

# CONTROLE DE *Hypothenemus hampei* COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM DIFERENTES MODOS DE CONTATO

Patrícia Helena SANTORO<sup>1</sup>, E-mail: ph\_santoro@yahoo.com.br; Pedro M. O. J. NEVES<sup>1</sup>, E-mail: pedroneves@uel.br; Kelly CONSTANSKI<sup>2</sup>; Silvia Akimi GAVAGUCHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; <sup>2</sup>Faculdade Luiz Meneghel, Bandeirantes, PR.

## Resumo:

Com o objetivo de avaliar a mortalidade da broca do cafeeiro pelo fungo *Beauveria bassiana* em diferentes modos de contato e concentrações do fungo, realizou-se um estudo comparando os seguintes tratamentos: PF1- Folhas de cafeeiro pulverizadas com 0,1 mL da suspensão de conídios sobre a face abaxial; PF2- Folhas de cafeeiro pulverizadas com 0,1 mL da suspensão de conídios sobre a face abaxial e 0,1 mL sobre a face adaxial. Nestes dois tratamentos as brocas permaneceram em contato com as folhas por 3 dias. PB- Adultos da broca pulverizados diretamente com 0,1 mL da suspensão de conídios, permanecendo no mesmo recipiente da pulverização; PC- Frutos de café verdes pulverizados com 0,1 mL da suspensão de conídios, nos quais as brocas permaneceram em contato por 2 horas. As concentrações utilizadas foram  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . Cada tratamento foi constituído de 5 repetições com 10 insetos. As placas foram mantidas em câmara climatizada (25°C e fotofase 12 horas). Os dados de mortalidade confirmada, ao 5º dia de avaliação, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Independente da concentração utilizada, os melhores modos de contato foram PF2 e PB, não havendo diferença estatística entre si, com 59,2 e 55,5% de mortalidade confirmada respectivamente. Em PF2 as melhores concentrações foram de  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  com 78,0, 60,0 e 54,0% de mortalidade confirmada respectivamente. Para o modo de contato PB a maior mortalidade confirmada (82%) foi observada na concentração de  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . As melhores concentrações, independente dos modos de contato, foram  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . Os resultados mostram que quanto maior a superfície tratada, maior a chance da broca se contaminar com o patógeno e morrer.

Palavras-chave: cafeeiro, controle biológico, controle microbiano, produção orgânica

## *Hypothenemus hampei* CONTROL WITH THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* BY DIFFERENT CONTACT WAYS

### Abstract:

With the objective of evaluated coffee berry borer mortality by *B. bassiana* in different contact ways and fungus concentrations a study were made using the following treatments: PF1 – coffee leaves sprays with 0,1 mL of fungus conidial suspensions over the abbatial face; PF2- coffee leaves sprays with 0,1 mL of fungus conidial suspensions over the abbatial face and 0,1 mL over the ad axial face. In these tow treatments the borers rest in contact with the leaves for 3 days. PB - adults of the borer sprayed directly with 0,1 mL of the conidia suspension, resting in the same sprayer vials; PC- green coffee fruits sprayer with 0,1 mL of conidial suspension. The concentrations utilized were  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ . The borers rest in contact with the fruits for 2 hours. Witch treatment had 5 replications with 10 insets. The plates were left in a climate chamber (25°C e fotoface 12 hours). Confirmed mortality data at day 5 of the evaluation were submitted to variance analyses and means were compared by Tukey test with 5% significance. Independent of the concentration utilized, the best contact ways were PF2 and PB, with no significant statistical difference, with 59,2 and 55,5% confirmed mortality respectively. In PF2 the best concentrations were  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$  with 78,0, 60,0 and 54,0% of confirmed mortality respectively. For the PB contact way the bigger confirmed mortality (82%) was observed for the concentration of  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . The best concentrations independent of the contact way were  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ . The results show that the bigger the surface treated, bigger is the chance for borer to be contaminated by the pathogen and die.

Key words: Coffee tree, Biological control, microbial control, organic production

### Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de café, participando com 28% da produção. Em segundo lugar vem a Colômbia, que detém 14% do mercado, seguida pela Indonésia com 7%. Os principais compradores do café brasileiros são a Alemanha, EUA, Itália e Japão, que representam 50% das exportações brasileiras, e são mercados consumidores altamente exigentes quanto à qualidade do produto (FEBEC, 2007). Dentre os diferentes problemas fitossanitários do cafeeiro estão as pragas,

destacando-se a broca-do-cafeeiro *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1857). Este inseto é praticamente encontrado em todas as regiões produtoras. Sob condições favoráveis ao seu desenvolvimento, pode contribuir para a redução da produtividade e para a depreciação da qualidade de frutos (Cure *et al.*, 1998). Os frutos são danificados por perfurações e formação de galerias, e podem deteriorar-se ainda mais pela penetração de fungos oportunistas (Souza & Reis, 1997). Seus danos/prejuízos são mais pronunciados no sistema de plantio adensado. Neste sistema, a elevada densidade populacional do inseto dificulta seu controle (Fasouli, 1996). Isto se deve à dificuldade de entrada de máquinas para aplicação de inseticida, bem como a deposição do mesmo nas estruturas do cafeeiro. Outro fator que contribui para a maior dificuldade de controle das populações é a modalidade de colheita, que deixa grande número de frutos no solo, os quais se tornam abrigo e alimento para a broca na entressafra, e de onde se inicia o ataque à safra seguinte.

O controle desta praga baseia-se no uso de inseticidas, especificamente o endossulfan, mas a sua utilização intensiva e repetida induz à resistência do inseto ao produto (Brun *et al.*, 1989), inviabilizando o controle químico e acarretando maiores prejuízos ao produtor, além de aumentar a contaminação do ambiente e os danos à saúde humana. Por isso, o controle biológico da broca, no contexto do manejo de pragas do cafeeiro torna-se relevante. Entre os diferentes agentes de controle biológico destaca-se o fungo *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil. que ocorre naturalmente controlando as populações deste inseto. Podemos citar como vantagens deste tipo de controle a eliminação de problemas de contaminação humana, dos alimentos e do meio ambiente, além de ser uma tecnologia sustentável, economicamente mais vantajosa para o produtor e promover a melhoria da qualidade do café produzido (Bustillo & Villacorta, 1996).

Estudos em laboratório e a campo indicam o potencial do fungo *B. bassiana* para ser utilizado na redução da população da broca, desde que exista suficiente potencial de inóculo para induzir o processo infeccioso no campo (Jiménez-Gómez, 1992, Neves & Hirose, 2005). Plantios comerciais de cafeeiros, principalmente os adensados, permitem melhor proteção contra a radiação solar, e em certos períodos, a maior umidade relativa, podendo favorecer o desenvolvimento de infecções por *B. bassiana*. Entretanto, deve-se considerar, para o sucesso desta prática, as limitações microclimáticas regionais, os espaçamentos e a utilização de produtos sintéticos no controle de outras pragas e doença da cultura, principalmente fungicidas (Bustillo, 1990; Oliveira *et al.*, 2003). Plantios adensados e bem conduzidos, principalmente os que utilizarem o IAPAR 59, resistente a todas as raças de *Hemileia vastatrix* (Sera *et al.* 1996), podem favorecer a ocorrência de *B. bassiana*, pela redução no uso de fungicidas no controle de doenças e por condições microclimáticas mais propícias ao desenvolvimento de *B. bassiana*.

Assim, considerando o controle pelo uso de *B. bassiana*, este trabalho tem como objetivo avaliar a mortalidade da broca-do-cafeeiro pelo fungo *B. bassiana* por diferentes modos de contato, simulando o que poderá ocorrer a campo quando o fungo é aplicado.

## Material e Métodos

Conídios do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, isolado CG432, produzidos em meio B.D.A., foram suspensos em solução aquosa de Tween 20 a 0,02% (VV<sup>-1</sup>) esterilizada e as suspensões padronizadas nas concentrações de 1x10<sup>6</sup>, 1x10<sup>7</sup>, 1x10<sup>8</sup> e 1x10<sup>9</sup> conídios mL<sup>-1</sup>.

Os modos de contato de *H. hampei*, com o fungo foram:

PF1- Folhas de cafeeiro, previamente desinfetadas com solução de hipoclorito (5%) e lavadas com água destilada esterilizada foram recortadas em pedaços com área foliar de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup>. Em placas de Petri (9 cm de diâmetro) foram colocados 3 pedaços de folha, que foram pulverizados sobre a face abaxial com 0,1 mL da suspensão de fungo. Cada pedaço foi transferido para outra placa de Petri (4 cm de diâmetro) onde foram colocadas 10 brocas. Ao terceiro dia as folhas foram substituídas por novas folhas de café também desinfetadas.

PF2- Foi realizado o mesmo procedimento descrito em PF1, no entanto, em PF2 as folhas foram pulverizadas com 0,1 mL da suspensão de conídios sobre a face abaxial e 0,1 mL sobre a face adaxial.

PB: Foram colocadas 10 adultos de *H. hampei* em placas de Petri (4cm de diâmetro), que foram pulverizadas com 0,1 mL da suspensão de conídios. As brocas permaneceram nesta mesma placa, onde se colocou folhas de café desinfetadas com solução de hipoclorito (5%) e lavadas com água destilada esterilizada, que foram substituídas ao terceiro dia.

PC: Em placas de Petri (4 cm diâmetro) foram colocados cinco frutos verdes de café previamente desinfetados com solução de hipoclorito (5%) e lavados com água destilada esterilizada. Os frutos foram pulverizados com 0,1 mL da suspensão de conídios e transferidos para outra placa junto a 10 adultos de *H. hampei*. Os insetos ficaram em contato com os frutos por 2 horas (tempo máximo de caminhar sobre os frutos, pré-determinado em bioensaios anteriores, antes que estes sejam penetrados). Os frutos de café foram então substituídos por folhas de café previamente desinfetadas, as quais foram trocadas ao terceiro dia.

Para cada modo de contato foi feita uma testemunha onde se utilizou apenas solução aquosa esterilizada de Tween 20 a 0,02% (VV<sup>-1</sup>) no lugar da suspensão de fungo. Em todos os tratamentos as tampas das placas foram aspergidas diariamente com água destilada esterilizada, para manter a umidade do recipiente. As placas foram mantidas em câmara climatizada (25°C e fotofase 12 horas) e as avaliações realizadas diariamente por 5 dias. Os insetos mortos foram transferidos para câmara úmida para confirmar a mortalidade pelo fungo. Cada tratamento foi constituído de 5 repetições com 10 insetos. Os dados de

mortalidade confirmada foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## Resultados e Discussão

Comparando-se a mortalidade confirmada de *H. hampei*, independente da concentração utilizada, os melhores modos de contato com o fungo *B. bassiana* foram os PF2 e PB. Em PB a maior mortalidade confirmada (82%) foi observada na concentração  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . Para este método não houve diferença estatística entre as demais concentrações. No modo PF2 as concentrações de  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  foram as mais virulentas com 78,0, 60,0 e 54,0% de mortalidade confirmada respectivamente, não havendo diferença estatística entre elas. No modo de contato PC as melhores concentrações foram  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  e  $1 \times 10^7$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  com 54,0, 38,0 e 36,0% de mortalidade confirmada respectivamente, sem diferença estatística. No modo de inoculação PF1 as concentrações com maior mortalidade confirmada foram  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  com 42,0 36,0 e 34,0% respectivamente, sem diferença estatística (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade confirmada de *Hypothenemus hampei* causada por *Beauveria bassiana* utilizando diferentes modos de contato do fungo com o inseto e diferentes concentrações.

Modo de contato <sup>2</sup>	Concentração de conídios $\text{mL}^{-1}$				Média
	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^9$	
Testemunha	0,0 ± 0,0 Da <sup>1</sup>	0,0 ± 0,0 Ba	0,0 ± 0,0 Ba	0,0 ± 0,0 Ca	0,0 C
PB	46,0 ± 1,0 ABb	44,0 ± 0,8 Ab	50,0 ± 1,2 Ab	82,0 ± 0,6 Aa	55,5 A
PC	28,0 ± 0,5 BCb	36,0 ± 0,5 Aab	54,0 ± 0,8 Aa	38,0 ± 0,4 Bab	39,0 B
PF1	10,0 ± 0,5 CDb	36,0 ± 0,5 Aa	34,0 ± 1,1 Aab	42,0 ± 0,7 Ba	30,0 B
PF2	60,0 ± 0,5 Aab	46,0 ± 1,3 Ab	54,0 ± 1,0 Aab	78,0 ± 0,4 Aa	59,2 A
Média	28,8 ± b	32,4 ± b	38,4 ± ab	48,0 ± a	CV= 42,38%

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Médias seguidas do erro padrão da média.

<sup>2</sup>PB- pulverização sobre a broca; PC- pulverização sobre café; PF1- pulverização sobre a face abaxial da folha; PF2- pulverização sobre a face abaxial e adaxial da folha.

Considerando-se as concentrações, independente do modo de contato, as mais virulentas foram  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , que são também as mais elevadas. Já para a menor concentração ( $1 \times 10^6$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ ) as maiores mortalidades confirmadas foram observadas em PF2 e PB, com 60,0 e 46,0% respectivamente, não diferindo estatisticamente. Possivelmente nestes dois modos de contato uma maior quantidade de conídios aderiu aos insetos promovendo maior mortalidade. Para as concentrações de  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  não ocorreu diferença estatística de mortalidade entre os modos de inoculação (Tabela 1).

## Conclusões

Os dados aqui obtidos mostram que é primordial que nas aplicações de *B. bassiana* a campo, os conídios do fungo, que são a unidade infectiva do mesmo, sejam distribuídos em todas as estruturas da planta aumentando a chance de contato do inseto com o fungo e conseqüentemente a mortalidade e controle dos adultos de *H. hampei*. Também, podemos concluir que na época de maior movimentação dos adultos na lavoura, na época de trânsito da broca, aumenta a probabilidade de contato do inseto com o fungo em dosagens que promovam a morte do mesmo. Mostram também que existe a necessidade de se estudar tecnologias de aplicação que possibilitem uma melhor cobertura das diferentes estruturas da planta. Estes estudos deverão ser complementados e repetidos em laboratório para melhor entendimento dos mecanismos de ocorrência da doença a campo.

## Referências Bibliográficas

Brun, L.O.; Marcillaund, C.; Gaudichon, V.; & Suckling, D. (1989). Endosulfan resistace in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. Journal Economic Entomology. 82: 1311-1316.

Bustillo, A.E. (1990). Uso potencial del entomopatogeno *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. p. 91-105. In Seminario Sobre la Broca del Café. Medewllin- Colombia. Mayo 21, Resumes... Medellín (Colombia), Socolen.

Bustillo, A.E. & Villacorta, A. (1996). Manejo de las principales plagas Del café em plantaciones de alta densidade. In Simpósio Internacional sobre Café Adensado, Londrina, PR. p. 185-196.

Cure, J.R; Santos, R.H.S.; Moraes, J.C.; Vilela, E.F. & Gutierrez, A.P.(1998). Fenologia e dinâmica populacional da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) relacionadas às fases de desenvolvimento do fruto. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 27: 325-335.

Fasouli, L.C. (1996). Contribuição da pesquisa para a obtenção de cafeeiros adaptados ao plantio adensado. In Simpósio Internacional sobre Café Adensado, Londrina, PR. p.1-45.

FEBEC (2007). Federação brasileira dos exportadores de café. Consultado pela internet, em 02 de março de 2007. <http://www.febec.org.br>.

Jiménez-Gómez, J. (1992). Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* a la broca del café. Cenicafé 43: 84-98.

Neves, P.M.O.J.; Hirose, E. (2005) Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* Para o Controle Biológico da Broca-do-Café *Hypothenemus Hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Neotropical Entomology, Londrina, v. 34, n. 1, p. 77-88, 2005.

Oliveira, C.N.; Neves, P.M.O.J.; Kawazoe, L.S. (2003). Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. Scientia Agrícola, Piracicaba, 60: 663-667.

Sera, T.; Androcioli Filho, A.; Cardoso, R.M.L.; Dias, M.C.L.L.; Guerreiro, A. & Silva, E. (1996). Iapar 59- Cultivar de café para plantio adensado. p. 293-294. In Simpósio Internacional sobre Café Adensado, Londrina, PR.

Souza J.C. & Reis, P.R. (1997) Broca-do-café- histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle. Boletim técnico nº50- Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Belo Horizonte. 40p.