



ANA PAULA ANANIAS ANTUNES

**ATRATIVIDADE E DESENVOLVIMENTO DE
Hypothenemus hampei (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A
PREBIÓTICOS ISOLADOS E ASSOCIADOS A
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill.**

**LAVRAS-MG
2023**

ANA PAULA ANANIAS ANTUNES

**ATRATIVIDADE E DESENVOLVIMENTO DE *Hypothenemus hampei*
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A PREBIÓTICOS ISOLADOS E
ASSOCIADOS A *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Orientador

**LAVRAS-MG
2023**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Antunes, Ana Paula Ananias.

Atratividade e desenvolvimento de *Hypothenemus hampei*
(Coleoptera: Curculionidae) a prebióticos isolados ou associados a
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill.

Ana Paula Ananias Antunes. - 2023.

39 p.

Orientador(a): Bruno Henrique Sardinha de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Broca-do-café. 2. Volatéis. 3. Manejo Integrado de Pragas. I.
Souza, Bruno Henrique Sardinha de. II. Título.

ANA PAULA ANANIAS ANTUNES

**ATRATIVIDADE E DESENVOLVIMENTO DE *Hypothenemus hampei*
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) A PREBIÓTICOS ISOLADOS E
ASSOCIADOS A *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.**

**ATTRACTIVENESS AND DEVELOPMENT OF *Hypothenemus hampei*
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) TO PREBIOTICS ISOLATED AND
ASSOCIATED TO *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 07 de dezembro de 2022.
Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza, UFLA
Dr. Alcides Moino Junior, UFLA
Dr. Allan Felipe Marciano, Lallemand Plant Care

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza
Orientador

LAVRAS-MG

2023

A minha família... Alessandro, Pedro e Helena
Aos meus pais Vitor e Sônia, e meu irmão e amigo Matheus.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro agradeço a Deus, sem os planos dele nada seria possível, com muita convicção e fé que dedico esta etapa tão importante na minha vida a Ele.

Ao meu esposo Alessandro, que mais do que ninguém acompanhou toda a minha trajetória bem de perto, nesses 2 anos de mestrado. Me apoiando com as crianças em casa, nas avaliações dos experimentos, no abraço carinhoso quando chegava em casa muitas vezes estressada e angustiada, seu companheirismo e amor me sustentavam. E os meus dois corações que batem fora do peito, meus filhos Pedro e Helena.

Aos meus Pais, Vitor e Sônia, por seus exemplos, que muitas vezes demonstram mais do que as palavras, eu tenho muito orgulho de ter sido crescido em uma família com valores tão sólidos, que mesmo nas dificuldades nunca me deixaram desistir, e em todos os momentos da minha vida estavam ao meu lado. Meu eterno agradecimento.

Meu irmão Matheus, me ajudou nas coletas, e sempre me fala que tem orgulho de mim, essas palavras são muito importantes nesse processo.

Ao meu orientador, Professor Bruno, que na minha opinião aceitou um desafio, orientar sua Técnica de laboratório, sem seu apoio não seria essa experiência extraordinária que está sendo o meu mestrado, o suporte faz toda diferença, e realmente eu precisei bastante da sua orientação. Professor, obrigado pela paciência e por estar sempre presente e ser uma pessoa que nos transmite muita segurança.

As meninas do LARP, Fernanda e Larah presente em todas as etapas, principalmente nos experimentos. Formamos uma equipe de trabalho, sendo companhia diária na vida no laboratório. Amizades que quero levar para vida, obrigada pela paciência e cumplicidade.

As amigas agregadas como a gente brinca, no laboratório de Patologia de insetos e controle microbiano, trabalhei também como Técnica e tive muito apoio. Principalmente da Mariana e Fernanda.

E a todas as amigas que fiz neste período no Departamento Entomologia, que foram muitas, com vocês essa caminhada foi mais leve.

Ao Neento, núcleo de estudos que tem meu coração, vivencie muitas experiências que com certeza contribuíram para minha formação profissional.

Ao DEN, que considero minha segunda casa, tem pessoas incríveis, um grupo muito acolhedor.

A Ufla, por proporcionar uma educação na Pós-graduação de qualidade.

A Lallemand Plant Care, parceira em nossos experimentos, obrigada pela confiança no nosso trabalho e apoio financeiro.

À todos, muito obrigado!

Às vezes, fala-se do amor como se fosse um impulso para a satisfação própria, ou um simples recurso para completarmos em moldes egoístas a nossa personalidade. E não é assim: amor verdadeiro é sair de si mesmo, entregar-se. O amor traz consigo a alegria, mas é uma alegria com as raízes em forma de cruz. Enquanto estivermos na terra e não tivermos chegado à plenitude da vida futura, não pode haver amor verdadeiro sem a experiência do sacrifício, da dor.

Uma dor que se saboreia, que é amável, que é fonte de íntima alegria, mas que é dor real, porque supõe vencer o egoísmo e tomar o amor como regra de todas e cada uma de nossas ações."

São Josémaria Escrivá

RESUMO

A broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) é considerada o principal inseto-praga da cultura cafeeira, causando grandes prejuízos à produção nacional e mundial de café. Assim, são necessárias pesquisas que busquem estratégias eficientes e mais sustentáveis para o manejo da broca-do-café. O uso de compostos prebióticos pode auxiliar no aumento da eficiência do controle biológico com *Beauveria bassiana* por causar tanto efeito atrativo para os insetos, quanto substrato nutritivo para melhor desenvolvimento do fungo entomopatogênico. Este trabalho avaliou se aplicação de prebióticos fermentados a base de levedura, isolados ou associados a *Beauveria bassiana* apresentam efeitos na atratividade, preferência, sobrevivência e desenvolvimento de *H. hampei*. O primeiro experimento foi realizado em campo em duas áreas experimentais a fim de avaliar a atratividade da broca-do-café a dois prebióticos (Preb1 e Preb2) usados isolados em armadilhas em comparação com o cairomônio metanol:etanol (1:1) e água. O segundo experimento consistiu em um experimento de preferência com chance de escolha, em laboratório, para avaliar a influência da associação de *B. bassiana* com os prebióticos Preb1 e Preb2 na escolha e colonização do grão por *H. hampei*, registrando-se o número de insetos perfurando os frutos em 24h, e os números de furos e de insetos dentro dos frutos após 48h. O terceiro experimento consistiu em um experimento sem chance de escolha em laboratório, nele foi avaliado a sobrevivência das fêmeas colonizadoras e desenvolvimento da progênie em frutos de café tratados com *B. bassiana* isolada ou associada aos prebióticos Preb1 e Preb2. Como principais resultados, no primeiro experimento houve maiores coletas da broca-do-café com o cairomônio metanol:etanol em relação ao controle e prebióticos em todas as avaliações. No segundo experimento, houve preferência das fêmeas de *H. hampei* por frutos de café tratados com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 em relação ao controle. No terceiro experimento, a sobrevivência dos adultos foi significativamente maior na testemunha em relação aos tratamentos com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2. Pode-se concluir que os prebióticos isolados em armadilhas em campo não são atrativos aos adultos de *H. hampei*; aparentemente não há efeito fagoestimulante dos prebióticos para aumentar a preferência dos frutos tratados com *B. bassiana*; *B. bassiana* é eficiente no controle das fêmeas colonizadoras e na redução da produção da progênie quando aplicado de forma isolada ou associada com os prebióticos.

Palavras-chave: voláteis, broca-do-café, controle biológico, fagoestimulantes, MIP.

ABSTRACT

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) is considered the main pest insect of coffee culture, causing great damage to national and world coffee production. More efficient and sustainable control strategies are still needed in the management of the coffee berry borer. The use of prebiotic compounds can help to increase the efficiency of biological control with *Beauveria bassiana* by causing both an attractive effect to insects and a nutritive substrate for better development of the entomopathogenic fungus. This work evaluated whether the application of yeast-based fermented prebiotics, alone or associated with *B. bassiana* have effects on the attractiveness, survival and development of *H. hampei*. The first experiment was conducted in the field in two experimental areas to evaluate the attractiveness of the coffee berry borer to two prebiotics (Preb1 and Preb2) used alone in traps in comparison with methanol:ethanol (1:1) and water (control). The second experiment consisted in a preference bioassay with chance of choice, in laboratory, to evaluate the influence of the association of *B. bassiana* with prebiotics in the choice and colonization of fruits by *H. hampei*, recording the number of insects perforating the fruits in 24h, and the number of holes and insects inside the fruits after 48h. The third experiment consisted of a no-choice bioassay in the laboratory, evaluating the survival of colonizing females and the development of progeny in coffee fruits treated with *B. bassiana* alone or associated with prebiotics. As main results, in the first experiment there were greater collections of the coffee berry borer with the methanol:ethanol caironium in relation to the control and prebiotics in all evaluations. In the second experiment, there was a preference of *H. hampei* females for fruits treated with *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 and *B. bassiana* + Preb2 in relation to the control. In the third experiment, adult survival was significantly higher in the control compared to treatments with *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 and *B. bassiana* + Preb2. It can be concluded that prebiotics isolated in field traps are not attractive to adults of *H. hampei*; there is no phage-stimulating effect of prebiotics to increase the preference of fruits treated with *B. bassiana* and in the control efficiency; *B. bassiana* is efficient in the control of colonizing females and in the reduction of progeny production when applied alone or associated with the prebiotics.

Keywords: volatiles, coffee berry borer, biological control, phagostimulants, IPM.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivos gerais	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3 HIPÓTESE.....	13
4 REFERENCIAL TEÓRICO	14
4.1 Café	14
4.2 <i>Hypothenemus hampei</i>	15
4.3 <i>Beauveria bassiana</i>	16
4.4 Prebióticos	17
5 MATERIAL E MÉTODOS	19
5.1 Insetos utilizados nos experimentos	19
5.2 Produtos utilizados nos experimentos	19
5.3 Atratividade de <i>H. hampei</i> por prebióticos instalados em armadilhas.....	19
5.4 Preferência de <i>H. hampei</i> por frutos de café tratados com <i>B. bassiana</i> prebióticos...	20
5.5 Desenvolvimento <i>H. hampei</i> em frutos de café tratados com <i>B. bassiana</i> prebióticos	21
5.6 Análise estatística.....	22
6 RESULTADOS	23
6.1 Atratividade <i>H. hampei</i> por prebióticos instalados em armadilhas em campo	23
6.2 Preferência de <i>H. hampei</i> por frutos tratados com <i>B. bassiana</i> e prebióticos.....	24
6.3 Desenvolvimento <i>H. hampei</i> em frutos de café tratados com <i>B. bassiana</i> prebióticos	25
7 DISCUSSÃO	28
8 CONCLUSÕES.....	33
9 REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) é um inseto considerado praga primária em todos os países que têm a cafeicultura como importante atividade econômica, causando grande prejuízo à produção mundial de café. A broca-do-café ataca os frutos em quase todos os estádios de desenvolvimento, causando perda de peso, depreciação dos grãos e problemas na qualidade no produto final (MARTINEZ et al., 2014). Os ataques também podem facilitar a entrada de microrganismos oportunistas que se desenvolvem nos grãos, afetando a qualidade da bebida (VEGA, 2017). Dessa forma, os prejuízos causados por *H. hampei* à cultura cafeeira chegam a afetar a economia de mais de 25 milhões de pequenos agricultores no mundo (FAIRTRADE FOUNDATION, 2014).

Para o sucesso no manejo de pragas-chave de culturas agrícolas, como a broca-do-café, devem-se adotar medidas integradas de controle em estratégias compatíveis, envolvendo principalmente os controles cultural, comportamental, varietal, biológico e químico, aliado ao monitoramento frequente das densidades populacionais da praga. Tanto o controle químico quanto o biológico para o controle da broca-do-café é dificultado devido ao seu comportamento críptico; o inseto passa grande parte do ciclo biológico dentro dos frutos atacando as sementes (INFANTE et al., 2009; ARISTIZÁBAL et al., 2016), minimizando assim ação de inimigos naturais e o contato com inseticidas químicos e microbiológicos. Além disso, o inseticida endossulfan que era o mais utilizado até 2013 e que apresentava eficiente controle da broca-do-café foi banido pela alta toxicidade a humanos e meio ambiente, reduzindo as opções de inseticidas disponíveis (MASCARIN; JARONSKI, 2016). Sendo as moléculas químicas utilizadas, α -cipermetrina, clorpirifós, ciflutrina, deltametrina, dieldrina, fenpropatrina, tiametoxam e triazofos têm sido usados para controlar *H. hampei*.

O monitoramento por meio de amostragens regulares representa uma das bases econômicas de programas de manejo integrado de pragas (MIP) (ARISTIZÁBAL et al., 2002). Para o monitoramento da broca-do-café, é conhecido o uso de armadilhas em campo no Brasil, México, Havaí e Colômbia, contendo o cairomônio com metanol:etanol, baseado na alta atratividade das fêmeas de *H. hampei* aos voláteis emitidos (ARISTIZÁBAL; BUSTILLO; ARTHURS, 2016). Com base nas amostragens dos adultos de *H. hampei* nas armadilhas com o cairomônio é possível estimar o momento mais adequado quanto ao custo-benefício para o controle da praga dependendo do nível populacional na lavoura, da localização dos “pontos quentes” (*hot spots*) e do grau de penetração nos frutos (posições AB-CD), auxiliando os

agricultores na tomada de decisão do controle em programas de MIP (LUIS F. ARISTIZÁBAL; ALEX E. BUSTILLO; STEVEN P., 2016).

O controle biológico é um fenômeno natural, a regulação do número de plantas e animais pelos inimigos naturais, os agentes bióticos de mortalidade para o controle de pragas agrícolas (Bueno et al, 2015). Tratando-se de bioinseticidas microbiológicos, os produtos mais utilizados são à base do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, que apresenta amplo espectro de ação contra diversas pragas (MORAN et al., 2021) Além disso, pode ocorrer naturalmente no ambiente causando epizootia em *H. hampei* em condições climáticas favoráveis (PARRA, REIS, 2013), (MONZÓN et al., 2008).

Atualmente no Brasil, principal país produtor e exportador mundial de café arábica, há 13 produtos comerciais registrados à base de *B. bassiana* e recomendados para o controle de *H. hampei* (MAPA, 2022). Em condições de laboratório, os isolados e misturas de outras cepas de *B. bassiana* revelaram taxas de mortalidade da broca-do-café. No entanto, a eficiência de controle com uso de *B. bassiana* pode ser altamente variável e influenciada pelas condições climáticas e de cultivo, de modo que as taxas de controle podem oscilar entre níveis muito baixos (20%) até mais altos (75%) (FERREIRA et al., 2022).

Os resultados citados na literatura ressaltam a eficiência do fungo *B. bassiana* sobre a broca-do-café. (MASCARIN et al., 2019). Entretanto, considerando a complexidade de manter a viabilidade do fungo entomopatogênico no ambiente e a importância que este agente microbiano desempenha no controle de *H. hampei*, seu sucesso está condicionado à influência de vários fatores ambientais, como radiação ultravioleta, temperatura, umidade, altitude, concentração do produto, aplicação correta, entre outros (VEGA et al., 2015; ARISTIZÁBAL et al., 2016). Desse modo, novas pesquisas são necessárias para buscar estratégias que possibilitem um contato maior e eficaz do inseto com o entomopatógeno em campo com o propósito de alcançar níveis satisfatórios de mortalidade.

Prebióticos são nutrientes específicos definidos como “ingredientes seletivamente fermentados que permitem alterações específicas, tanto na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal que conferem benefícios ao bem-estar e à saúde do hospedeiro (GIBSON et al., 2017). O uso de prebióticos pode desempenhar importante papel na melhoria das condições para a manutenção da viabilidade dos fungos entomopatogênicos no ambiente, e assim garantir melhor eficiência de controle de insetos-praga. Alguns prebióticos são subprodutos da fermentação de leveduras que, devido a sua composição rica em aminoácidos, proteínas e vitaminas, exercem a função de substrato para fungo, podendo assim aumentar seu ciclo de vida em campo. Além disso, os prebióticos também podem proporcionar maior

atratividade aos insetos devido à presença de constituintes fagoestimulantes em sua formulação. Assim, a aplicação combinada de *B. bassiana* com prebióticos pode constituir uma eficiente estratégia para uso em programas de manejo integrado da broca-do-café, podendo beneficiar na maior atração e infecção das fêmeas colonizadoras aos frutos tratados com a mistura dos produtos, e conseqüentemente maior eficiência de controle da praga.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do uso de prebióticos isolados ou associados a *B. bassiana* na atratividade e desenvolvimento da broca-do-café em café arábica.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atratividade dos adultos de *H. hampei* por dois prebióticos comparado com cairomônio em armadilhas em campo;
- Avaliar se adultos da broca-do-café tem preferência em colonizar frutos tratados com *B. bassiana* associada aos prebióticos em comparação com o fungo isolado;
- Avaliar a eficiência de *B. bassiana* isolada ou associada aos prebióticos na sobrevivência e desenvolvimento de *H. hampei*.

3 HIPÓTESE

H1: Os adultos de *H. hampei* serão mais atraídos pelos prebióticos quanto pelo o cairomônio;

H2: A associação de *B. bassiana* com os prebióticos aumentam a preferência da broca-do-café pela colonização do fruto tratado;

H3: A associação de *B. bassiana* com os prebióticos aumentam a eficiência de controle e afetam negativamente o desenvolvimento da broca-do-café.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Café

São conhecidas cerca de 123 espécies, sendo duas principais para comercialização, *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (robusta ou conilon), elas apresentam uma diversidade de linhagens, permitindo campos produtivos com diferentes condições geoclimáticas (DAVIS et al., 2006). Estas duas espécies são as mais cultivadas em grande escala nas regiões cafeeiras do mundo e representam praticamente 100% de todo o café comercializado. O café arábica representa cerca de 61% na produção mundial e o café robusta com 39% (MATIELLO et al., 2015).

O Brasil se destaca como o principal exportador café, cujas exportações de café verde aumentaram 4,6% em agosto de 2022, alcançando 2,44 milhões de sacas. Entretanto, o total cumulativo das exportações na safra 2021/2022 até agosto de 2022 diminuiu 5,8%, registrando 34 milhões de sacas. (CONAB, 2022) O atual levantamento da safra 2022 estima uma produção de 50 mil sacas de café beneficiadas, o que representa um aumento de 5,6% em relação à safra 2021 (OIC, 2022). O estado de Minas Gerais contempla a maior área cultivada de café, com cerca de 1.3 mil hectares entre áreas em produção e em formação, e registrou um aumento de 2,8% em relação à safra 2021, sendo responsável por aproximadamente 60% de toda a área cultivada no país (CONAB, 2022).

Atualmente, o café deixou de ser considerado apenas uma *commodity*, tornando-se um produto apreciado pelo público mundial, pesquisa apontam que tomar café deixou de ser apenas um prazer, ou seja, uma maneira de começar o dia para pessoas com curiosidade despertada para consumir experiências proporcionadas pelos cafés gourmet (VASCONCELOS TEIXEIRA, 2020). Este mercado vem ganhando espaço no paladar brasileiro e as expectativas são de crescimento para os próximos anos (SEBRAE, 2020). A cultura do café impõe constantes desafios aos produtores rurais para tornar possível o processo produtivo com um desenvolvimento agrícola sustentável e com produto de qualidade para atender aos mercados consumidores cada vez mais exigentes (SOUZA, 2019).

Com todo esse desenvolvimento na produção cafeeira, a busca por estratégias de controle de pragas e tecnologias mais sustentáveis tem sido intensificada, para *H. hampei*, uma das pragas mais importante na cultura do café no mundo (ARISTIZÁBAL et al., 2016; GRECO et al., 2018). Além disso, a demanda por alternativas de controle se intensificou após o banimento do inseticida endossulfan pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 2013,

pois os problemas com ataque de *H. hampei* voltaram a preocupar os produtores pelos índices de infestação muitas vezes acima do nível de dano econômico.

4.2 *Hypothenemus hampei*

Hypothenemus hampei (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), comumente conhecida como broca-do-café, é o inseto-praga mais importante da cultura cafeeira. A praga é responsável por perdas na economia mundial estimadas em US\$ 500 milhões por ano (INFANTE et al., 2018).

A broca-do-café na fase adulta é um besouro de aproximadamente 1,5 mm de comprimento por 1 mm de largura. É um inseto holometábolo, com desenvolvimento passando por quatro estágios bem definidos: ovo, larva, pupa e adulto. O ciclo de vida tem duração média de 30 a 40 dias para os machos, enquanto as fêmeas podem chegar a 156 dias. A proporção encontrada entre machos e fêmeas em grãos de café é de 1 para 10, respectivamente (VEGA et al., 2015).

A broca-do-café é um inseto de hábito críptico, passando a maior parte do ciclo de vida dentro dos frutos de café, o que dificulta o seu controle efetivo (VEGA et al. 2009). Apresenta preferência por áreas sombreadas, onde sua sobrevivência e multiplicação são favorecidas. Algumas fontes de infestação podem ser os frutos deixados de colheitas anteriores nas plantas, frutos caídos, frutos que são produzidos fora da safra, plantas com frutos não colhidos completamente ou grãos deixados para ser usados como sementes. Sabe-se que a infestação começa nos frutos que estão presentes na planta, mas a reprodução continua nos frutos que caem no solo (SAM Y, 2018; ALEJOS-LOYOLA e VALVERDE-RODRIGUEZ, 2020).

O inseto tem um comportamento típico na busca por frutos de café que possa colonizar, normalmente através dos compostos voláteis emitidos pelos frutos durante seu desenvolvimento, o que permite que a broca-do-café localize as plantas hospedeiras (PARDEY, 2006). As fêmeas perfuram os frutos geralmente através da coroa, em direção às sementes. Fazem uma galeria dentro da semente, formando uma câmara de postura, onde passam a depositar os ovos (ALBA-ALEJANDRE; ALBA-TERCEDOR; VEGA, 2019). As fêmeas podem colocar mais de 100 ovos em um único fruto durante um período de três semanas. A prole masculina insemina as fêmeas da mesma prole, e estas após serem copuladas saem e procuram novos frutos para ovipositar ou permanecem no mesmo fruto para iniciar a reprodução (BUSTILLO et al, 1998; VEGA et al, 2009).

O acúmulo de matéria seca no fruto é o fator mais importante que determina o ataque de *H. hampei* e influencia diretamente na velocidade com que a fêmea penetra no fruto até o

início de sua reprodução. Geralmente no estágio chumbinho as sementes apresentam um teor de matéria seca menor que 20%, e neste caso a broca-do-café abandona o fruto após perfuração inicial (JARAMILLO et al., 2006). Após encontrar um fruto que apresente pelo menos 40% de umidade, nos estádios de expansão e início da granação as fêmeas encontram ambiente ótimo pra depositar seus ovos (DAMON, 2000). Nestas condições de umidade ótima o inseto normalmente após 24 horas já terá perfurado o fruto e construído sua galeria, sendo assim, o inseto não é mais observado no orifício de entrada (VEGA; INFANTE; JOHNSON, 2015).

Os danos causados pela broca-do-café podem ser diretos ou indiretos. O inseto ataca os frutos em vários estádios de desenvolvimento, causando perda de peso, depreciação dos grãos e problemas de qualidade no produto final (MARTINEZ et al., 2014). Além disso, os ataques podem facilitar a entrada de microrganismos que infectam os grãos, afetando a qualidade da bebida (VEJA, 2017). O controle da praga é realizado principalmente por meio do uso de inseticidas químicos (JARAMILLO et al., 2011), mas há restrições ao uso de produtos sintéticos como endosulfan e clorpirifós devido aos impactos negativos na saúde humana e meio ambiente, bem como a resistência aos inseticidas e o ressurgência de pragas (MONZÓN; GUHARAY; KLINGEN, 2008). Portanto, a busca por estratégias de manejo que apresente baixa toxicidade e seja ecologicamente corretas para o controle de *H. hampei* tem se tornado cada vez mais importante. Os fungos entomopatogênicos como *B. bassiana* tem sido uma ferramenta adequada nesse contexto para o manejo sustentável da broca-do-café.

4.3 *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana é um fungo entomopatogênico, considerado um importante inimigo natural da broca-do-café, é frequentemente observada em níveis epizooticos no cafeeiro, é o patógeno fúngico natural mais comum da broca-do-café em todo o mundo (GRECO et al 2018). Estudos anteriores documentam taxas de infecção natural variando de 1 a 91% em diferentes produtores de café de vários países (ARISTIZÁBAL et al. 2016).

A atividade dos fungos em uma população de insetos é muito influenciada pela condições ambientais por exemplo, temperatura e umidade que influenciam ativamente a ocorrência do fungo (MENT; SHIKANO; GLAZER, 2017), *B. bassiana* se desenvolve em temperatura moderada, alta umidade e baixa insolação (ZIMMERMANN, 2007; JARONSKI, 2010). A eficácia de controle de insetos por *B. bassiana* é intrinsecamente mediada por fatores abióticos ambientais, principalmente umidade, temperatura, chuva e radiação solar (UV-A e B) (JARONSKI, 2010; FERNANDES et al., 2015). Essas condições ambientais são de extrema importância para a vida útil do fungo. O uso generalizado de bioinseticidas depende em grande

parte de técnicas de formulação que podem efetivamente melhorar sua estabilidade, prolongar a persistência no campo e aumentar a virulência (JACKSON et al., 2010).

Esse patógeno também se diferencia de outros grupos por ter a capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES et al., 2008). O ciclo de vida patogênico de *B. bassiana* se inicia com a infecção e adesão de formas dispersivas unicelulares do fungo, por exemplo, conídios ou blastosporos, à cutícula do inseto, onde variedade de enzimas hidrolíticas e outros fatores, promove a germinação e o crescimento do fungo na superfície do hospedeiro e subsequente penetração nas camadas cuticulares (XIAO et al., 2012). Uma vez no interior dos insetos, os fungos multiplicam-se rapidamente por todo o corpo, e a morte é causada pela destruição dos tecidos e, ocasionalmente, pelas toxinas produzidas pelos fungos (ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013). Observou-se a característica de *B. bassiana* nos cáveres cobertos por uma camada de pó branco, deu origem ao nome da doença da muscardina branca (MASCARIN; JARONSKI, 2016). É um dos fungos entomopatogênicos mais intensamente estudados, dos quais milhares de isolados foram coletados em diferentes partes do mundo (REHNER et al., 2011).

Beauveria é considerado um agente de biocontrole ambientalmente seguro que apresenta ameaça zero ou mínima à saúde humana e geralmente é inofensivo para organismos não-alvo (ZIMMERMANN, 2007).

4.4 Prebióticos

Os prebióticos são geralmente considerados carboidratos não digeríveis (CHEN; KARBOUNE, 2019). Eles são vistos como “um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros conferindo um benefício à saúde” (GIBSON et al., 2017). Alguns componentes de fibras são reconhecidos como prebióticos (LOPEZ-SANTAMARINA et al., 2020) e utilizados como ingredientes funcionais na indústria de alimentos com o objetivo de atuar como substratos usados seletivamente por microrganismos.

Estudos atuais discutem a importância de associar prebióticos a microrganismos, trabalhos mostram que o oligossacarídeos prebióticos podem ser útil para modular o crescimento de bactérias probióticas, a atividade antibacteriana e até mesmo a especificidade dessa atividade (PRANCKUTĚ et al., 2016)

As vitaminas podem influenciar no crescimento dos fungos, sendo a biotina considerada a melhor para suportar o crescimento máximo do fungo, e em segundo lugar, a tiamina (HOSSAIN, 2016). Os prebióticos devido sua rica composição de vitaminas podem atuar como

compostos fagoestimulantes. De acordo com Parra (2001), fagoestimulantes são compostos que induzem e/ou estimulam os insetos a se alimentar, estes estimulantes de alimentação podem ser diferentes em cada estágio desenvolvimento do inseto.

As condições ambientais são específicas para o crescimento dos fungos entomopatogênicos, algumas estratégias devem ser abordadas para a sua eficiência em campo. Para superar os estresses climáticos que possam representar uma limitação para a eficácia dos bioinseticidas à base de *B. bassiana* em condições de campo, táticas foram concebidas para superar ou melhorar o desempenho dos fungos nessas condições, como o uso formulações à base de óleo para aumentar a infectividade dos conídios (BATEMAN et al. 1993).

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* tem mostrado potencial como agente de controle biológico de insetos, e o conhecimento dos mecanismos de virulência é essencial para mostrar a robustez de seu uso (VALERO-JIMÉNEZ et al., 2016). Portanto, o uso de prebióticos possivelmente podem atender a essas abordagens.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Insetos utilizados nos experimentos

Os insetos foram obtidos a partir de frutos infestados e coletados em áreas experimentais com histórico de infestação da broca-do-café na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Os insetos coletados foram utilizados para o início de uma colônia de criação mantida em dieta artificial Cenibroca (Portilla, 1999) em BOD sob condições ambientais controladas (25 ± 2 °C; UR $60 \pm 10\%$; 24h escotofase) no Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo Integrado de Pragas (LARP-MIP) do Departamento de Entomologia da UFLA.

5.2 Produtos utilizados nos experimentos

Nos experimentos realizados neste trabalho foram utilizados os produtos à base do fungo entomopatogênico *B. bassiana* isolado IBCB66 (Granada[®], Lallemand Soluções Biológicas Ltda., Patos de Minas, MG, Brasil), e dos dois prebióticos à base de fermentação de leveduras avaliados para a broca-do-café, aqui denominados de Preb1 e Preb2 (Em fase de teste). Também foi utilizado como controle positivo, apenas nos testes com armadilhas em campo, o cairomônio composto pela mistura de metanol:etanol (1:1) (Dinâmica Química Contemporânea LTDA), preparado a partir dos compostos com alto grau de pureza. Esses produtos foram utilizados como tratamentos em três experimentos, os quais estão detalhados a seguir.

5.3 Atratividade de *H. hampei* por prebióticos instalados em armadilhas

O experimento foi conduzido durante dezembro de 2021 e janeiro de 2022 em áreas cultivadas com café arábica em duas localidades no município de Lavras, MG, Brasil, com altitude de 910 m. O primeiro experimento foi realizado em uma área experimental da UFLA (coordenadas geográficas 21° 22' 82" Sul e 44° 95' 78" Oeste), e o segundo em uma fazenda comercial, denominada Fazenda Cafua (coordenadas geográficas latitude 21° 10' 11" Sul e 44° 58' 37" Oeste). De acordo com a classificação de Köppen para o zoneamento climático no estado de Minas Gerais, a região apresenta clima subtropical, com invernos secos e verões mais quentes (SÁ JUNIOR et al., 2012). O tipo de solo da região é o latossolo vermelho (RIBEIRO et al., 2018).

Os tratamentos avaliados em ambos os experimentos supracitados foram: controle (água destilada), metanol:etanol (cairomônio), Preb1 e Preb2 (prebióticos). Os tratamentos foram colocados em frascos de vidro (10 ml) fechados com uma tampa de borracha com um

furo para permitir emissão dos voláteis, os quais foram instalados em armadilhas do tipo IAPAR (PEREIRA, 2006) confeccionadas com garrafas PET pintadas com tinta vermelha, e fixadas no ramo ortotrópico com arame no terço médio da planta, ~1,5 m de altura do solo. As armadilhas foram instaladas com a tampa da garrafa PET virada para baixo para facilitar a coleta das amostras dos insetos coletados. Adicionou-se ao fundo das armadilhas solução de detergente a 10% para quebrar a tensão superficial e facilitar a coleta, e de cloreto de sódio a 10%, para conservação dos insetos.

Os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados, de modo que foram avaliados em ambas as áreas quatro tratamentos e quatro blocos como repetições. No experimento realizado na área da UFLA, foram instaladas em cada bloco duas armadilhas, enquanto na fazenda foram instaladas três armadilhas por bloco, sendo a média de coleta de insetos em cada bloco (repetição) calculada em função desses números de armadilhas. As armadilhas que foram representadas para a mesma repetição no bloco foram instaladas em plantas dispostas em linhas de plantio adjacentes; aquelas armadilhas contendo diferentes tratamentos foram espaçadas em 20 m de distância entre si, enquanto 80 m de distância foram utilizados entre blocos.

As avaliações dos números de *H. hampei* capturados nas armadilhas ocorreram a cada 10 dias. Na área da UFLA foram realizadas quatro avaliações, enquanto na fazenda, três avaliações no total. Em cada avaliação foram recolhidos os insetos capturados na solução das armadilhas e armazenados em recipientes plásticos previamente identificados contendo álcool 70% para conservação dos insetos. Neste momento também foram trocados e repostos tanto os atrativos nos recipientes de vidro quanto as soluções na parte inferior das armadilhas.

5.4 Preferência de *H. hampei* por frutos de café tratados com *B. bassiana* prebióticos

Foram coletados frutos de café arábica no estágio verde-cana em áreas experimentais da UFLA e levados ao laboratório, onde foi realizado ensaio de preferência com chance de escolha em uma sala sob condições ambientais controladas (25 ± 2 °C; UR $60 \pm 10\%$; 12C:12E h). O ensaio foi conduzido em placas de Petri (15 cm diâmetro) forradas com papel filtro qualitativo seco. Os quatro tratamentos foram avaliados quanto à preferência de fêmeas adultas de *H. hampei*: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1, e *B. bassiana* + Preb2.

Para montagem do experimento, os frutos foram imersos por 60 segundos nas suspensão dos tratamentos. Para a controle (controle) utilizou-se água destilada. Para os tratamentos contendo *B. bassiana* foi utilizado o produto comercial Granada[®], na dose indicada pelo fabricante de 300 g p.c. ha⁻¹, onde 1g p.c. = 1×10^{10} UFC, e volume de água proporcional a 400

L ha⁻¹). Os prebióticos Preb1 e Preb2 foram preparados utilizando a recomendação de dose de 3L p.c. 400 L ha⁻¹ de água. Para os tratamentos com as misturas *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2, as soluções foram preparadas individualmente e depois misturadas antes da imersão dos frutos.

Em cada placa de Petri foram alocados de forma equidistante três frutos de cada tratamento mais próximos da borda da placa, de modo que os frutos de cada tratamento ficassem juntos. Em seguida foram liberadas ao centro das placas 12 fêmeas de *H. hampei* provenientes da colônia de criação do laboratório, totalizando 10 repetições representadas pelas placas de Petri. Após a liberação das fêmeas de *H. hampei* foi observado o número de insetos perfurando os frutos após 30 min, 1, 2, 3 e 24h. Além disso, o número de perfurações e de insetos dentro dos frutos foram registrados após 48h, quando se encerrou o experimento.

5.5 Desenvolvimento *H. hampei* em frutos de café tratados com *B. bassiana* prebióticos

Este experimento sem chance de escolha avaliou sob condições ambientais controladas de laboratório (25 ± 2 °C; UR 60 ± 10%; 12C:12E h) o desenvolvimento biológico de *H. hampei* a partir da exposição das fêmeas colonizadoras a frutos tratados. Foram avaliados neste experimento os mesmos tratamentos do anterior, os quais foram: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1, e *B. bassiana* + Preb2.

Os frutos foram tratados da mesma maneira que no experimento anterior e alocados em placas de Petri (5 cm diâmetro) forradas com papel filtro seco de acordo com seus respectivos tratamentos. Foram transferidos um fruto e uma fêmea de *H. hampei* por placa, de modo que cada placa foi considerada uma repetição. As placas foram dispostas sobre uma bancada em delineamento inteiramente casualizado. Foram preparadas no total 50 repetições para cada tratamento, e estas foram separadas em dois grupos: 25 placas foram utilizadas para avaliação após 16 dias da montagem, e outras 25 placas foram avaliadas após 25 dias. Esta metodologia de avaliação destrutiva dos frutos em dois momentos foi utilizada devido ao hábito críptico de alimentação e desenvolvimento de *H. hampei* nas sementes no interior dos frutos de café.

Em ambas as datas de avaliação, os frutos foram abertos com auxílio de um estilete, procedendo-se da mesma forma com os grãos para permitir a correta visualização das formas biológicas de *H. hampei* presentes. As avaliações foram conduzidas sob estereoscópio (40x de aumento). Foram registrados a porcentagem de adultos vivos em relação ao total utilizadas no início do experimento, e os números de ovos e larvas vivas nas sementes.

5.6 Análise estatística

As análises dos dados foram realizadas no software Statistica v.10. Os dados de todos os experimentos realizados foram verificados quanto à distribuição dos resíduos e homogeneidade de variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Para os experimentos de campo, os números de adultos de *H. hampei* atraídos por armadilhas com cairomônio e prebióticos foram transformados em $\sqrt{x+1}$ e analisados por ANOVA com medidas repetidas no tempo, e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste LSD de Fisher ($\alpha=0.05$).

No experimento de preferência com chance de escolha, os números de insetos perfurando os frutos durante 24h, nos diferentes tempos de avaliação, foram utilizados para calcular a média.. Essas médias foram analisadas por ANOVA e comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os números de furos e de insetos por fruto foram analisados por ANOVA, e a comparação de médias entre tratamentos pelo teste LSD ($\alpha=0,05$).

No experimento sem chance de escolha, os dados de sobrevivência de *H. hampei* foram submetidos à análise de deviance, utilizando modelo linear generalizado (GLM) com distribuição de Poisson e função de ligação log. As médias de sobrevivência entre tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Os números médios de ovos e larvas foram transformados em $\log(x+1)$ e analisados por ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha=0,05$). As eficiências de controle das fêmeas e de redução na oviposição de *H. hampei* foram calculadas pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

6 RESULTADOS

6.1 Atratividade *H. hampei* por prebióticos instalados em armadilhas em campo

Houve diferença significativa para o efeito tratamento x tempo nos números de fêmeas de *H. hampei* capturadas, tanto na área localizada na UFLA ($F = 2,84$; $P = 0,0124$) (Figura 1) tanto na Fazenda comercial ($F = 7,08$; $P = 0,0002$) (Figura 2). As maiores coletas de *H. hampei* ocorreram com o cairomônio metanol:etanol, apresentando diferenças em relação aos prebióticos e controle em todas as avaliações nas duas áreas avaliadas, com exceção aos 40 dias na UFLA, onde não houve diferença entre tratamentos.

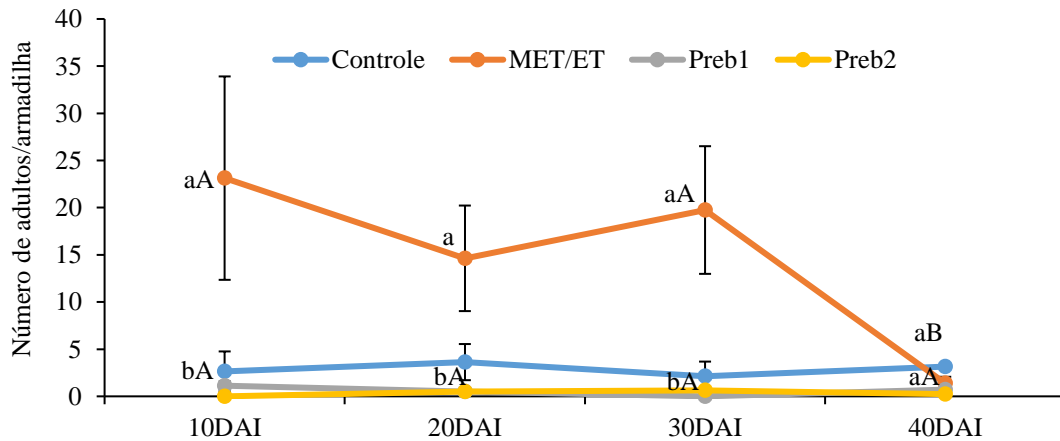


Figura 1. Número médio (\pm EP) de fêmeas adultas *H. hampei* em função do tempo nas armadilhas na área da UFLA, Lavras, MG. Tratamentos: água (controle), metanol:etanol [1:1] - (MET/ET), e dois prebióticos (Preb 1 e Preb2). Letras minúsculas diferentes entre tratamentos e maiúsculas entre avaliações denotam diferença significativa pelo teste LSD

Na área da UFLA, as coletas das avaliações aos 10, 20 e 30 dias após instalação (DAI) foram semelhantes e maiores que a avaliação de 40 DAI (Figura 1). Na área da Fazenda, a coleta de 20DAI foi maior que as coletas de 10 e 30 DAI, que foram semelhantes entre si (Figura 2).

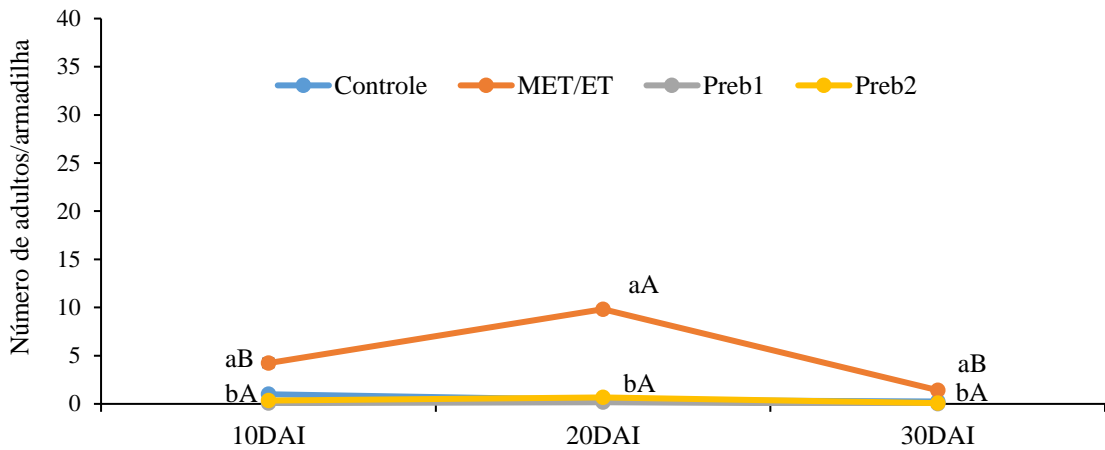


Figura 2. Número médio (\pm EP) de fêmeas adultas *H. hampei* em função do tempo nas armadilhas na área da Fazenda, Lavras, MG. Tratamentos: água (controle), metanol:etanol (caimônio 1:1) (MET/ET), e dois prebióticos (Preb 1 e Preb2). Letras minúsculas diferentes entre tratamentos e maiúsculas entre avaliações denotam diferença significativa pelo teste LSD.

6.2 Preferência de *H. hampei* por frutos tratados com *B. bassiana* e prebióticos

Houve diferença significativa na preferência das fêmeas de *H. hampei* por frutos de café tratados com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 em relação ao controle. O tratamento isolado com *B. bassiana* não diferiu dos dois tratamentos associados aos prebióticos e do controle ($F = 6,22$; $P = 0,0016$) (Figura 3).

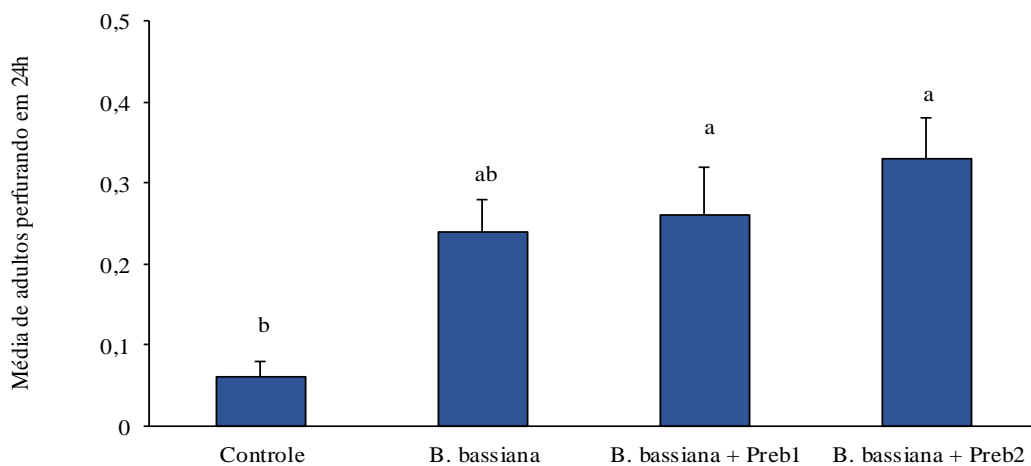


Figura 3. Número médio (\pm EP) de fêmeas adultas de *H. hampei* perfurando frutos de café tratados após 24h. Tratamentos: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Após 48h foram observados significativamente maiores números de furos ($F = 4,91$; $P = 0,0058$) (Figura 4) e de insetos dentro dos frutos ($F = 4,57$; $P = 0,0082$) (Figura 5) nos tratamentos com *B. bassiana* aplicada de forma isolada e associada aos dois prebióticos em relação ao controle, os quais não diferiram entre si.

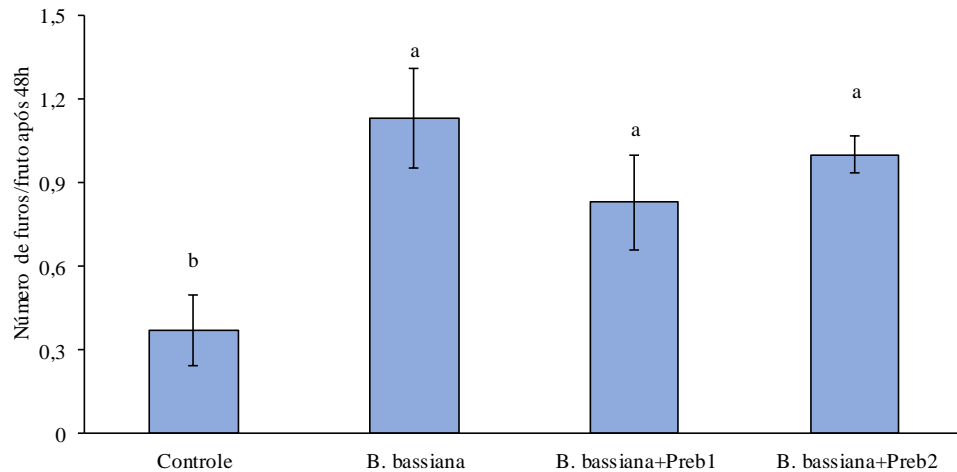


Figura 4. Número médio (\pm EP) de furos por fruto após 48 h em função dos tratamentos: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2. Letras denotam diferença significativa pelo teste LSD ($P < 0,05$).

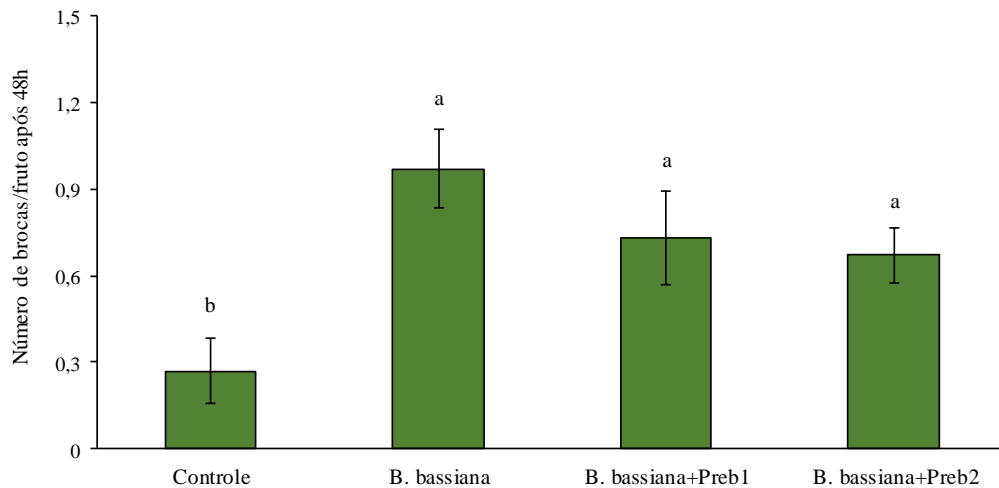


Figura 5. Número médio (\pm EP) de fêmeas adultas de *H. hampei* por fruto após 48 h em função dos tratamentos: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste LSD ($P < 0,05$).

6.3 Desenvolvimento *H. hampei* em frutos de café tratados com *B. bassiana* prebióticos

Na primeira avaliação com 16 dias, para o parâmetro sobrevivência das fêmeas colonizadoras, os resultados foram significativamente maiores no controle (água) em relação aos tratamentos com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2, ($\chi^2 = 502,57$; $P < 0,0001$) (Figura 6). As porcentagens de eficiência de controle das fêmeas de *H. hampei*

obtidas com os tratamentos *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 aos 16 dias da montagem do experimento foram de 88, 80 e 76%, respectivamente.

O número de ovos de *H. hampei* foi significativamente maior na testemunha em relação aos tratamentos com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 ($F = 4,23$; $P = 0,0222$), os quais não diferiram entre si (Figura 7). A eficiência de redução na oviposição de *H. hampei* com os seguintes tratamentos foi 83, 81 e 76%, respectivamente. Quanto ao o número de larvas não houve diferença entre tratamentos na primeira avaliação após 16 dias ($F = 0,72$; $P = 0,5556$) (Figura 7).

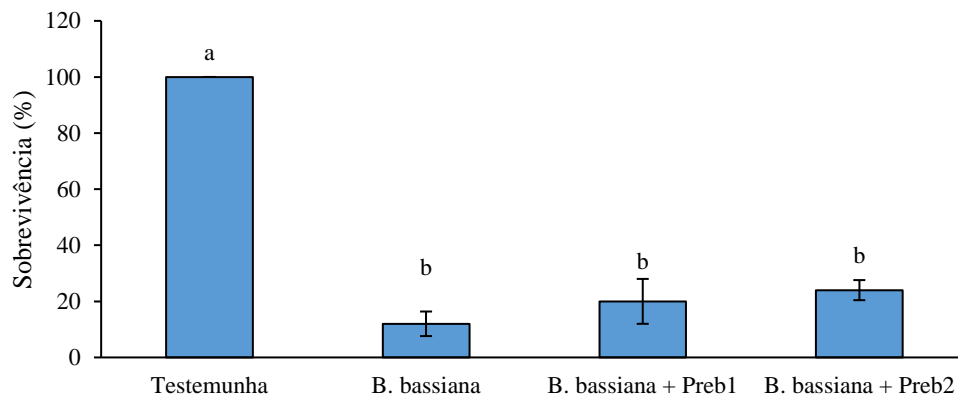


Figura 6. Médias de sobrevivência (% \pm EP) das fêmeas adultas de *H. hampei* em função dos tratamentos: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2 após 16 dias. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste de Wald ($P < 0,05$).

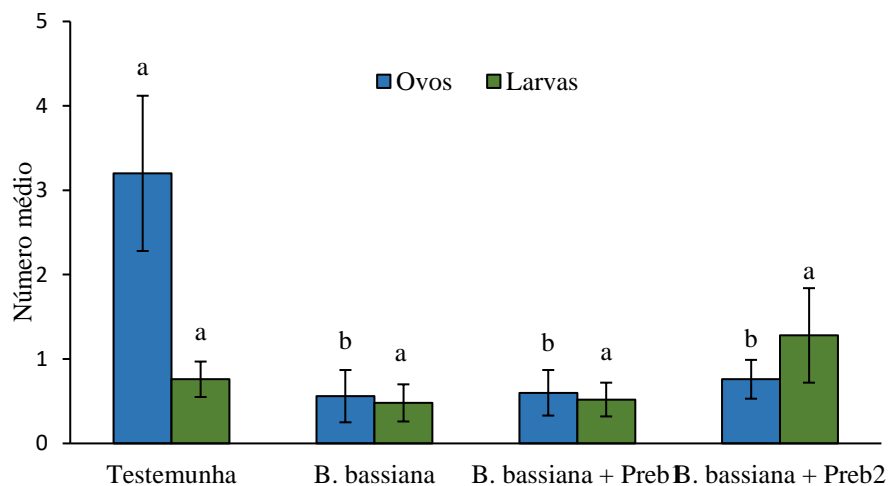


Figura 7. Número médio (\pm EP) de ovos e larvas em função dos tratamentos controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2 após 16 dias. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na segunda avaliação após 25 dias, os dados de sobrevivências corroboram com primeira avaliação, sendo significativamente maior no controle em relação aos tratamentos (X^2

= 442,77; $P < 0,0001$) (Figura 8), as taxas de eficiência de controle para esses tratamentos foram de 78, 83 e 78%, respectivamente.

Os resultados da avaliação com 25 dias para os números de ovos ($X^2 = 9,53$; $P = 0,0230$) e larvas ($F = 10,49$; $P = 0,0005$), apresentaram diferença significativa entre tratamentos, de modo que todos os tratamentos proporcionaram menor produção de *H. hampei* em relação à controle (Figura 8). As eficiências de redução na oviposição com os tratamentos *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 foram de 79, 86 e 91%, e de produção de larvas 82, 84 e 85% respectivamente. Os tratamentos com *bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 não diferiram entre si quanto aos números de ovos e larvas de *H. hampei*.

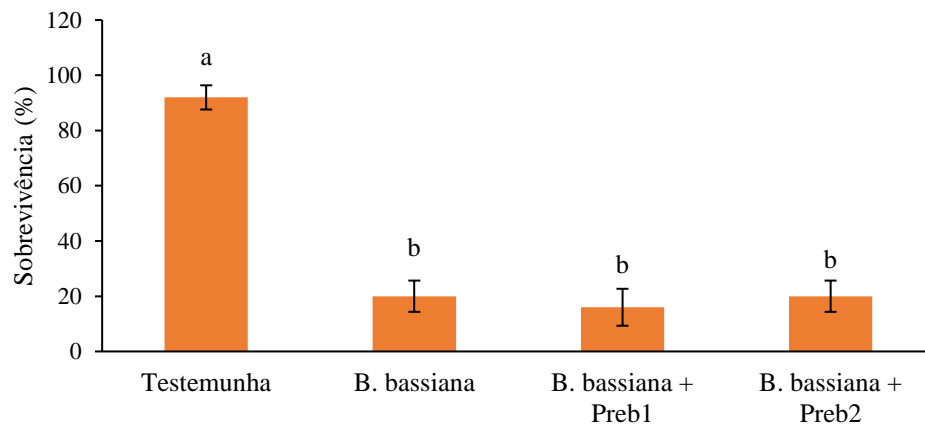


Figura 8. Médias de sobrevivência (% \pm EP) das fêmeas adultas de *H. hampei* em função dos tratamentos: controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2 após 25 dias. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste de Wald ($P < 0,05$).

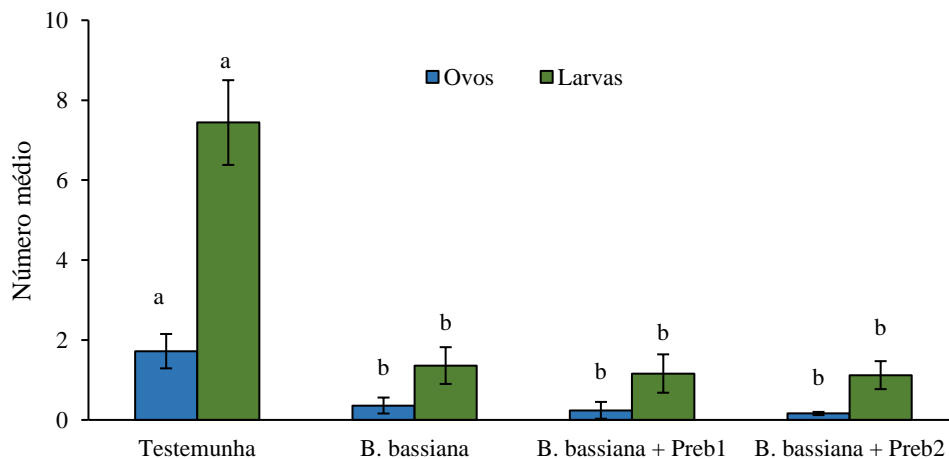


Figura 9. Número médio (\pm EP) de ovos e larvas em função dos tratamentos controle (água), *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb 1, *B. bassiana* + Preb 2 após 25 dias. Letras diferentes denotam diferença significativa pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

7 DISCUSSÃO

Os resultados do primeiro experimento com armadilhas em campo demonstraram que houve maiores coletas de adultos de *H. hampei* no tratamento com o cairomônio metanol:etanol (1:1), diferindo tanto das armadilhas com água (controle) quanto daquelas contendo os prebióticos, os quais não demonstraram ser atrativos em qualquer data de avaliação e localidade. Os resultados obtidos com o cairomônio foram mais significativos, uma vez que é utilizado comercialmente um produto denominado (Bio Broca[®], Bio Controle, Indaiatuba, SP) para monitoramento de *H. hampei* e tomada de decisão do controle de *H. hampei* na cultura do café (BENVENGA; GITZ, 2018).

Os efeitos atrativos do cairomônio à broca-do-café foram semelhantes aos verificados na pesquisa de Ortiz et al. (2004), onde os autores discutem que a composição dos compostos voláteis emitidos pelos frutos de café é dominada por teores muito elevados de álcoois, explicando assim porque armadilhas com álcoois mistos são eficazes na detecção inicial e captura de adultos da broca-do-café. Resultados semelhantes também foram encontrados por Rodríguez et al., (2010) onde a mistura de metanol:etanol (3:1) foi a mais eficaz na coleta de adultos de *H. hampei*, ao contrário do álcool etílico isolado e álcool etílico misturado com café torrado moído, que capturaram menor número de adultos. Fernandes et al. (2011), em sua pesquisa com armadilhas com etanol, metanol e benzaldeído, concluíram que seu uso para monitoramento de *H. hampei* é uma estratégia viável e que permite a tomada de decisão do controle de forma fácil e com baixo custo.

Apesar do efeito da atração dos prebióticos não ter sido positivo para *H. hampei* nas condições do presente estudo, pelas informações na literatura não há trabalhos que tenham avaliado formulações de prebióticos para atração de insetos no contexto do MIP. Essa estratégia de manejo utilizando os controles comportamental e biológico associados pode ser promissora para a broca-do-café na ocasião do uso de substâncias ou produtos derivados da fermentação microbiana que apresentem atratividade à praga. Novos estudos que avaliem outros prebióticos são necessários para melhor compreender as interações entre *H. hampei* e a capacidade atrativa desses compostos para uso aplicado em estratégias de MIP na cultura do café.

Em outros estudos relacionados com essa linha de pesquisa, Mota et al. (2017) testaram armadilhas de autoinoculação (ESALQ-Hh) para infecção e controle de *H. hampei* com *B. bassiana*, onde os insetos foram atraídos por cairomônios (metanol/etanol concentração 1:1). Os resultados demonstraram que 95% dos insetos que passaram pela armadilha de autoinoculação contendo tecido impregnado com fungos morreu antes de perfurar os frutos.

Outro estudo que relatou a eficiência do uso do cairomônio foi realizado por Fernandes et al. (2014), onde o uso de 30 armadilhas por hectare confeccionadas com garrafa PET vermelha contendo atrativo foram parcialmente eficazes na coleta massal de populações da broca-do-café, reduzindo a porcentagem de frutos brocados em 57%; entretanto, essa redução não foi suficiente para mantê-las abaixo do nível de controle.

O segundo experimento deste trabalho indicou a preferência das fêmeas adultas da broca-do-café pelos tratamentos com *B. bassiana* associada aos prebióticos em relação ao controle. No entanto, não houve diferença na preferência entre os tratamentos com *B. bassiana* isolada e associada aos prebióticos. Essa maior preferência de *H. hampei* pode ser explicada por algumas hipóteses considerando a presença de fagoestimulantes, voláteis e estímulos visuais.

A primeira hipótese diz respeito à presença de compostos fagoestimulantes nos prebióticos, que são aditivos necessários em algumas formulações de bioinseticidas, que podem tornar o produto mais atrativo ao inseto-alvo (JIMÉNEZ et al., 2015), podendo explicar as diferenças entre os tratamentos *B. bassiana* isolado ou associado aos prebióticos em relação ao controle.

É provável que a broca-do-café tenha preferido frutos tratados com prebióticos após identificarem nesses frutos algum atrativo alimentar ; porém, essa diferença na preferência entre os tratamentos com *B. bassiana* isolada e o controle só pode ser explicada se a formulação do bioinseticida (Granada®) conter os mesmos aditivos das formulações dos prebióticos, sendo que, *B. bassiana* estava nos três tratamentos . Estatisticamente a preferência foi igual entre os tratamentos, mais se observarmos os números nos tratamentos com prebióticos foi mais alto.

Rosas-García (2008) constatou que uso de fagoestimulantes para alimentação de insetos vêm se desenvolvendo e sendo aprimorado a fim de evitar que eles ingiram doses subletais do entomopatógeno e causem baixa mortalidade. Os avanços das pesquisas com objetivo de associar aditivos para aumentar a alimentação ou contato dos insetos com bioinseticidas por maior tempo é de grande importância para o sucesso da aplicação desses produtos e controle das pragas.

Como segunda hipótese para os resultados encontrados, pode-se considerar que a preferência da broca-do-café pelos frutos tratados com prebióticos possa ter ocorrido pela emissão de compostos voláteis, cujo odor foi detectado pelos insetos no microambiente das placas em que foi realizado o experimento, podendo ter sido potencializado pela volatilização de componentes dos produtos isolados ou das misturas. Considerando-se estímulos olfativos e visuais que insetos utilizam na interação com as plantas hospedeiras, os compostos voláteis são

considerados estímulos químicos facilmente detectados pela broca-do-café. A discriminação das cores associadas a estímulos olfativos é essencial na escolha dos frutos de café pelo inseto (MATHIEU et al., 2001), e sabe-se que os frutos em todos os estádios de maturação emitem voláteis (MICHEREFF et al., 2019; BLASSIOLI-MORAES et al., 2019; (DE LA ROSA-CANCINO et al., 2022). Na pesquisa realizada por Mendesil et al. (2009), fêmeas de *H. hampei* foram atraídas por voláteis de frutos de café maduros e secos, enquanto os voláteis coletados de frutos verdes não foram atraentes aos insetos, que não responderam positivamente ao odor. Pesquisas futuras devem ser realizadas para detectar se o uso dos prebióticos pode liberar compostos voláteis que sejam atrativos à broca-do-café à curta distância, afim de ser utilizado como mais uma ferramenta associada a *B. bassiana*, uma vez que neste estudo já foi constatado que a longas distâncias no experimento em campo com armadilhas os prebióticos não proporcionam atração.

A terceira hipótese a preferência de *H. hampei* é que possivelmente a coloração esbranquiçada dos frutos tratados com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2 provocaram atração visual quando detectada pelas fêmeas. Quando os frutos foram imersos nos tratamentos, eles ficaram ligeiramente esbranquiçados pelo fato de a suspensão com os produtos terem gerado espuma, e provavelmente causaram alteração na reflexão da luz. Em adição, quando as fêmeas de *H. hampei* experimentaram os frutos tratados, os compostos fagoestimulantes dos prebióticos podem ter estimulado os insetos a permanecerem nos frutos. De acordo com Vega et al. (2014), a visão das fêmeas de *H. hampei* evoluíram mais que a dos machos pela necessidade de saírem do fruto em busca de outros novos para colonização e geração da progênie. Assim, essas alterações no espectro luminoso pela deposição da suspensão dos tratamentos contendo *B. bassiana* podem ter afetado o comportamento das fêmeas da broca-do-café.

Os resultados do terceiro experimento, onde foram avaliados a sobrevivência das fêmeas colonizadoras e o desenvolvimento de *H. hampei* nos frutos tratados com *B. bassiana*, *B. bassiana* + Preb1 e *B. bassiana* + Preb2, demonstraram alta sobrevivência das fêmeas na controle, enquanto nos outros tratamentos a sobrevivência foi muito baixa (12 a 24%), fato observado pela colonização do fungo *B. bassiana*, formando uma camada branca sobre o inseto. Apesar disso, a adição dos prebióticos ao tratamento com *B. bassiana* não elevou a eficiência de controle das fêmeas colonizadoras nem reduziu a produção de ovos e larvas da broca-do-café. Embora a natureza dos aditivos sejam diferentes, esses resultados se assemelham àqueles obtidos por Souza et al. (2020), onde os agentes emulsificantes goma arábica e X1 em mistura com *B. bassiana* não aumentaram a mortalidade da broca-do-café. Não há na literatura

informações do uso de compostos prebióticos com a finalidade de aumentar a eficiência de infecção e mortalidade de insetos-praga, constituindo uma promissora estratégia de manejo. Assim, são sugeridas mais pesquisas que avaliem substratos mais eficazes, com objetivo de aumentar a vida útil do fungo entomopatogênicos para uso em programas de MIP.

Apesar de no presente estudo não ter sido constatado sinergismo entre *B. bassiana* e os prebióticos para *H. hampei*, a aplicação isolada do fungo entomopatogênico proporcionou alta eficiência de controle das fêmeas colonizadoras, bem como causou efeitos subletais na capacidade reprodutiva da praga, reduzindo a produção de descendentes. Esses resultados por si só destacam a eficiência do fungo entomopatogênico no manejo de *H. hampei*. Os resultados de mortalidade e sobrevivência do presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Jaramillo et al. (2015), onde os insetos infectados com o fungo conseguiram entrar no fruto e ovipositararam antes de morrer; contudo, esse número foi reduzido quando comparado ao controle, apresentando efeito significativo não só na mortalidade dos adultos, mas também na progênie. As avaliações nesse trabalho ocorreram 10 e 20 dias após a aplicação, confirmando os resultados aqui encontrados, onde os tratamentos com *B. bassiana* isolada ou associada ao prebióticos diminuiu o número de ovos e larvas no decorrer das avaliações, 16 e 25 dias após a aplicação. No experimentos de Padilla (2022), as maiores reduções das infestações de larvas da broca-do-café na safra 2019/2020 ocorreram no tratamento composto por dois inseticidas comerciais associadas a um produto biológico comercial, (Sperto/Boveril/Verismo) de modo que na segunda aplicação foi utilizado um produto à base de *B. bassiana*, o que pode ter contribuído para a redução populacional da broca-do-café com a aplicação desses três tratamentos de forma seriada a cada 30 dias.

Em outro estudo realizado na Colômbia por Vera et al. (2011), a combinação de isolados de *B. bassiana* (Cenicafé) diminuiu significativamente as populações da broca-do-café que emergiram de frutos de café caídos no solo, reduzindo as gerações futuras. Nossos resultados foram semelhantes na pesquisa de Greco et al. (2018) realizada no Havaí, onde a porcentagem de fêmeas mortas variou entre 69 e 95%. Em estudo de Bayman et al. (2021), todos os isolados de fungos testados reduziram os danos causados pela broca-do-café, e um isolado local foi mais bem sucedido do que os outros, enquanto o isolado comercial não apresentou resultados satisfatórios por não ter se adaptado ao ambiente quente e úmido. Em estudo recente realizado por Hollingsworth et al. (2020), observou-se que a aplicação de *B. bassiana* isolada ou em misturas com inseticidas foram satisfatórias na redução da população de broca-do-café ao longo da safra, sendo os resultados mais promissores nas aplicações no início da safra.

Todos esses resultados com *B. bassiana* demonstram que a aplicação do fungo entomopatogênico em programas de MIP é satisfatória para o controle de *H. hampei*, representando uma tática de controle sustentável que deve ser preferida para uso em relação aos inseticidas sintéticos mais tóxicos como o organofosforado clorpirifós, que representa cerca da metade dos produtos registrados para a praga na cultura do café no Brasil (MAPA, 2022). O uso dos prebióticos associados a *B. bassiana* pode se tornar uma estratégia viável para controle da broca-do-café, sendo necessárias novas pesquisas que possam completar os dados obtidos neste trabalho.

8 CONCLUSÕES

- Os dois prebióticos testados em armadilhas em campo não são atrativos para adultos de *H. hampei*;
- Frutos tratados com os prebióticos associados a *B. bassiana* não são preferidos por adultos de *H. hampei* em relação aos frutos tratados com o fungo entomopatogênico isoladamente;
- Frutos tratados com os *B. bassiana* isolados ou associados a prebióticos são eficientes para o controle das fêmeas colonizadoras e na redução no número de ovos e larvas de *H. hampei*.

9 REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. A method of computing the effectiveness of an insectide. Em W. ABBOTT, Estimating Insecticidal Effectiveness (p. 265-267). Washington: United States Department of Agriculture, 1993.
- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acessado em 10/11/2021
- ALBA-ALEJANDRE, I.; ALBA-TERCEDOR, J.; VEGA, F. E. Anatomical study of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) using micro-computed tomography. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 17150, 20 dez. 2019. doi: 10.1038/s41598-019-53537-z.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; BUSTILLO, A. E.; ARTHURS, S. P. Integrated Pest Management of Coffee Berry Borer: Strategies from Latin America that Could Be Useful for Coffee Farmers in Hawaii. **Insects**, v. 7, n. 6, p. 2–24, 2016.
- ARISTIZÁBAL, L. F.; HUGO MAURLICIO SALAZAR E; CARLOS G; M, M. Cambios en la adopción de los componentes del manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), a través de metodologías participativas. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 28, n. 2, p. 153–160, 2002. doi: 10.251100/socolen.v28i2.9641.
- BAYMAN, P.; MARIÑO, Y. A.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, N. M.; ODUARDO-SIERRA, O. F.; REHNER, S. A. Local isolates of *Beauveria bassiana* for control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* in Puerto Rico: Virulence, efficacy and persistence. **Biological Control**, v. 155, p. 104533, abr. 2021. doi: 10.1016/j.biocontrol.2021.104533.
- BENVENGA, S. R.; GITZ, G. Monitoramento da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) com armadilha bio broca (caimônio sintético) e correlação com a infestação de frutos. In: **Anais...2018**.
- BLASSIOLI-MORAES, M. C.; MICHEREFF, M. F. F.; MAGALHÃES, D. M.; MORAIS, S. D.; HASSEMER, M. J.; LAUMANN, R. A.; MENEGHIN, A. M.; BIRKETT, M. A.; WITHALL, D. M.; MEDEIROS, J. N.; CORRÊA, C. M. C.; BORGES, M. Influence of constitutive and induced volatiles from mature green coffee berries on the foraging behaviour of female coffee berry borers, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 13, n. 3, p. 349–358, 3 jun. 2019. doi: 10.1007/s11829-018-9631-z.
- CHEN, L.; KARBOUNE, S. Prebiotics in Food and Health: Properties, Functionalities, Production, and Overcoming Limitations With Second-Generation Levan-Type Fructooligosaccharides. In: **Encyclopedia of Food Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 271–279. 2019.
- DE LA ROSA-CANCINO, W.; MALO, E. A.; GÓMEZ, J.; VALLE-MORA, J. F.; BARRERA, J. F.; ROJAS, J. C. Testing what we know about coffee volatiles affecting behaviour of *Hypothenemus hampei*. **Journal of Applied Entomology**, 18 nov. 2022. doi: 10.1111/jen.13095.

DE VASCONCELOS TEIXEIRA, L. The consumption of experiences in specialty coffee shops. In: **Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 275–295. 2020.

FERNANDES, F. L.; PICANÇO, M. C.; CAMPOS, S. O.; BASTOS, C. S.; CHEDIAK, M.; GUEDES, R. N. C.; DA 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, n. 6, p. 1909–1917, 1 dez. 2011. doi: 10.1603/EC11032.

FERNANDES, F. L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, R. S. da; SILVA, Í. W. da; FERNANDES, M. E. de S.; RIBEIRO, L. H. Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 8, p. 587–594, ago. 2014. doi: 10.1590/S0100-204X2014000800002.

FERREIRA, C. C.; JUNIOR, J. S. Z.; SOUZA, M. N.; MAURÍCIO; FORNAZIER, L.; QUEIROZ, R. B.; SOSSA, S. R.; RAINHA, R.; DORZENONI; FORNAZIER, M. J.; GUARÇONI, R. C. **Tópicos em Agroecologia, Volume 3**. [s.l.] Edifes Acadêmico, 2022.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 14 ago. 2017. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250–258, maio 2012. doi: 10.1016/j.tibtech.2012.01.003.

GRECO, E. B.; WRIGHT, M. G.; BURGUEÑO, J.; JARONSKI, S. T. Efficacy of *Beauveria bassiana* applications on coffee berry borer across an elevation gradient in Hawaii. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 11, p. 995–1013, 2 nov. 2018. doi: 10.1080/09583157.2018.1493088.

HOLLINGSWORTH, R. G.; ARISTIZÁBAL, L. F.; SHRINER, S.; MASCARIN, G. M.; MORAL, R. de A.; ARTHURS, S. P. Incorporating *Beauveria bassiana* Into an Integrated Pest Management Plan for Coffee Berry Borer in Hawaii. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, n. 22, 27 mar. 2020. doi: 10.3389/fsufs.2020.00022.

HOSSAIN, M. M. Response of Rice Blast Fungus *Pyricularia grisea* to Vitamins and In-Mtro Evaluation of Biological Agents Against It. **Environment & Ecology**, v. 34, n. 4 B, p. 2168–2171, 2016.

INFANTE, F.; JARAMILLO, J.; CASTILLO, A.; VEGA, F. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 2, n. 2, p. 129–147, 2009. doi: 10.1163/187498209X12525675906031.

JARAMILLO, J. L.; MONTOYA, E. C.; BENAVIDES, P.; B., C. E. G. *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de broca del café com frutos do suelo. **Rev. Colomb. Entomol.**, v. 41, n. 1, p. 95–104, 2015.

JIMÉNEZ, M. A.; GUTIÉRREZ, C. G.; GARCÍA, N. M. R.; MEYER, M. L.; HERNÁNDEZ, J. C. S. Formulación de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin con polímeros biodegradables y su virulencia contra *Heliothis virescens* (Fabricius) No Title. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v. 31, n. 3, p. 210–226, 2015.

LOPEZ-SANTAMARINA, A.; MIRANDA, J. M.; MONDRAGON, A. del C.; LAMAS, A.; CARDELLE-COBAS, A.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A. Potential Use of Marine Seaweeds as Prebiotics: A Review. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 1004, 24 fev. 2020. doi: 10.3390/molecules25041004.

LUIS F. ARISTIZÁBAL; ALEX E. BUSTILLO; STEVEN P. Manejo Integrado de Pragas da Broca do Café: Estratégias da América Latina que podem ser úteis para os cafeicultores no Havái. **Insects**, v. 7, n. 6, p. 2–24, 2016. doi: 10.3390/insects7010006.

MARTINEZ, H. E. P.; CLEMENTE, J. M.; LACERDA, J. S. de; NEVES, Y. P.; PEDROSA, A. W. Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. **Revista Ceres**, v. 61, n. suppl, p. 838–848, dez. 2014. doi: 10.1590/0034-737x201461000009.

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, 15 nov. 2016. doi: 10.1007/s11274-016-2131-3.

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, jul. 2019. doi: 10.1016/j.jip.2018.01.001.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J. A. Semiochemicals used in Host Location by the Coffee berry Borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 8, p. 944–950, 2009. doi: 10.1007/s10886-009-9685-6.

MENT, D.; SHIKANO, I.; GLAZER, I. Abiotic Factors. In: **Ecology of Invertebrate Diseases**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2017. p. 143–186. 2017.

MICHEREFF, M. F. F.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M.; MORAIS, S. D. de; MAGALHÃES, D. M.; LAUMANN, R. A.; SILVA, C. C. da; MENEGHIN, A. M.; COST, J. N. M. **Perfil de voláteis, constitutivos e induzidos por herbivoria, de frutos de diferentes variedades de café e sua influência sobre o comportamento de *Hypothenemus hampei*.**

MONZÓN, A. J.; GUHARAY, F.; KLINGEN, I. Natural occurrence of *Beauveria bassiana* in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) populations in unsprayed coffee fields. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 97, n. 2, p. 134–141, fev. 2008. doi: 10.1016/j.jip.2007.07.008.

MORAN, A. R.; GALARZA, G. V.; PARRALES, Y. R.; ALVARADO, D. D.; GARCÍA, L. S.; FLORES, H. E.; ARAGONE, D. S. Controle biológico do gorgulho da bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar com a utilização de diversas cepas de *Beauveria bassiana* em condições de laboratório / Biological control of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* Germar with the use of several Be. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 4, p. 5527–5542, 3 nov. 2021. doi: 10.34188/bjaerv4n4-051.

MOTA, L. H. C.; SILVA, W. D.; SERMARINI, R. A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; BENTO, J. M.

S.; DELALIBERA, I. Autoinoculation trap for management of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) with *Beauveria bassiana* (Bals.) in coffee crops. **Biological Control**, v. 111, p. 32–39, ago. 2017. doi: 10.1016/j.biocontrol.2017.05.007.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 357–374, 16 jul. 2013. doi: 10.3390/insects4030357.

ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEGA, F. E.; POSADA, F. Volatile Composition of Coffee Berries at Different Stages of Ripeness and Their Possible Attraction to the Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5914–5918, 1 set. 2004. doi: 10.1021/jf049537c.

PADILLA, J. J. E. **CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS DE FORMULADO À BASE DE NIM NO DESEMPENHO DE *Hypothenemus hampei* E APLICAÇÃO EM ESTRATÉGIAS DE MANEJO EM CAFÉ ARÁBICA**. 2022. Universidade Federal de Lavras, 2022.

PARDEY, A. E. B. Uma revisão da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), na Colômbia. **Rev. Colomb. Entomol**, v. 32, p. 101, 2006.

PEREIRA, A. E. **USO DE ARMADILHA VISANDO GERAÇÃO DE NÍVEL DE AÇÃO E CORRELAÇÃO ENTRE CAPTURA E INFESTAÇÃO DE *Hypothenemus hampei* NA CULTURA DO CAFÉ**. 2006. 2006.

PRANCKUTĖ, R.; KAUNIETIS, A.; KUISIENĖ, N.; ČITAVIČIUS, D. J. Combining prebiotics with probiotic bacteria can enhance bacterial growth and secretion of bacteriocins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 669–676, ago. 2016. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.05.041.

RIBEIRO, K. M.; CASTRO, M. H. de C.; RIBEIRO, K. D.; LIMA, P. L. T.; ABREU, L. H. P.; BARROS, K. L. C. ESTUDO COMPARATIVO DO MÉTODO PADRÃO DA ESTUFA E DO MÉTODO SPEEDY NA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA NO SOLO. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 12, n. 1, p. 18–28, 27 mar. 2018. doi: 10.18011/bioeng2018v12n1p18-28.

RODRÍGUEZ, D. M.; NÚÑEZ, A. Á.; MORENO, L. L. V.; SIMONETTI, J. A. EVALUACIÓN DE ATRAYENTES PARA LA CAPTURA DE HEMBRAS ADULTAS DE BROCA DEL CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI) CON TRAMPAS ARTESANALES. **FITOSANIDAD**, v. 14, n. 3, p. 177–180, 2010.

ROSAS-GARCÍA, N. M. Avances en el desarrollo de formulaciones insecticidas a base de *Bacillus thuringiensis*. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 10, n. 1, p. 49–63, 2008.

SOUZA, R. A. DE. **FUNGOS ENDOFÍTICOS EM FOLHAS DE CAFEIEIRO: DIVERSIDADE E POTENCIAL ENTOMOPATOGÊNICO SOBRE A BROCA DO CAFÉ**. 2019. 2019.

SOUZA, R. A. de; PRATISSOLI, D.; LUIS MOREIRA DE ARAUJO JUNIOR, J. de A. P.; ATAÍDE, J. O.; TAMASHIRO, L. A. G.; MARIANA ALMEIDA DOS SANTOS, A. P. D. Mortality of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* in Field, with Pre and Post Application of Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Associated to Emulsifiers. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science - IJAERS**, v. 7, n. 5, p. 80–85, 2020. doi: 10.22161/jaers.75.11.

VALERO-JIMÉNEZ, C. A.; WIEGERS, H.; ZWAAN, B. J.; KOENRAADT, C. J. M.; VAN KAN, J. A. L. Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 133, p. 41–49, jan. 2016. doi: 10.1016/j.jip.2015.11.011.

VEGA, F. E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A. J. The Genus *Hypothenemus*, with Emphasis on *H. hampei*, the Coffee Berry Borer. In: **Bark Beetles**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 427–494. 2015.

VEGA, F. E.; SIMPKINS, A.; BAUCHAN, G.; INFANTE, F.; KRAMER, M.; LAND, M. F. On the Eyes of Male Coffee Berry Borers as Rudimentary Organs. **PLOS ONE**, v. 9, n. 1, 2014.

VERA, J. T.; MONTOYA, E. C.; BENAVIDES, P.; GÓNGORA, C. E. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as a control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) emerging from fallen, infested coffee berries on the ground. **Biocontrol Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 1–14, jan. 2011. doi: 10.1080/09583157.2010.517605.

XIAO, G.; YING, S.-H.; ZHENG, P.; WANG, Z.-L.; ZHANG, S.; XIE, X.-Q.; SHANG, Y.; ST. LEGER, R. J.; ZHAO, G.-P.; WANG, C.; FENG, M.-G. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, v. 2, n. 1, p. 483, 2 jul. 2012. doi: 10.1038/srep00483.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, v.17, p553-596, 2007.