



Universidade Federal de São Carlos
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Curso de Engenharia Agrônoma



NATHÁLIA GAMA TAVARES

**CONTROLE DE *Cosmopolites sordidus* [(GERMAR, 1824) (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)] COM *Beauveria caledonica* EM SOLUÇÃO OLEOSA**

ARARAS - 2023



Universidade Federal de São Carlos
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Curso de Engenharia Agrônoma



NATHÁLIA GAMA TAVARES

**CONTROLE DE *Cosmopolites sordidus* [(GERMAR, 1824) (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)] COM *Beauveria caledonica* EM SOLUÇÃO OLEOSA**

Monografia apresentada ao Curso de
Engenharia Agrônoma – CCA – UFSCar para
a obtenção do título de Engenheira Agrônoma

**Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Neves
Marques**

ARARAS – 2023

Tavares, Nathália Gama

Controle de *Cosmopolites sordidus* [(Germar, 1824)
(Coleoptera: Curculionidae)] com *Beauveria caledonica*
em solução oleosa / Nathália Gama Tavares -- 2023.
32f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos,
campus Araras, Araras

Orientador (a): Rodrigo Neves Marques

Banca Examinadora: Rodrigo Neves Marques, Maria
Bernadete Silva de Campos, Joyce Adriana Froza

Bibliografia

1. fungo entomopatogênico. 2. Manejo Integrado de
Pragas. 3. broca-da-bananeira. I. Tavares, Nathália
Gama. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8
7083

**A minha família por sempre me apoiar,
minha mãe e meu pai por serem meu
alicerce e a Lidiane por me dar forças.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por me apoiarem nessa jornada e nunca desistirem de mim.

A Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade de graduação na “melhor do meu Brasil” e o campus de Araras.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Neves Marques por me aceitar como sua orientada, por todas as dicas, reuniões, correções e puxões de orelha.

A Embrapa Meio Ambiente por proporcionar esse trabalho prático.

Aos meus orientadores da Embrapa Dra. Jeanne Prado e Dr. Gabriel Mascarin pelos ensinamentos e por deixarem eu trabalhar e escrever o que gosto.

Aos meus colegas de estágio por me ajudarem a realizar todo processo prático do experimento. Principalmente a Milena por toda ajuda.

Aos meus colegas de graduação por trazer leveza aos anos de estudo.

A minha República “As Patroas” por permitirem viver os melhores momentos da minha vida.

RESUMO

A banana é uma das frutas mais consumidas e produzidas mundialmente, no Brasil tem ampla aceitação gastronômica, de modo que, apenas 1% da produção brasileira é exportada, portanto, é uma fruta de grande importância interna. A principal praga da cultura é a broca-da-bananeira conhecida como *Cosmopolites sordidus* [(Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae)]. Na fase adulta, esse inseto é escuro, quase preto, e na fase jovem as larvas constroem galerias no rizoma, causando danos às plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes concentrações de *Beauveria caledonica* em solução oleosa. Esse fungo entomopatogênico é pouco estudado mundialmente, para controle do inseto-praga. Foram avaliados esporos e blastosporos de *B. caledonica* em óleo emulsionável, para aumentar a potencialidade de mortalidade da praga, através da pulverização no dorso do inseto, que foram mantidos em bandejas individuais com alimentação durante 23 dias em BOD e avaliados diariamente. Os insetos mortos foram coletados e realocados em placas de Elisa para confirmação da morte por contaminação. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a nível de 5% a partir do software R e os gráficos para visualizar a taxa de mortalidade foram feitos utilizando o programa Excel. O tratamento 8 foi o que apresentou o melhor resultado, totalizando 37 mortos de 60 insetos testados a partir do 10º dia após pulverização, entretanto, não diferiu estatisticamente do tratamento 10, portanto, foi possível afirmar que os dois tratamentos foram os melhores dentre os testados e podem ser recomendados para futuras pesquisas envolvendo o fungo entomopatogênico. Conclui-se que o tratamento 8 com concentração em 1×10^8 conídios/mL apresentou melhor taxa de mortalidade. Blastosporos de *Beauveria caledonica* também funcionou como controle para *Cosmopolites sordidus*. E o uso do óleo emulsionável aumentou a atividade inseticida.

Palavras-chave: Controle biológico, broca-da-bananeira, fungo entomopatogênico, Manejo Integrado de Pragas.

ABSTRACT

Control of *Cosmopolites Sordidus* with *Beauveria Caledonica* in Oil Suspension

Banana is one of the most consumed and produced fruits worldwide, in Brazil it has wide gastronomic acceptance, so that only 1% of Brazilian production is exported, therefore, it is a fruit of great internal importance. The main pest of the crop is the banana borer known as *Cosmopolites sordidus* [(Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae)]. In the adult stage, this insect is dark, almost black, and in the young stage the larvae build galleries in the rhizome, causing damage to the plants. The present work aimed to evaluate different concentrations of *Beauveria caledonica* in oily solution. This entomopathogenic fungus is little studied worldwide for the control of the insect pest. *B. caledonica* spores and blastospores were evaluated in emulsifiable oil, to increase the pest's mortality potential, through spraying on the insect's back, which were kept in individual trays with food for 23 days in BOD and evaluated daily. Dead insects were collected and relocated on Elisa plates to confirm death by contamination. The results obtained were subjected to analysis of variance and Tukey's test at a 5% level using the R software, and graphs to visualize the mortality rate were made using the Excel program. Treatment 8 was the one that presented the best result, totaling 37 dead out of 60 insects tested from the 10th day after spraying, however, it did not differ statistically from treatment 10, therefore, it was possible to state that the two treatments were the best among those tested and can be recommended for future research involving the entomopathogenic fungus. It was concluded that treatments 8 and 10, with a concentration of 1×10^8 conidia/mL and 5×10^7 blastospores/mL, caused the highest insect mortality rate. Blastospores from *Beauveria caledonica* also functioned as controls for *Cosmopolites sordidus*. And the use of emulsifiable oil increased the insecticidal activity.

Keywords: Biological control, Banana weevil borers, entomopathogenic fungus, Integrated Pest Management.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Formulações dos tratamentos devidamente identificados em T1 a T10, laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.....20
- Figura 2.** Broca-da-bananeira separados em placas de petri para jejum de 24h, laboratório LEF, Embrapa Meio Ambiente.....21
- Figura 3.** Aplicação de solução do óleo emulsionante sobre os adultos de *C. sordidus* no laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.....22
- Figura 4.** *C. sordidus* individual em célula plástica contendo um pedaço de pseudocaule de bananeira, laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.....22
- Figura 5.** Bandejas plásticas com células individuais e identificadas, laboratório LMA na Embrapa Meio Ambiente.....23
- Figura 6.** Broca-da-bananeira mantida em BOD após aplicação dos tratamentos, laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.....23
- Figura 7.** Placas de Elisa com insetos mortos para confirmação da infecção, laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.....24
- Figura 8.** Mortalidade de *C. sordidus* por dias após pulverização.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Definição de cada tratamento e concentrações testadas.....19

Tabela 2. Total de *Cosmopolites sordidus* mortos por tratamento.....28

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 2.1. Características da <i>Musa</i> sp..... | 12 |
| 2.2. Caracterização do inseto-praga <i>Cosmopolites sordidus</i> | 13 |
| 2.2.1. Controle biológico de <i>Cosmopolites sordidus</i> | 14 |
| 2.3. Caracterização do fungo entomopatogênico <i>Beauveria caledonica</i> | 15 |
| 3. OBJETIVOS..... | 17 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 18 |
| 4.1. Caracterização do experimento..... | 18 |
| 4.2. Realização do bioensaio..... | 21 |
| 4.3. Análises estatísticas..... | 25 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 26 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 29 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 30 |

1. INTRODUÇÃO

A bananeira *Musa* sp., originária do Sudoeste do Continente Asiático, é amplamente difundida dentro do território brasileiro, principalmente por ser um negócio lucrativo (LIMA *et al.*, 2012) e funcionar como opção de rápido retorno econômico (RODRIGUES, 2021). Sua produção é feita principalmente por pequenos produtores (MALAGODI-BRAGA *et al.*, 2014).

É uma fruta considerada versátil, de acordo com Rodrigues (2021), seu consumo pode ser feito *in natura* ou a partir de diversas receitas como ingrediente principal, de modo que, é possível observar a alta aceitação por parte do consumidor, além de apresentar benefícios para os produtores economicamente, pois pode ser produzida o ano inteiro.

A broca-da-bananeira [(*Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae)] é considerada a principal praga da bananicultura. Amplamente disseminada em quase todas as regiões de cultivo e alta dispersão, principalmente por estarem alocadas no rizoma da planta, comumente utilizado como material de propagação. A presença do inseto-praga costuma ser percebida apenas quando a população se encontra elevada demais para conseguir conter os prejuízos, causando impactos negativos para a área de cultivo (FANCELLI *et al.*, 2015).

Dentre os tipos de métodos de controle para a broca-da-bananeira, o controle biológico tem se destacado nos últimos anos. De acordo com Batista Filho (2020), o uso do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* tem mostrado resultados positivos para redução da praga através de iscas.

Recentemente isolado por cientistas da Embrapa, Unicamp e Bioversity International (Colômbia), o fungo *Beauveria caledonica* (Bissett & Widden, 1988), pouco estudado mundialmente, apresentou resultados positivos para poder ser utilizado como método de controle da principal praga e doença da bananicultura, sendo elas, a broca-da-bananeira e a fusariose da bananeira. Sendo destacado por pesquisadores por apresentar ação simultânea contra os principais problemas do cultivo da banana (MASCARIN *et al.*, 2022).

Deste modo, considerando as perspectivas da cultura da banana e suas limitações, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes concentrações do fungo *B. caledonica* para controle de *C. sordidus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características da *Musa* sp.

A banana, *Musa* spp., pertencente à família Musaceae, é uma das frutas mais consumidas e produzidas no mundo. Segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, as principais variedades de banana consumidas no país são a prata, nanica, maçã e ouro. É importante ressaltar que as condições climáticas brasileiras permitem que essa cultura seja plantada em território nacional durante o ano todo (CNA, 2021).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) do ano 2021, a bananicultura teve produção superior a 6,8 milhões de toneladas, em uma área de 453.273 hectares, com produtividade média de 15.027kg por hectare, sendo que o maior produtor foi o estado de São Paulo, seguido por Bahia e Minas Gerais (IBGE, 2021). É importante ressaltar que o Vale do Ribeira é a principal região produtora dentro do Estado de São Paulo (BATISTA FILHO *et al.*, 2020).

Mundialmente, segundo CNA (2021), o Brasil ocupa a quarta posição entre os maiores produtores, atrás da Índia, China e Indonésia. É destacado a importância nacional da cultura pois apenas 1% da produção é exportada, ou seja, apresenta grande aceitação e consumo brasileiro. Entretanto, de acordo com Gerhardt (2021), a produtividade média é considerada baixa porque há grandes distinções tecnológicas entre diferentes estados produtores.

Dentro desse cenário, que também envolve a tecnologia para produção adequada, surge o problema com ataque de pragas e doenças, dificultando seu controle efetivo e baixo custo de produção. Segundo Rodrigues (2020), as principais doenças que atacam a bananicultura são o Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense), Sigatoka-Amarela (*Mycosphaerella musicola*) e Sigatoka-Negra (*Mycosphaerella fijiensis*). As principais pragas da bananeira, são Tripes da Erupção dos Frutos (*Frankliniella* spp.), Tripes da Ferrugem dos Frutos (*Chaetanaphothrips* spp.) e, por fim, a principal praga da bananicultura e fonte do projeto, a broca-da-bananeira ou moleque-da-bananeira [(*Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824), (Coleoptera: Curculionidae)].

2.2. Caracterização do inseto-praga *Cosmopolites sordidus*.

Cosmopolites sordidus é um inseto da ordem Coleoptera e família Curculionidae, que apresenta coloração preta, aparelho bucal do tipo mastigador e mede entre 9 e 13 mm. É um inseto holometábolo, apresenta fase de ovo com duração de 5 a 8 dias. A fase larval dura de 28 a 42 dias, para entrar na fase de pupa, com duração de 5 a 8 dias, então o inseto entra na fase juvenil e após 2 a 3 dias torna-se adulto (AZEVEDO, 2021).

É uma praga com hábitos noturnos e elevada atividade para se alimentar, acasalar e ovipositar (PRESTES *et al*, 2006). Apresenta movimentos lentos, abrigando-se da luz nas touceiras, bainhas das folhas e restos da cultura, atacando especificamente as plantas do gênero *Musa* em todas as regiões com área de cultivo (MALAGODI-BRAGA, 2014).

Segundo Mesquita (2003), os danos diretos e indiretos são causados pelas larvas, pois são elas que constroem galerias no rizoma da banana, de modo a debilitar e sensibilizar as plantas ao tombamento. De acordo com Azevedo (2021), as galerias são responsáveis também pela dificuldade no movimento da água e nutrientes, portanto, a bananeira apresenta fraco desenvolvimento vegetativo.

Os danos causados por *C. sordidus* são porta de entrada para patógenos, causando podridão e morte, como por exemplo o fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, causador do mal-do-panamá (MOREIRA, 2017). Além disso, para Batista Filho *et al.* (2020), é comum a queda de plantas que já tenham cachos por conta da falta de um sistema radicular sadio para sustentar o acréscimo de peso da planta. Estima-se cerca de 30% de redução da produção por conta do ataque de *C. sordidus*. (MALAGODI-BRAGA, 2014).

De acordo com Mesquita (2003), para controlar a broca-da-bananeira, podem ser utilizados diferentes métodos de controle, como a utilização de mudas sadias, iscas atrativas, controle biológico, químico e por comportamento.

2.2.1. Controle biológico de *Cosmopolites sordidus*

Para Berti Filho e Macedo (2011), o controle biológico de pragas pode ser definido como um fenômeno natural. É a ciência por trás da ação de inimigos naturais, como predadores, parasitóides e patógenos na regulação das populações, tanto para insetos-praga, ácaros e ervas daninhas.

Em ambientes agrícolas, quando o interesse econômico está em apenas uma ou poucas culturas e a população de plantas daninhas, animais e fitopatógenos atingem níveis inaceitáveis economicamente, é possível fazer a inserção de inimigos naturais dentro da área para suprimir esse crescimento. Torna-se um caminho alternativo ao uso de agrotóxicos, mantendo ao máximo a conservação do ambiente e produção de alimentos mais saudáveis (FONTES *et al.*, 2020).

Para o controle biológico da broca-da-bananeira, o primeiro passo é o monitoramento da área, seguido pela amostragem periódica para detectar a presença e crescimento populacional, ocorrência de possíveis inimigos naturais, mortalidade por fatores ambientais e determinação do momento ideal para entrar com controle (BATISTA FILHO *et al.*, 2020).

A amostragem para adultos de *C. sordidus* são feitas utilizando iscas preparadas com pseudocaule da bananeira, podendo ser do tipo “telha” ou “queijo”, entretanto, o pico de atratividade permanece até 15 dias e devem ser evitados períodos com excesso de chuva e alta umidade para não prejudicar a qualidade das iscas (BATISTA FILHO *et al.*, 2020).

Existem diferentes agentes biológicos que contribuem para o controle populacional de insetos-praga. O principal método de controle biológico é feito utilizando o fungo *B. bassiana*, selecionando os isolados mais virulentos, e aplicado quando a amostragem determina mais de cinco indivíduos adultos por isca. O sucesso do controle é normalmente demonstrado na presença de estruturas esbranquiçadas no corpo do inseto, além de se tornarem presas fáceis para predadores e parasitas por conta do seu comportamento e mobilidade que é alterado (BATISTA FILHO *et al.*, 2020).

Segundo Lazzarini (2005), é essencial saber que o controle biológico tem como premissa efeito mais lento, ou seja, é correto utilizar como método de controle

antecipado, mantendo a população em níveis baixos e monitoramento frequente. Em condições em que os danos causados pela praga sejam iminentes, o uso de controle químico torna-se a alternativa viável, pois torna-se necessário efeito imediato, visto que a resposta ao controle químico é mais rápida do que o biológico.

2.3. Caracterização do fungo entomopatogênico *Beauveria caledonica*

De acordo com Valadares-Inglis *et al* (2020), fungos entomopatogênicos são espécies capazes de causar doenças ou até mesmo a morte de seu alvo. Caracterizados como organismos eucariontes, heterotróficos, que em grande maioria se associam aos invertebrados, crescendo na forma filamentosa e produzindo hifas que, quando agrupadas, são denominadas de micélio. Sua dispersão é favorecida pelo vento e chuva, via agentes e organismos presentes no ambiente ou também por ejeção de seus esporos no ar.

A maioria das espécies de fungos que são associadas aos artrópodes são benéficas para o ser humano, fato caracterizado pelo modo de ação peculiar que é capaz de infectar e causar a morte em diferentes estágios de desenvolvimento dos invertebrados considerados insetos-praga para a agricultura, ou seja, conceituado como agente de controle de pragas. Entretanto, é importante ressaltar que existem interações que não são úteis ao homem, como por exemplo, doenças fúngicas em insetos considerados benéficos como a abelha, bicho-da-seda e inimigos naturais das pragas (Valadares-Inglis *et al* 2020).

Ainda de acordo com Valadares-Inglis *et al* (2020), os fungos entomopatogênicos precisam de condições ambientais características para garantir sua germinação e, posteriormente, causar doenças nos hospedeiros suscetíveis, sendo elas: elevada umidade relativa, temperaturas moderadas e proteção contra a radiação solar.

Por outro lado, quando cultivados em laboratório, as exigências tendem a mudar. Segundo Alves e Farias (2010), o principal tópico para manter a qualidade dos cultivos de fungos é a assepsia do local, ou seja, é indispensável limpar toda área e equipamentos que serão utilizados com álcool 70%. Seu cultivo é normalmente feito em placas de Petri com meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA), sendo um tipo de meio de uso frequente para diferentes gêneros de fungo.

Pertencente à família Cordycipitaceae, o gênero *Beauveria* é popular como um tipo de controle biológico e comercialmente relevante, principalmente a espécie denominada *B. bassiana*.

De acordo com estudos feitos por Mascarin *et al.* (2022), algumas cepas de *B. caledonica* testadas obtiveram resultados de cerca de 70% de mortalidade de *C. sordidus*. Sendo assim, *B. caledonica* torna-se promissora como fonte de controle da broca-da-bananeira, principalmente quando formulada em óleo emulsionável, perspectiva que elevou a atividade inseticida pela fixação do fungo no corpo do inseto.

B. caledonica ainda é pouco estudada em relação à utilização como biocontrole efetivo de *C. sordidus*, quando em comparação com outros microrganismos, especialmente *B. bassiana* (SILVA, 2021).

3. OBJETIVOS

Avaliar diferentes concentrações de *Beauveria caledonica* em suspensão oleosa sobre a mortalidade de adultos de *Cosmopolites sordidus*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização do experimento.

Os insetos foram coletados de áreas infestadas com a broca-da-bananeira (*C. sordidus*) na região do Vale do Ribeira e mantidos em criação dentro do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (Embrapa) Meio Ambiente, localizado em Jaguariúna-SP. O pseudocaulo de bananeira serviu como fonte de alimento e, 24 horas antes do bioensaio, foram colocados em jejum.

Para o cultivo de *Beauveria caledonica*, foram confeccionadas 20 placas de Petri com meio BDA e inoculadas com o isolado Myco-7 (*B. caledonica*) proveniente de conservação em tubos castellani. Após 20 dias de crescimento, elas foram raspadas, dentro da cabine de fluxo laminar para evitar contaminação, e o conjunto de micélios e conídios foram mantidos em secagem lenta com auxílio de sílica.

Depois de mais 20 dias em período de secagem, os conídios foram posicionados dentro de um béquer para determinar a viabilidade e concentração dos conídios por grama. Utilizou-se 0,1 gramas da massa de Myco-7 misturada em 10 mL de Tween 80 a 0,4%. A diluição foi realizada de maneira seriada e a contagem feita em Câmara de Neubauer. A concentração encontrada foi de 5×10^9 con/mL e 5×10^{10} con/g e a média dos quadrantes da Câmara de Neubauer foi de 50 conídios.

A partir dessa etapa, foram feitas quatro placas com 10 mL de BDA e ágar, inoculados com conídios na concentração de 5×10^5 , volume de 50 μ L e 16 horas de germinação.

Para a leitura da viabilidade de esporos puros e secos, Myco-07 foi incubada em 25°C por 17h com 12h de fotofase e encontrada média de 96,75% de viabilidade de germinação.

O experimento foi instalado dentro do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LMA) da Embrapa Meio Ambiente e realizado a partir de 10 tratamentos com 6 repetições, sendo cada uma delas composta por 10 adultos da broca-da-bananeira, portanto, 60 insetos por tratamento e 600 insetos no total. O bioensaio consistiu na aplicação de diferentes formulações com conídios ou blastosporos, codificados em tratamento de número 1 até o 10 (Figura 1). As identificações foram definidas em tratamento 1 (T1) para controle absoluto com surfactante e zero concentração de *B.*

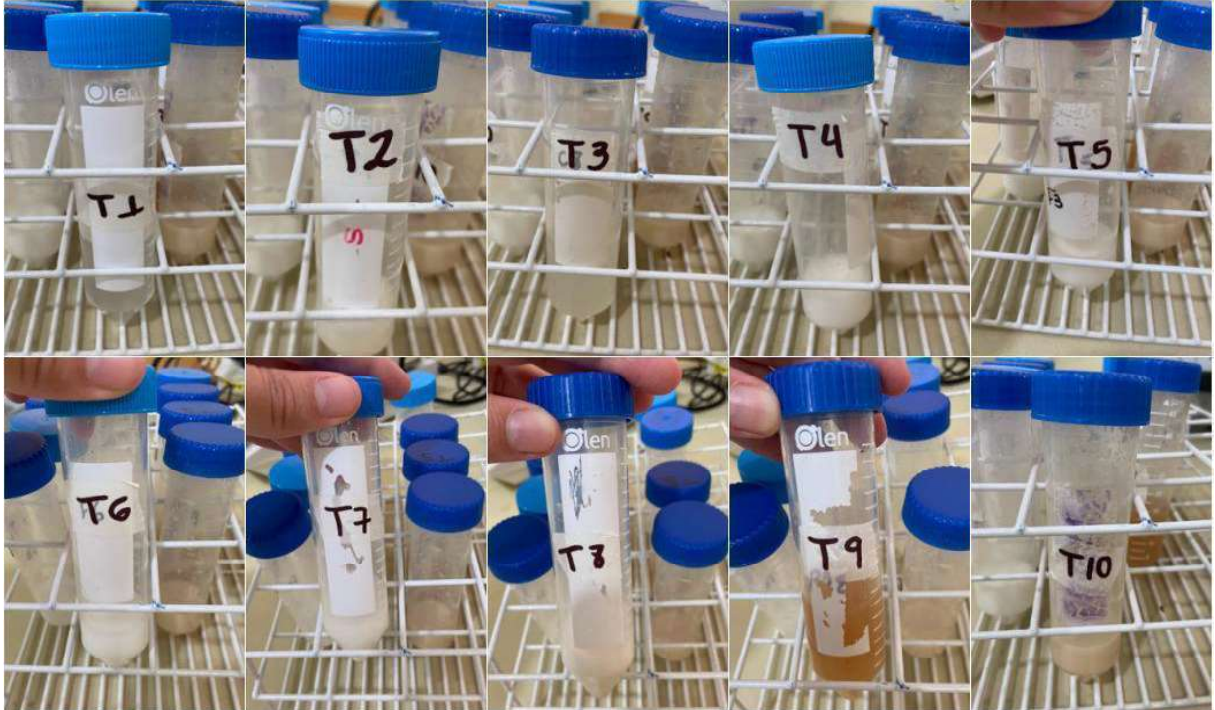
caledonica e tratamento 2 (T2) como controle de formulação da solução oleosa. Os tratamentos 3 e 9 serviram como controle da *B. caledonica* não formulada e preparada com solução estéril de surfactante, entretanto, no T9 foi utilizado de blastosporos. Os tratamentos 4, 5, 6, 7, 8 e 10 foram realizados a partir de diferentes concentrações de *B. caledonica* em suspensão oleosa, nesse caso, óleo de girassol (Tabela 1).

Tabela 1. Definição de cada tratamento e concentrações testadas

| Tratamento | Descrição | Concentração |
|-------------------|---|---|
| T1 | Controle absoluto | Solução aquosa com surfactante |
| T2 | Controle da formulação | Formulação oleosa, sem o fungo |
| T3 | <i>B. caledonica</i> não formulado | Solução estéril com surfactante 1 x 10 ⁸ esporos/mL |
| T4 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1 x 10 ⁶ esporos/mL |
| T5 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 5 x 10 ⁶ esporos/mL |
| T6 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1 x 10 ⁷ esporos/mL |
| T7 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 5 x 10 ⁷ esporos/mL |
| T8 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1 X 10 ⁸ esporos/ml |
| T9 | <i>B. caledonica</i> em surfactante | 5 x 10 ⁷ blastosporos/mL |
| T10 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 5 x 10 ⁷ blastosporos/mL |

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 1 - Formulações dos tratamentos devidamente identificados em T1 a T10, realizados no laboratório LMA na Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

De acordo com Marinho-Prado (2022), a formulação de conídios de *B. caledonica* com um óleo vegetal emulsionável e biodegradável, é capaz de mostrar a importância que o óleo pode desempenhar na adesão do fungo ao corpo do *C. sordidus* e facilitar a sua infecção. Portanto, foi escolhido o óleo de girassol como parte da formulação, a partir de estudos realizados anteriormente dentro da Embrapa.

A formulação do óleo emulsionável (OE) não pode ser divulgada pois está protegida pelo sigilo profissional imposto pela Embrapa Meio Ambiente, local em que a parte prática do experimento foi realizada.

Foram feitos 20 mL de óleo emulsionante, em que metade dessa quantidade (10 mL) foi misturada com 0,2g de esporos secos. A suspensão foi mantida em 10% de óleo emulsionante e 1×10^9 conídios/mL. A partir desses valores encontrados, foi calculada a diluição de cada concentração dos tratamentos que tinham como base o OE.

4.2. Realização do bioensaio.

Os adultos de *C. sordidus*, que permaneceram em jejum durante 24h, foram distribuídos em grupos de 10 indivíduos em cada uma das 60 placas (Figura 2).

Figura 2 - Broca-da-bananeira separados em placas de Petri para jejum de 24h no laboratório LEF, localizado na Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Após 24h e de acordo com cada tratamento, as soluções foram aplicadas sobre os adultos de *C. sordidus*, utilizando uma mini-torre de pulverização (Figura 3) e colocados individualmente em células plásticas contendo um pedaço de pseudocaule de bananeira e devidamente identificados com o tratamento e repetição (Figura 4 e 5). As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento BOD com escotofase total e temperatura de 26°C (Figura 6).

Figura 3 - Aplicação de solução do óleo emulsionante sobre os adultos de *Cosmopolites sordidus* no laboratório LMA, Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 4 - *Cosmopolites sordidus* em célula plástica contendo um pedaço de pseudocaule de bananeira, localizado no laboratório LMA Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 5. Bandejas plásticas com células individuais e identificadas, localizado no laboratório LMA na Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 6 - Broca-da-bananeira mantida em BOD após aplicação dos tratamentos, localizado no laboratório LMA na Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A mortalidade dos adultos foi monitorada entre o período de 31 de março de 2022 até 20 de abril de 2022, totalizando 23 dias após o tratamento. Os insetos mortos foram coletados e colocados em células individuais de placas de Elisa umedecidas com algodões saturados com água destilada, anotando o dia da morte e tratamento recebido para confirmação da contaminação por fungo a partir das presenças de estruturas esbranquiçadas (Figura 7).

Figura 7. Placas de Elisa com insetos mortos identificados, localizado no laboratório LMA na Embrapa Meio Ambiente.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.3. Análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. As médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5%, utilizando o software R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Lema-López *et al.* (2010), a avaliação de um ensaio laboratorial desse porte deve ser realizada no máximo até 22 dias após a pulverização, pois após esse período a taxa de esporulação diminui e os dados obtidos não são satisfatórios.

Ao calcular o valor de “p” por meio do Excel, foi possível obter que $p < 0,0001$, portanto, sendo $p < 0,05$ foi possível afirmar que a hipótese de nulidade é rejeitada, garantindo que há alterações comprovadas quanto ao uso de *B. caledonica* em óleo vegetal para controle de *C. sordidus*.

É possível observar (Tabela 2) o total de 600 *C. sordidus* utilizados no experimento, as 127 mortes totais confirmadas, a quantidade de mortos por cada tratamento e também suas respectivas médias. Nota-se que o tratamento 8 (T8) obteve o maior conjunto de mortos durante o período de avaliação, diferentemente dos tratamentos controle como o T1 e T2, com total de mortos de 2 e 3 insetos, respectivamente, demonstrando que as brocas-da-bananeira utilizadas estavam saudáveis antes de iniciar o bioensaio.

Tabela 2. Total de *Cosmopolites sordidus* mortos por tratamento e respectivas médias.

| Tratamento | Descrição | Concentração | Mortos | Médias* |
|------------|---|-------------------|--------|---------|
| T1 | Solução aquosa com surfactante | 0 | 2 | 0,33 c |
| T2 | Formulação oleosa, sem o fungo | 0 | 3 | 1,5 c |
| T3 | Solução estéril com surfactante | 1x10 ⁸ | 7 | 1,67 c |
| T4 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1x10 ⁶ | 5 | 1 c |
| T5 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 5x10 ⁶ | 15 | 3,17 bc |
| T6 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1x10 ⁷ | 7 | 1,67 c |
| T7 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 5x10 ⁷ | 13 | 2,33 c |
| T8 | <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável | 1x10 ⁸ | 37 | 6,83 a |
| T9 | <i>B. caledonica</i> em surfactante | 5x10 ⁷ | 10 | 2 c |
| T10 | (blastosporos) <i>B. caledonica</i> em óleo emulsionável (blastosporos) | 5x10 ⁷ | 28 | 5,5 ab |

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

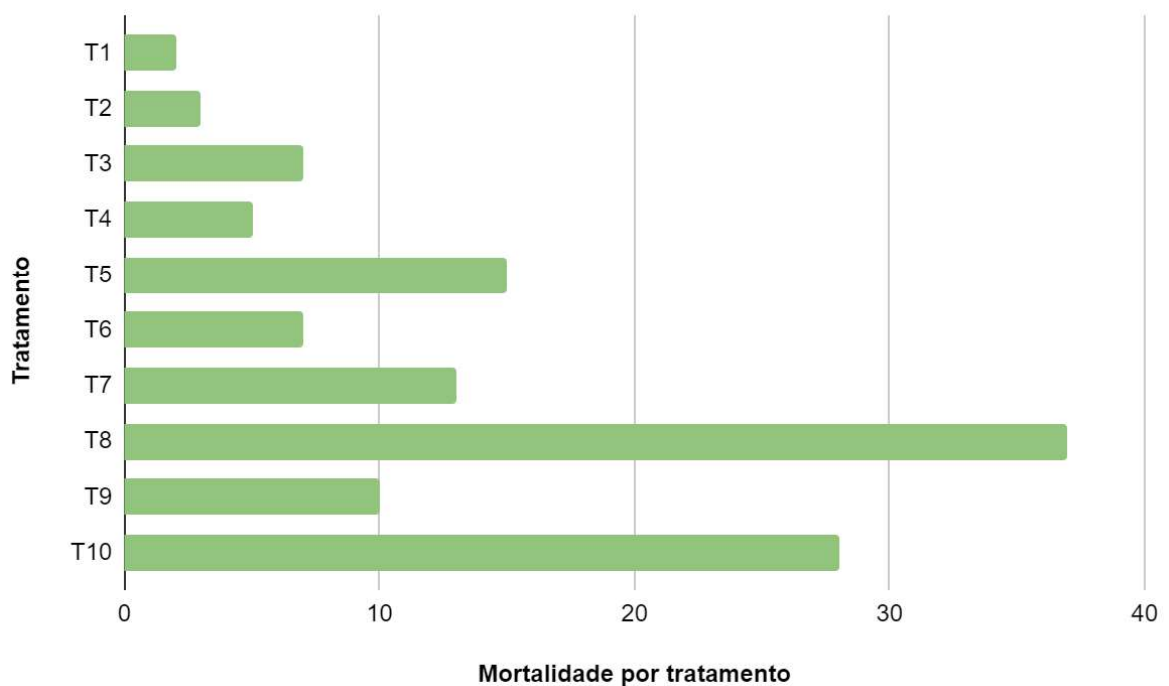
É possível observar que o tratamento 8 de *B. caledonica* em óleo emulsionável obteve resultados positivos quanto à mortalidade de *C. sordidus* (Tabela 2 e Figura 8). Entretanto, quando analisada a tabela estatisticamente e sabendo que letras iguais não diferem entre si ao nível de significância de 5%, nota-se que o tratamento 8 foi aquele que apresentou melhor resultado mas não diferiu do tratamento 10 que utilizou de blastosporos. Portanto, é possível afirmar que os dois tratamentos foram os melhores dentre os testados e podem ser utilizados para futuras pesquisas envolvendo o fungo entomopatogênico. Ademais, os tratamentos controle absoluto (T1), de formulação (T2), *B. caledonica* não formulado (T3), *B. caledonica* em óleo emulsionável (T4, T5, T6 e T7) e blastosporos de *B. caledonica* em surfactante (T9) não diferem significativamente entre si.

Quando observada a taxa de mortalidade por cada tratamento (Figura 8), é possível notar a elevada taxa de mortalidade que o tratamento 8 apresentou durante o experimento, totalizando 37 insetos. Mascarin *et al.* (2022) afirmaram que

nenhuma das cepas de *B. caledonica* causou mortalidade superior a 50% em uma concentração de 1×10^8 conídios/mL.

Da mesma forma, Lema-López *et al.* (2010) mostraram que aplicações de *B. bassiana* via dorso do animal não obtiveram virulência significativa na concentração de 1×10^9 conídios/mL, portanto, os resultados dessa pesquisa se mostram mais promissores quanto ao uso de *B. caledonica* em solução oleosa.

Figura 8. Taxa de mortalidade por tratamento.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os resultados obtidos com o bioensaio se mostraram promissores e podem alavancar mais pesquisas sobre essa nova cepa e suas potencialidades, inclusive para outros grupos de pragas emergentes que ameaçam a agricultura brasileira. Para maior aplicabilidade, é necessária a realização de testes, explorando mais concentrações e alvos diferentes. Além disso, a aplicabilidade destes dados deve ser testada em nível de campo, para garantir a performance de *B. caledonica* em condições reais de uso.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os tratamentos 8 e 10, com concentração em 1×10^8 conídios/mL e 5×10^7 blastosporos/mL, apresentaram maiores valores de mortalidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, Roberto Teixeira; FARIA, Marcos. **Pequeno Manual sobre Fungos Entomopatogênicos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrado, 2010.

AZEVEDO, Alexandra. **O gorgulho da bananeira: *Cosmopolites sordidus***. [S. l.], 10 jan. 2021. Direção Regional de Agricultura e Desenvolvimento Rural. Disponível em: <https://dica.madeira.gov.pt/index.php/producao-vegetal/pragas-e-doencas/3585-o-gorgulho-da-bananeira-cosmopolites-sordidus>. Acesso em: 27 jan. 2023.

BATISTA FILHO, Antônio *et al.* **Tecnologia Sustentável: controle biológico de brocas da bananeira**. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2020.

BERTI FILHO, Evoneo; MACEDO, Luciano Pacelli Medeiros. **Fundamentos de Controle Biológico de Insetos-Praga**. Natal: IFRN, 2011.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil - CNA. **Dia da Banana: a fruta é cultivada em todos os estados**. Brasília, 22 set. 2021.

FANCELLI, Marilene *et al.* Artrópodes: pragas da bananeira e controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, ano 288, v. 36, p. 7-18, 2015.

FONTES, Eliana Maria Gouveia *et al.* Estratégias de uso e histórico. In: ECKSTEIN, Bárbara *et al.* **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020. p. 21.

GERHARDT, Dra. Gabriela. **Panorama da Fruticultura Brasileira: Banana**. 2021. Disponível em: <https://agroinsight.com.br/panorama-da-fruticultura-brasileira-banana/>. Acesso em: 27 jul. 2022.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção de Banana**. Brasil. 2021.

LAZZARINI, G. M. J. Efeito da umidade sobre a germinação in vitro de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e atividade contra *Triatoma infestans*. 2005. 46p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - **Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública**, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

LEMA-LÓPEZ, Ernesto Antonio *et al.* Métodos de inoculação e virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera:Curculionidae) em laboratório. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, ano 1, v. 31, p. 67-74, jan. 2010.

LIMA, Marcelo Bezerra *et al.* **Banana**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 2. ed. rev. Brasília: Embrapa, 2012. 214 p. ISBN 978-85-7035-118-0.

MALAGODI-BRAGA *et al.* Incidência do moleque-da-bananeira em uma área degradada em transição agroecológica. *In: Embrapa Meio Ambiente - Artigo em anais de congresso (ALICE)*. Cadernos de Agroecologia, Cruz Alta, v. 9, n. 4, 2014. Edição dos resumos do 1º Seminário de Agroecologia da América do Sul, 5º Seminário de Agroecologia de Mato Grosso do Sul, 4º Encontro de Produtores Agroecológicos de Mato Grosso do Sul, 1º Seminário de Sistemas Agroflorestais em Bases Agroecológicas de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2014. N° 16534., 2014.

MASCARIN, Gabriel Moura *et al.* Natural occurrence of *Beauveria caledonica* , pathogenicity to *Cosmopolites sordidus* and antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Pest Management Science**, [S.L.]. 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.7063>.

MOREIRA, Francisco José Carvalho *et al.* Controle de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: curculionidae) com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em banana. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 366, 2017. Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas. <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v12i3.4538>.

MESQUITA, Antônio Lindemberg M. Importância e Métodos de Controle do Moleque ou Broca-do-Rizoma-da-Bananeira. Fortaleza, CE. ISSN 1679-2254. **Circular Técnica 17**. 2003. 5 p.

MARINHO-PRADO, Jeanne. Estudo inédito mostra eficiência de fungo contra dois dos principais problemas da bananeira. **Embrapa Meio Ambiente**, 26 ago. 2022. Acesso em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/73198124/estudo-inedito-mostra-eficiencia-de-fungo-contra-dois-dos-principais-problemas-da-bananeira#:~:text=Ainda%20descobrimos%20que%20este%20fungo,Instituto%20de%20Qu%C3%ADmica%20da%20Unicamp.>> Disponível em: 26 fev. 2023.

PRESTES, Tânia Mari Vicentini *et al.* Aspectos ecológicos da população de *Cosmopolites sordidus*, (Germar) (Coleoptera: Curculionidae) em São Miguel do Iguaçu, PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, p. 333-347, 2006.

RODRIGUES, Mariane Aparecida. Quais as principais pragas e doenças da bananicultura?. **Campo & Negócios**, [s. l.], 2 set. 2020.

RODRIGUES, Thais. **Bananicultura**: Entenda o cenário desse mercado atual. [S. l.], 19 nov. 2021. Disponível em: <https://cerradocase.com.br/blog-bananicultura-no-brasil/>. Acesso em: 19 mar. 2023.

SILVA, Bruno Eduardo Ribeiro. Análise exploratória de diferentes formas de produção de conídios e blastosporos de *Beauveria caledonica* para biocontrole de *Cosmopolites sordidus* (broca da bananeira). Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2021.

VALADARES-INGLIS, Maria Cleria *et al.* Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos. In: ECKSTEIN, Bárbara *et al.* **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020. p. 201.