

PATOGENICIDADE DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK.,  
À BROCA-DO-CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867)  
(COLEOPTERA: SCOLYTIDAE)

Roberto E. Lecuona<sup>1</sup>  
Sergio B. Alves<sup>3</sup>

Paulo M. Fernandes<sup>2</sup>  
Ervino Bleicher<sup>4</sup>

ABSTRACT

Patogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.  
to *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)

Laboratory bio-assays showed that *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. is pathogenic to the coffee berry borer. Suspensions of the fungus at different concentrations were used together with three inoculation methods on berries, leaves and insects. Mortalities over 60% after 4 days were achieved with a concentration of  $1.5 \times 10^8$  spores/ml in all inoculation methods.

---

Recebido em 13/11/85

<sup>1</sup> Bolsista pelo Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina; Curso de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP.

<sup>2</sup> Bolsista pelo Convênio EMBRAPA-CNPAF/BOYCE THOMPSON INSTITUTE. Goiânia-GO; Curso de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP.

<sup>3</sup> Deptº de Entomologia da ESALQ/USP. Caixa Postal 9 13400 Piracicaba, SP.

<sup>4</sup> EMBRAPA (CNPQ) - Caixa Postal 174 - 58100 Campina Grande, PB; Curso de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP.

## INTRODUÇÃO

O café tem sido durante muitas décadas uma importante fonte de divisas para o Brasil. No entanto, o cafeeiro é prejudicado por doenças e pragas que provocam sérias perdas. Dentre as diversas pragas que atacam esta cultura, a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), é considerada a mais importante.

Observada pela primeira vez no Brasil em 1922 na região de Campinas, SP., disseminou-se a todas regiões produtoras do país. Contra este inseto tentou-se inicialmente o controle biológico com a "Vespa de Uganda", *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (GALLO *et al.*, 1978). Apesar deste parasitóide ter se adaptado no Brasil, sua ação não foi suficiente para manter a população da broca abaixo do nível de dano econômico.

Embora exista na literatura brasileira o relato de MESQUITA (1944) da ocorrência do fungo *Botrytis stephanoderis* (= *Beauveria bassiana*), atacando a broca, apenas recentemente foram iniciados estudos de controle microbiano deste inseto. Com relação ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. parasitando *H. hampei* nenhuma referência foi constatada.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de verificar a atuação de um isolado de *M. anisopliae* como possível agente de controle de *H. hampei*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi conduzida no Laboratório de Patologia dos Insetos do Deptº de Entomologia da ESALQ/USP em 1984 e 1985.

Utilizou-se o isolado SPL-255 de *M. anisopliae* obtido originalmente de *Anthonomus grandis* Boheman, armazenado na micoteca do Deptº de Entomologia da ESALQ/USP, estando na 4ª repicagem. Foram utilizados adultos da broca-do-café coletados em grãos secos existentes em cafeeiros deste Departamento, sendo realizados dois bioensaios a 26°C e 16 horas de fotofase.

No Bioensaio I o fungo foi produzido em meio BDA sólido durante 15 dias a 26°C e 16 horas de fotofase, sendo retirado em seguida com auxílio de um pincel e posteriormente preparado-se uma suspensão em água estéril mais espalhante adesivo (Agral). A determinação do número de conídios/ml foi feita pe

la contagem em câmara de Neubauer. Através de diluições da suspenção original obteve-se suspensões de  $3,8 \times 10^4$ ,  $3,8 \times 10^6$  e  $3,8 \times 10^8$  conídios/ml que juntamente com a testemunha (água esterilizada mais espalhante) constituiram os tratamentos.

Foram utilizados dois métodos de inoculação:

a - Tratamento de grãos

Em cada tratamento, foram imergidos três grãos verdes e sadios e deixados secas à sombra por 1 hora. Confinou-se 5 brocas junto aos 3 grãos em um tubo de vidro de 2,3 cm de diâmetro e 8,5 cm de altura, que foi fechado com filme de plástico de PVC (Magipac K R) com furos de ventilação.

b - Tratamento das folhas

As folhas de cafeeiro foram imergidas por 5 segundos na suspensão  $3,8 \times 10^8$  conídios/ml e deixadas para secarem à sombra. Com duas destas folhas confeccionou-se um cartucho onde foram confinadas as brocas, as quais após 1 hora foram retiradas e colocadas em tubos de vidro com 3 grãos de café verdes e sadios, tampados como descrito anteriormente.

Em ambos métodos foram utilizadas 5 repetições de 5 brocas perfazendo-se um total de 25 brocas por tratamento.

No Bioensaio II o fungo foi produzido em arroz pré-cozido, autoclavado a  $26 \pm 5^\circ\text{C}$ . Em seguida, este foi retirado dos grãos por agitação com água estéril mais espalhante adesivo (Agral), seguido de coagem em tecido de "voil". Através de procedimentos semelhantes ao Bioensaio I obteve-se as suspensões de  $1,5 \times 10^5$ ;  $1,5 \times 10^6$ ;  $1,5 \times 10^7$  e  $1,5 \times 10^8$  conídios/ml.

Foram utilizados três métodos de inoculação:

a - Tratamento dos grãos - semelhante ao descrito no Bioensaio I.

b - Tratamento das folhas

Ao invés dos cartuchos usados no Bioensaio I, foram utilizados para cada tratamento um disco de folha de 4,5 cm de diâmetro sobre o fundo de caixas plásticas, onde os insetos foram confinados por 1 hora.

c - Tratamento do inseto

As brocas foram imergidas por 5 segundos em cada suspensão, sendo então colocadas sobre papel toalha para retirar o

excesso das suspensões. Logo após foram transferidas para tubos de vidro com 3 grãos não inoculados, tampando-se da maneira descrita anteriormente.

Em ambos bioensaios foi determinada a viabilidade do fungo através da porcentagem de germinação de conídios em meio BDA após 20 horas a 26°C e 16 horas de fotofase.

As observações foram realizadas a cada dois dias após a instalação do ensaio, sendo que os insetos mortos foram acondicionados em câmara úmida para a verificação do crescimento e esporulação do fungo.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao Bioensaio I estão condensados no Quadro 1. Pode-se observar que houve um incremento na mortalidade dos insetos com o aumento das concentrações quando estes foram confinados junto a grãos tratados com o fungo. Já aos 4 dias, obteve-se 84% de mortalidade para a mais alta concentração, enquanto que para a inoculação através de folhas, a mortalidade aos 4 dias foi de apenas 30%.

QUADRO 1 - Porcentagem de mortalidade acumulada da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* por *Metarhizium anisopliae* depois de 4 dias, em diferentes concentrações e métodos de inoculação. Piracicaba, 1984.

Concentração (conídios/ml)	Métodos de inoculação	
	grãos	folhas
Testemunha	0	0
$3,8 \times 10^4$	20	-
$3,8 \times 10^6$	32	-
$3,8 \times 10^8$	84	30

Os resultados do Bioensaio II são vistos no Quadro 2 e Figura 1. De modo semelhante ao Bioensaio I, houve um incremento da mortalidade em função do aumento nas concentrações aplicadas para os três métodos de inoculação utilizados. A aplicação direta no inseto se mostrou mais eficiente que os de mais métodos de inoculação.

Apesar da utilização de concentrações diferentes nos dois bioensaios, permitiu-se observar que os resultados correspondentes à inoculação nas folhas foram muito variáveis. Isto pode ser devido à dificuldade de se confinar os insetos sobre as folhas ocasionando variações na quantidade de inóculo que as brocas podem receber.

Os dados de mortalidade obtidos na inoculação sobre grãos foram satisfatórios (84%) somente em concentrações elevadas ( $3,8 \times 10^8$  conídios/ml), diminuindo sua eficiência em concentrações menores. Estudos posteriores poderão confirmar melhor este bom comportamento de *M. anisopliae* sobre a broca-do-café.

QUADRO 2 - Mortalidade acumulada da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* por *Metarhizium anisopliae* depois de 4 dias, em diferentes concentrações e métodos de inoculação. Piracicaba, 1985.

Concentração (conídios/ml)	Métodos de inoculação					
	inseto		grãos		folhas	
	% M	% MC	% M	% MC	% M	% MC
Testemunha	8	0	16	0	15	0
$1,5 \times 10^5$	20	13	20	5	22	8
$1,5 \times 10^6$	59	55	27	13	41	31
$1,5 \times 10^7$	81	79	37	25	68	62
$1,5 \times 10^8$	92	91	66	60	82	79

% M = Porcentagem de mortalidade.

% MC = Porcentagem de mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.

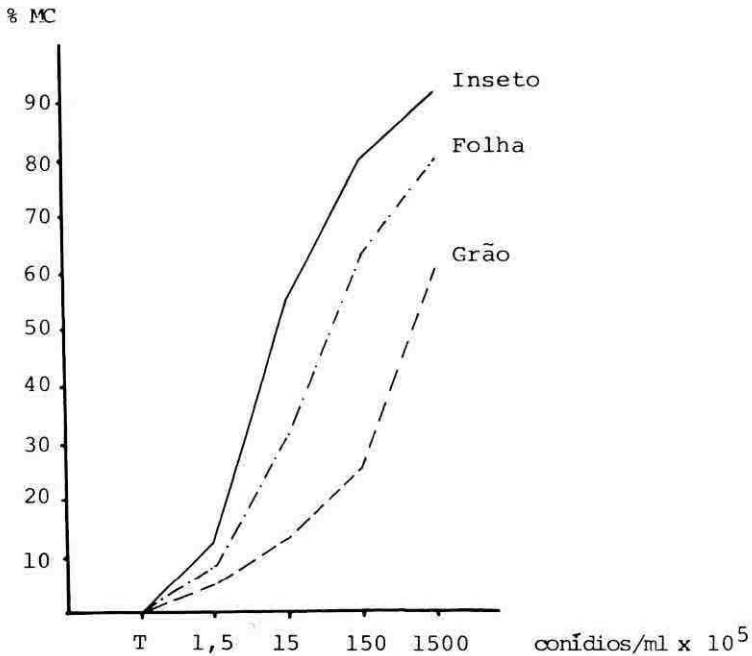


FIG. 1 - Porcentagem de mortalidade corrigida da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* devida ao fungo *Metarhizium anisopliae* depois de 4 dias, em diferentes concentrações e métodos de inoculação.

### CONCLUSÕES

1. O fungo *M. anisopliae* mostrou ser patogênico para a broca-do-café *H. hampei* em laboratório.

2. O fungo foi mais eficiente quando inoculado diretamente sobre os insetos.

3. Suspensões com cerca de  $1,5 \times 10^8$  conídios/ml provocaram níveis satisfatórios de mortalidade nos três métodos de inoculação.

LITERATURA CITADA

- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BARTISTA, G.C.; BERTI Fº, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B. *Manual de Entomologia Agrícola*. Piracicaba. Ed. Agron. Ceres, 1978. 531p.
- MESQUITA, F.C. A broca do café no Estado do Rio de Janeiro. *Bolm fitossanit.* 1(3-4): 247-253, 1944.

RESUMO

Bioensaios de laboratório mostraram que o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., é patogênico para a broca-do-café. Foram utilizadas suspensões do fungo em diferentes concentrações com três métodos de inoculação, sobre grãos, folhas e insetos. Decorridos 4 dias obteve-se mortalidades acima de 60%, com uma concentração de cerca de  $1,5 \times 10^8$  conídios/ml nos três métodos de inoculação.