

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

CÁSSIO WANDERLEY ONDEI FILHO

EXTRATO DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE ADULTOS DA BROCA-DO-  
CAFÉ

Monte Carmelo

2022

CÁSSIO WANDERLEY ONDEI FILHO

EXTRATO DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE ADULTOS DA BROCA-DO-  
CAFÉ

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito obrigatório para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Professora Doutora Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

Monte Carmelo

2022

CÁSSIO WANDERLEY ONDEI FILHO

EXTRATO DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DE ADULTOS DA BROCA-DO-  
CAFÉ

Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito obrigatório para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Banca Examinadora

---

Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

Orientadora

---

Profa. Dra. Gleice Aparecida de Assis

Membro da Banca

---

Eng. Agrônomo Leonardo Vieira de Carvalho

Membro da Banca

Monte Carmelo

2022

## SUMÁRIO

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO                                                                      | 05 |
| 1 INTRODUÇÃO                                                                | 06 |
| 2 OBJETIVO                                                                  | 08 |
| 3 REVISÃO DE LITERATURA                                                     | 08 |
| 3.1 Cultura do cafeeiro                                                     | 08 |
| 3.2 <i>Hypothenemus hampei</i>                                              | 09 |
| 3.3 <i>Beauveria bassiana</i> e extratos fúngicos para o controle de pragas | 11 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS                                                        | 12 |
| 4.1 Obtenção do fungo <i>Beauveria Bassiana</i>                             | 12 |
| 4.2 Obtenção de extrato de <i>Beauveria Bassiana</i>                        | 13 |
| 4.3 <i>Beauveria Bassiana</i> cultivada em meio sólido                      | 13 |
| 4.4 <i>Beauveria Bassiana</i> cultivada em meio líquido                     | 14 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO                                                    | 14 |
| 5.1 <i>Beauveria bassiana</i> cultivada em meio sólido                      | 14 |
| 5.2 <i>Beauveria bassiana</i> cultivada em meio líquido                     | 16 |
| 6 CONCLUSÃO                                                                 | 18 |
| REFERÊNCIAS                                                                 | 19 |

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais e amigos, por me incentivarem a alcançar meus objetivos.

À toda equipe de docentes da Universidade Federal de Uberlândia, do campus de Monte Carmelo, por todo o suporte, conhecimento e profissionalismo.

A minha orientadora, Profa. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho e aos demais membros da banca.

## RESUMO

O café (*Coffea* spp.) é uma das principais *commodities* do mercado mundial de produtos agrícolas. As espécies *Coffea arábica* e *Coffea Canephora*, são as mais importantes espécies de interesse comercial. Dentre os maiores desafios o manejo da lavoura, pode-se destacar a ocorrência de insetos-praga, que diminuem a produtividade do cafezal e em alguns casos há perdas qualitativas. A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), é uma praga encontrada em todas as regiões produtoras de café. O controle biológico é um método que pode ser incluído no plano de manejo da praga, sendo o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, potencial no controle biológico desse inseto-praga. Desta forma, tem-se por objetivo avaliar a mortalidade causada por extratos fúngicos de *B. bassiana*, em adultos de *H. hampei*. Foram testadas cinco concentrações do extrato fúngico, sendo os tratamentos as concentrações 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mg mL<sup>-1</sup>, o controle com o inseticida químico clorpirifós a 0,3 % e o controle com DMSO a 2% (composto dimetilsulfóxido). O delineamento utilizado foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Em meio sólido, foram preparadas cinco repetições por tratamento com 10 insetos por placa. As avaliações de mortalidade de adultos foram realizadas após 5 e 9 dias. Em meio líquido, foram estabelecidos dois experimentos, em um deles os tratamentos foram aplicados diretamente sobre as brocas (sem a presença dos frutos), enquanto no outro experimento os frutos brocados foram mergulhados no extrato fúngico. Para ambos os ensaios foram testadas duas concentrações do extrato fúngico de *B. bassiana* em *H. hampei*. Os tratamentos foram as concentrações 0,5 e 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, o controle com o inseticida químico clorpirifós e o controle com DMSO. Para o ensaio aplicando o extrato sobre as fêmeas foram preparadas cinco repetições por tratamento com 10 insetos por placa. Para o ensaio de mortalidade de brocas mergulhando os frutos brocados foram preparadas cinco repetições com 8 frutos cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade. Verificou-se que em todos os testes, a porcentagem de mortalidade de adultos de broca-do-café, com o inseticida foi de 100%. Os extratos fúngicos, apresentaram percentual de mortalidade, no entanto, testes posteriores devem ser realizados com diferentes concentrações, além de testes em campo, a fim de verificar a ação do extrato em ambiente com interferência de condições climáticas.

**Palavras-chaves:** fungo entomopatogênico, controle biológico, *Coffea*, *Hypothenemus hampei*, extrato fúngico.

## 1. INTRODUÇÃO

O café é uma planta perene, que se adapta melhor a regiões quentes, como as dos trópicos. As espécies *Coffea arábica* L. e *Coffea canephora* Pierre são as de maior interesse econômico (PERUZZOLO et al., 2019), existindo relatos de mais de 103 espécies dentro do gênero *Coffea* sp. (OLIVEIRA et al., 2012).

O café é uma das principais *commodities*, do mercado mundial de produtos agrícolas, sendo o segundo maior gerador de riquezas do planeta, ficando atrás do petróleo (PERUZZOLO et al., 2019). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a safra brasileira de 2021 fechou com um total de 47,4 milhões de sacas de café beneficiado, produzidos em uma área de 1,808 milhões de hectares (CONAB, 2021).

Minas Gerais é o maior estado produtor de café no Brasil, responsável por 22,142 milhões de sacas na safra de 2021 (CONAB, 2021). O município de Monte Carmelo é destaque no estado por apresentar um alto padrão de qualidade na produção de café (SHIMOKOMAKI e COSTA, 2018).

Uma das bebidas mais consumidas no Brasil, o mercado brasileiro representa 31% da demanda mundial, com um consumo de 5,10 kg de café torrado por habitante no ano, o equivalente a 85 L para cada pessoa (ABIC, 2018). Os elevados níveis de consumo mundial, é justificado pela cafeína, um composto farmacológico, que causa um efeito estimulante. Também possui substâncias antioxidantes, anticarcinogênicas, e antiteratogênicas, que estão presentes em sua composição ou são constituídas durante a sua produção (RAMALHO e SOARES, 2018).

Dentre os fatores fitossanitários, a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1876) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytidae), é um inseto-praga que causa grandes danos quantitativos e qualitativos, gerando prejuízo econômico a cafeicultores (COSTA et al., 2016). No território nacional, encontra-se amplamente distribuída nas regiões de plantio de café. A praga ataca os frutos, em estágio de maturação, afetando diretamente na perda dos grãos e qualidade do café. Os adultos perfuram os frutos até chegar à semente onde abrem galerias, nas quais depositam seus ovos. Assim que eclodem, as larvas se alimentam do grão (MEDEIROS, 2018). As perdas quantitativas acontecem com a queda dos frutos atacados pela broca-do-café e pela destruição das sementes broca das durante o beneficiamento. Já as perdas qualitativas decorrem de sementes brocadas que desvalorizam o sabor da bebida (DAVILA, 2021).

Os machos do inseto não apresentam capacidade de voo, permanecendo no fruto onde se originam. As fêmeas, por sua vez, possuem alta capacidade de voo (DAMON, 2000). Junto a essas características, as brocas se reproduzem em até sete gerações por ano, e em condições favoráveis, desenvolvem-se altas populações em campo. Com isso, o controle da praga é difícil de ser atingido (JARAMILLO et al., 2016). Entre os métodos de controles mais empregados, estão o cultural, biológico e químico (SOUZA et al., 2013).

O uso de inseticidas, vem sendo o método de controle mais abordado por cafeicultores, por ser mais barato e eficaz, porém seu efeito vem diminuindo ao longo dos anos (SOUZA et al., 2015). Esse fato se deve a alguns insetos que começaram a apresentar resistência a vários grupos químicos de inseticidas. Muitos desses produtos fitossanitários utilizados, não são seletivos, afetando também inimigos naturais, ocasionando um desequilíbrio ambiental. Além de tudo, contamina lençóis freáticos e são prejudiciais à saúde (MOURA et al., 2012).

*Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) (Vuil.) é um fungo entomopatogênico capaz de colonizar diversos insetos-praga, inclusive *H. hampei* (PRIOR e GREATHEAD, 1989). O fungo pode ser isolado de insetos, ácaros e do solo. Em condições favoráveis, *B. bassiana*, ocasiona epizootias naturais em populações de insetos, que se trata de uma enfermidade contagiosa que ataca um número elevado de animais na mesma região e ao mesmo tempo (ROCHA, 2019).

Assim que coloniza o inseto-praga, o fungo desenvolve características desejáveis para a verificação de sua patogenicidade, sendo a esporulação do micélio branco em condições ideais de luz e umidade, como também, a infecção do hospedeiro em diversas fases de seu desenvolvimento (ONOFRE et al., 2012). Em condições de laboratório, *B. bassiana* já apresentou letalidade de 100% em indivíduos de *H. hampei* (ROHDE et al., 2006).

Em geral, para a boa eficiência do fungo entomopatogênico, as aplicações devem ser inundativas e com cepas altamente virulentas, além das condições climáticas e bom preparo do aplicador (BOTERO, 2018).

No Brasil, as tecnologias de aplicações utilizadas para bioinsumos, tem sido as mesmas que as de agroquímicos (GAMA et al., 2005). Na agricultura convencional, pulverização e polvilhamento, são os métodos preferidos por produtores (SANTOS, 2005).

No bom desempenho de *B. bassiana*, na tecnologia de aplicação por pulverização, depende principalmente dos índices de umidade do ar no momento da aplicação, especialmente se a base da calda for água, pois a relação está diretamente ligada à evaporação da gota e interfere no rendimento operacional (SANTOS, 2005). Além de que se esses fatores forem baixos, o fungo entomopatogênico pode não germinar (ALVES, 1998).

## 2. OBJETIVO

Avaliar a mortalidade de adultos da broca-do-café causada por diferentes concentrações de extrato fúngico de *B. bassiana* em condições de laboratório.

## 3. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Cultura do cafeeiro

O gênero *Coffea* é representado por mais de 100 espécies. *C. canephora* e *C. arabica*, por suas características comerciais, são as que mais se destacam (DAVIS *et al.*, 2006). *Coffea canephora*, também chamado de robusta ou conilon, possui apenas 22 cromossomos, normalmente utilizado em *blends*, possui teor de açúcar de 3 a 7%, teor de cafeína de 2,2%, o cultivo é realizado em altitudes de no máximo 800 metros e é responsável por 30% da produção mundial (MELO, 2017). O cafeeiro conilon foi observado pela primeira vez, em estado selvagem entre o Gabão e a embocadura do Rio do Congo, tendo início o cultivo comercial em 1870, em solos do Congo (DAVIS *et al.*, 2006).

A espécie arábica, apesar de requerer maiores cuidados, é quem fornece maior parte da produção mundial, cerca de 70%. As suas características são: número de cromossomos igual a 44, bebida suave, teor de açúcar de 6 a 9%, menor teor de cafeína com 1,2% e tem preferência por altitudes elevadas (MELO, 2017). Tem origem de florestas tropicais da Etiópia, Quênia e Sudão, em altitudes de 1.500 – 2.800 metros. Nestas regiões, a temperatura do ar apresenta pouca variação sazonal, com média anual variando entre 18 e 22°C (CAMARGO, 2010).

A produção de cafés no Brasil, para a safra de 2022 é de 55,74 milhões de sacas de 60kg, das quais 38,78 milhões de sacas são da espécie *C. arábica* e 16,96 milhões de sacas de *C. canephora* (CONAB, 2022). Em relação às áreas em produção, os cafés arábica ocupam atualmente o equivalente a 1,43 milhão de hectares, e da espécie conilon a 389,19 mil hectares, o que corresponde, respectivamente, a 79% e 21% da área em produção da cafeicultura brasileira, que é de 1,82 milhão de hectares (EMBRAPA, 2022).

O café possui caule do tipo lenhoso, lignificado e reto, crescimento de ramos com dimorfismo relacionado à direção. Os ramos que crescem no sentido vertical são chamados de ortotrópicos, que formam as hastes ou troncos, os ramos produtivos que crescem na horizontal são chamados de plagiotrópicos (MATIELLO et al., 2005).

Nos ramos plagiotrópicos, encontram-se as folhas do cafeeiro que são opostas, inteiras, coriáceas e persistentes. As folhas possuem cor verde escuro e é brilhante na face adaxial. Já na face abaxial, possui coloração verde mais clara, opaca e nervuras salientes (MACHADO; PUIA; MENEZES; MACHADO, 2020). Com isso, a temperatura e a disponibilidade hídrica são fatores determinantes que afetam a formação de folhas do café (LIVRAMENTO, 2010).

As gemas florais se formam abaixo das axilas das folhas, que originam a floração e frutificação. As flores são normalmente brancas, sendo que algumas espécies de *Coffea* spp., podem apresentar flores rosas ou amarelas (MATIELLO et al., 2005).

Os principais fatores climáticos que influenciam a produção de café são: a temperatura, chuvas, ventos, umidade do ar e luminosidade, que atuam diretamente sobre o crescimento e produtividade das plantas, como também na qualidade dos grãos produzidos (MATIELLO et al., 2005).

O cafeeiro também apresenta muitos problemas fitossanitários. Entre as doenças mais comuns estão a Ferrugem do Cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), Cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), Mancha de Phoma (*Phoma costaricensis*), Mancha de Ascochyta (*Ascochyta coffeae*), Mancha Aureolada (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) e Roseliniose (*Roellinia* spp.). Entre o complexo de pragas, o bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*), os ácaros (*Acari* spp.) e a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) são que promovem maiores danos econômicos (MESQUITA et al., 2016).

### **3.2 *Hypothenemus hampei***

Dentre as pragas da cultura do cafeeiro, a broca-do-café é umas das mais importantes. Provavelmente, no ano de 1913, o besouro entrou no Brasil, por meio de sementes de café vindas da África e da Ilha de Java. Em 1924, já foram observados os primeiros frutos brocados (SOUZA et al., 2016).

A broca-do-café é um besouro de aproximadamente 1,2 mm de comprimento. As fêmeas perfuram os frutos do café, geralmente a partir da coroa, em direção às sementes. Quando

chegam nas sementes, formam-se galerias, formando uma câmara de postura, onde passam a depositar os seus ovos (ALBA-ALEJANDRE et al., 2018). Após 4 dias, os ovos se eclodem e as larvas vão se alimentando das paredes da câmara, em um período larval que se estende por 14 dias, chegando a consumir totalmente as sementes. Posteriormente a fase larval, transformam-se em pupas, fase em que permanece por 6 dias (BERGAMIN, 1943).

Os adultos emergem, na proporção de 1 macho para 10 fêmeas. Após o período de maturação sexual de 3 dias, as fêmeas são copuladas pelos machos ainda dentro dos frutos, estando preparadas a iniciar após 2 dias, quando podem abandonar os frutos em que se desenvolveram buscando novos frutos para colonizar e continuar a multiplicação da população (VEGA et al., 2015). As fêmeas possuem longevidade média de 156 dias, período em que colocam uma média de 74 ovos, podendo chegar ao máximo de 119 (BERGAMIN, 1943).

Com o aparecimento da ferrugem alaranjada do cafeeiro, houve o emprego de novos sistemas de plantio e manejo dos cafezais, como plantio de espaçamentos mais abertos e arejados, o que contribuiu para a diminuição da sobrevivência da broca (SOUZA et al., 2016).

Na década de 70, surgiu a solução para o controle eficaz da broca, que foi o registro do inseticida Endosulfan<sup>®</sup>, o qual foi utilizado por mais de 40 anos, sem nenhum substituto igualmente eficiente. Devido a sua toxicidade (tarja vermelha, classe toxicológica I), os produtos comerciais à base do Endosulfan<sup>®</sup> foram proibidos de serem comercializados e usados legalmente a partir de 2013 (SOUZA et al., 2016).

Com isso, produtores de café ficaram sem nenhuma alternativa confiável para o controle da broca. Na safra 2014/2015 o controle da broca passou a ser de diversos tipos, como cultural, mecânico e biológico (SOUZA et al., 2016).

A forma mais eficaz para se conseguir uma baixa população inicial da broca-do-café é reduzir ao máximo o número de frutos que permanecem na lavoura após a realização da colheita (ARISTIZÁBAL et al., 2011). Assim, deve-se ser feita uma colheita bem-feita e quando necessário um repasse na lavoura após a colheita, coletando-se aqueles frutos não recolhidos no momento da colheita. Essas práticas visam reduzir os locais de abrigo e multiplicação da broca-do-café na entressafra (QUEIROZ e FANTON, 2021).

Os princípios ativos registrados para o controle de broca-do-café são: acetamiprido + bifentrina, *B. bassiana* (biológico), ciantraniliprole, clorpirifós, etiprole, abamectina + clorantianiliprole, espinosade, etofenproxi e metaflimizona (COSTA et al., 2018).

### 3.3 *Beauveria bassiana* e extratos fúngicos para o controle de pragas

*Beauveria bassiana* é um fungo entomopatogênico encontrado no solo, saprófita e patogênico para as ordens: Lepidoptera, Hemiptera, Coleoptera, Hymenoptera e Orthoptera (SABBAHI, 2008).

Apesar de muitos insetos serem hospedeiros desse fungo, no Brasil existem formulações comerciais para *Bemisia tabaci* raça B (mosca-branca); *Cosmopolites sordidus* (broca-da-bananeira); *Coccus viridis* (cochonilha-verde); *Diabrotica speciosa* (vaquinha); *Euschistus heros* (percevejo-marrom); *Diaphorina citri* (psilídeo-asiático-dos-citros); *Gonipterus scutellatus* (gorgulho-do-eucalipto); *Hedypathes betulinus* (broca-da-erva-mate); *H. hampei* e *Tetranychus urticae* (ácaro-rajado). Na prática, esse fungo é utilizado na agricultura por meio de aplicações de inundativas, com muitos conídios. Para que a utilização do fungo tenha os resultados esperados, é importante que o alvo e o fungo utilizado sejam bem conhecidos. Dessa forma, o controle é mais assertivo (UNIFEQB, 2020).

Os esporos assexuados de *B. bassiana* são conídios de coloração branca e amarelada com sinuosidades transparentes e filamentos septais. O diâmetro das hifas varia entre 2,5 µm e 25 µm (DANNON et al., 2020).

Os tipos de conídios produzidos pelo fungo são diferentes a depender do ambiente. Na presença de ar (ambiente aeróbico), o fungo produz conídios esféricos (1-4 µm de diâmetro) ou ovais (1,55 – 5,5 µm x 1,3 µm de tamanho). Em condições anaeróbicas, produz blástosporos de forma oval (2-3 µm de diâmetro e 7 µm de comprimento). Blástosporos e conídios são todos órgãos infecciosos (WEISER, 1972; LIPA, 1975; SABBAHI, 2008).

Os esporos assexuados (conídios), são dispersos pelo vento, respingos de chuva ou mesmo por vetores artrópodes, facilitando o fungo a estabelecer a infecção em hospedeiros suscetíveis (ORTIZ-URQUIZA e KEYHANI, 2013). A infecção do hospedeiro pelo fungo ocorre em quatro etapas: adesão, germinação – diferenciação, penetração e disseminação (MASCARIN e JARONSKI, 2016).

Na adesão, os conídios ou blástosporos, são presos por força eletrostática e química a cutícula do hospedeiro (MASCARIN e JARONSKI, 2016). Logo, há a produção de mucilagem, que induz a uma modificação epicuticular, levando a germinação dos conídios (WRAIGHT e ROBERTS, 1987).

O processo seguinte, a germinação, é dependente das condições ambientais, da fisiologia do hospedeiro (composição bioquímica da cutícula do hospedeiro). Essas condições são determinantes para inibir ou estimular a germinação (BUTT et al., 1995). Caso esteja todas condições adequadas a germinação dos conídios ou blástoporos há a formação dos tubos germinativos, com reidratação e estímulos químicos (MASCARIN e JARONSKI, 2016).

A diferenciação é caracterizada pelo estabelecimento de apressórios ou pinos de penetração, que permitem o crescimento de hifas para romper o tegumento do inseto, amolecendo a cutícula do hospedeiro, promovendo a penetração (MASCARIN e JARONSKI, 2016).

Com a ajuda da ação hidrolítica de enzimas (proteases e quitinases e lipases), pressão mecânica e oxalato, o fungo consegue penetrar todas as camadas da cutícula do inseto praga, até chegar a hemolinfa (DANNON et al., 2020).

Na etapa de disseminação, uma vez na hemolinfa do hospedeiro, o fungo sofre uma diferenciação morfogenética. Nessa fase da infecção, o fungo secreta metabólitos tóxicos que ajudam a superar os mecanismos de defesa imunológica do inseto para uma colonização bem-sucedida. Esses eventos acabam levando à morte do hospedeiro que fica mumificado (DANNON et al., 2020).

Assim que o inseto infectado morre, o fungo produz um antibiótico chamado Oosporin, que é usado para vencer a competição de bactérias no intestino do inseto (DE KOUSSANI, 2001). Então, as hifas de *B. bassiana* cruzam o tegumento do inseto, tornando-se branco algodão. Por fim, os conidióforos aparecem nos cadáveres mumificados após alguns dias e carregam novos conídios de infecção (esporulação) para dispersão (DANNON et al., 2020).

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Obtenção do fungo *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* foi obtida da coleção de entomopatógenos do Laboratório de Entomologia. O crescimento e a obtenção dos micélios com meio de cultura do fungo foram realizados no laboratório de Entomologia do Instituto de Ciências Agrárias localizado na UFU Campus Monte Carmelo.

Foram conduzidos experimentos testando *B. bassiana* obtida por meio do cultivo em meio artificial sólido batata-dextrose-ágar (BDA) e o mesmo fungo obtido por meio de cultivo líquido batata-dextrose.

Para o experimento utilizando *B. bassiana* cultivada em meio sólido, o fungo foi repicado em placas de Petri (9 cm de diâmetro) em meio de cultura artificial batata-dextrose-ágar (BDA) a fim de obter maior concentração de conídios, sendo preparadas 10 placas com o isolado fúngico. As placas foram mantidas em câmara climática do tipo B.O.D., com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  por cerca de 10 dias, até completa esporulação, quando os conídios foram retirados da placa junto com o meio de cultura para obtenção dos extratos. Quando cultivado em meio líquido, o inóculo de *B. bassiana* foi adicionado em frascos Erlenmeyers utilizando o meio batata-dextrose, com pH 7,0, mantido sob agitação em agitadora incubadora *shaker* com fotoperíodo de 12 h por 14 dias, quando foi verificado crescimento fúngico.

#### **4.2 Obtenção de extrato de *Beauveria bassiana***

Os extratos de *B. bassiana* foram preparados realizando a maceração dos micélios junto às placas com o meio de cultura, sendo o solvente utilizado como extrator o acetato de etila. Foram realizadas quatro extrações, usando em cada uma delas 500 mL de acetato de etila em intervalos de 24 horas. O extrato obtido foi submetido ao rota-evaporador e seco a temperatura ambiente. Posteriormente foi liofilizado para eliminação de possíveis resíduos de água. Ao final foram medidas as massas dos extratos secos, com a finalidade de se obter a concentração adequada do extrato para os experimentos.

#### **4.3 *Beauveria bassiana* cultivada em meio sólido**

Foram testadas cinco concentrações do extrato fúngico de *B. bassiana* em adultos de *H. hampei*. Os tratamentos foram as concentrações 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mg mL<sup>-1</sup>, o controle com o inseticida químico clorpirifós a 0,3% e o controle com dimetilsulfóxido a 2% (DMSO). Foram preparadas cinco repetições por tratamento com 10 insetos por placa. O delineamento utilizado foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC).

Os insetos foram dispostos em placas de Petri de 6 cm de diâmetro forrada com duas folhas de papel filtro. Posteriormente, foram aplicadas as suspensões/soluções dos tratamentos no volume de 0,45 mL por placa. As placas foram vedadas com Parafilm®.

As avaliações de mortalidade de adultos foram realizadas após 5 e 9 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste Scott-Knott a 1% de probabilidade.

#### **4.4 *Beauveria bassiana* cultivada em meio líquido**

Foram estabelecidos dois experimentos, em um deles os tratamentos foram aplicados diretamente sobre as brocas (sem a presença dos frutos), enquanto no outro experimento os frutos brocados foram mergulhados no extrato fúngico.

Para ambos os ensaios foram testadas duas concentrações do extrato fúngico de *B. bassiana* em *H. hampei*. O fungo *B. bassiana* utilizado no experimento foi obtido por meio de cultivo em meio de cultura líquido batata-dextrose. Os tratamentos foram as concentrações 0,5 e 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, o inseticida químico à base de clorpirifós a 0,3% e o controle com DMSO a 2%.

Para o ensaio aplicando o extrato sobre as fêmeas foram preparadas cinco repetições por tratamento com 10 insetos por placa (4 tratamentos x 5 repetições x 10 insetos = 200 insetos). O delineamento utilizado foi o DIC.

Para o ensaio de mortalidade de brocas mergulhando os frutos brocados foram preparadas cinco repetições com 8 frutos cada (4 tratamentos x 5 repetições x 8 frutos = 160 frutos brocados). Nesse caso foi avaliada a mortalidade dos insetos presentes dentro do fruto, considerando fêmeas, machos, larvas e pupas.

Os insetos ou frutos foram dispostos em placas de Petri de 6 cm de diâmetro forrada com duas folhas de papel filtro. Posteriormente, foram aplicadas as suspensões/soluções dos tratamentos no volume de 0,45 mL por placa. As placas foram vedadas com Parafilm®. A avaliação de mortalidade de adultos foi realizada após 9 dias.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. *Beauveria bassiana* cultivada em meio sólido**

Foram observadas brocas mortas pelo fungo nos tratamentos com o extrato e no controle Inseticida (o que não foi verificado no controle DMSO).

A mortalidade de adultos de *H. hampei*, quando tratados com inseticida, tanto aos 5 como aos 9 dias, foi de 100%. Ao 5º dia do experimento, os extratos 1,5 mg mL<sup>-1</sup>, 2,0 mg mL<sup>-1</sup> e 2,5 mg mL<sup>-1</sup>, apresentaram maior percentual de adultos de broca-do-café mortos. Os demais extratos e o controle DSMO não obtiveram sucesso na porcentagem de mortes de adultos de *H. hampei* (Tabela 1).

Aos 9 dias, a mortalidade acumulada, apresentou maior porcentagem em todos os ensaios. Os extratos 2,5 mg mL<sup>-1</sup>, 2,0 mg mL<sup>-1</sup>, 1,5 mg mL<sup>-1</sup> e 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, não diferiram entre si. Contudo, o extrato 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, obteve 20% de adultos de brocas-do-café a mais, comparado aos 5 dias no mesmo tratamento, porcentagem maior dos demais tratamentos. O extrato 0,5 mg mL<sup>-1</sup> e o controle não obtiveram resultados satisfatórios, tendo 16% e 10% de mortalidade, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade (%) de adultos *Hypothenemus hampei* após contato com extrato do fungo *Beauveria bassiana* produzido em meio sólido batata-dextrose-ágar (BDA) em condições de laboratório.

| Tratamento                      | Mortalidade (%) | Mortalidade acumulada (%) |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------|
|                                 | (5 dias)        | (9 dias)                  |
| Inseticida Clorpirifós          | 100,0 ± 0,0 a   | 100,0 ± 0,0 a             |
| Extrato 2,5 mg mL <sup>-1</sup> | 12,0 ± 4,47 b   | 30,0 ± 4,47 b             |
| Extrato 2,0 mg mL <sup>-1</sup> | 16,0 ± 5,47 b   | 24,0 ± 7,01 b             |
| Extrato 1,5 mg mL <sup>-1</sup> | 10,0 ± 7,07 b   | 24,0 ± 5,47 b             |
| Extrato 1,0 mg mL <sup>-1</sup> | 8,0 ± 5,47 c    | 28,0 ± 8,36 b             |
| Extrato 0,5 mg mL <sup>-1</sup> | 4,0 ± 5,47 c    | 16,0 ± 4,47 c             |
| Controle DSMO                   | 4,0 ± 4,47 c    | 10,0 ± 4,47 c             |
| CV (%)                          | 23,05           | 18,39                     |

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 1% de probabilidade.

## 5.2 *Beauveria bassiana* cultivada em meio líquido

O inseticida, foi 100% letal a adultos de *H. hampei* (Tabela 2). Após aplicação do extrato do fungo *B. bassiana*, produzido em meio líquido, o extrato 0,5 mg mL<sup>-1</sup> e o extrato 1 mg mL<sup>-1</sup>, apresentaram respectivamente 64,0 e 56,0% de mortalidade. O controle DMSO, não apresentou vantagem, comparado aos demais tratamentos, com apenas 20% de mortalidade de adultos de brocas-do-café (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade (%) de adultos de *Hypothenemus hampei* após aplicação do extrato do fungo *Beauveria bassiana* produzido em meio líquido batata-dextrose em condições de laboratório.

| Tratamento                      | 9 dias        |
|---------------------------------|---------------|
| Inseticida Clorpirifós          | 100,0 ± 0,0 a |
| Extrato 0,5 mg mL <sup>-1</sup> | 64,0 ± 1,81 b |
| Extrato 1 mg mL <sup>-1</sup>   | 56,0 ± 1,94 b |
| Controle DMSO                   | 20,0 ± 1,87 c |
| CV (%) = 27,13                  |               |

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 1% de probabilidade.

Após os frutos serem mergulhados em extrato do fungo *B. bassiana* produzido em meio líquido, o extrato 0,5 mg mL<sup>-1</sup> e o extrato 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, apresentaram 45,72 e 41,00% de mortalidade em adultos de *H. hampei* (Tabela 3). O inseticida apresentou 100% de mortalidade. Já o Controle DMSO, obteve 24,34% de mortalidade, não sendo satisfatório.

Tabela 3. Mortalidade (%) de adultos de *Hypothenemus hampei* após frutos mergulhados em extrato do fungo *Beauveria bassiana* produzido em meio líquido batata-dextrose em condições de laboratório.

| Tratamento                      | 9 dias          |
|---------------------------------|-----------------|
| Inseticida Clorpirifós          | 100,00 ± 0,0 a  |
| Extrato 0,5 mg mL <sup>-1</sup> | 45,72 ± 9,58 b  |
| Extrato 1 mg mL <sup>-1</sup>   | 41,00 ± 12,44 b |
| Controle DMSO                   | 24,34 ± 9,24 c  |
| CV (%) = 17,27                  |                 |

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 1% de probabilidade.

Extratos fúngicos das espécies *Trichoderma* spp. e *Fusarium* spp., foram testados na mortalidade de formigas e obtiveram bons resultados. A mortalidade foi maior nos tratamentos onde as formigas ingeriram os extratos, seguidos pelo contato (HERNÁNDEZ et al., 2020).

O teste em sementes de alface, tomate e rúcula foram realizados com extratos de fungos das espécies *Pseudogymnoascus* spp., *Penicillium* spp. e *Cadophora* spp., contra a bactéria do gênero *Xanthomonas*. Apesar dos resultados interessantes, não apresentou fitotoxicidade elevada, porém houve um maior crescimento radicular em sementes de rúcula e tomate (ALBUQUERQUE, 2021). Em comparação, na avaliação de mortalidade de adultos de broca-do-café, o extrato fúngico de *B. bassiana* também não apresentou elevadas porcentagens de letalidade.

*Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), também conhecido como cascudinho, é uma praga comum em aviários. O extrato fúngico de *B. bassiana*, foi testado no controle do inseto, e obteve uma mortalidade de 21,98%. Concluiu-se então que o extrato age melhor em baixas concentrações e no período de 24 horas. Em adultos de broca-do-café, o extrato de 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, também apresentou melhores resultados, porém em um espaço de tempo maior (9 dias) (SILVA, 2011).

## 6. CONCLUSÃO

O extrato fúngico de *B. bassiana* causou mortalidade em adultos de *H. hampei*, porém quando comparado ao inseticida a mortalidade foi considerada inferior. Com isso, testes posteriores devem ser realizados com diferentes concentrações, além de testes em campo, a fim de verificar a ação do extrato em ambiente com interferência de condições climáticas.

## REFERÊNCIAS

ABIC. **Tendências do mercado de cafés 2018**. 2018. Disponível em: <https://www.abic.com.br/> Acesso em: 30 maio 2022.

ALBA-ALEJANDRE, I.; ALBA-TERCEDOR, J.; VEGA, F.E. Observing the devastating coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) inside the coffee berry using microcomputed tomography. **Nature (Scientific Reports)**. v. 8, p. 17033.

ALBUQUERQUE, J. S. **Avaliação da toxicidade de extratos fúngicos bioativos na germinação e alongamento de radículas de plantas**. 2021. 29 f. TCC (Graduação) - Curso de Ecologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2021.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In. **Controle Microbiano de Insetos**, Alves, S.B. (ed). FEALQ, Piracicaba, SP, p. 289-381. 1998.

ARISTIZÁBAL, L.F.; JIMÉNEZ, M.; BUSTILLO, A.E.; ARTHURS, S.P. Monitoring cultural practices for coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) management in a small coffee farm in Colombia. **Florida Entomologist**, v. 94, p. 686–687, 2011.

BATISTA, M. **Efeitos de diferentes índices de infestação pela broca-do-café. *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no peso e na classificação do café pelo tipo e pela bebida**. Lavras, MG, Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1986. 67 p.

BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col.: Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 15, p. 197-208. 1943.

BOTERO, C. E. G. Respuesta a preguntas frecuentes sobre el hongo *Beauveria bassiana* y el control de la broca-del-café. **Centro Nacional de Investigaciones de Café – Cenicafé**. Manizales, Caldas, Colombia. Gerencia Técnica, Programa de Investigación Científica Fondo Nacional del Café, Avancios técnicos 493, julho 2018. ISSN - 0120 – 0178.

BUTT, T.M. et al. Comportamento germinativo de *Metarhizium anisopliae* na superfície de cutículas de pulgões e besouros. **Mycological Research**, v. 99, p. 945-950, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80754-5](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80754-5)

CAMARGO, M. B. P. The impact of climatic variability and climate change on Arabica coffee crop in Brazil. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 1, p. 239-247, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000100030>

CONAB. **Safra Brasileira de Café**. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe> Acesso em: 30 maio 2022.

COSTA, J. N. Medeiros et al. Identificação e manejo de pragas do cafeeiro (*Coffea canephora*). **Infoteca Embrapa**, v., n., p. 45-70, out. 2018.

COSTA, J. N. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; TREVISAN, O. Café. In: SILVA, N. M. S.; ADAIME, R.; ZUCCHI, R. A. (org.). **Pragas agrícolas e florestais na Amazônia**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 292-321.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin Entomological Research, Farnham Royal**, v.90, p.453-465, 2000. <https://doi.org/10.1017/S0007485300000584>

DANNON, H.F., DANNON, A.E., DOURO-KPINDOU, O.K. et al. **Rumo ao uso eficiente de *Beauveria bassiana* no manejo integrado de pragas do algodoeiro**. *J Algodão Res* **3**, 24 (2020). <https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5>

D'AVILA, A. **Broca-do-café causa danos ao grão, mas controle diminui prejuízos**. 2021. Disponível em: <https://agro20.com.br/broca-cafe/>. Acesso em: 19 jul. 2022.

DAVIS, A. P. et al. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 4, p. 465-512, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00584.x>

DE KOUASSI M. As possibilidades de controle microbiológico, Vertigo. **O Jornal Eletrônico em Ciência Ambiental Online**, v. 2(2):1–18, 2001.

EMBRAPA. **Produção dos Cafés do Brasil ocupa 1,82 milhão de hectares em 2022**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/68437155/producao-dos-cafes-do-brasil-ocupa-182-milhao-de-hectares-em-2022>. Acesso em: 15 jun. 2022.

GAMA, F. C.; TEIXEIRA, C. A. D.; GARCIA, A.; COSTA, J. N. M.; LIMA, D. K. S. Influência do ambiente na diversidade de fungos associados a *Hypothenemus hampei*, (FERRARI) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) e frutos de *Coffea canephora*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.359-364, 2005. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v72p3592005>

HALOUANE, F. **Basic research on the entomopathogen *Beauveria bassiana* (Bals. -Criv.) Vuill. (Ascomycota: Hypocreales): bioecology, production and application on *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) and *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae)**. 2008.

HERNÁNDEZ, G.A. F. et al. Toxicity of the extracts of the fungi *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. on ants. **Anais do V Seminário de Pesquisa e Desenvolvimento Provic/Pibic - II Encontro de Iniciação Científica Cnpq**, [S.L.], v. 10, n. 34, p. 13-13, 16 set. 2020. Perspectivas Online: Biológicas e Saúde. <https://doi.org/10.25242/8868103420202142>

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

LIPA, J.J. Muscardina branca (*Beauveria* sp.). In: Lipa JJ, editora. Um esboço de patologia de insetos. **Varsóvia: Publicações de Ciências Estrangeiras**. Departamento NCSTEI; 1975. pág. 139-42.

LIVRAMENTO, D. E. Morfologia e fisiologia do cafeeiro. Café arábica: do plantio à colheita. Lavras: **EPAMIG**, p. 87-161, 2010.

MACHADO, A. H. R.; PUIA, J. D.; MENEZES, K. C.; MACHADO, W. A Cultura do café (*Coffea arabica*) em Sistema Agroflorestal. **Brazilian Journal of Animal And Environmental Research**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 1357-1369, 2020.

MASCARIN, M. G., JARONSKI, T.S. A produção e usos de *Beauveria bassiana* como inseticida microbiano. **World J Microbiol Biotechnol**. 2016;32(177):1–26. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>

MATIELLO, J. B. et al. **Cultura de café no Brasil: novo manual de recomendações**. Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento, Brasília, DF (Brasil), 2005.

MEDEIROS, M. S. de. **Monitoramento da presença de broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) através de armadilhas atrativas no município de Romaria-MG**. (2018).

MELO, R. **Arábica x Conilon**. 2017. Disponível em: <https://g1.globo.com/mg/sul-de-minas/grao-sagrado/noticia/arabica-x-conilon-as-diferencas-na-producao-e-no-consumo-do-cafe.ghtml>. Acesso em: 15 jun. 2022.

MESQUITA, C. M. de *et al*. **MANUAL DO CAFÉ** Distúrbios fisiológicos, pragas e doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Belo Horizonte: **Emater-MG**, 2016. 64 p.

MOURA, A. P.; CARVALHO, G. A.; BOTTON, M. Residual effect of pesticides used in integrated apple production on *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) larval. Chilean. **Journal of Agricultural Research**, Chillán, Chile, v. 72, n. 2, p. 217-223, 2012. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392012000200009>

OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, T. F. S. C. Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, p. 22, 2012.

ONOFRE, S.B. et al. Controle biológico de pragas na agropecuária por meio de fungos entomopatogênicos. In. SERAFINI, L.A. et al. **Biociencia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. Cap.8, p.295-328.

ORTIZ-URQUIZA A, KEYHANI NO. Ação na superfície: fungos entomopatogênicos versus cutícula do inseto. **Insetos**. 2013; 4:357–74. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>

PERUZZOLO, Marina Carvalho *et al.* Polinização e produtividade do café no Brasil. **Pubvet**, S.I, v. 13, n. 4, p. 1-6, abr. 2019. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n4a317.1-6>

PRIOR, C.; GREATHEAD, D.J. Biological control for the exploitation of pathogens. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 37, p. 37-48. 1989.

QUEIROZ, R. B.; FANTON, C.J. Broca do café: ainda é a principal praga do cafeeiro? In: PARTELLI, F. L. et al. **CAFÉ CONILON: Conilon e Robusta no Brasil e no Mundo**. Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, 2021. p. 25.

RAMALHO, M. E. O.; SOARES, N. M. CAFÉ E SEUS BENEFÍCIOS. **Revista Interface Tecnológica**, v. 15, n. 1, p. 285-292, 30 jun. 2018. Interface Tecnológica. <https://doi.org/10.31510/infa.v15i1.356>

ROCHA, Leandria Garcia. **Atividade de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) em laboratório**. 2019. 24 f. TCC (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

ROHDE, C.; ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.J.; ALVES, S.A.; SILVA, E.R.; ALMEIDA J.E.M. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v 35, p. 231-240, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000200012>

SABBAHI, R. **Uso do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em estratégia de manejo fitossanitário dos principais insetos-praga em plantações de morango**. Quebec, Canadá: Universidade de Quebec; 2008.

SANTOS, J. M. F.; Tecnologia de Aplicação de Agroquímicos como Fator de Sucesso na Lavoura Agrícola In: **Anais da XI Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**, 2005b.

SHIMOKOMAKI, F. K.; COSTA, C. Verificação de armazenamento de defensivos agrícolas em fazendas certificadas de café em Monte Carmelo - MG. **Gestão, Tecnologia e Ciências**, Monte Carmelo, v. 17, n. 15, p. 103-114, 12 maio 2018.

SILVA, A. A. da. Atividade inseticida de extratos de *Beauveria bassiana* no controle de adultos de *Alphitobius diaperinus* (cascudinho). In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 34., 2011, Florianópolis. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. Florianópolis: Sdq, 2011. p. 1-1.

SOUZA, J.C. de; REIS, P.R.; SILVA, R.A; TOLEDO, M.A. de. **Cafeicultor: saiba como monitorar e controlar a broca-do-café com eficiência**. Belo Horizonte, 2013. 3p.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; SILVA, R.A; TOLEDO, M.A. Cafeicultor: saiba como monitorar e controlar a broca-do-café com eficiência. **Circular Técnica**, Belo Horizonte, n. 205, p. 1-5, mar. 2015.

SOUZA, J. C. de *et al.* Monitoramento e controle da broca-do-café com eficiência e racionalidade. Belo Horizonte: **Epamig**, 2016.

SUNG JM, LEE J-O, HUMBER RA, et al. *Cordyceps bassiana* and production of stromata in vitro showing *Beauveria anamorph* in Korea. **Mycobiology**, v. 34, n. 1, p. 1–6. 2006.

UNIFEQB. **A importância do Beauveria bassiana no manejo de praga**. 2020. Disponível em: <https://unifeob.edu.br/2020/08/11/aimportanciadobeauveria/> Acesso em: 18 jun. 2022.

VEGA, F.E.; INFANTE, F.; JOHNSON, A.J. The genus *Hypothenemus*, with emphasis on *H. hampei*, the coffee berry borer. In: **Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species** (Eds. Vega, F.E.; Hofstetter, R.W.), p.427-494, 2015.

WEISER J. *Beauveria* Vuill. In: Nemoci H, editor. **Doenças de insetos. Praga, Checa: Imprensa Acadêmica**; 1972. pág. 361-77.

WRAIGHT, R.J., ROBERTS, D.W. Esforço de controle de insetos com fungos. Developments in Industrial **Microbiology**, v. 28, p. 77-87, 1987.