

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE NA DIVERSIDADE DE FUNGOS ASSOCIADOS A
HYPOTHENEMUS HAMPEI (FERRARI) (COLEOPTERA, SCOLYTIDAE)
E FRUTOS DE *COFFEA CANEPHORA**

F. de C. Gama*, C.A.D. Teixeira, A. Garcia, J.N.M. Costa, D.K.S. Lima

Embrapa Rondônia, CP 406, CEP 78900-970, Porto Velho, RO, Brasil. E-mail: farah_gama@yahoo.com.br

RESUMO

Hypothenemus hampei, é uma importante praga do café no Brasil e no mundo. A maioria dos trabalhos referentes à associação entre este inseto e fungos teve como alvo a parte aérea de plantas de *Coffea canephora*. Estudos de campo foram realizados em plantios de *C. canephora*, em Ouro Preto do Oeste, Rondônia, para levantar a micota associada à broca e frutos de café. Brocas e galerias foram obtidas a partir da dissecação de frutos de *C. canephora* brocados e não brocados. Os resultados mostraram que existe uma grande diversidade de fungos associados aos insetos. Nas brocas do solo foram encontrados 110 isolados (10 gêneros) e na parte aérea 91 isolados (10 gêneros). Em relação aos frutos brocados (galerias) foram registrados 5 gêneros no solo e 2 na parte aérea e nos frutos não brocados estes valores foram 6 e 5, respectivamente. O "ambiente" solo mostrou maior riqueza que a "parte aérea", tanto para brocas como para frutos brocados. Em relação aos frutos não brocados esta diferença não foi significativa revelando a ação da broca na dispersão destes microrganismos entre os dois ambientes. Este trabalho oferece uma descrição da micota associada à *H. hampei* em *C. canephora* e mostra a influência do ambiente na sua diversidade.

PALAVRAS-CHAVE: Micota, *Coffea*, Interações insetos-fungos.

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE ENVIRONMENT ON THE DIVERSITY OF FUNGUS ASSOCIATED TO *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI) (COLEOPTERA, SCOLYTIDAE) AND *COFFEA CANEPHORA* FRUITS. *Hypothenemus hampei* is an important pest of coffee in Brazil and the world. The majority of the studies concerning the association between this insect and fungus were lead in the aerial part of plants of *Coffea canephora*. Field studies were carried out on *C. canephora*, in Ouro Preto do Oeste, Rondônia, to determine the mycobiota associated with coffee berry borer and coffee fruits. Bored and unbored fruits were collected from plants of *C. canephora* and, borers and galleries were obtained from the dissection of the infested fruits. The results that there is a great diversity of fungus associated to the insects. In the borers of the soil there were registered 110 isolates (10 genera) and in the aerial part there were found 91 isolates (5 genera). In relation to the bored fruits (galleries) there were registered 5 genera in the soil and 2 in the aerial parts of plants, and for unbored fruits these values were 6 and 5, respectively. The "soil environment" showed greater diversity than the "aerial part" as much borers as bored fruits. In relation to unbored fruits this difference was not significant, showing the action of the borer in the dispersion of these microorganisms between these two environments. This work offers a description of mycota associated to *H. hampei* in *C. canephora* and shows the influence of the environment in the diversity of this mycota.

KEY WORDS: *Mycobiota*, *Coffea*, insect-fungus interactions.

INTRODUÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae), é considerada a praga mais importante da cultura do café no Brasil (SOUZA & REIS, 1997) e no mundo (BARRERA *et al.*, 1990;

BAKER, 1999). Originário da África equatorial, região de Uganda, este inseto alcançou acidentalmente o Brasil provavelmente em 1913, a partir de sementes infestadas trazidas do Congo Belga para o interior de São Paulo (BENASSI, 1995; SOUZA & REIS, 1997).

*Pós-graduação em Biologia Experimental - Universidade Federal de Rondônia (UNIR)

H. hampei coloniza frutos de café onde se alimenta, desenvolve e reproduz (GUHARAY & MONTERREY, 1997). Os danos podem ser vistos em todos os estádios de maturação, desde os frutos verdes até maduros ou secos (SOUZA & REIS, 1997) e o ataque pode facilitar a entrada de microrganismos que se desenvolvem nos grãos (BENASSI, 1989).

Frutos infestados de café caídos ao solo são considerados a principal fonte de reinfestação das plantações de café durante o período de colheita (BUSTILLO *et al.*, 1999). Ao emergir dos frutos do solo, a procura de novos frutos para colonização, a broca leva consigo esporos de fungos e os inoculam nos frutos sadios da parte aérea agindo assim como vetor no transporte destes microrganismos.

Os trabalhos referentes ao conhecimento dos fungos associados à broca-do-café são poucos e a maioria deles refere-se ao estudo dos entomopatógenos. As pesquisas sobre interações entre brocas e fungos são direcionadas apenas aos frutos de café presentes na parte aérea de plantas de *Coffea arabica*.

Vários autores registraram a presença de diferentes gêneros de fungos associados à broca-do-café em frutos da parte aérea de café arábica: *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* e *Beauveria* (CARRIÓN & BONET, 2004), *Hirsutella* (POSADA *et al.*, 1993), *Fusarium solani* (MORALES *et al.*, 2000) e *Paecilomyces* (VEGA *et al.*, 1999). PÉREZ *et al.* (2003) registraram 18 gêneros de fungos filamentosos associados ao corpo da broca-do-café e dois gêneros nas galerias. Também uma nova espécie de *Penicillium*, descrita como *Penicillium brocae* foi encontrada associada à broca-do-café no México (PETERSON *et al.*, 2003). No solo, há apenas o registro de *Paecilomyces lilacinus* atacando em condições naturais a broca-do-café (BUSTILLO *et al.*, 1999).

O objetivo deste trabalho foi identificar os fungos associados a *H. hampei* e frutos de café dispersos na superfície do solo (ambiente solo) e na parte aérea de plantas de *C. canephora*, comparando a diversidade destes microrganismos nos dois ambientes.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental da Embrapa Rondônia, localizada em Ouro Preto do Oeste, RO (10° 45' S, 62° 15' O). Frutos brocados (infestados com broca-do-café) e não-brocados maduros foram coletados em abril de 2004 em plantas selecionadas distribuídas por toda a área de estudo. A amostragem consistiu de 200 frutos não brocados e 400 frutos brocados coletados nos seguintes ambientes: parte aérea das plantas e superfície do solo (sob a saia das plantas de café). As brocas e galerias foram obtidas através da dissecação dos frutos brocados.

Isolamento dos fungos

Brocas, galerias e frutos sadios foram superficialmente desinfetados em uma solução de 0,5% de hipoclorito de sódio por 1min e enxaguados em água destilada estéril. Posteriormente, foram imersos em uma solução de 0,05% de ácido ascórbico + 0,05% de ácido cítrico por 1min.

Para as brocas, a remoção dos esporos fúngicos da cutícula foi realizada a partir da imersão dos insetos em solução salina 0,85%. As fezes foram obtidas colocando-se as brocas em placas de Petri estéreis (5,0 cm de diâmetro) forradas com papel de filtro umedecido em solução salina por 24h. Posteriormente, as brocas foram retiradas e as fezes foram coletadas.

As mesmas brocas utilizadas para a coleta das fezes foram dissecadas, separando-se aparelho bucal, protórax (pseudomicângia) e tubo digestivo (canal alimentar). As amostras da cutícula, aparelho bucal, protórax, tubo digestivo e fezes foram acondicionadas em eppendorfs, contendo 100µL de solução salina e mantidas sob agitação constante em frequência de 42 Khz por 10min. Alíquotas de 10 µL de cada amostra foram transferidas para placas de petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) acidificado com ácido láctico (44%) para inibir crescimento bacteriano.

Para as galerias, as amostras consistiram de cinco pedaços de galeria de 2 mm de comprimento, os quais foram colocados diretamente em placas de Petri contendo BDA acidificado com ácido láctico (44%). Os frutos não-brocados foram acondicionados em eppendorfs, contendo 4 mL de solução salina e mantidos sob agitação constante a uma frequência de 42 Khz por 10min. O isolamento dos fungos foi realizado a partir da transferência de 10 µL, de cada amostra, para placas de Petri contendo BDA acidificado com ácido láctico (44%).

Após os isolamentos, as placas foram acondicionadas em estufa tipo BOD a 25 ± 1° C e 12h de fotoperíodo, durante sete dias. Posteriormente, todas as colônias de fungos foram repicadas para novas placas contendo BDA. As identificações foram realizadas com base em caracteres macro e microscópicos das colônias desenvolvidas em meio BDA. Para melhor visualização das microestruturas foi utilizado o método de cultura em lâmina. As identificações em nível de gênero foram feitas seguindo as chaves de identificação de BARNETT & HUNTER (1987) e HANLIN & MENEZES (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fungos filamentosos associados à broca-do-café nos ambientes solo e parte aérea de plantas de *C. canephora*.

Foram obtidos 110 isolados de fungos filamentosos em brocas presentes nos frutos do solo e 91 isolados em brocas dos frutos da parte aérea de plantas de café. Ao comparar os dois ambientes observa-se que o solo possui maior riqueza de gêneros do que a parte aérea: 10 e 5 gêneros respectivamente (Tabela 1). Esta diferença indica que o solo apresenta-se como ambiente mais propício ao desenvolvimento dos fungos do que a parte aérea. De acordo com ALVES (1998), o solo apresenta proteção contra a radiação ultravioleta, alta umidade e temperaturas amenas o que favorece a sobrevivência e viabilidade de fungos, funcionando com um grande reservatório para estes microrganismos.

A sobrevivência dos fungos é maior no solo porque neste ambiente o maior contato dos insetos e de outros artrópodes com os fungos resulta na dispersão destes microrganismos (McCOY & TIGANO-MILAH, 1992). BUSTILLO *et al.* (1999) mencionam que ocorre maior conidiogênese de fungos sobre cadáveres ou a formação de novos propágulos a partir do inóculo existente no solo. Além disso, alguns fungos possuem estruturas de resistência que lhes permitem permanecer por vários anos neste ambiente (ALVES, 1998).

Os gêneros *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Verticillium* foram registrados nas brocas coletadas nos dois ambientes e os demais gêneros encontram-se presentes apenas em brocas de frutos do solo (Tabela 1). A presença de alguns fungos, restritos ao ambiente solo pode ser atribuída ao fato de que os diferentes grupos apresentaram exigências específicas à sua germinação e sobrevivência (ALVES, 1998) e estas condições não seriam encontradas na parte aérea.

Fusarium sp. foi o único fungo presente em todas as partes do corpo da broca nos dois ambientes estudados (Tabela 2), sendo este resultado o mesmo obtido por PÉREZ *et al.* (2003) ao avaliar cutícula, tubo digestivo e fezes de brocas coletadas em frutos presentes na parte aérea de *C. arabica*. Vale ressaltar que *Fusarium* sp. também foi o único fungo presente nas fezes, tanto em brocas do solo quanto da parte aérea. Esta situação indica uma possível associação mutualística em que *Fusarium* sp. serve de alimento para a broca e esta atua na sua dispersão. Em alguns Scolytidae, apenas as hifas de certos fungos são digeridas ao passar pelo trato digestivo, enquanto que os esporos passam através do intestino sem sofrer alterações, germinando nas paredes das galerias (BEAVER, 1989).

Tabela 1 - Fungos filamentosos associados à broca-do-café, em solo e parte aérea de plantas de *Coffea canephora*.

Fungos	Solo	Parte aérea
<i>Fusarium</i> sp.	P	P
<i>Geotrichum</i> sp.	P	P
<i>Penicillium</i> sp.	P	P
<i>Aspergillus</i> sp.	P	P
<i>Verticillium</i> sp.	P	P
<i>Cephalosporium</i> sp.	P	-
<i>Curvularia</i> sp.	P	-
<i>Oi Oidiodendron</i> sp.	P	-
<i>Trichoderma</i> sp.	P	-
<i>Beauveria</i> sp.	P	-
Total	10	5

P, presente; -, ausente.

Tabela 2 - Fungos presentes nos diferentes substratos da broca-do-café, em solo e parte aérea de plantas de *C. canephora*.

Fungos	Broca									
	Solo					Parte aérea				
	Cut.	Ap. Buc.	Prot.	T. dig.	Fe.	Cut.	Ap. Buc.	Prot.	T. dig.	Fe.
<i>Fusarium</i> sp.	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
<i>Geotrichum</i> sp.	P	P	P	P	-	P	P	P	P	-
<i>Penicillium</i> sp.	-	P	P	P	-	P	P	P	P	-
<i>Aspergillus</i> sp.	-	P	-	-	-	P	P	P	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	-	-	-	P	-	-	P	P	P	-
<i>Cephalosporium</i> sp.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curvularia</i> sp.	-	P	P	-	-	-	-	-	-	-
<i>Oidiodendron</i> sp.	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Beauveria</i> sp.	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	3	8	4	4	1	4	5	5	4	1

Cut., Cutícula; Ap. Buc., Aparelho bucal; Prot., Protórax; T. dig., Tubo digestivo; Fe., Fezes. P, presente; -, ausente.

Geotrichum sp. foi encontrado, nos dois ambientes, em todos os substratos da broca, exceto nas fezes, o que indica que este fungo, assim como *Fusarium* sp. também pode interagir mutualisticamente com a broca-do-café. No entanto, até o momento não há informação alguma a respeito de interações entre fungos deste gênero e *H. hampei*. De acordo com HUMBER & HANSEN (2004), *Geotrichum* sp. já foi relatado como entomopatôgeno de espécies de Lepidoptera (*Plutella xylostella*) e Hemiptera (*Adelges tsugae*).

No presente trabalho, os únicos gêneros de fungos reconhecidamente entomopatogênicos para a broca foram *Beauveria*, no aparelho bucal, presente apenas em brocas no solo e *Verticillium*, nos aparelho bucal, protórax e tubo digestivo (de brocas da parte aérea) e tubo digestivo (apenas em brocas do solo). O gênero *Beauveria* parasita um grande número de artrópodes e ocorre em mais de 700 espécies de insetos (GOETTEL *et al.*, 1990). Segundo BUSTILLO *et al.* (1999) e BUSTILLO & POSADA (1996), *Beauveria* sp. é considerado o principal agente de mortalidade da broca-do-café.

Por sua vez, o gênero *Verticillium*, patógeno comum em insetos das ordens Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (ALVES, 1998) já foi registrado parasitando *H. hampei* em estado natural e é considerado potencial agente na luta biológica contra a broca-do-café (BAUTISTA, 2004). *Trichoderma* sp. foi encontrado apenas em brocas nos frutos do solo. Este gênero apresenta espécies com ação antagonista a outras espécies de fungos, podendo ser utilizada pela broca para proteção contra fungos entomopatogênicos, como é o caso de *Beauveria* sp.

Fungos filamentosos associados a frutos de *C. canephora* (galerias e frutos não - brocados) nos ambientes solo e parte aérea

O número de isolados associados às galerias foi 12 nos frutos da parte aérea e oito nos frutos do solo. Estes

Tabela 3 - Fungos associados aos frutos brocados (galerias) de *C. canephora*, em solo e parte aérea.

Fungos	Frutos brocados (Galerias)	
	Solo	Parte aérea
<i>Fusarium</i> sp.	P	P
<i>Geotrichum</i> sp.	P	P
<i>Aspergillus</i> sp.	P	-
<i>Curvularia</i> sp.	P	-
<i>Trichoderma</i> sp.	P	-
Total	5	2

P, presente; -, ausente.

isolados foram distribuídos em maior número de gêneros nas galerias de frutos do solo (5) do que nos frutos da parte aérea (2) (Tabela 3). De acordo com BENASSI (1989), o túnel feito pela broca pode funcionar como porta de entrada para muitos microrganismos que se encontram em grande quantidade no solo. Segundo CARRIÓN & BONET (2004), alguns fungos encontram nas galerias de frutos brocados as condições adequadas ao estabelecimento e crescimento de suas colônias.

Dos gêneros presentes nas galerias de *C. canephora*, *Fusarium* é o único também já registrado em galerias de frutos de *C. arabica* (CARRIÓN & BONET, 2004; PÉREZ *et al.* 2003). Entretanto, estes autores não avaliaram os frutos do solo. *Geotrichum* sp., assim como *Fusarium* sp., foi encontrado nas galerias de frutos de *C. canephora* presentes tanto no solo como na parte aérea. Até o momento, não há registro deste gênero em galerias de *C. arabica*. A presença destes fungos, tanto nas galerias como em brocas, nos dois ambientes avaliados, pode indicar uma interação estreita entre estes fungos e *H. hampei* e, ainda, que o ambiente onde frutos e brocas se encontram não impede que esta interação ocorra.

Aspergillus sp. e *Curvularia* sp. foram encontrados apenas em galerias dos frutos do solo. A presença destes fungos, tanto em brocas como em galerias, aponta para a importância deste inseto como um importante vetor de agentes produtores de contaminantes toxigênicos do café e ainda, de fitopatogênicos, como é o caso de *Curvularia*.

Trichoderma sp. *a* esteve presente nas galerias de frutos de *C. canephora* apenas no ambiente solo. A presença deste fungo neste substrato não significa necessariamente que *H. hampei* esteja cultivando este fungo, mas que este inseto possa estar usando *Trichoderma* sp. para inibir o crescimento de fungos entomopatogênicos.

Tabela 4: Fungos associados aos frutos não-brocados (sádios) de *C. canephora*, em solo e parte aérea.

Fungos	Frutos não brocados (Sádios)	
	Solo	Parte aérea
<i>Fusarium</i> sp.	P	P
<i>Geotrichum</i> sp.	P	P
<i>Penicillium</i> sp.	P	P
<i>Aspergillus</i> sp.	P	P
<i>Verticillium</i> sp.	P	-
<i>Curvularia</i> sp.	-	P
<i>Metarrhizium</i> sp.	P	-
Total	6	5

P, presente; -, ausente.

Em relação aos frutos não-brocados, foram obtidos 30 isolados no solo e 11 na parte aérea de plantas de *C. canephora*. Os isolados registrados nos frutos do solo foram agrupados em seis gêneros, enquanto que os da parte aérea foram representados por cinco gêneros (Tabela 4). Estes resultados demonstram, mais uma vez, que o solo em *C. canephora* apresenta-se como ambiente mais propício a maior riqueza de fungos que a parte aérea. As diferenças, quanto à diversidade, tornam-se maiores quando *H. hampei* atua como agente dispersor desses fungos, o que pode ser observado em brocas e galerias nos ambientes solo e parte aérea.

Nos frutos não-brocados, assim como em brocas e galerias, *Fusarium* sp. e *Geotrichum* sp. também estiveram presentes no solo e parte aérea de plantas de café, o que demonstra que a presença destes gêneros em *C. canephora* independe do ambiente em que as brocas e os frutos se encontram. Até o momento, não há registros de espécies de *Geotrichum* sp. associadas a frutos de café, nem a *H. hampei*.

Alguns gêneros identificados neste estudo já foram registrados como contaminantes de grãos armazenados, incluindo café (FRISVAD, 1988). Dois gêneros encontrados, *Fusarium* e *Curvularia*, apresentam espécies patogênicas aos frutos de café, como *F. oxysporum* e *F. solani* (CARRIÓN & BONET, 2004) e *Curvularia prasadii* (DUKE, 1983).

Também foram registrados gêneros de fungos entomopatogênicos, presentes apenas nos frutos do solo, como *Verticillium* sp. e *Metarhizium* sp., já citados como agentes patogênicos para a broca-do-café (BAUTISTA, 2004).

Trabalhando com *C. arabica* e *C. canephora*, PARDO *et al.* (2004) registraram frutos não-brocados contaminados com espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus*. PEREIRA *et al.* (2004) encontraram em *C. arabica* espécies dos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus*. No Brasil, em pesquisas realizadas com frutos de café não-brocados, têm sido encontradas espécies de fungos pertencentes aos gêneros *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Colletotrichum*, *Rhizopus* e *Mucor* (ALVES, 1996; BATISTA, 2000; FREITAS, 2000; KRUG, 1940; MEIRELLES, 1990; WOSIACK, 1971).

Vale ressaltar que a ocorrência de espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em frutos de café pode estar associada à presença de micotoxinas (aflatoxina, ochratoxina e patulina), e que o transporte destes fungos de um fruto a outro e entre o solo e a parte aérea pode ser decorrente da atividade da broca nestes ambientes. A existência de microrganismos com ação fito e entomopatogênica sugere a possibilidade de diferentes interações entre estes organismos. Nestas interações o benefício de uns pode se dar em função do prejuízo de outros.

Há possibilidade de que a diversidade de fungos sofra variação em função das condições ambientais, que diferem entre as estações do ano, entretanto neste trabalho esta hipótese não foi testada. Por esse motivo, recomenda-se que novos estudos sejam realizados em diferentes períodos do ano, considerando-se as diferentes fases fenológicas do café.

Este trabalho fornece o primeiro registro da micota associada a *H. hampei* em *C. canephora* e oferece informações que contribuem para o melhor entendimento das interações entre este inseto e os fungos associados.

AGRADECIMENTOS

Ao CBP&D Café, pelo financiamento do projeto de pesquisa, do qual este trabalho é parte resultante. Ao CNPq, pela concessão de bolsa de mestrado do primeiro autor que tornou possível a execução deste trabalho. Aos doutores Mariângela Soares de Azevedo (UNIR), Marília Locatelli e Maurício Reginaldo Alves dos Santos (Embrapa Rondônia) pela leitura do manuscrito e sugestões apresentadas para o enriquecimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. *População fúngica associada ao café (Coffea arabica L.) beneficiado e as fases pré e pós colheita-relação com a bebida e local de cultivo*. 1996. 48p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.
- ALVES, S. B. *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. São Paulo: FEALQ, 1998. 407p.
- BAKER, P.S. *La broca del café en Colombia*. Chinchina: Cenicafé-CABI Biosc, 1999. (Informe final del proyecto MIP para el café).
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4.ed. St. Paul; MN: American Phytopathological Society, 1987. 218p.
- BARRERA, J.F.; BAKER, P.S.; VALENZUELA, J.E.; SCHWARZ, A. Introducción de dos especies de parasitoides africanos a México para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomologica Mexicana*, v.79, p.245-247, 1990.
- BATISTA, L.R. *Identificação, potencial toxigênica e produção de micotoxinas de fungos associados a grãos de café (Coffea arabica L.)*. 2000. 188p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- BAUTISTA, L. Hongos entomopatogenos parasitando en estado natural la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:Scolytidae) en el estado Tachira Venezuela. Disponível em: <<http://www.unet.edu.ve/~frey/varios/decinv/VIJCT/AP%20RESUMENES.htm>>. Acesso em: 13 dez. 2004.

- BEAVER, R. A. Insect – Fungus Relationships in the Bark and Ambrosia Beetles. In: WILDING, N.; COLLINS, N.M.; HAMMONDAND, P.M.; WEBBER, J.F. (Eds.). *Insect-Fungus Interactions*. London: Academic, 1989. p.121-143.
- BENASSI, V.L.R.M. *A broca-do-café*. Vitória: EMCAPA, 1989. v.57, 63p. (Documentos).
- BENASSI, V.L.R.M. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae), no norte do Espírito Santo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.24, n.3. p.635-638, 1989.
- BUSTILLO, A.E.; BERNAL, M.G.; BENAVIDES, P.; CHAVES, B. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) populations emerging from fallen coffee berries. *Florida Entomologist*, v.82, n.4, p.491-498, 1999.
- BUSTILLO, A.E. & POSADA, J.F. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. *Manejo Integrado de Plagas*, n.42, p.1-13, 1996.
- CARRIÓN, G. & BONET, A. Mycobiota associated with the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and its galleries in fruit. *Annals of the Entomological Society of America*, v.97, n.3, p.492-499, 2004.
- DUKE, J. A. *Handbook of energy crops*. unpublished. 1983. Disponível em: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Coffea_arabica.html>. Acesso em: 17 jan. 2005.
- FREITAS, R.F. *Fungos associados a grãos de café (Coffea arabica L.) beneficiado de diversos municípios da região Sul de Minas Gerais*. 2000. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- FRISVAD, J.C. Fungal species and their specific production of mycotoxins. In: SAMSON, R. A. & VAN REENEN-HOEKSTRA, E.S. (Eds.). *Introduction to foodborne fungi*. 3.ed. Amsterdam: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1988. p.239-349.
- GOETTEL, M.S.; POPRAWSKI, T.J.; VANDENBERG, J.D.; LI, Z.; ROBERTS, D.W. Safety to non target invertebrates of fungal biocontrol agents. In: LIRD E.D. LAIRD M.; LECY, L.A.; DAVIDSON, E.W. (Eds.). *Safety of microbial insecticides*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.209-232.
- GUHARAY, J. ;& MONTERREY, J. Manejo ecológico de la broca del caféto (*Hypothenemus hampei*) en America Central. *Manejo Integrado de Plagas*, n.22, p.1-7. 1997.
- HANLIN, R.T. & MENEZES, M. *Gêneros ilustrados de ascomicetos*. Recife: UFRPe, 1996. 274p.
- HUMBER, R.A. & HANSEN, K.S. *Collection of entomopathogenic fungal cultures: catalog of Isolates*. Ithaca: USDA Agricultural Research Service, Plant Protection Research Unit, 2004.
- KRUG, H.P. Cafés duros II: Um estudo sobre a qualidade dos cafés de varrição. *Revista do Instituto do café do Estado de São Paulo*, v.15, p.1393-1396, 1940.
- MCCOY, C.W.; TIGANO-MILANI, M.S. Use of entomopathogenic fungi in biological control: a world view. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.27, p.87-93, 1992.
- MEIRELLES, A.M.A. *Ocorrência e controle da microflora associada aos frutos de café (Coffea arabica L) provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais*. 1990. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.
- MORALES-RAMOS, J.A.; RUIJAS, M.G.; STTERTZ-BHATKAR, H.; SALDANA, G. Symbiotic relationship between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). *Annals of Entomological Society of America*, v.93, n.3, p.541-547, 2000.
- PARDO, E.; MARIN, S.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V. Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in green coffee from different origins. *Food Science Technology*, v.22, n.1, p.105-111, 1996.
- PEREIRA, R.G.; BORÉM, F.M.; VILELA, T. *Microbiologia dos cafés do Alto Rio Grande*. Disponível em: <<http://www.coffeebreak.com.br/ocafezal.asp?SE=8&ID=317>>. Acesso em: 7 dez. 2004.
- PEREZ, J.; INFANTE, F.; VEGA, F.E.; HOLGUIN, F.; MACÍAS, J.; VALLE, J.; NIETO, G.; PETERSON, S.W.; KURTZMAN, C.P. Mycobiota associated with coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. *Mycological Research*, v.107, n.7, p.879-887, 2003.
- PETERSON, S.W.; PÉREZ, J.; VEGA, F.E.; INFANTE, F. *Penicillium brocae* a new species associated with the coffee berry borer in Chiapas, Mexico. *Mycology*, n.95, p.141-147, 2003.
- POSADA, F.J.; BUSTILLO, A.E.; SILDARRIAGA, G. Primer registro del ataque de *Hirsutella eleuteratorum* sobre la broca del café en Colombia. *Cenicafé*, v.44, p.155-158, 1993.
- SOUZA, J.C. DE & REIS, P.R. *Broca-do-café: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle*. 2.ed. Belo Horizonte: EPAMIG, 1997. 40p. (Boletim técnico, n.50).
- VEGA, F.E.; MERCADIER, G.; DOWD, P.F. Fungi associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: COLLOQUIUM OF THE ASSOCIATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE DU CAFÉ (ASIC), 1999, Helsinki. *Proceedings*. Helsinki: 1999. v.18, p.229-236.
- WOSIACK, G. *Produção de enzimas hidrolíticas por fungos isolados do café*. 1971. 33p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1971.

Recebido em: 24/8/05

Aceito em 25/9/05