torre de Potter sobre os insetos com pressão de 15 lb pol⁻² e deposição de calda de 1,5 mg cm⁻² em placa de Petri (90 x 15 mm) contendo uma folha de papel de filtro qualitativo no fundo e um pedaço de dieta de aproximadamente 1 cm³ em cada unidade amostral. As placas foram vedadas com Parafilm[®] e incubadas em B.O.D à $27 \pm 2^\circ\text{C}$.

A mortalidade foi avaliada 5 dias após a inoculação. Os insetos mortos foram contabilizados e, em seguida, acondicionados em câmara úmida para a exteriorização do micélio para a confirmação da morte causada pelo entomopatógeno.

3.6 Virulência de diferentes concentrações de blastósporos

A fermentação líquida foi realizada conforme o item 3.4 para obtenção dos blastósporos. A concentração da suspensão foi determinada por meio de quantificação em câmara de Neubauer e, posteriormente, diluída para obter as concentrações utilizadas no experimento (Alfenas e Mafia, 2007).

O delineamento foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram constituídos por suspensões de blastósporos nas concentrações de $1,7 \times 10^6$; $1,7 \times 10^7$; $1,7 \times 10^8$; $1,7 \times 10^9$, pelos sobrenadantes dos três isolados e pelo controle contendo água destilada estéril. Cada tratamento possuiu seis repetições com dez insetos cada. Em Torre de Potter, foram pulverizados 2 mL da suspensão, correspondendo a um valor de deposição de calda de 1,0 mg cm², sobre fêmeas adultas de *H. hampei* mantidas em placa de Petri forradas internamente com uma folha de papel

qualitativo e 1 cm³ de dieta artificial. A mortalidade foi avaliada após 7 dias e a morte confirmada pela colonização dos insetos em câmara úmida.

3.7 Análise estatística

Os dados da concentração média de conídios produzidos pelos quinze isolados foram submetidos à Análise de Variância (teste de F), após o atendimento das pressuposições de normalidade dos resíduos, pelo teste de Shapiro-Wilk, e homogeneidade de variâncias, pelo teste de Levene, ambos a 5 % de probabilidade. Se significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Os dados de mortalidade confirmada, tanto para o teste de virulência dos conídios aéreos e blastósporos como para o teste de concentrações de blastósporos, foram ajustados a um Modelo Linear Generalizado (MLG) com distribuição binomial e função de ligação logit, onde a significância das suspensões foi verificada pelo teste de Qui-Quadrado ($X^2 < 0,05$) utilizando-se a análise de deviance (ANODEV). No teste de virulência, as médias estimadas foram comparadas pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade, com os intervalos de confiança ajustados pelo método de Šidák. Para o teste de concentrações, também foi realizado o teste de Tukey para comparação entre as médias estimadas para a dose zero (testemunha) e dos tratamentos com sobrenadante em relação às demais doses, assim como modelos de regressão foram calculados para as doses do estudo. As análises foram executadas no software estatístico R, versão 4.0.0.

RESULTADOS

4.1 Concentração de conídios aéreos em meio de cultura sólido

A produtividade média de conídios aéreos foi diferente entre os isolados avaliados (p-valor < 0,001), variando de 5,33 a 38,33 x 10⁶ conídios por mL (Tabela 2). Dentre os isolados testados, 11 foram considerados mais produtivos em relação aos conídios aéreos, com destaque para os isolados Bv1, Bv4 e IBCB66. Esses foram selecionados para os experimentos seguintes de patogenicidade contra os insetos do estudo.

O isolado Bv1 apresentou maior produção, o Bv4 e o IBCB66, produções estatisticamente semelhantes ao Bv1, mas que diferiram dos isolados menos produtivos pelo

teste de Tukey. Além disso, os três isolados são provenientes de diferentes regiões de coleta (Tabela 1).

TABELA 2 - Concentração de conídios de quinze isolados de *Beauveria bassiana* coletados em lavouras de café em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) ($\times 10^6/\text{mL}^{-1}$). Monte Carmelo, MG, 2024.

Tratamento	Concentração (conídios $\times 10^6/\text{mL}^{-1}$)
Bv1	38,33 \pm 0,19 a
Bv4	35,67 \pm 0,44 ab
IBCB66	35,67 \pm 0,52 ab
Bv10	32,00 \pm 0,44 abc
Bv13	30,33 \pm 0,33 abc
Bv5	27,33 \pm 2,23 abc
Bv9	26,00 \pm 0,58 abc
Bv6	25,33 \pm 2,69 abc
Bv43	25,00 \pm 7,1 abc
Bv12	20,00 \pm 0,26 abc
Bv42	17,33 \pm 0,31 abc
Bv8	10,33 \pm 0,35 bc
Bv3	9,67 \pm 0,74 bc
Bv7	6,67 \pm 0,45 c
Bv41	5,33 \pm 0,29 c

Isolados de *Beauveria* sp. obtidos de lavouras comerciais de café que não utilizavam produtos biológicos, sendo Bv1, Bv3, Bv5, Bv6, e Bv10 provenientes de Lagoa Formosa (MG), Bv4 de Coromandel, Bv41, Bv42 e Bv43 de Monte Carmelo (MG), Bv7, Bv9 e Bv12 de Patos de Minas (MG), Bv8 de Presidente Olegário (MG) e IBCB66 de São José do Rio Pardo (SP); Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. M \pm DP(M).

4.2 Virulência de conídios aéreos e blastósporos

Os três isolados avaliados foram patogênicos à broca-do-café. A mortalidade causada entre os tratamentos foi significativa tanto para os conídios aéreos (p -valor $< 0,001$), como para os blastósporos (p -valor $< 0,001$), observando-se pelo teste de Tukey diferenças na mortalidade confirmada apenas dos isolados testados com a testemunha controle. Foi notada uma variação de 71,7 a 81,7 % em relação à mortalidade causada pelos blastósporos e de 43,3 a 56,7% por conídios aéreos (Tabela 3).

TABELA 3 - Mortalidade confirmada de *Hypothenemus hampei* (%) após a aplicação de conídios aéreos e blastósporos de três isolados de *Beauveria bassiana* (concentração 1×10^9). Monte Carmelo, MG, 2024.

Tratamento	Conídios	Blastósporos
BV1	56,7 ± 6,40 a	75,0 ± 5,59 a
IBCB66	53,3 ± 6,44 a	81,7 ± 5,00 a
BV4	43,3 ± 6,40 a	71,7 ± 5,82 a
Testemunha	0,0 ± 0,00 b	0,0 ± 0,00 b

Isolados de *Beauveria* sp. obtidos de lavouras comerciais de café que não utilizavam produtos biológicos, sendo Bv1 proveniente de Lagoa Formosa (MG), IBCB66 de São José do Rio Pardo (SP) e Bv4 de Coromandel (MG). Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. M ± DP(M).

4.3 Virulência de diferentes concentrações de blastósporos

Diferenças na mortalidade confirmada foram verificadas apenas para as diferentes concentrações de blastósporos testadas ($X^2 = 250,78$; p-valor < 0,001), não diferindo-se entre os isolados. Os insetos do tratamento controle permaneceram vivos. Uma regressão exponencial entre a média da concentração de blastósporos dos isolados (na escala log) e a mortalidade confirmada foi ajustada às concentrações ($R^2 = 98,99\%$), incluindo-se o tratamento controle e excluindo-se o tratamento com sobrenadante (Figura 2). Pelo gráfico, observou-se a ação entomopatogênica dos propágulos, indicando que os valores de mortalidade apresentam um incremento exponencial, à medida que se aumentou a concentração, não sendo observado um platô, ou seja, não foi verificada uma estabilidade na mortalidade (ou até queda) com o aumento das doses testadas.

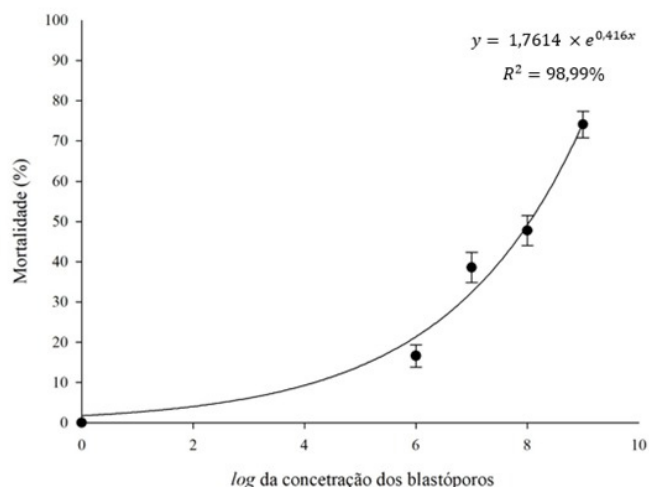


FIGURA 2 - Mortalidade confirmada (%) causada por diferentes concentrações de blastósporos de *Beauveria bassiana* em adultos de *Hypothenemus hampei*.

A concentração de blastósporos responsável por causar 50% de mortalidade confirmada (CL_{50}) foi de 1×10^8 . A curva exponencial indica que maiores concentrações poderiam causar índices de mortalidade maiores (Figura 2), sendo necessária a realização de estudo futuros. Os sobrenadantes causaram mortalidades baixas aos insetos (1,67% para IBCB, 5,00% para Bv4 e 8,33% para Bv1) que foram consideradas estatisticamente iguais à testemunha, relacionando o resultado dos tratamentos exclusivamente aos propágulos testados.

DISCUSSÃO

Os testes de concentração, viabilidade, pureza e virulência são os mais comuns em produtos microbiológicos (Almeida et al., 2019). Para que seja viável a multiplicação em grande escala, é essencial que os isolados apresentem elevada virulência combinada com alta produtividade em meio de cultura (Basso et al., 2023). Para Alves (1998), a quantidade de conídios e o índice de germinação estão relacionados diretamente com o potencial de inóculo, sendo importante fator de seleção entre microrganismos de uso inundativo.

Muitos estudos verificaram a mortalidade causada por conídios aéreos de *Beauveria* spp. contra *H. hampei*, mas poucos trabalhos avaliaram a virulência de propágulos submersos contra este inseto. Embora a capacidade infectiva de blastósporos de *B. bassiana* já tenha sido demonstrada sobre importantes pragas agrícolas como, mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) (Mascarin et al., 2015, Corrêa et al., 2020, Iwanicki et al., 2023), são poucas as informações sobre a patogenicidade de blastósporos contra a broca-do-café.

Saldanha et al. (2022) observaram produtividades variando de $17,32 \times 10^6$ a $29,46 \times 10^6$ esporos/mL para isolados de *Beauveria*, quando o isolado IBCB66 produziu $26,16 \times 10^6$ conídios/mL em meio de cultura BDA, após 15 dias de incubação. Enquanto Rodrigues et al. (2016) avaliando isolados do mesmo gênero, encontraram valores variando entre 28×10^6 e 139×10^6 conídios por mL, ambos ressaltaram a grande variabilidade deste parâmetro entre os isolados.

Na seleção das cepas com maior potencial de uso agrônômico, é necessário confrontar dados de produtividade de propágulos viáveis com tolerância à radiação UV e altas temperaturas (Rojas, 2023). Por mais clara que seja a importância da virulência, a capacidade

de esporulação e o potencial epizootico têm importâncias equivalentes em características desejáveis em produtos comerciais (Charley, 1997).

Nos estudos de Neves e Hirose (2005) e Sousa e Cunha (2022), não houve relação entre a produção de conídios em cadáveres dos insetos e a virulência dos isolados. Enquanto Geremew (2024) observou que entre os isolados de *B. bassiana* e *Metarhizium robertsii*, aqueles que apresentaram maiores rendimentos de conídios e maiores taxas de germinação, foram também os mais virulentos contra *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae).

Nossos resultados corroboram com os de Pereira et al., (2021) que constataram em estudo de campo que os blastósporos do isolado IBCB66 podem ser tão infecciosos quanto os conídios aéreos contra de *H. hampei*. Corrêa et al. (2020) observaram pulverizando com torre de Potter que blastosporos foram mais eficientes que conídios aéreos em causar a morte de *B. tabaci*, *S. frugiperda* e *C. includens*. Enquanto Iwanicki et al., (2023) mostraram que blastósporos e conídios submersos causaram maior mortalidade em *A. grandis* e *S. frugiperda* comparados com os conídios aéreos.

Os blastósporos germinam mais rápido que os conídios aéreos e podem apresentar patogenicidade equivalente ou superior, além da produção massal ser mais eficiente por meio do cultivo submerso automatizado (Gotti, 2023). Essa é uma característica desejável para o uso comercial de estruturas infecciosas de microrganismos e está associada diretamente ao sucesso do processo de infecção (Mascarin et al., 2015). A fermentação sólida geralmente leva de 10 a 14 dias para obter os conídios aéreos (Mascarin et al., 2019). Neste estudo, os blastósporos foram obtidos após 4 dias de fermentação líquida.

A desvantagem é que por serem células vegetativas de parede menos espessa que a dos conídios aéreos, os blastósporos são menos tolerantes à dessecação e a estresses abióticos (Corrêa et al., 2020). Estudos que desenvolvam formulações adequadas podem conferir proteção e aumentar a viabilidade dos produtos formulados com estes propágulos (Kim et al., 2013). Iwanicki et al. (2020) e Mascarin et al. (2021) alcançaram grandes melhorias em relação à tolerância, à dessecação e à estabilidade dos blastósporos durante o tempo de prateleira.

Outros estudos também ressaltam a capacidade dos blastósporos colonizarem plantas endofiticamente, podendo induzir mecanismos de defesa das plantas contra pragas e doenças (Sui et al., 2022). Novos estudos relacionados à eficiência e à formulação poderão contribuir com a utilização destes propágulos como produtos formulados (Basso et al., 2023).

Neves e Hirose (2005) selecionaram 11 isolados de *Beauveria* com mortalidade confirmada acima de 60% na concentração de $2,5 \times 10^7$ conídios aéreos/mL 6 dias após aplicação e CL_{50} variando de $2,5$ a $6,2 \times 10^7$ conídios/mL, ressaltando que o uso de um grupo

de isolados com potencial de alta patogenicidade e diversidade de características de interesse pode favorecer o sucesso da estratégia de estabelecimento do fungo em campo.

Ferreira et al. (2023) avaliaram a eficiência de 26 isolados de fungos entomopatogênicos por imersão em concentração de 1 a 3×10^8 conídios/mL, com base na mortalidade confirmada após 7 dias. Os autores destacaram três isolados com mortalidade acima de 85% e com potencial de uso no controle da broca-do-café quando comparados com as cepas comerciais. O menor valor de CL_{50} observado por eles foi de $4,6 \times 10^5$ conídios/mL para o isolado IBCB264 e o isolado IBCB66 apresentou CL_{50} de $8,60 \times 10^7$.

A produção dos bioinseticidas se inicia a partir do isolamento de cepas fúngicas. A triagem dos isolados é importante para que sejam identificados aqueles com maior potencial para a finalidade em estudo. Além disso, o fator econômico é de grande relevância para o desenvolvimento, registro e comercialização de um produto. A fermentação líquida torna o processo mais rápido, eficiente e barato (Iwanicki et al., 2023).

CONCLUSÃO

Os conídios aéreos e os blastósporos dos isolados de *B. bassiana* Bv1 e Bv4, selecionados neste estudo, apresentaram virulência semelhante à cepa comercial IBCB66 e possuem potencial de uso no controle microbiológico de *H. hampei*. Os blastósporos de *B. bassiana* produzidos por fermentação líquida dos isolados selecionados são propágulos infectantes e virulentos à broca-do-café.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. **Brasil**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas, 2024.
- ALFENAS, A. C.; MAFI, R. G. Métodos em Fitopatologia. **Universidade Federal de Viçosa**. Viçosa, p. 382, 2007.
- ALMEIDA, J. E. M., LEITE, L.G.; FILHO, A. B. Entomopathogenic Fungi. *In*: Natural enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems. **Biological Control and Functional Biodiversity**. Switexerland, p. 223-233.
- ALMEIDA, J. E. M. DE. Biofábricas para produção de micopesticidas no Brasil: oportunidades de negócio e inovações / bio-factories for the production of mycopesticides in Brazil. **Brazilian Journal Animal Environmental Research**. Curitiba, v. 3, n. 3, p 2544-2557, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.34188/bjaerv3n3-162>.
- ALVES, S. B. 1998. Fungos entomopatogênicos. p. 289-381. *In*: Alves, S., Controle microbiano de insetos. São Paulo, **FEALQ**.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba, **FEALQ (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz)**, v. 14, p.414, 2008.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, S. A.; TAMAI, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina, p 69-110. *In*: Alves, S. B.; Lopes, R. B. (Ed.). Controle microbiano de pragas na América latina. Piracicaba: **FEALQ**, 2008.
- ARAÚJO, I. S.; OLIVEIRA, G. M.; LACERDA, L. B.; BATISTA, J. L.; LOPES, G. N. Perspectivas atuais da utilização de bioinseticidas em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 7, n. 3, p. 20-27. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/ZENODO.3575253>.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; JIMÉNEZ, M.; BUSTILLO, A. E.; TRUJILLO, H. I.; ARTHUS, S. P. Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol-baited funnel traps in coffee farms in Colombia. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 381-383, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1653/024.098.0165>.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; JOHNSON, M. A.; MARINO, Y. A.; BAYMAN, P.; WRIGTH, M. G. Establishing and integrated Pest Management Program for Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) in Hawaii and Puerto Rico Coffee Agroecosystems: Achievements and Challenges. **Insects**, v. 14, n. 7, p. 603, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/insects14070603>.
- BAKER, P. S. **La broca del café em Colombia. Cenicafé-CABI Bioscience. Informe final del proyecto MIP para el café, Chinchina**, p. 154, 1999.
- BASSO, V.; DILLON, A. J. P.; TOLDI, M.; KHAMER, C. G.; BONATO, C. V. *Beauveria bassiana* submerged spores for control of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch

(Acari: Tetranychidae)): Production, stability, and virulence. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 1, p. 23, 2023. DOI: [10.1007/s00203-023-03759-7](https://doi.org/10.1007/s00203-023-03759-7)

BENASSI, V. L. R. M. *A broca-do-café*. Vitória.: EMCAPA, 1989.

BERNARDO, C. C.; BARRETO, L. P.; SILVA, C. S. R.; LUZ, C.; ARRUDA, W.; FERNANDES, E. K. K. Conidia and blastospores of *Metarhizium* spp. and *Beauveria bassiana* s.l.: their development during the infection process and virulence against the tick *Rhipicephalus microplus*. **Ticks And Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 5, p. 1334-1342, 2018. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.06.001](https://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.06.001).

BORTOLOTTO, O. C.; POMARI-FERNANDES, A.; BUENO, R. C. O. DE F.; BUENO, A. DE F.; CRUZ, Y. KS DA; SANZOVO, A.; FERREIRA, R. B. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 25-32, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.33158/asb.2015v1i1p25>.

BUSTILLO, A. E. P. El control biológico como um componente em um programa de manejo integrado de la broca del café, *hpothenems hampei*, em Colombia. In: **MEMORIAS DEL XX CONFERENCIA CONGRESSO DE SOCOLEN**, Extraetos, Cali, p. 159-164, 1990.

BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R.; VILLALBA, D.; BENAVIDES, P.; OROZCO, J.; POSADA, FJ. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) em Colombia. Cenicafé. **Chinchiná**, Colombia, p. 134, 1998.

CAMILO, J. E.; OLIVARES, F. F.; HERNÁNDEZ, H. A. Fenología y reproducción de la broca del café (*Hypothenemos hampei* Ferrari) durante el desarrollo del fruto. **Agronomía Mesoamericana**, v. 14, n. 1, p. 59-63, 2003. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v14i1.11989>.

CARVALHO, A. M. X.; MENDES, F. Q.; MENDES, F. Q.; TAVARES, L. F. Speed Stat: a free, intuitive, and minimalista spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n3s46>.

CASTILLO, C. E.; CANIZALEZ, L. M.; VALERA, R.; GODOY, J. C.; GUEDEZ, C.; OLIVAR, R.; MORTILLO, S. Caracterización morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos em Trujillo, Venezuela. **Revista Academia**, v. 11, n. 23, p. 275-281, 2012.

CHANDLER, D. Basic and Applied Research on Entomopathogenic Fungi. In: **Microbial Control of Insect and Mite Pests**, p. 69-89, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803527-6.00005-6>

CHARLEY, A. K. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. In: WICKLOW, D.; SODERSTROM, M. (ed), **The Mycota IV: Environmental and microbial**. Heidelberg:Springer-Verlag, p. 185-201, 1997. DOI: [10.1007/978-3-540-71840-6_10](https://doi.org/10.1007/978-3-540-71840-6_10).

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira. 2024.

CORRÊA, B.; DUARTE, V. S.; SILVA, D. M.; MASCARIN, G. M.; DELALIBERA JUNIOR, I. Comparative analysis of blastospore production and virulence of *Beauveria*

bassiana and *Cordyceps fumosorosea* against soybean pests. **Biocontrol Science and Technology**, v. 65, n. 3, p. 323-337, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10526-020-09999-6>.

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, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s0007485300000584>.

FARIA, M. R.; WRIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>.

FEHR, L. C. F. A.; DUARTE, S. L.; TAVARES, M.; REIS, E. A. Análise das variáveis de custos do café arábica nas principais regiões produtoras do Brasil. **Revista Reuna**, v. 17, n. 2, p. 155-162, 2012.

FERNANDES, F. L.; PICANÇO, M. C.; CAMPOS, S. O.; BASTOS, C. S.; CHEDIK, M.; GUEDES, R. N.; SILVA, R. S. Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. **Journal of Economic Entomology**, v.104, p.1909-17, 2011. DOI: [10.1603/EC11032](https://doi.org/10.1603/EC11032)

FERREIRA, J. S., ANDALÓ, V.; FUGA, C. A. G.; SOUZA, T. S.; SOARES, C. M. S. Effect of entomopathogenic fungi on the control of the coffee berry borer in the laboratory. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 90, p. 1-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000112023>

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; DE BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMI, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. D.; OMOTO, C. Entomologia Agrícola. São Paulo: FEALQ, 2002, 920 p.

GARCÍA, M. A. G.; GARCÍA, S. C.; GORDILLO, J. M. L.; MARTÍNEZ, R. F. M. Hongos entomopatógenos como uma alternativa en el Control Biológico. **Kuxulkab'**, v 15, n. 27, p 25-28, 2008. DOI: <https://doi.org/10.19136/kuxulkab.a15n27.846>

GEREMEW, D.; SHIBERU, T.; LETA, A. Isolation, morphological characterization, and screening virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium robertsii* fungal isolates in *Galleria mellonella*. **F1000Research**, v. 12, p. 827, 2024. DOI: [10.12688/f1000research.134020.4](https://doi.org/10.12688/f1000research.134020.4).

GOMES, J. M.; GODOY, M. S. DE; BARRETO, R. V. G.; LIRA, A. G. DE; LIMA, A. G. DE. 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v13i2.5826>.

GOTTI, I. A.; MOREIRA, C. C.; DELALIBERA JÚNIOR, I.; LICHT, H. H. DE F. Blastospores from *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium rileyi* are not always as virulent as conidia are towards *Spodoptera frugiperda* caterpillars and use different infection

mechanisms. **Microorganisms**, v. 11, n. 6, p. 1594, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms11061594>.

CARRANZA, J. H.; KRUGG, J. W.; Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre adultos y ninfas de *Oligonuchus* sp. En condiciones de laboratorio. **Rebiol**, v. 36, n. 1, p. 51-58, 2016.

IWANICKI, N. S. A., DELALIBERA JÚNIOR, I.; EILENBERG, J.; LICHT, H. H DE F. Comparative RNAseq analysis of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reveals specific transcriptome signatures of filamentous and yeast like development. **G3 Genes Genomes Genetics**, v. 10, n. 7, p. 2141-2157, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1534/g3.120.401040>.

IWANICKI, N. S. A.; LOPES, E. C. M.; LIRA, A. C. DE; POLETTO, T. B.; FONCECA, L. Z.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Comparative analysis of *Beauveria bassiana* submerged conidia with blastospores: yield, growth kinetics, and virulence. **Biological Control**, v. 185, p. 105314, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105314>.

INFANTE, F.; PÉREZ, J.; VEGA, F. E. Redirect research to control coffee pest. **Nature**, v. 489, n. 7417, p. 502-502, 2012. DOI: [10.1038/489502a](https://doi.org/10.1038/489502a).

JACKSON, M. A.; DUNLAP, C. A.; JARONSKI, S. T. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. **BioControl**, v. 55, n. 1, p. 129-145, 2010.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. S. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin Of Entomological Research**, v. 96, p. 223-233, 2006. DOI: [10.1079/BER2006434](https://doi.org/10.1079/BER2006434).

JARONSKI, S. T.; MASCARIN, G. M. Mass Production of Fungal Entomopathogens. **Microbial Control Of Insect And Mite Pests**, p. 141-155, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803527-6.00009-3>.

JUNIOR, J. S. Z.; LAZZARINI, A. L.; OLIVEIRA, A. A. DE.; RODRIGUES, L. A.; SOUZA, I. I. DE M.S.; ANDRIKOPOULOS, F. B. A.; FORNAZIER, M. J.; COSTA, A. F. DA. Manejo agroecológico de pragas: alternativas para uma agricultura sustentável. **Revista Científica Intelletto**, Venda Nova do Imigrante, ES, v. 3, n. 3, p. 18-34, 2018.

KHAN, S.; GUO, L.; MAIMAITI, Y.; MIJIT, M.; QIU, D. Entomopathogenic fungi microbial biocontrol agent. **Molecular Plant Breeding**, v. 3, n. 7, p. 63-79, 2012.

KIM, J. S.; JE, Y.H.; SKINNER, M.; PARKER, B. L. An oil-based formulation of *Isaria fumosorosea* blastospores for management of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **Pest Management Science**, v. 69, n. 5, p. 576-581, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ps.3497>.

LAURENTINO, E.; COSTA, J. N. M. Descrição e caracterização biológica da broca-do-café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari 1867) no Estado de Rondônia. Porto Velho, RO, **Embrapa**, 2004.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. Produção de fungos entomopatogênicos. **Ribeirão Preto: A. S. Pinto**, 2003. 92p.

LOPES, L. M. V. et al. Avaliação da qualidade de grãos de diferentes cultivares de cafeeiro *Coffea Arabica* L. In: **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, I, 200, Poços de Caldas, MG. Resumos expandidos. Brasília, DF: Embrapa Café: Minasplan, v. 2, p. 465-468, 2000.

MASCARIN, G. M.; IWANICKI, N. S. A.; RAMIREZ, J. L.; DELALIBERA JÚNIOR, Í.; DUNLAP, C. A. Transcriptional Responses of *Beauveria bassiana* Blastospores Cultured Under Varying Glucose Concentrations. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 644372, 2021. DOI: [10.3389/fcimb.2021.644372](https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.644372)

MASCARIN, G. M.; JACKSON, M. A.; KOBORI, N. N.; BEHLE, R. W.; DELALIBERA JÚNIOR, Í. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 127, p. 11-20, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.001>.

MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; VITAL, R. C. J.; JACKSON, M. A.; QUINTELA, E. D. Production of microsclerotia by Brazilian strains of *Metarhizium* spp. using submerged liquid culture fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 1583-1590, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-013-1581-0>.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 177, 2016. DOI: [10.1007/s11274-016-2131-3](https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3).

MASCARIN, G. M., JACKSON, M.A.; KOBORI, N.N.; BEHLE, R.W.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 127, p. 11-20, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.001>.

MASCARIN, G. M., IWANICKI, N.S.A.; RAMIREZ, J.L.; JÚNIOR, I.D.; DUNLAP, C.A. Transcriptional responses of *Beauveria bassiana* blastospores cultured under varying glucose concentrations. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 644372, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.644372>.

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA, Í.; FERNANDES, É. K. K.; LUZ, C.; FARIA, M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal Of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2018.01.001>.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2011000300003>.

MENDONÇA, P. L. P.; MATTIELLO, A. L. Avaliação do controle de broca-do-cafeeiro (*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867) com novo ativo Metaflumizone (inseticida verismo). In: **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, 43, Poços de Caldas. 2017.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, p. 07-14, 2009.

MOTA, L. H. C. Estratégias e 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. *Beauveria bassiana* strains selection for biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 77-82, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2005000100011>.

OLIVEIRA, A. M. DE; MARACAJA, P. B.; DINIZ FILHO, E. T.; LINHARES, P. C. F. Controle biológico de pragas em cultivos comerciais como alternativa ao uso de agrotóxicos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, n. 2, p. 01-09, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v1i2.9>.

ORTEGA, A. C.; JESUS, C. M. Território café do Cerrado: transformações na estrutura produtiva e seus impactos sobre o pessoal ocupado. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 49, n. 3, p. 771-800, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-20032011000300010>.

OTTATI-DE-LIMA, E. L.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E M.; GASSEN, M. H; WENZEL, I. M.; ALMEIDA, A. M. B. DE; ZAPPELLINI, L. O. Produção semissólida de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em diferentes substratos e efeito da radiação ultravioleta e da temperatura sobre propágulos desses entomopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 651-659, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v77p6512010>.

PAULI, G.; LOPES, R. B.; ALVES, S. B.; JUNIOR, E. R. D.; MASCARIN, G. M Falsa broca aumenta disseminação de *Beauveria bassiana* em populações de campo da broca-do-rizoma da bananeira. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1867-1870, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782011001100002>.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 271-281, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2004000300001>.

PEDRINI, N.; ORTIZ-URQUIZA, A.; HUARTE-BONNET, C.; ZHANG, S.; KEYHANI, N. O. Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction. **Frontiers In Microbiology**, v. 4, p. 1-18, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2013.00024>.

PEREIRA, R. M. C., ALMEIDA J. E. M. DE.; BATISTA FILHO, A. Comparison of different application methods to biological control *Hypothenemus hampei*. **Coffee Science - ISSN 1984-3909**, v. 16, p. e161873, 2021. DOI: <https://doi.org/10.25186/v16i.1873>.

- PORTILLA, M. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cria masiva de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Revista Cenicafé**, v. 50, n. 1, p. 24-38, 1999.
- REHNER, S. A.; MINNIS, A. M.; SUNG, Gi-Ho; LUANGSA-ARD, J. J.; DEVOTTO, L.; HUMBER, R. A. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. **Mycology**, v. 103, n. 5, p. 1055-1073, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.3852/10-302>.
- REIS, P. R. Broca do café: conheça os métodos para eliminar a ameaça. **Cultivar**, Pelotas, v. 38, p. 10 – 13, 2002.
- ROCHA, E. S. et al. Influência de diferentes concentrações de pectina e polpa cítrica no crescimento de fungos entomopatogênicos. In: **27 Congresso de Iniciação Científica e 12 Congresso de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação da UFSCar**, ARARAS, 2021.
- RODRIGUES, C. J. B. C.; FREITAS, M. C.; PERINOTTO, W. M. S.; SANTOS, F. S.; PAULO, J. F.; QUINELATO, S.; CAMARGO, M. G.; ANGELO I. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Estudo morfológico de isolados de *Beauveria bassiana* antes e após reisolamento em *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária** 38, p. 91-97, 2016.
- ROJAS, V. M. A.; IWANICKI, N. S. A.; D’ALESSANDRO, C. P.; FATORETTO, M. B.; DEMÉTRIO, C. G. B.; DELALIBERA JUNIOR, Í. Characterization of Brazilian *Cordyceps fumosorosea* isolates: Conidial production, tolerance to ultraviolet-B radiation, and elevated temperature. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 197, p. 107888, 2023. DOI: [10.1016/j.jip.2023.107888](https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.107888).
- LA ROSA, W. DE; ALATORRE, R.; TRUJILLO, J.; BARRERA, J. F. Virulence of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes) strains against the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, n. 6, p. 1534-1538, 1997. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/90.6.1534>.
- ROY, H.; V., F.; GOTTEL, M.; CHANDLER, D.; PELL, J. K.; WAJNBERG, E. The Ecology of Fungal Entomopathogens. **Springer, Dordrecht**, p 198, 2010.
- SALDANHA, M. A.; WALKER, C.; QUEVEDO, A. C.; PEDRON, L.; MUNIZ, M. F. B.; COSTA, E. C. Caracterização morfofisiológica de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de *Oncideres impluviata*. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 2, p. 776-792, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509849227>.
- SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; SILVA, A. G.; TEIXEIRA, C. A. D.; ALPIREZ, I. P. V.; FACUNDO, V. A. Chemical constituents and insecticidal activity of the crude acetonetic extract of *Piper alatabaccum* Trel e Yuncker (Piperaceae) on *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 332-336, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722013000300004>.
- SILVA, F. C. DA; VENTURA, M. U.; MORALES, L. Capture of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera, scolytidae) in response to trap characteristics. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, n. 6, p. 567-571, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000600010>.

SOARES, M. A.; GUTIERREZ, C. T.; ZANUNCIO, J. C.; PEDROSA, A. R. P.; LORENZON, A. S. Superparasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa dos hospedeiros. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 35, n. 1, p. 62-65, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.25100/socolen.v35i1.9191>.

SOUSA, T. S.; CUNHA, W. V. 2022. Isolados de fungos entomopatogênicos na mortalidade da broca-do-café em laboratório. **Revista Cerrado Agrociências**, v. 13, p. 08-20, 2022.

SOUZA, J. C. et. al. Cafeicultor: saiba como monitorar e controlar a broca-do-café com eficiência. **Belo Horizonte: EPAMIG**, 2013. 3p. (EPAMIG. Circular técnica, 178).

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.

SOUZA, J. C. DE; REIS, P. R. Broca-do-café: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle. 2. Ed. **Belo Horizonte: EPAMIG**, 1997. 40p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 50).

SUI, L.; LU, Y.; ZHU, H.; WAN, T.; LI, Q.; ZHANG, Z. Endophytic blastospores of *Beauveria bassiana* provide high resistance against plant disease caused by *Botrytis cinerea*. **Fungal Biology**, v. 126, n. 8, p. 528-533, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2022.05.007>.

VEGA, F. E. Broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), pp. 2008.

VEGA, F. E.; BROWN, S. M.; CHEN, H.; SHEN, E.; NAIR, M. B.; CEJA-NAVARRO, J. A.; PAIN, A. Draft genome of the most devastating insect pest of coffee worldwide: the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Scientific reports**, v. 5, p. 12525, 2015.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; JARAMILLO, J. A broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): Uma breve revisão, com descobertas recentes e direções de pesquisas futuras. **Terra Artrópode Ver.** 2009, 2, 129-147.

ZHANG, L.; FASOYIN, O. E.; MOLNÁR, L.; XU, Y. Secondary metabolites from hypocrealean entomopathogenic fungi: Novel bioactive compounds. **Natural Products Reports**, v. 37, n. 9, p. 1181-1206, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9NP00065H>.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 6, p. 553–596, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583150701309006>.

ZORZETTI, J.; NEVES, P. M. O. J.; CONSTANSKI, K. C.; SANTORO, P.; FONSECA, I. C. B. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2849-2862, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359>.