

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA-SP**

ALCIDES PEREIRA DE BRITO

**CRESCIMENTO DO FUNGO *Metarhizium robertsii* SOB CAMPO MAGNÉTICO E
CAMPO ELÉTRICO ALTERA TOLERÂNCIA DE CONÍDIOS A ESTRESSES**

**GROWTH OF THE FUNGUS *Metarhizium robertsii* IN MAGNETIC AND ELECTRIC
FIELDS ALTERS CONIDIAL TOLERANCE TO STRESS**

São Paulo – SP

2022

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

ALCIDES PEREIRA DE BRITO

**CRESCIMENTO DO FUNGO *Metarhizium robertsii* SOB CAMPO MAGNÉTICO E
CAMPO ELÉTRICO ALTERA TOLERÂNCIA DE CONÍDIOS A ESTRESSES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em 2022.

Orientador(a): Prof. Dr. Drauzio Eduardo Naretto Rangel

São Paulo – SP
2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

B875c BRITO, Alcides Pereira de.

Crescimento do fungo *Metarhizium Robertsii* sob campo magnético e campo elétrico altera tolerância de conídios a estresses / Alcides Pereira de Brito -- São Paulo: Universidade Brasil, 2022.

70 f.: il. color.

Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Prof. Dr. Drauzio Eduardo Naretto Rangel.

1. Fisiologia de fungos. 2. Campo magnético. 3. Tolerância a estresses. 4. Microbiologia. I. Rangel, Drauzio Eduardo Naretto. II. Título.

CDD 620.82



UNIVERSIDADE
BRASIL

TERMO DE APROVAÇÃO

ALCIDES PEREIRA DE BRITO

**“CRESCIMENTO DO FUNGO *Metarhizium robertsii* SOB CAMPO MAGNÉTICO E CAMP
O ELÉTRICO ALTERA TOLERÂNCIA A ESTRESSES DE CONÍDIOS”**

Dissertação aprovada com o requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) Drauzio Eduardo Naretto Rangel (presidente-orientador)

Prof.(a) Dr.(a) Claudio Alberto Tellez Soto (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof.(a) Dr.(a) Geraldo Magno Alves de Abreu (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA)

São Paulo, 14 de abril de 2022

Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a). Drauzio Eduardo Naretto Rangel

Houve alteração do Título: sim () não (x)

Campus Itaquera

Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030

Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070

www.ub.edu.br



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **“CRESCIMENTO DO FUNGO *Metarhizium robertsii* SOB CAMPO MAGNÉTICO E CAMPO ELÉTRICO ALTERA TOLERÂNCIA A ESTRESSES DE CONÍDIOS”**

Houve alteração do Título: sim () não (x):

Autor(es):

Discente: **Alcides Pereira de Brito**

Assinatura: Alcides P. Brito

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Drauzio Eduardo Naretto Rangel**

Assinatura: Drauzio Rangel

Coorientador(a):

Assinatura: _____

Data: 14/04/2022

Campus Itaquera
Rua Carolina Fonseca, 584, Itaquera - São Paulo/SP | 08230-030
Central de Relacionamento com o Aluno - 08007807070
www.ub.edu.br

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus que tem me concedido momentos e oportunidades incríveis dentro do mundo acadêmico e fora dele.

Minha esposa Aline de Jesus que me acompanha em todos os momentos difíceis e felizes.

Minha filha Agnes Jesus Brito que nasceu no meio desse percurso chamado mestrado, em momentos de tristeza me traz muita alegria e esperança para continuar a minha jornada.

Meu amigo Wanderson Ferreira de Santana que já não está no plano terreno, mais em vida sempre confiou em mim e depositou amor no meu coração, sempre me incentivou a não parar.

Uma frase para essa etapa da minha vida é do Mario Sergio Cortela, que é a definição de capricho: Capricho é você fazer o seu melhor na condição que você tem em quanto você não tem condições de fazer melhor ainda.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer ao meu Professor Dr. Drauzio Eduardo Naretto Rangel por ter me auxiliado durante esse caminho no Mestrado.

A Universidade Brasil Por ter aberto as portas para que eu tenha acesso ao conhecimento e toda uma estrutura.

A CAPES por ter me proporcionado uma bolsa, assim tendo condições para continuar no mestrado e na vida acadêmica.

RESUMO

Pouco é conhecido sobre os efeitos fenotípicos causados pelo campo magnético e campo elétrico sobre o crescimento micelial de fungos e na tolerância de conídios a diferentes condições de estresse. Neste estudo, conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium robertsii* foram produzidos em meio de batata, dextrose, ágar (PDA = controle), sob estresse nutritivo em meio mínimo (MM), e no meio PDA em condições de campo magnético (CM) e campo elétrico (CE). A tolerância dos conídios produzidos sob MM, PDA (controle), CM e CE foram avaliados com relação à radiação UV-B, calor e estresse osmótico. Os resultados fenotípicos sobre a tolerância as diferentes condições de estresse mostraram informações importantes a respeito dos efeitos do campo magnético e campo elétrico durante o crescimento micelial sobre a tolerância a estresses de conídios de patógenos de insetos. Foi constatado que o fungo que cresceu no meio PDA sob CM e CE são aparentemente iguais ao fungo que cresceu no meio PDA tratamento controle, mas os três tratamentos produziram mais conídios que o fungo produzido no MM. Aparentemente conídios do fungo *M. robertsii* produzidos sob campo magnético e campo elétrico foram mais tolerantes ao estresse térmico e estresse pela radiação UV-B, mas não pelo estresse osmótico. Entretanto, o fungo produzido sob campo magnético e campo elétrico foram menos tolerantes que o fungo produzido no meio mínimo que causa um estresse nutritivo.

Palavras-chave: Fisiologia de fungos. Campo magnético. Tolerância a estresses, radiação UV-B. Calor. Estresse oxidativo. Estresse osmótico.

ABSTRACT

Little is known about the phenotypic effects caused by magnetic and electric fields on fungal mycelial growth and on conidial tolerance to different stress conditions. In this study, conidia of the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* were produced on potato, dextrose, agar medium (PDA = control), under nutritional stress on minimal medium, and on PDA medium in a magnetic field and an electric field. The tolerance of conidia produced on minimal medium, PDA (control), magnetic field, and electric field were evaluated in relation to UV-B radiation, heat, and osmotic stress. The phenotypic results on the tolerance to different stress conditions provided important information about the effects of the magnetic and electric fields during mycelial growth on the conidial stress tolerance of insect pathogens. The primary hypothesis is that exposure to a magnetic field during mycelial growth increases conidia tolerance to one or more environmental stresses in fungi. Apparently, the fungus grown on the PDA medium in magnetic and electric fields were the same as the fungus grown on the control PDA medium; however, the three treatments produced more conidia than the fungus produced on the minimal medium. On the one hand, *M. robertsii* conidia produced in magnetic and electric fields were more tolerant to heat stress and UV-B radiation stress, but not to osmotic stress. On the other hand, the fungus produced in magnetic and electric fields were less tolerant than the fungus produced on the minimal medium that causes nutritional stress.

Keywords: Fungal physiology. Magnetic field. Stress tolerance. UV-B radiation. Heat. Oxidative stress. Osmotic stress..

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

O fungo patogênico de insetos *Metarhizium robertsii* foi inoculado em condições normais no Batata Dextrose Agar (BDA) que é o controle, Meio mínimo (MM) que é um estresse nutritivo, Campo Magnético (CM) e campo elétrico (CE) após 14 dias de crescimento foram submetidos ao estresse osmótico com cloreto de potássio, ao calor e à radiação UV-B. Com o experimento foi possível constatar que os fungos que cresceram no CM e no CE de forma semelhante aos fungos que cresceram no controle no meio BDA; entretanto, o crescimento foi menor quando o fungo foi inoculado no meio mínimo. Aparentemente o fungo *M. robertsii* produzido sob campo magnético e campo elétrico foram mais tolerantes ao estresse térmico e estresse pela radiação UV-B, mas não pelo estresse osmótico. Entretanto, o fungo produzido sob campo magnético e campo elétrico foram menos tolerantes que o fungo produzido no meio mínimo que causa um estresse nutritivo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de polo magnético: dois polos opostos, norte (+) e sul (-)..	15
Figura 2. Campo elétrico em volta de uma carga positiva e negativa.....	17
Figura 3 - Linhas de campo magnético Bobina de Helmholtz.....	21
Figura 4 - Bobina de Helmholtz	22
Figura 5 - Sistema de placas paralelas para geração de campo elétrico.....	23
Figura 6: Estresse Osmótico.....	28
Figura 7 : Estresse Térmico.....	29
Figura 8: Estresse por RADIAÇÃO UV-B.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1. FUNGOS ENTOMOPATOGENÉTICOS	13
3.2. CAMPO MAGNÉTICO.....	14
3.3. CAMPO ELÉTRICO	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 FUNGOS ENTOMOPATOGENÉTICOS	20
4.2. EQUIPAMENTO PARA EXPOSIÇÃO AO CAMPO MAGNÉTICO	20
4.3 EQUIPAMENTO PARA EXPOSIÇÃO AO CAMPO ELÉTRICO UNIFORME	23
4.4. CAMPO MAGNÉTICO E CAMPO ELÉTRICO INDUZ ALTERAÇÕES DE TOLERÂNCIA À ESTRESSES.....	24
4.4.1. RADIAÇÃO UV-B	24
4.4.2. ESTRESSE OSMÓTICO	25
4.4.3. TOLERÂNCIA AO CALOR	25
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	28
7 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	36
ANEXO I - DADOS ANÁLISE ESTRESSE OSMÓTICO	37
ANEXO II - DADOS ANÁLISE ESTRESSE TÉRMICO	51
ANEXO III - DADOS ANÁLISE ESTRESSE UV	60

1 INTRODUÇÃO

Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* foram os primeiros patógenos de insetos descobertos. Sua utilização no controle biológico de insetos tem ocorrido há quase 200 anos. Agostino Bassi demonstrou a patogenicidade de *Beauveria bassiana* para o bicho-da-seda em 1834 e Ilya Metchnikoff descobriu o gênero *Metarhizium* causando mortalidade em insetos *Anisoplia austríaca* infectados na Ucrânia em 1879. O fungo foi nomeado inicialmente *Entomophthora anisopliae* com base no gênero de seu hospedeiro e renomeado posteriormente, como *Isaria destructor*. Em 1883, Sorokin classificou-o como *Metarhizium anisopliae* (ROBERTS; St. LEGER, 2004).

O processo infeccioso de fungos patógenos de insetos realiza-se pela adesão dos conídios à cutícula do hospedeiro. Acontece então a germinação, seguida da diferenciação das extremidades das hifas numa estrutura especializada na penetração chamada de apressório. A penetração de conídios é conseguida pela pressão mecânica e degradação enzimática, determinando a patogenicidade fúngica. Após tal processo, o fungo inicia a etapa de colonização, o crescimento de hifas internas, ocasionando assim a morte do hospedeiro. O fungo em condições de alta umidade desenvolve crescimento saprófito (ROBERTS; St. LEGER, 2004)

Fungos usados para o controle de insetos são sujeitos a uma variedade de insultos físicos e químicos do meio ambiente, coletivamente referido a estresses. A resposta de fungos entomopatogênicos ao estresse pode ser devido a debilitações de crescimento e metabolismo e é importante entender a fisiologia das respostas ao estresse para aliviar as influências detrimenais ao aplicar o fungo no campo para controle de insetos.

O crescimento de fungos sob algumas condições ambientais adversas pode alterar a virulência e tolerância a estresses (RANGEL et al., 2008a). Por exemplo, conídios de *M. robertsii* produzidos sob iluminação são mais tolerantes a estresses e mais virulentos que conídios produzidos no escuro (DIAS et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2018; RANGEL et al., 2015b). Portanto, como a luz é um tipo de radiação eletromagnética este estudo foi realizado com o patógeno de inseto *Metarhizium robertsii* crescidos sob campo magnético e campo elétrico e foi avaliado a tolerância dos conídios produzidos sob estas condições de diferentes estresses, como radiação UV-B, estresse osmótico causado pelo KCL e calor.

2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos do campo magnético e campo elétrico no fungo entomopatogênico *Metarhizium robertsii*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar os fenótipos de tolerância de conídios produzidos sob efeito do campo magnético e campo elétrico às condições de estresse osmótico (cloreto de potássio) no fungo *Metarhizium robertsii*.
- Estudar os fenótipos de tolerância de conídios produzidos sob efeito do campo magnético e campo elétrico às condições de estresse térmico no fungo *Metarhizium robertsii*.
- Estudar os fenótipos de tolerância de conídios produzidos sob efeito do campo magnético e campo elétrico às condições de radiação ultravioleta no fungo *Metarhizium robertsii*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1. FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Os fungos entomopatogênicos são de extrema importância no controle biológico de pragas, devido a sua capacidade de infectar o inseto em diversas fases de seu desenvolvimento. Percebe-se que os fungos entomopatogênicos são utilizados como uma alternativa de baixo custo e de grande eficácia no combate de insetos prejudiciais a lavouras. Tal fato justifica-se pela praticidade com que estes fungos são aplicados, evitando-se assim o uso de substâncias tóxicas. Estes fungos, coletados em insetos mortos e isolados podem ser utilizados tanto sozinhos, mas também em conjunto com inseticidas naturais de origem vegetal; ou variedades de plantas resistentes aos insetos (LOURENÇÃO et al., 1993).

Os fungos entomopatogênicos são essenciais para o controle biológico aplicado como alternativa aos inseticidas químicos em vários lugares do mundo. Quando utilizado como micoinseticidas, estes fungos estão expostos a diversos tipos de situações de estresse ambiental, como radiação ultravioleta (RANGEL et al., 2015a), calor solar (RANGEL et al., 2010; SOUZA et al., 2014), estresses osmóticos e nutritivos (RANGEL et al., 2008) e agentes oxidantes (AZEVEDO et al., 2014).

A descoberta e o interesse em fungos entomopatogênicos começaram com a criação de grandes quantidades de insetos. Os primeiros relatos de tais fungos foram *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, que causa a doença do bicho-da-seda (LOURENÇÃO et al., 1993).

Os dois fungos acima são atualmente reconhecidos como as espécies mais conhecidas de fungos entomopatogênicos. Há mais de 700 espécies de fungos entomopatogênicos de 100 gêneros que foram isolados do solo e de cadáveres de insetos até o momento. Os fungos são geralmente conhecidos por serem inofensivos para o homem e organismos não-alvo e têm sido estudados como agentes de controle biológico para pragas de insetos, porque eles não afetam negativamente o meio ambiente. O modo de ação dos fungos entomopatogênicos é dividido na fixação de conídios, germinação, penetração, crescimento e geração de conídios infecciosos secundários (LOURENÇÃO et al., 1993).

Os fungos estão presentes em vários ecossistemas, sendo responsáveis pela ciclagem de nutrientes, importantes simbioses e parasitismo de outros seres vivos. Para serem bem-sucedidos no ambiente, precisam responder a diversos estresses físicos, químicos e biológicos, muitas vezes alterando algum aspecto de sua fisiologia em adaptação (DIAS et al., 2018; DIAS et al., 2020; RANGEL, 2011; RANGEL et al., 2015a; RANGEL et al., 2008b; RANGEL et al., 2015b; RANGEL et al., 2018; RANGEL).

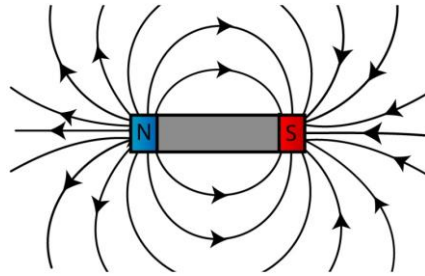
O uso de fungos entomopatogênicos no controle biológico não depende apenas da seleção de linhagens com alta virulência contra o hospedeiro alvo, mas também em sua tolerância a fatores abióticos ambientais, como altas temperaturas, baixa umidade relativa e radiação ultravioleta solar (RANGEL et al. 2005). Na verdade, essas condições podem limitar a eficácia de agentes de controle biológico de insetos, retardando ou impedindo a germinação de conídios no inseto (RANGEL et al. 2005).

3.2. CAMPO MAGNÉTICO

Um campo magnético (Figura 1) é um campo vetorial que descreve a influência magnética de correntes elétricas e materiais magnetizados. Os efeitos dos campos magnéticos são mais facilmente encontrados com ímãs permanentes próximos, que puxam materiais magnéticos (como o ferro) e atraem ou repelem outros ímãs. Os campos magnéticos envolvem e são criados por material magnetizado e por cargas elétricas em movimento (correntes elétricas), como aquelas usadas em eletroímãs. Os campos magnéticos exercem forças sobre cargas elétricas e torques próximos nos ímãs próximos. Além disso, um campo magnético que varia com a localização exerce uma força sobre os materiais magnéticos. Tanto a força quanto a direção de um campo magnético variam com a localização. Como tal, é um exemplo de um campo vetorial (PURCELL; MORIN, 2013).

O campo geomagnético da Terra é formado pelo movimento de um líquido ferroso no núcleo do planeta, o campo magnético gerado flui ao redor da Terra e protege sua superfície de raios solares nocivos (BROWN et al., 2018).

Figura 1. Modelo de pólo magnético: dois pólos opostos, norte (+) e sul (-)



Fonte: <https://www.imaeneodimio.com.br/fisica/>

Assim como outros fatores físicos, tais como a luz e o calor, o magnetismo da Terra é percebido por vários seres vivos. Como mostrado na literatura animais de diferentes classes são capazes de usar o campo geomagnético como uma bússola, migrando para locais previamente “registrados” (assinatura magnética) como um ponto de referência (BROTHERS; LOHMANN, 2015; PINZON-RODRIGUEZ et al., 2018; PUTMAN et al., 2014).

Além disso, bactérias magnetotáticas possuem uma concentração maior de ferro no citoplasma (ou nanocristais de óxido de ferro), fornecendo maior sensibilidade ao campo geomagnético sendo útil na busca por locais mais propícios ao seu desenvolvimento (BLAKEMORE, 1975; ZAHN et al., 2017).

Mas, o campo magnético durante o crescimento de *Escherichia coli* pode danificar a superfície celular e reduzir a quantidade de CFU (unidades formadoras de colônia), quando exposta por 30 minutos a uma certa densidade de fluxo magnético (JI et al., 2009).

As alterações do campo magnético sob as plantas também é alvo de pesquisa de muitos laboratórios. O campo magnético afeta o crescimento, produção de folhas, germinação de sementes, crescimento de raízes e produção de frutos (GALLAND; PAZUR, 2005; MAFFEI, 2014).

Com relação ao campo magnético, alguns trabalhos também observaram seu efeito sobre os fungos. Na proliferação (FIEDLER et al., 1995; MEHEDINTU; BERG, 1997; NOVAK et al., 2007), produção de ATP (ALBERTINI et al., 2003; MEHEDINTU; BERG, 1997) e aumento da produção de gás CO₂ (MOTTA et al., 2001; SCHAARSCHMIDT et al., 1974) da levedura de interesse industrial *Saccharomyces cerevisiae*. Enquanto o efeito de alguns antifúngicos em *Candida*

albicans foi muito maior quando usados *in vitro*, junto ao campo magnético (NOVICKIJ et al., 2014).

O campo magnético também afeta o crescimento (ALBERTINI et al., 2003; MATEESCU et al., 2011; NAGY; FISCHL, 2004; RUŽIČ et al., 1997), a germinação (ALBERTINI et al., 2003; BROERS et al., 1992; WITTEKINDT et al., 1990), produção de conídios (NAGY; FISCHL, 2004) e aumento da sensibilidade para antifúngicos (NOVICKIJ et al., 2014), em fungos filamentosos como *Aspergillus spp.*, *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, entre outros.

Alguns trabalhos também relatam alterações na expressão gênica e síntese enzimática quando fungos são cultivados sob campo magnético (ALBERTINI et al., 2003; GOODMAN et al., 1994; MANOLIU et al., 2006; POTENZA et al., 2012).

3.3. CAMPO ELÉTRICO

O conceito de campo elétrico foi introduzido por Michael Faraday ainda no século XIX. O campo elétrico age entre dois corpos carregados de uma maneira similar à ação do campo gravitacional entre duas massas, e assim como este, estende-se até o infinito, exibindo contudo uma relação com o inverso do quadrado da distância, de forma que, se a distância aumentar, muito menor será seu efeito; e associado, muito menor será também a interação entre as cargas envolvidas (BROWNE, 2011; PURCELL; MORIN, 2013).

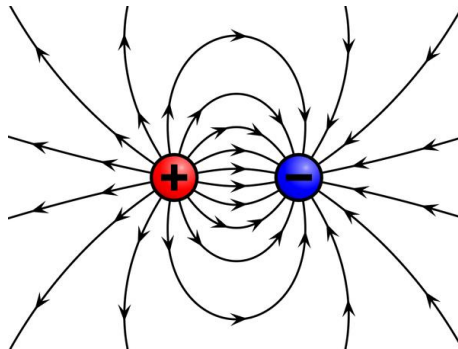
Um campo elétrico (Figura 2) é um campo vetorial envolvendo uma carga elétrica que exerce força sobre outras cargas, atraindo-as ou repelindo-as (PURCELL; MORIN, 2013).

Matematicamente o campo elétrico é um campo vetorial que associa a cada ponto no espaço a força, chamada de força de Coulomb, que seria experienciada por unidade de carga, por uma carga de teste infinitesimal naquele ponto (BROWNE, 2011).

As unidades do campo elétrico no sistema SI são newtons per coulomb (N/C), ou volts por metro (V/m). Os campos elétricos são importantes em muitas áreas da física e são explorados praticamente em tecnologia elétrica. Em escala atômica, o campo elétrico é responsável pela força atrativa entre o núcleo atômico e os elétrons que mantêm os átomos juntos e as forças entre os átomos que causam a ligação

química. O campo elétrico e o campo magnético juntos formam a força eletromagnética, uma das quatro forças fundamentais da natureza (PURCELL; MORIN, 2013).

Figura 2. Campo elétrico em volta de uma carga positiva (vermelha) e negativa (azul)



Fonte: <https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/fisica/campo-eletrico>

3.4. RADIAÇÃO UV-B

A Terra é constantemente irradiada por fótons que chegam do sol. Desta forma entende-se que a luz solar não é composta apenas de luz visível, mas contém um espectro contínuo de radiação eletromagnética. Esta radiação eletromagnética é categorizada em diferentes bandas espectrais que são classificadas de acordo com as faixas de comprimentos de onda.

Sendo assim, conclui-se que a luz solar é uma condição ambiental essencial que define a reação de organismos vivos. Nestas condições, e entendendo-se que existem várias reações causadas pela luz no ciclo de vida dos fungos, as examinadas frequentemente estão associadas a processos essenciais, como desenvolvimento, crescimento, metabolismo, reprodução e ritmos circadianos (DIAS et al. 2018).

3.5. ESTRESSE TÉRMICO

As altas temperaturas afetam a eficiência dos fungos entomopatogênicos como agente de controle de pragas, impedindo a germinação de fungos, crescimento e virulência. A vida útil de formulações à base de conídios também pode ser reduzida por fatores relacionados a temperatura em que estão sujeitos. (RANGEL et al. 2005)

A temperatura baixa não mata os conídios dos fungos entomopatogênicos, mas interrompe ou atrasa os conídios. Os hifomicetos entomopatogênicos desenvolveram mecanismos moleculares complexos para se protegerem de temperaturas ambientais extremas. Desta forma, muitos genes relacionados ao estresse e metabolismo vias foram identificadas em situações onde existe uma resposta aos estímulos ambientais. Uma vez que na célula de fungos, a membrana celular é a primeira linha de defesa contra ambientes agressivos, a parede celular, e componentes principais, os metabolismos, genes relacionados demonstraram desempenhar um papel crítico neste processo. (RANGEL et al. 2005).

Muitos fungos são expostos à radiação solar e altas temperaturas durante parte do seu ciclo de vida. Os efeitos da radiação solar e do calor levaram os fungos a desenvolver uma série de sistemas de defesa. A base genética da tolerância à radiação solar em células é multifatorial e envolve:

- Pigmentos, como melaninas, localizados na parede celular, e absorção de UV não cromogênica endógena ou extracelular metabólitos que atuam como protetores solares (RANGEL et al. 2006a);
- Enzimas, como catalases, SODs e peroxidases e antioxidantes não enzimáticos, como carotenóides e glutathione reduzida que pode inativar o tóxico espécies reativas de oxigênio induzidas pela radiação UV (RANGEL et al. 2006a);
- Metabólitos celulares, como polióis que atenuam os efeitos da radiação (RANGEL et al. 2008, 2005a, b, c);
- Sistemas de reparo de DNA capazes de reparação dos danos induzidos pela radiação. Entre os vários Mecanismos de reparo de DNA descritos em fungos, nucleotídeos O reparo por excisão (NER) e a fotorreativação (PR) são importantes na reparação de danos induzidos por UV (RANGEL et al., 2011).

3.6. ESTRESSE OSMÓTICO

O estresse osmótico, evitando alterações de volume induzidas pela pressão osmótica interna. Esse aumento na osmolaridade interna da levedura em fermentação é devido ao acúmulo de vários metabólitos e íons, principalmente K^+ .

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FUNGOS ENTOMOPATOGENICOS

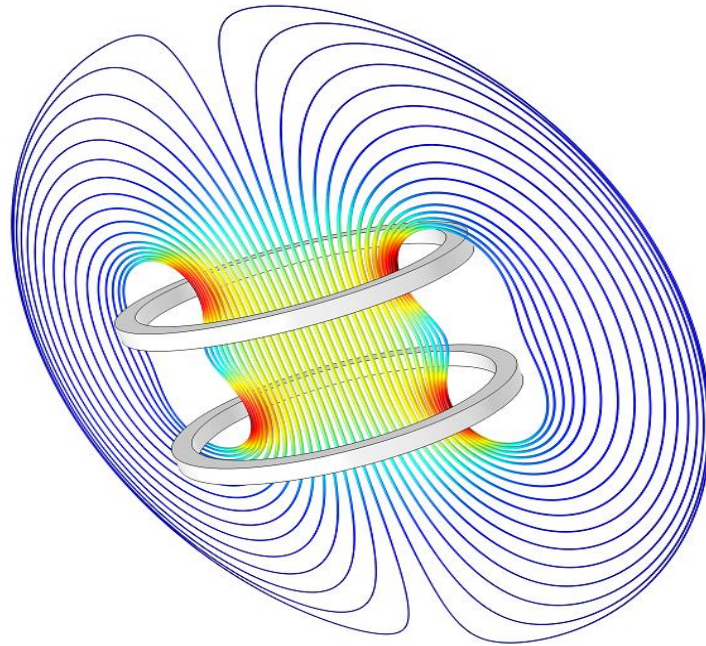
Foi utilizado o fungo *Metarhizium robertsii* (ARSEF 2575). Este isolado foi doado pela USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures (ARSEF; Robert W. Holley Center for Agriculture Health, Ithaca, NY, USA). Os fungos foram cultivados em meio *Batata-dextrose-ágar* (Difco).

4.2. EQUIPAMENTO PARA EXPOSIÇÃO AO CAMPO MAGNÉTICO

Foi utilizada uma bobina de Helmholtz nos experimentos sob campo magnético. A bobina de Helmholtz foi uma das várias ferramentas criadas por H. L. F. von Helmholtz (1821-1894) para a realização de suas experiências na área da biologia. Inicialmente, este sistema de bobinas foi uma adaptação criada por Helmholtz para a realização de experiências em tecidos musculares. Somente depois de muitos anos que esta ferramenta passou a ser usada para calibração de sensores e teste de imunidade eletromagnética.

Nessa região o campo é bem definido e o vetor campo magnético possui a direção do eixo que passa pelo centro das bobinas. A uniformidade do campo e o tamanho de seu volume estão diretamente relacionados com a distância entre as bobinas e o raio das bobinas, respectivamente. Adicionalmente, o campo magnético tem dependência direta com a corrente contínua aplicada na bobina (figura 3).

Figura 3 - Linhas de campo magnético entre as duas espiras constituintes da bobina de Helmholtz



Fonte: COMSOL (2017)

Para os experimentos com magnetismo é utilizado uma bobina de Helmholtz com 140 espiras e raio da bobina de 0,22 m, permitindo a geração de campos magnéticos de até 30 mT (Figura 4). O nome bobina de Helmholtz é dado ao dispositivo composto por duas bobinas iguais posicionadas em paralelo e concêntricas de forma que o campo magnético gerado pelo conjunto possui um perfil uniforme em torno do centro. Para geração do campo magnético foi utilizada uma fonte de corrente da marca HP possibilitando fornecer valores de até 10 A. Para o experimento foi utilizado 2 A , uma vez que a bobina não possuía refrigeração e foi mantida ligada continuamente por 14 dias.

Figura 4 - Bobina de Helmholtz com porta substrato de alumínio disposto em seu eixo central



Fonte: Prof. Drauzio Eduardo Naretto Rangel

A bobina Helmholtz permite produzir uma região de campo magnético quase uniforme entre as duas bobinas circulares planas.

O campo magnético na Bobina de Helmholtz pode ser gerado usando uma Fonte de Corrente Alternada (CA) ou Corrente Contínua (CC). A corrente contínua (CC, ou DC do inglês Direct Current) é o fluxo ordenado de elétrons sempre em uma mesma direção. Esse tipo de corrente é gerado por baterias de automóveis ou pequenas baterias, pilhas e fontes de alimentação de várias tecnologias, que retificam a corrente alternada para produzir corrente contínua. A corrente alternada (CA ou AC - do inglês Alternating Current), por sua vez, é uma corrente elétrica cujo sentido varia dependendo do tempo. Esta é a corrente usada nas residências e indústrias por exemplo. A forma de onda usual em um circuito de potência CA é senoidal por ser a forma de transmissão de energia mais eficiente.

A maioria das Bobinas de Helmholtz usadas para experiências científicas geram campos magnéticos estáticos (constantes). Campos magnéticos estáticos da ordem de 0,1, 1, 1,5 e 10 mT (Militesla) são gerados em uma bobina de 280 voltas e raio de 250 mm usando uma fonte de corrente contínua CC com diferença de

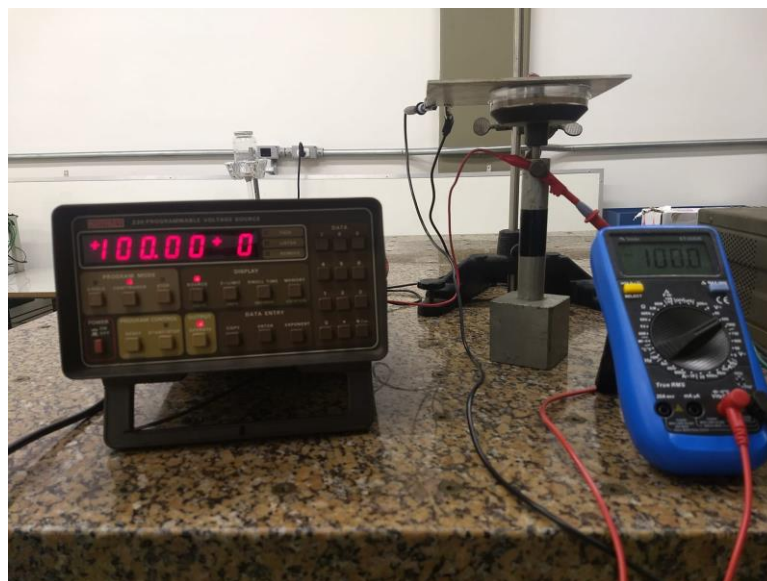
potencial (ddp) de 0 – 50 V e corrente de 0 – 10 A (50/60 Hz) (Galland and Pazur, 2005).

Neste equipamento a placa de Petri inoculada com o fungo foi colocada dentro do solenóide no suporte. A Bobina de Helmholtz será mantida dentro da incubadora à 26° C, usando a corrente contínua para gerar um campo magnético constante.

4.3 EQUIPAMENTO PARA EXPOSIÇÃO AO CAMPO ELÉTRICO UNIFORME

Para os experimentos em ambiente contendo um campo elétrico uniforme, foram utilizadas duas placas metálicas (alumínio) paralelas separadas por uma distância, $d = 10$ mm, onde uma das placas foi polarizada por uma fonte de corrente contínua (marca Keithley, fornecendo tensão de 10 – 100 V) e a outra foi aterrada. Através da aplicação de uma diferença de potencial (ddp) entre os eletrodos foi possível gerar um campo elétrico uniforme e que não varia no tempo. No experimento realizado foi gerado um campo elétrico de 1000 V/cm.

Figura 5 - Sistema de placas paralelas para geração de campo elétrico



Fonte: Prof. Drauzio Eduardo Naretto Rangel

Para a medida do campo elétrico, foi utilizada a medida da ddp em volts, mensurada por um voltímetro, e da distância entre os eletrodos. O campo elétrico E é dado pela equação: $E = ddp/d$ (V/cm).

Foi utilizado uma dose de campo elétrico uniforme da ordem de 0 (controle) e 1000 V/cm (volt por centímetro). Em todos os experimentos foram utilizados este parâmetro de eletricidade. Os fungos foram crescidos sob estas condições e estudados a germinação e crescimento descritos em Rangel et al. (2010b).

4.4. CAMPO MAGNÉTICO E CAMPO ELÉTRICO INDUZ ALTERAÇÕES DE TOLERÂNCIA À ESTRESSES

Conídios do fungo *Metarhizium robertsii* foram produzidos sob condições normais (controle) ou sob campo magnético, no escuro a 26° C. Após a produção de conídios, será avaliado a porcentagem de germinação desses nas seguintes condições de estresse:

4.4.1. RADIAÇÃO UV-B

Após o preparo, as suspensões foram utilizadas imediatamente nos experimentos de exposição à radiação UV-B (DIAS et al., 2018; RANGEL et al., 2008b)

A suspensão (40 ml) de conídios produzidos sob campo magnético foram inoculados no centro do meio BDA (placas de poliestireno 35×15 mm) com 0,002% Benomyl com 25% de ingrediente ativo (Hi-Yield Chemical Company, Bonham, TX) (MILNER et al., 1991).

O fungicida Benomyl tem sido utilizado em inúmeros estudos para reduzir a velocidade da germinação, facilitando a contagem da germinação após 24h (controle) e 48h (exposto a radiação UV) (RANGEL et al., 2004).

Para o controle, as placas de Petri contendo os conídios (procedentes da cultura controle ou da cultura submetida ao campo magnético) inoculados em BDA mais Benomyl foram envolvidas em papel alumínio e em seguida foram acondicionados na câmara de UV (DIAS et al., 2018).

Após a exposição à radiação UV, as placas serão incubadas por 48h no escuro à 26° C. Um total de 300 conídios por placa serão avaliados e a porcentagem de germinação relativa será calculada (RANGEL et al., 2005).

A avaliação será realizada em triplicata utilizando-se três lotes de diferentes culturas.

4.4.2. ESTRESSE OSMÓTICO

A germinação dos conídios produzidos sob condições normais (controle) ou sob campo magnético será ensaiada em meio BDA (controle) ou meio BDA em placas de Petri de poliestireno (35×15 mm) suplementado com cloreto de potássio a 0, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7. 1.8. 1.9 M (concentração final) (Araújo et al., 2020). Pelo menos 300 conídios por placa serão avaliados após 24h e a porcentagem de germinação será calculada. Cada tratamento será repetido três vezes com um lote fresco de conídios produzidos para cada repetição.

4.4.3. TOLERÂNCIA AO CALOR

Para o *Metarhizium robertsii*, tubos de ensaio contendo uma suspensão de conídios serão colocados em banho térmico por 0 (controle), 1, 2, 3, e 4 h à 45° C. Após a exposição ao calor, 40 µl da suspensão será inoculada no centro de placas de Petri (35 x 15 mm) com meio BDA suplementado com 0.003% Benomyl, e a germinação de conídios serão avaliados após 24 horas (controle) ou 48 h (conídios expostos ao calor). A porcentagem de germinação será calculada de acordo com os itens anteriores (SOUZA et al., 2014).

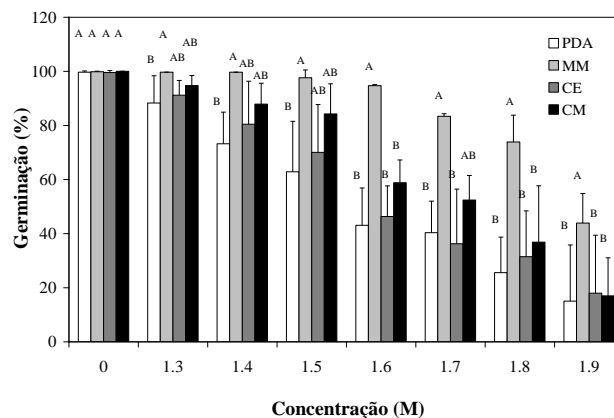
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para todos os fatores os resultados serão avaliados através da análise estatística ANOVA. E as comparações entre os tratamentos de cada fator serão realizadas utilizando o método de TUKEY com $\alpha = 0,05$. Os cálculos serão feitos usando a versão mais atualizada do software R .

5 RESULTADOS

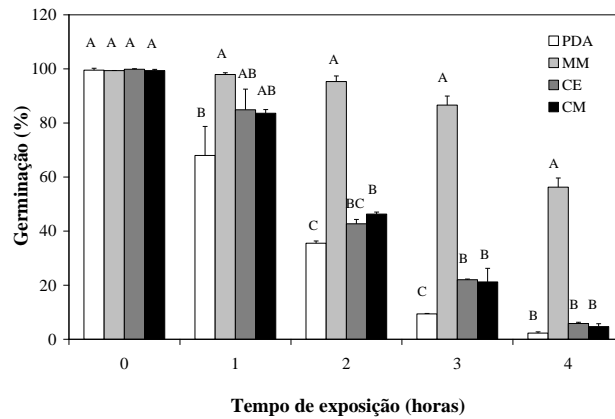
Conídios de *M. robertsii* produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico foram similarmente tolerantes para o estresse osmótico que o fungo produzido no meio BDA no tratamento controle (Figura 6). Entretanto, conídios produzidos no meio mínimo foram mais tolerantes que os conídios produzidos no meio PDA ou no meio PDA sob campo magnético ou campo elétrico (Figura 6).

Figura 6: Estresse Osmótico (Dados Anexo I)



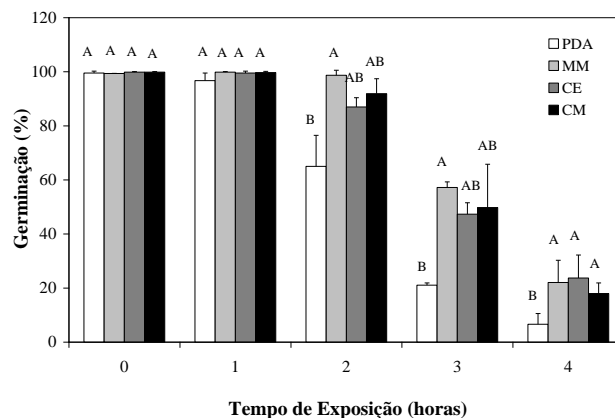
Fonte: Experimento do autor

Conídios de *M. robertsii* produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico foram mais tolerantes ao calor que conídios produzidos no meio BDA no tratamento controle, entretanto, este aumento de tolerância foi observado apenas após 3 horas de exposição à temperatura de 45 °C (Figura 7). Quando expostos apenas a 1 e 2 horas à temperatura de 45 °C os conídios produzidos sob campo elétrico e campo magnético tiveram suas tolerâncias similares aos conídios produzidos no tratamento controle no meio PDA apenas (Figura 7). Conídios produzidos no meio mínimo foram mais tolerantes que conídios produzidos no meio PDA (controle) ou no meio PDA sob a influência dos campos magnéticos e elétricos (Figura 7)

Figura 7 : Estresse Térmico (Dados Anexo II)

Fonte: Experimento do autor

Conídios produzidos sob o CM e CE foram estatisticamente iguais em tolerância a radiação UV-B que os conídios produzidos no meio mínimo somente após 4 h de irradiação UV-B (Figura 8) e com maior tolerância do que os conídios produzidos no meio BDA apenas. Entretanto, a tolerância a radiação UV-B de conídios produzidos sob CM e CE foram estatisticamente iguais ao controle (conídios produzidos no meio PDA) após 2 e 3 horas de radiação UV-B.

Figura 8: Estresse por RADIAÇÃO UV-B (Dados Anexo III)

Fonte: Experimento do autor

6 DISCUSSÃO

Os fungos se protegem contra condições de estresse ambiental através de vários eventos metabólicos como: aumento de ácidos graxos saturados, evitando a desintegração das membranas celulares em temperaturas mais altas; produção de altos níveis de melanina, carotenoides ou outros pigmentos que conferem foto proteção; formação das enzimas antioxidantes; indução de reparo do DNA; aumento nos níveis de trealose e manitol; acúmulo de proteínas de choque térmico (RANGEL, 2011)

Microrganismos expostos a um tipo de estresse geralmente desenvolvem tolerância a outro tipo de estresse, fenômeno denominado proteção cruzada (cross-protection) (RANGEL, 2011). Um bom exemplo deste fenômeno é a acumulação de trealose e proteínas de choque térmico, que conferem maior tolerância ao calor. Acumulação de trealose e manitol são respostas a condições de estresse ambiental que aumentam a tolerância de fungos à radiação solar UV-B e ao calor (RANGEL, 2011). Por exemplo, quando o fungo *Metarhizium robertsii* é crescido sob estresse nutritivo, osmótico ou estresse térmico o fungo produz conídios mais tolerantes a outros tipos de estresses por exemplo calor e radiação UV-B (Rangel et al., 2006; Rangel et al., 2008).

Na física, a radiação eletromagnética consiste em ondas do campo eletromagnético, propagando-se pelo espaço, transportando energia eletromagnética radiante. Inclui ondas de rádio, microondas, infravermelho, luz (visível), ultravioleta, raios X e raios gama. Todas essas ondas fazem parte do espectro eletromagnético. Classicamente, a radiação eletromagnética consiste em ondas eletromagnéticas, que são oscilações sincronizadas de campos elétricos e magnéticos (Purcell and Morin, 2013)

Nós já sabemos que a luz visível induz aumento de tolerância no fungo *Metarhizium robertsii* (Dias et al., 2020; Dias et al., 2021a; Dias et al., 2021b; Rangel et al., 2015), entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos das radiações de campos magnéticos e elétricos em fungos. Por exemplo, um campo estático fraco (400 μ Tesla, ou seja, cerca de 8 vezes o campo geomagnético) provoca, na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, uma inibição de 30% da formação de brotação. O

Crescimento colonial dos fungos *Alternaria alternata* e *Curvularia inaequalis* diminuiu apenas 10% durante a exposição a campos magnéticos fracos entre 0,1 e 1 mT (Pazur et al., 2007). Os campos magnéticos podem exercer efeitos substanciais nas taxas metabólicas dos organismos. Por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae*, quando exposto a um campo AC (0,5 μ T, 100-200 Hz), responderam com uma redução de 30% na respiração (Pazur et al., 2007). Mas nenhuma alteração na expressão gênica diferencial (análise de microarray) ou perfil de proteína (análise de gel 2-D) foi obtida com *Saccharomyces cerevisiae* exposta a campos magnéticos AC (10 – 300 mT, 50 Hz) (Pazur et al., 2007). Por outro lado, nada se sabe sobre o comportamento do fungo *Metarhizium robertsii* crescido sob o campo elétrico e campo magnético. Neste trabalho foi descoberto que o crescimento do fungo *Metarhizium robertsii* tanto no campo magnético como no campo elétrico induz aumento de tolerância de conídios para o calor e para a radiação UV-B. Entretanto, crescimento no campo magnético como no campo elétrico não induziu aumento ao estresse osmótico.

7 CONCLUSÃO

1) Conídios de *M. robertsii* produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico foram similarmente tolerantes para o estresse osmótico que o fungo produzido no meio BDA no tratamento controle.

2) Conídios de *M. robertsii* produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico foram mais tolerantes ao calor que conídios produzidos no meio BDA no tratamento controle

3) Conídios de *M. robertsii* produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico foram mais tolerantes a radiação UV-B que conídios produzidos no meio BDA no tratamento controle

4) Conídios produzidos sob estresse nutritivo (MM) foram mais tolerantes para o estresse osmótico, calor e radiação UV-B do que conídios produzidos em meio BDA sob campo magnético e campo elétrico ou conídios produzidos no meio BDA no tratamento controle.

REFERÊNCIAS

- ALBERTINI, M.C., ACCORSI, A., CITTERIO, B., BURATTINI, S., PIACENTINI, M.P., UGUCCIONI, F., PIATTI, E., 2003. Morphological and biochemical modifications induced by a static magnetic field on *Fusarium culmorum*. *Biochimie* 85, 963-970. 10.1016/j.biochi.2003.09.017.
- ARAÚJO, C.A.S., DIAS, L.P., FERREIRA, P.C., MITTMANN, J., PUPIN, B., BRANCINI, G.T.P., BRAGA, G.Ú.L., RANGEL, D.E.N., 2018. Responses of entomopathogenic fungi to the mutagen 4-nitroquinoline 1-oxide. **Fungal Biol-Uk** 122, 621-628. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.03.007>.
- ARAÚJO, C.A.S., FERREIRA, P.C., PUPIN, B., DIAS, L.P., AVALOS, J., EDWARDS, J., HALLSWORTH, J.E., RANGEL, D.E.N., 2020. Osmotolerance as a determinant of microbial ecology: A study of phylogenetically diverse fungi. **Fungal Biol** 124, 273-288. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.09.001>.
- AZEVEDO, R.F.F., SOUZA, R.K.F., BRAGA, G.U.L., RANGEL, D.E.N., 2014. Responsiveness of entomopathogenic fungi to menadione-induced oxidative stress. **Fungal Biol** 118, 990-995. 10.1016/j.funbio.2014.09.003.
- BLAKEMORE, R., 1975. Magnetotactic bacteria. **Science** 190, 377-379. 10.1126/science.170679.
- BROERS, D., KRAEPELIN, G., LAMPRECHT, I., SCHULZ, O., 1992. *Mycotypha africana* in low-level athermic ELF magnetic fields: Changes in growth parameters. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 342, 281-291. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(92\)85122-J](https://doi.org/10.1016/0022-0728(92)85122-J).
- BROTHERS, J.R., LOHMANN, K.J., 2015. Evidence for geomagnetic imprinting and magnetic navigation in the natal homing of sea turtles. **Curr. Biol.** 25, 392-396. 10.1016/j.cub.2014.12.035.
- BROWN, M., KORTE, M., HOLME, R., WARDINSKI, I., GUNNARSON, S., 2018. Earth's magnetic field is probably not reversing. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 115, 5111-5116. 10.1073/pnas.1722110115.
- BROWNE, M., 2011. **Schaum's Outline of Physics for Engineering and Science**, 2 ed. McGraw-Hill, New York.
- COMSOL. **Beautiful streamlines for magnetic field lines of Helmholtz coils**. Disponível em: <<https://www.comsol.com/forum/thread/134841/beautiful-streamlines-for-magnetic-field-lines-of-helmholtz-coils>>. 2017. Acesso em: 19 fev. 2022.
- DIAS, L.P., ARAÚJO, C.A.S., PUPIN, B., FERREIRA, P.C., BRAGA, G.Ú.L., RANGEL, D.E.N., 2018. The Xenon Test Chamber Q-SUN® for testing realistic tolerances of fungi exposed to simulated full spectrum solar radiation. **Fungal Biol** 122, 592-601. 10.1016/j.funbio.2018.01.003.

- DIAS, L.P., PEDRINI, N., BRAGA, G.U.L., FERREIRA, P.C., PUPIN, B., ARAÚJO, C.A.S., CORROCHANO, L.M., RANGEL, D.E.N., 2020. Outcome of blue, green, red, and white light on *Metarhizium robertsii* during mycelial growth on conidial stress tolerance and gene expression. **Fungal Biol** 124, 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.04.007>.
- DIAS LP, PUPIN B, ROBERTS DW, RANGEL DEN. Low- or high-white light irradiance induces similar conidial stress tolerance in *Metarhizium robertsii*. **Arch Microbiol**. 2021 Dec 27;204(1):83. 10.1007/s00203-021-02730-8.
- DIAS LP, SOUZA RKF, PUPIN B, RANGEL DEN. Conidiation under illumination enhances conidial tolerance of insect-pathogenic fungi to environmental stresses. **Fungal Biol**. 2021 Nov;125(11):891-904. doi: 10.1016/j.funbio.2021.06.003. Epub 2021 Jun 11.
- FIEDLER, U., GRÖBNER, U., BERG, H., 1995. Electrostimulation of yeast proliferation. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics** 38, 423-425. [https://doi.org/10.1016/0302-4598\(95\)01853-7](https://doi.org/10.1016/0302-4598(95)01853-7).
- GALLAND, P., PAZUR, A., 2005. Magnetoreception in plants. **J Plant Res** 118, 371-389. 10.1007/s10265-005-0246-y.
- GOODMAN, R., BLANK, M., LIN, H., DAI, R., KHORKOVA, O., SOO, L., WEISBROT, D., HENDERSON, A., 1994. Increased levels of hsp70 transcripts induced when cells are exposed to low frequency electromagnetic fields. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics** 33, 115-120. [https://doi.org/10.1016/0302-4598\(94\)85002-X](https://doi.org/10.1016/0302-4598(94)85002-X).
- GUBBINS, D., JONES, A.L., FINLAY, C.C., 2006. Fall in Earth's magnetic field is erratic. **Science** 312, 900-902. 10.1126/science.1124855.
- JI, W., HUANG, H., DENG, A., PAN, C., 2009. Effects of static magnetic fields on *Escherichia coli*. **Micron** 40, 894-898. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2009.05.010>.
- LOURENÇÃO, A.L. et al. Controle de *Sitophilus zeamais* em Milho com *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e pirimifos metil. *Ecosistema, Pinhal*, v.18, p.69-74, 1993.
- MAFFEI, M.E., 2014. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. **Front Plant Sci** 5, 445. 10.3389/fpls.2014.00445.
- MANOLIU, A., OPRICA, L., OLTEANU, Z., NEACSU, I., ARTENIE, V., CREANGA, D.E., RUSU, I., BODALE, I., 2006. Peroxidase activity in magnetically exposed cellulolytic fungi. **J Magn Magn Mater** 300, e323-e326. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2005.10.111>.
- MATEESCU, C., BURUNȚEA, N., STANCU, N., 2011. Investigation of *Aspergillus niger* growth and activity in a static magnetic flux density field. **Romanian Biotechnological Letters** 16, 6364-6368.

- MEHEDINTU, M., BERG, H., 1997. Proliferation response of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on electromagnetic field parameters. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics** 43, 67-70. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(96\)05184-7](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(96)05184-7).
- MILNER, R.J., HUPPATZ, R.J., SWARIS, S.C., 1991. A new method for assessment of germination of *Metarhizium* conidia. **J. Invertebr. Pathol.** 57, 121-123.
- MOTTA, M.A., MONTENEGRO, E.J., STAMFORD, T.L., SILVA, A.R., SILVA, F.R., 2001. Changes in *Saccharomyces cerevisiae* development induced by magnetic fields. **Biotechnol Prog** 17, 970-973. bp010076e [pii] 10.1021/bp010076e.
- NAGY, P., FISCHL, G., 2004. Effect of static magnetic field on growth and sporulation of some plant pathogenic fungi. **Bioelectromagnetics** 25, 316-318. 10.1002/bem.20015.
- NOVAK, J., STRASAK, L., FOJT, L., SLANINOVA, I., VETTERL, V., 2007. Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Bioelectrochemistry** 70, 115-121. S1567-5394(06)00035-1 [pii] 10.1016/j.bioelechem.2006.03.029.
- NOVICKIJ, V., GRAINYS, A., SVEDIENE, J., MARKOVSKAJA, S., PASKEVICIUS, A., NOVICKIJ, J., 2014. Microsecond pulsed magnetic field improves efficacy of antifungal agents on pathogenic microorganisms. **Bioelectromagnetics** 35, 347-353. 10.1002/bem.21848.
- OLIVEIRA, A.S., BRAGA, G.U.L., RANGEL, D.E.N., 2018. *Metarhizium robertsii* illuminated during mycelial growth produces conidia with increased germination speed and virulence. **Fungal Biol** 122, 555-562. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.12.009>.
- PAZUR, A., SCHIMEK, C., GALLAND, P. Magnetorecepção em microorganismos e fungos. *cent.eur.j.biol.* 2, 597-659 (2007). <https://doi.org/10.2478/s11535-007-0032-z>
- PINZON-RODRIGUEZ, A., BENSCH, S., MUHEIM, R., 2018. Expression patterns of cryptochrome genes in avian retina suggest involvement of Cry4 in light-dependent magnetoreception. **Journal of The Royal Society Interface** 15, 20180058. doi:10.1098/rsif.2018.0058.
- POTENZA, L., SALTARELLI, R., POLIDORI, E., CECCAROLI, P., AMICUCCI, A., ZEPPA, S., ZAMBONELLI, A., STOCCHI, V., 2012. Effect of 300 mT static and 50 Hz 0.1 mT extremely low frequency magnetic fields on *Tuber borchii* mycelium. **Can J Microbiol** 58, 1174-1182. 10.1139/w2012-093.
- PURCELL, E.M., MORIN, D.J., 2013. Electricity and Magnetism, 3 ed. **Cambridge University Press**, New York.
- PUTMAN, N.F., JENKINS, E.S., MICHIELSENS, C.G.J., NOAKES, D.L.G., 2014. Geomagnetic imprinting predicts spatio-temporal variation in homing migration of pink and sockeye salmon. **Journal of the Royal Society, Interface** 11, 20140542. 10.1098/rsif.2014.0542.

RANGEL, D.E.N., 2011. Stress induced cross-protection against environmental challenges on prokaryotic and eukaryotic microbes. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 27, 1281-1296. 10.1007/s11274-010-0584-3.

RANGEL, D.E.N., ALDER-RANGEL, A., DADACHOVA, E., FINLAY, R.D., KUPIEC, M., DIJKSTERHUIS, J., BRAGA, G.U.L., CORROCHANO, L.M., HALLSWORTH, J.E., 2015a. Fungal stress biology: a preface to the Fungal Stress Responses special edition. **Curr. Gen.** 61, 231-238. 10.1007/s00294-015-0500-3.

RANGEL, D.E.N., ALSTON, D.G., ROBERTS, D.W., 2008a. Effects of physical and nutritional stress conditions during mycelial growth on conidial germination speed, adhesion to host cuticle, and virulence of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus. **Mycol Res** 112, 1355-1361.

RANGEL, D.E.N., ANDERSON, A.J., ROBERTS, D.W., 2006a. Growth of *Metarhizium anisopliae* on non-preferred carbon sources yields conidia with increased UV-B tolerance. **J. Invertebr. Pathol.** 93, 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.05.011>.

RANGEL, D.E.N., ANDERSON, A.J., ROBERTS, D.W., 2008b. Evaluating physical and nutritional stress during mycelial growth as inducers of tolerance to heat and UV-B radiation in *Metarhizium anisopliae* conidia. **Mycol. Res.** 112, 1362-1372. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.04.013>.

RANGEL, D.E.N., BRAGA, G.U.L., ANDERSON, A.J., ROBERTS, D.W., 2005. Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. **J. Invertebr. Pathol.** 88, 116-125. 10.1016/j.jip.2004.11.007.

RANGEL, D.E.N., BRAGA, G.U.L., FERNANDES, É.K.K., KEYSER, C.A., HALLSWORTH, J.E., ROBERTS, D.W., 2015b. Stress tolerance and virulence of insect-pathogenic fungi are determined by environmental conditions during conidial formation. **Curr. Gen.** 61, 383-404. 10.1007/s00294-015-0477-y.

RANGEL, D.E.N., BRAGA, G.U.L., FLINT, S.D., ANDERSON, A.J., ROBERTS, D.W., 2004. Variations in UV-B tolerance and germination speed of *Metarhizium anisopliae* conidia produced on artificial and natural substrates. **Journal of Invertebrate Pathology** 87, 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2004.06.007>.

RANGEL, D.E.N., BUTLER, M.J., TORABINEJAD, J., ANDERSON, A.J., BRAGA, G.U.L., DAY, A.W., ROBERTS, D.W., 2006b. Mutants and isolates of *Metarhizium anisopliae* are diverse in their relationships between conidial pigmentation and stress tolerance. **Journal of Invertebrate Pathology** 93, 170-182. 10.1016/j.jip.2006.06.008.

RANGEL, D.E.N., DETTENMAIER, S.J., FERNANDES, E.K.K., ROBERTS, D.W., 2010a. Susceptibility of *Metarhizium* spp. and other entomopathogenic fungi to iodine-based selective media. **Biocontrol Science and Technology** 20, 375-389.

RANGEL, D.E.N., FERNANDES, E.K.K., ANDERSON, A.J., ROBERTS, D.W., 2012. Culture of *Metarhizium robertsii* on salicylic-acid supplemented medium induces increased conidial thermotolerance. **Fungal Biol** 116, 438-442.

- RANGEL, D.E.N., FERNANDES, E.K.K., BRAGA, G.U.L., ROBERTS, D.W., 2011. Visible light during mycelial growth and conidiation of *Metarhizium robertsii* produces conidia with increased stress tolerance. **FEMS Microbiol. Lett.** 315, 81-86. 10.1111/j.1574-6968.2010.02168.x.
- RANGEL, D.E.N., FERNANDES, E.K.K., DETTENMAIER, S.J., ROBERTS, D.W., 2010b. Thermotolerance of germlings and mycelium of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium* spp. and mycelial recovery after heat stress. **J Basic Microb** 50, 344–350. 10.1002/jobm.200900430.
- RANGEL, D.E.N., FINLAY, R.D., HALLSWORTH, J.E., DADACHOVA, E., GADD, G.M., 2018. Fungal strategies for dealing with environmental and agricultural stress. **Fungal Biol.** 122, 602-612. 10.1016/j.funbio.2018.02.002.
- RANGEL, D.E.N., ROBERTS, D.W., 2018. Possible source of the high UV-B and heat tolerance of *Metarhizium acridum* (isolate ARSEF 324). **J. Invertebr. Pathol.** 157, 32-35. 10.1016/j.jip.2018.07.011.
- ROBERTS DW, ST LEGER RJ. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. **Adv Appl Microbiol.** 2004;54:1-70. 10.1016/S0065-2164(04)54001-7.
- RUŽIČ, R., GOGALA, N., JERMAN, I., 1997. Sinusoidal magnetic fields: Effects on the growth and ergosterol content in mycorrhizal fungi. **Electro- and Magnetobiology** 16, 129-142. 10.3109/15368379709009838.
- SANTOS, M.P., DIAS, L.P., FERREIRA, P.C., PASIN, L.A., RANGEL, D.E.N., 2011. Cold activity and tolerance of the entomopathogenic fungus *Tolypocladium* spp. to UV-B irradiation and heat. **Journal of Invertebrate Pathology** 108, 209-213. 10.1016/j.jip.2011.09.001.
- SCHAARSCHMIDT, B., LAMPRECHT, I., MULLER, K., 1974. Influence of a magnetic field on the UV sensitivity in yeast. **Z Naturforsch C Biosci** 29, 447-448.
- SOUZA, R.K.F., AZEVEDO, R.F.F., LOBO, A.O., RANGEL, D.E.N., 2014. Conidial water affinity is an important characteristic for thermotolerance in entomopathogenic fungi. **Biocontrol Sci and Technol** 24, 448–461. 10.1080/09583157.2013.871223.
- WITTEKINDT, E., BROERS, D., KRAEPELIN, G., LAMPRECHT, I., 1990. Influence of non-thermic AC magnetic fields on spore germination in a dimorphic fungus. **Radiation and Environmental Biophysics** 29, 143-152. 10.1007/bf01210559.
- WITZE, A., 2019. Earth's magnetic field is acting up and geologists don't know why. **Nature** 565, 143-144. 10.1038/d41586-019-00007-1.
- ZAHN, C., KELLER, S., TORO-NAHUEL PAN, M., DORSCHT, P., GROSS, W., LAUMANN, M., GEKLE, S., ZIMMERMANN, W., SCHULER, D., KRESS, H., 2017. Measurement of the magnetic moment of single *Magnetospirillum gryphiswaldense* cells by magnetic tweezers. **Sci Rep** 7, 3558. 10.1038/s41598-017-03756-z.

ZHANG, X., LEGER, R.J.S., FANG, W., 2018. Stress-induced pyruvate accumulation contributes to cross protection in a fungus. **Environ Microbiol** 20, 1158-1169. doi:10.1111/1462-2920.14058.

ANEXOS

ANEXO I - DADOS ANÁLISE ESTRESSE OSMÓTICO

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 0 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

- 1 - PDA
- 2 - MM
- 3 - EF
- 4 - MF

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.	3ª Rep.
PDA	99,3000000	99,7000000	100,000000
MM	100,000000	99,8000000	99,7000000
EF	100,000000	100,000000	98,7000000
MF	100,000000	100,000000	100,000000

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

==

Tratamentos	Média	Variância	Desv. Pad.	EPM
PDA	99,6666667	0,12333333	0,35118846	
0,20275875				
MM	99,8333333	0,02333333	0,15275252	
0,08819171				
EF	99,5666667	0,56333333	0,75055535	
0,43333333				
MF	100,000000	0,00000000	0,00000000	
0,00000000				

=====

==

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	0,3266666667	0,1088888889	
Resíduo	8	1,4200000000	0,1775000000	
Total	11	1,7466666667	-	

Média Geral.....: 99,766667
 Desvio Padrão.....: 0,4213075
 Erro Padrão da Média...: 0,2432420
 Coeficiente de Variação: 0,4222928

Comparação das Médias de Tratamentos

Teste de Tukey		
Tratamento	0 Mol	
MF	100,00000	a
MM	99,833333	a
PDA	99,666667	a
EF	99,566667	a

DMS (5%) = 1,1016

A

Delimitação Inteiramente Casualizado

Variável: 1,3 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

Tratamentos

1 - PDA

- 2 - MM
- 3 - EF
- 4 - MF

Dados Obtidos no Experimento:

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.	3ª Rep.
PDA	81,2000000	88,3000000	95,4000000
MM	99,7000000	99,7000000	99,7000000
EF	85,1000000	92,9000000	95,6000000
MF	90,7000000	95,5000000	98,0000000

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

Tratamentos	Média	Variância	Desv. Pad.	EPM
PDA	88,3000000	50,4100000	7,10000000	4,09918691
MM	99,7000000	0,00000000	0,00000000	0,00000000
EF	91,2000000	29,7300000	5,45252235	3,14801525
MF	94,7333333	13,7633333	3,70989667	2,14190984

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	216,87000000	72,290000000	3,08NS
Resíduo	8	187,80666667	23,475833333	0,0904
Total	11	404,67666667	-	

Média Geral.....: 93,483333
 Desvio Padrão.....: 4,8451866
 Erro Padrão da Média...: 2,7973698
 Coeficiente de Variação: 5,1829416

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
                    Teste de Tukey
-----
    Tratamento          1,3 Mol
-----
MM                   99,700000   a
MF                   94,733333   ab
EF                   91,200000   ab
PDA                  88,300000   b
-----
                    DMS (5%) = 12,6688
=====
    
```

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 1,4 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
                    Tratamentos
=====
    1 - PDA
    2 - MM
    3 - EF
    4 - MF
=====
    
```

Dados Obtidos no Experimento:

```

=====
    Tratamentos          1ª Rep.          2ª Rep.          3ª Rep.
-----
    PDA                  64,9000000    73,2000000    81,5000000
    MM                   99,7000000    99,7000000    99,7000000
    EF                   71,4000000    71,1000000    98,8000000
    MF                   83,5000000    83,3000000    96,8000000
=====
    
```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
=====
    Tratamentos          Média          Variância          Desv. Pad.          EPM
    
```

```

-----
---
PDA                73,2000000  68,8900000  8,30000000
4,79200723
MM                99,7000000  0,00000000  0,00000000
0,00000000
EF               80,4333333  253,023333  15,9067072
9,18374167
MF               87,8666667  59,8633333  7,73713987
4,46703979
=====
===
  
```

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

```

=====
-----
Causas de Variação   GL      SQ      QM      F
P
-----
Tratamentos          3  1152,1266667  384,0422222
4,02NS    0,0512
Resíduo              8  763,5533333  95,444166667
-
-----
Total                 11  1915,6800000  -
-
=====
=====
  
```

Média Geral.....: 85,300000
 Desvio Padrão.....: 9,7695530
 Erro Padrão da Média...: 5,6404541
 Coeficiente de Variação: 11,453169

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
Teste de Tukey
-----
1,4 Mol          1,4 Mol
-----
MM                99,700000   a
MF                87,866667   ab
EF                80,433333   ab
PDA              73,200000   b
-----
DMS (5%) = 25,5445
=====
  
```

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 1,5 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

- 1 - PDA
- 2 - MM
- 3 - EF
- 4 - MF

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.	3ª Rep.
PDA	49,7000000	62,9000000	76,1000000
MM	99,7000000	97,6000000	95,5000000
EF	58,8000000	60,9000000	90,4000000
MF	79,4000000	76,3000000	97,0000000

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

===

Tratamentos	Média	Variância	Desv. Pad.	EPM
PDA	62,9000000	174,240000	13,2000000	
7,62102355				
MM	97,6000000	4,41000000	2,10000000	
1,21243557				
EF	70,0333333	312,203333	17,6692765	
10,2013616				
MF	84,2333333	124,643333	11,1643779	
6,44575657				

=====

===

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

=====

=====

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
--------------------	----	----	----	---

P

Tratamentos	3	2137,7358333	712,57861111
4,63* 0,0369			
Resíduo	8	1230,9933333	153,87416667
-			
Total	11	3368,7291667	-
-			

Média Geral.....: 78,691667
 Desvio Padrão.....: 12,404603
 Erro Padrão da Média...: 7,1618007
 Coeficiente de Variação: 15,763553

Comparação das Médias de Tratamentos

Teste de Tukey		
Tratamento	1,5 Mol	
MM	97,600000	a
MF	84,233333	ab
EF	70,033333	ab
PDA	62,900000	b
DMS (5%) = 32,4344		

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 1,6 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

Tratamentos
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF

Dados Obtidos no Experimento:

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.	3ª Rep.
PDA	33,3000000	43,1000000	52,8000000
MM	94,4000000	94,7000000	95,0000000
EF	37,9000000	42,0000000	59,2000000
MF	54,0000000	53,8000000	68,5000000

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

Tratamentos	Média	Variância	Desv. Pad.	EPM
PDA	43,0666667	95,0633333	9,75004273	5,62918980
MM	94,7000000	0,09000000	0,30000000	0,17320508
EF	46,3666667	127,7233333	11,3014748	6,52490954
MF	58,7666667	71,0633333	8,42990708	4,86700912

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	5028,3425000	1676,1141667	22,81**
Resíduo	8	587,88000000	73,485000000	0,0003
Total	11	5616,2225000	-	-

Média Geral.....: 60,725000
 Desvio Padrão.....: 8,5723392
 Erro Padrão da Média...: 4,9492424
 Coeficiente de Variação: 14,116656

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
                    Teste de Tukey
-----
    Tratamento      1,6 Mol
-----
MM                94,700000   a
MF                58,766667   b
EF                46,366667   b
PDA              43,066667   b
-----
                    DMS (5%) = 22,4142
=====

```

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 1,7 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
                    Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF
=====

```

Dados Obtidos no Experimento:

```

=====
    Tratamentos      1ª Rep.      2ª Rep.      3ª Rep.
-----
PDA                 32,1000000   40,4000000   48,6000000
MM                  84,1000000   83,4000000   82,7000000
EF                  23,0000000   26,2000000   59,5000000
MF                  48,5000000   45,9000000   62,8000000
=====

```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
==
    Tratamentos      Média      Variância   Desv. Pad.   EPM
-----
--
PDA                 40,3666667   68,0633333   8,25005050
4,76316888
MM                  83,4000000   0,49000000   0,70000000
0,40414519
EF                  36,2333333   408,5633333   20,2129496

```

11,6699519
 MF 52,4000000 82,8100000 9,10000000
 5,25388745

=====
 ==

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	4095,6066667	1365,2022222	
Resíduo	8	1119,8533333	139,98166667	
Total	11	5215,4600000	-	

Média Geral.....: 53,100000
 Desvio Padrão.....: 11,831385
 Erro Padrão da Média...: 6,8308532
 Coeficiente de Variação: 22,281327

Comparação das Médias de Tratamentos

Teste de Tukey		
Tratamento	1,7 Mol	
MM	83,400000	a
MF	52,400000	ab
PDA	40,366667	b
EF	36,233333	b

DMS (5%) = 30,9356

Delimitação Inteiramente Casualizado

Variável: 1,8 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
                Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF
=====

```

Dados Obtidos no Experimento:

```

=====
                1ª Rep.      2ª Rep.      3ª Rep.
-----
PDA                16,3000000    25,6000000    34,8000000
MM                 66,9000000    73,9000000    80,9000000
EF                 19,4000000    24,3000000    50,8000000
MF                 22,8000000    26,9000000    60,8000000
=====

```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
                Média      Variância  Desv. Pad.  EPM
-----
PDA                25,5666667    85,5633333    9,25004504
5,34051600
MM                 73,9000000    49,0000000    7,00000000
4,04145188
EF                 31,5000000    285,370000    16,8928979
9,75311916
MF                 36,8333333    435,003333    20,8567335
12,0416407
=====
=====

```

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

```

=====
                GL      SQ      QM      F
-----
Tratamentos      3  4273,7966667  1424,5988889
6,67*      0,0144
Resíduo          8  1709,8733333  213,73416667
-----

```

```

-----
Total                11  5983,6700000      -
-
=====
=====

```

```

Média Geral.....: 41,950000
Desvio Padrão.....: 14,619650
Erro Padrão da Média...: 8,4406589
Coeficiente de Variação: 34,850179

```

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
Teste de Tukey
-----

```

Tratamento	1,8 Mol	
MM	73,900000	a
MF	36,833333	b
EF	31,500000	b
PDA	25,566667	b

DMS (5%) = 38,2261

Delineamento Inteiramente Casualizado

Variável: 1,9 Mol

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF
=====

```

Dados Obtidos no Experimento:

```

=====

```

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.	3ª Rep.
PDA	0,30000000	15,0000000	29,7000000
MM	36,2000000	43,9000000	51,6000000
EF	2,70000000	8,80000000	42,4000000
MF	11,3000000	6,60000000	33,0000000

```

=====

```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
==
      Tratamentos           Média      Variância  Desv. Pad.      EPM
-----
--
PDA                15,0000000  216,090000  14,7000000
8,48704896
MM                 43,9000000  59,2900000  7,700000000
4,44559707
EF                 17,9666667  457,043333  21,3785718
12,3429242
MF                 16,9666667  198,323333  14,0827317
8,13066896
=====
==
  
```

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

```

=====
=====
Causas de Variação      GL        SQ          QM          F
P
-----
-----
Tratamentos              3  1685,1158333  561,70527778
2,41NS      0,1419
Resíduo                  8  1861,4933333  232,68666667
-
-----
-----
Total                    11  3546,6091667      -
-
=====
=====
  
```

Média Geral.....: 23,458333
 Desvio Padrão.....: 15,254070
 Erro Padrão da Média...: 8,8069417
 Coeficiente de Variação: 65,026233

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
      Teste de Tukey
-----
      Tratamento      1,9 Mol
-----
MM                43,900000  a
  
```

EF	17,966667	b
MF	16,966667	b
PDA	15,000000	b

DMS (5%) = 39,8850

ANEXO II - DADOS ANÁLISE ESTRESSE TÉRMICO

Delineamento Inteiramente Casualizado

Calor

Variável: 0

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

- 1 - PDA
- 2 - MM
- 3 - EF
- 4 - MF

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

Tratamentos	1ª Rep.	2ª Rep.
PDA	100,000000	99,0000000
MM	99,3000000	99,4000000
EF	99,7000000	100,000000
MF	99,7000000	99,1000000

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

Tratamentos	Média	Variância	Desv. Pad.	EPM
PDA	99,5000000	0,50000000	0,70710678	0,50000000
MM	99,3500000	0,00500000	0,07071068	0,05000000
EF	99,8500000	0,04500000	0,21213203	0,15000000
MF	99,4000000	0,18000000	0,42426407	0,30000000

=====

Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos

```

=====
=====
Causas de Variação      GL      SQ      QM      F
P
-----
Tratamentos             3  0,3050000000  0,1016666667
0,56NS      0,6708
Resíduo                 4  0,7300000000  0,1825000000
-
-----
Total                   7  1,0350000000      -
-
=====
=====

```

Média Geral.....: 99,525000
 Desvio Padrão.....: 0,4272002
 Erro Padrão da Média...: 0,3020761
 Coeficiente de Variação: 0,4292391

Comparação das Médias de Tratamentos

```

=====
Teste de Tukey
-----
Tratamento      0
-----
EF             99,850000  a
PDA           99,500000  a
MF            99,400000  a
MM            99,350000  a
-----
DMS (5%) = 1,7391
=====

```

Delineamento Inteiramente Casualizado

Novo Experimento

Variável: 1

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

- ```

=====
Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM

```

- 3 - EF
- 4 - MF

Dados Obtidos no Experimento:

| Tratamentos | 1ª Rep.    | 2ª Rep.    |
|-------------|------------|------------|
| PDA         | 75,5000000 | 60,4000000 |
| MM          | 98,4000000 | 97,4000000 |
| EF          | 79,5000000 | 90,3000000 |
| MF          | 84,5000000 | 82,6000000 |

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

| Tratamentos | Média      | Variância  | Desv. Pad. | EPM |
|-------------|------------|------------|------------|-----|
| PDA         | 67,9500000 | 114,005000 | 10,6773124 |     |
| MM          | 97,9000000 | 0,50000000 | 0,70710678 |     |
| EF          | 84,9000000 | 58,3200000 | 7,63675324 |     |
| MF          | 83,5500000 | 1,80500000 | 1,34350288 |     |

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

| Causas de Variação | GL | SQ           | QM           | F |
|--------------------|----|--------------|--------------|---|
| Tratamentos        | 3  | 902,20500000 | 300,73500000 |   |
| Resíduo            | 4  | 174,63000000 | 43,657500000 |   |
| Total              | 7  | 1076,8350000 |              |   |

Média Geral.....: 83,575000  
 Desvio Padrão.....: 6,6073822  
 Erro Padrão da Média...: 4,6721248  
 Coeficiente de Variação: 7,9059315

**Comparação das Médias de Tratamentos**

=====

Teste de Tukey

-----

| Tratamento | 1                |           |
|------------|------------------|-----------|
| <b>MM</b>  | <b>97,900000</b> | <b>a</b>  |
| <b>EF</b>  | <b>84,900000</b> | <b>ab</b> |
| <b>MF</b>  | <b>83,550000</b> | <b>ab</b> |
| <b>PDA</b> | <b>67,950000</b> | <b>b</b>  |

-----

DMS (5%) = 26,8977

=====

**Delineamento Inteiramente Casualizado**

**Novo Experimento**

*Variável: 2*

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

|         |
|---------|
| 1 - PDA |
| 2 - MM  |
| 3 - EF  |
| 4 - MF  |

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

| Tratamentos | 1 <sup>a</sup> Rep. | 2 <sup>a</sup> Rep. |
|-------------|---------------------|---------------------|
| PDA         | 34,9000000          | 36,1000000          |
| MM          | 96,8000000          | 93,9000000          |
| EF          | 43,8000000          | 41,6000000          |
| MF          | 46,8000000          | 45,8000000          |

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

==

| Tratamentos | Média | Variância | Desv. Pad. | EPM |
|-------------|-------|-----------|------------|-----|
|-------------|-------|-----------|------------|-----|

-----

```

--
PDA 35,5000000 0,72000000 0,84852814
0,60000000
MM 95,3500000 4,20500000 2,05060967
1,45000000
EF 42,7000000 2,42000000 1,55563492
1,10000000
MF 46,3000000 0,50000000 0,70710678
0,50000000
=====
==

```

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

```

=====
=====
Causas de Variação GL SQ QM F
P

Tratamentos 3 4470,6937500 1490,2312500
759,84** < 0,0001
Resíduo 4 7,8450000000 1,9612500000
-

Total 7 4478,5387500 -
-
=====
=====

```

Média Geral.....: 54,962500  
 Desvio Padrão.....: 1,4004464  
 Erro Padrão da Média...: 0,9902651  
 Coeficiente de Variação: 2,5480034

**Comparação das Médias de Tratamentos**

```

=====
Teste de Tukey

Tratamento 2

MM 95,350000 a
MF 46,300000 b
EF 42,700000 bc
PDA 35,500000 c

```

DMS (5%) = 5,7010

**Delineamento Inteiramente Casualizado****Novo Experimento***Variável: 3*

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
 Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF
=====

```

Dados Obtidos no Experimento:

```

=====
 Tratamentos 1ª Rep. 2ª Rep.

PDA 9,30000000 9,50000000
MM 89,00000000 84,20000000
EF 22,20000000 21,80000000
MF 17,60000000 24,70000000
=====

```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
 Tratamentos Média Variância Desv. Pad. EPM

--
PDA 9,40000000 0,02000000 0,14142136
0,10000000
MM 86,60000000 11,52000000 3,39411255
2,40000000
EF 22,00000000 0,08000000 0,28284271
0,20000000
MF 21,15000000 25,20500000 5,02045815
3,55000000
=====
==

```

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

```

=====
 Causas de Variação GL SQ QM F
P

```

---



---

|                   |   |              |              |
|-------------------|---|--------------|--------------|
| Tratamentos       | 3 | 7357,1237500 | 2452,3745833 |
| 266,38** < 0,0001 |   |              |              |
| Resíduo           | 4 | 36,825000000 | 9,2062500000 |
| -                 |   |              |              |
| -                 |   |              |              |
| Total             | 7 | 7393,9487500 | -            |
| -                 |   |              |              |

---



---

Média Geral.....: 34,787500  
Desvio Padrão.....: 3,0341803  
Erro Padrão da Média...: 2,1454895  
Coeficiente de Variação: 8,7220418

### Comparação das Médias de Tratamentos

=====

Teste de Tukey

---

|            |                  |          |
|------------|------------------|----------|
| Tratamento | 3                |          |
| -          |                  |          |
| <b>MM</b>  | <b>86,600000</b> | <b>a</b> |
| <b>EF</b>  | <b>22,000000</b> | <b>b</b> |
| <b>MF</b>  | <b>21,150000</b> | <b>b</b> |
| <b>PDA</b> | <b>9,4000000</b> | <b>c</b> |

---

DMS (5%) = 12,3517

---



---

### Delimitação Inteiramente Casualizado

#### Novo Experimento

Variável: 4

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

- 1 - PDA
  - 2 - MM
  - 3 - EF
  - 4 - MF
- =====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

| Tratamentos | 1ª Rep.    | 2ª Rep.    |
|-------------|------------|------------|
| PDA         | 2,60000000 | 1,90000000 |
| MM          | 58,6000000 | 53,8000000 |
| EF          | 6,10000000 | 5,50000000 |
| MF          | 5,40000000 | 3,90000000 |

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

| Tratamentos | Média      | Variância  | Desv. Pad. | EPM |
|-------------|------------|------------|------------|-----|
| PDA         | 2,25000000 | 0,24500000 | 0,49497475 |     |
| MM          | 56,2000000 | 11,5200000 | 3,39411255 |     |
| EF          | 5,80000000 | 0,18000000 | 0,42426407 |     |
| MF          | 4,65000000 | 1,12500000 | 1,06066017 |     |

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

| Causas de Variação | GL | SQ           | QM           | F |
|--------------------|----|--------------|--------------|---|
| Tratamentos        | 3  | 4063,9250000 | 1354,6416667 |   |
| Resíduo            | 4  | 13,070000000 | 3,2675000000 |   |
| Total              | 7  | 4076,9950000 | -            |   |

Média Geral.....: 17,225000  
 Desvio Padrão.....: 1,8076227  
 Erro Padrão da Média...: 1,2781823  
 Coeficiente de Variação: 10,494181

**Comparação das Médias de Tratamentos**

---

---

Teste de Tukey

---

| Tratamento | 4                |          |
|------------|------------------|----------|
| <b>MM</b>  | <b>56,200000</b> | <b>a</b> |
| <b>EF</b>  | <b>5,800000</b>  | <b>b</b> |
| <b>MF</b>  | <b>4,650000</b>  | <b>b</b> |
| <b>PDA</b> | <b>2,250000</b>  | <b>b</b> |

---

DMS (5%) = 7,3586

---

---

## ANEXO III - DADOS ANÁLISE ESTRESSE UV

### Delineamento Inteiramente Casualizado

#### UV

Variável: 0

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

- 1 - PDA
- 2 - MM
- 3 - EF
- 4 - MF

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

| Tratamentos | 1ª Rep.    | 2ª Rep.    |
|-------------|------------|------------|
| PDA         | 100,000000 | 99,000000  |
| MM          | 99,300000  | 99,400000  |
| EF          | 99,700000  | 100,000000 |
| MF          | 99,700000  | 100,000000 |

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

| Tratamentos | Média     | Variância | Desv. Pad. | EPM |
|-------------|-----------|-----------|------------|-----|
| PDA         | 99,500000 | 0,500000  | 0,70710678 |     |
| MM          | 99,350000 | 0,005000  | 0,07071068 |     |
| EF          | 99,850000 | 0,045000  | 0,21213203 |     |
| MF          | 99,850000 | 0,045000  | 0,21213203 |     |

=====

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

```

=====
=====
Causas de Variação GL SQ QM F
P

Tratamentos 3 0,3837500000 0,1279166667
0,86NS 0,5306
Resíduo 4 0,5950000000 0,1487500000
-

Total 7 0,9787500000 -
-
=====
=====

```

Média Geral.....: 99,637500  
 Desvio Padrão.....: 0,3856812  
 Erro Padrão da Média...: 0,2727178  
 Coeficiente de Variação: 0,3870844

**Comparação das Médias de Tratamentos**

```

=====
Teste de Tukey

Tratamento 0

EF 99,850000 a
MF 99,850000 a
PDA 99,500000 a
MM 99,350000 a

DMS (5%) = 1,5701
=====

```

**Delineamento Inteiramente Casualizado**

**UV**

Variável: 1

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```

=====
Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF

```

4 - MF

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

| Tratamentos | 1ª Rep.    | 2ª Rep.    |
|-------------|------------|------------|
| PDA         | 94,7000000 | 98,7000000 |
| MM          | 100,000000 | 99,7000000 |
| EF          | 100,000000 | 99,0000000 |
| MF          | 100,000000 | 99,3000000 |

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

| Tratamentos       | Média      | Variância  | Desv. Pad. | EPM |
|-------------------|------------|------------|------------|-----|
| PDA<br>2,00000000 | 96,7000000 | 8,00000000 | 2,82842712 |     |
| MM<br>0,15000000  | 99,8500000 | 0,04500000 | 0,21213203 |     |
| EF<br>0,50000000  | 99,5000000 | 0,50000000 | 0,70710678 |     |
| MF<br>0,35000000  | 99,6500000 | 0,24500000 | 0,49497475 |     |

=====

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

=====

| Causas de Variação           | GL | SQ           | QM           | F |
|------------------------------|----|--------------|--------------|---|
| Tratamentos<br>2,02NS 0,2535 | 3  | 13,325000000 | 4,4416666667 |   |
| Resíduo                      | 4  | 8,7900000000 | 2,1975000000 |   |
| Total                        | 7  | 22,115000000 | -            |   |

=====

Média Geral.....: 98,925000

Desvio Padrão.....: 1,4823967  
 Erro Padrão da Média...: 1,0482128  
 Coeficiente de Variação: 1,4985056

**Comparação das Médias de Tratamentos**

=====

Teste de Tukey

-----

| Tratamento | 1                |          |
|------------|------------------|----------|
| <b>MM</b>  | <b>99,850000</b> | <b>a</b> |
| <b>MF</b>  | <b>99,650000</b> | <b>a</b> |
| <b>EF</b>  | <b>99,500000</b> | <b>a</b> |
| <b>PDA</b> | <b>96,700000</b> | <b>a</b> |

-----

DMS (5%) = 6,0346

=====

**Delineamento Inteiramente Casualizado**

UV

Variável: 2

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

=====

Tratamentos

=====

|         |
|---------|
| 1 - PDA |
| 2 - MM  |
| 3 - EF  |
| 4 - MF  |

=====

Dados Obtidos no Experimento:

=====

| Tratamentos | 1ª Rep.    | 2ª Rep.    |
|-------------|------------|------------|
| PDA         | 56,9000000 | 73,1000000 |
| MM          | 97,4000000 | 100,000000 |
| EF          | 84,5000000 | 89,4000000 |
| MF          | 88,0000000 | 95,8000000 |

=====

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

=====

====

| Tratamentos | Média | Variância | Desv. Pad. | EPM |
|-------------|-------|-----------|------------|-----|
| -----       |       |           |            |     |
| ----        |       |           |            |     |

|            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|
| PDA        | 65,0000000 | 131,220000 | 11,4551299 |
| 8,10000000 |            |            |            |
| MM         | 98,7000000 | 3,38000000 | 1,83847763 |
| 1,30000000 |            |            |            |
| EF         | 86,9500000 | 12,0050000 | 3,46482323 |
| 2,45000000 |            |            |            |
| MF         | 91,9000000 | 30,4200000 | 5,51543289 |
| 3,90000000 |            |            |            |

=====  
===

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

| Causas de Variação | GL | SQ           | QM           | F |
|--------------------|----|--------------|--------------|---|
| P                  |    |              |              |   |
| Tratamentos        | 3  | 1274,9537500 | 424,98458333 |   |
| 9,60* 0,0267       |    |              |              |   |
| Resíduo            | 4  | 177,02500000 | 44,256250000 |   |
| -                  |    |              |              |   |
| Total              | 7  | 1451,9787500 | -            |   |
| -                  |    |              |              |   |

=====  
=====

Média Geral.....: 85,637500  
 Desvio Padrão.....: 6,6525371  
 Erro Padrão da Média...: 4,7040541  
 Coeficiente de Variação: 7,7682524

**Comparação das Médias de Tratamentos**

| Teste de Tukey |                  |           |
|----------------|------------------|-----------|
| Tratamento     | 2                |           |
| <b>MM</b>      | <b>98,700000</b> | <b>a</b>  |
| <b>MF</b>      | <b>91,900000</b> | <b>ab</b> |
| <b>EF</b>      | <b>86,950000</b> | <b>ab</b> |
| <b>PDA</b>     | <b>65,000000</b> | <b>b</b>  |

DMS (5%) = 27,0815

**Delimitação Inteiramente Casualizado**

**UV**

Variável: 3

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

```
=====
 Tratamentos
=====
1 - PDA
2 - MM
3 - EF
4 - MF
=====
```

Dados Obtidos no Experimento:

```
=====
 1ª Rep. 2ª Rep.

PDA 21,6000000 20,5000000
MM 55,7000000 58,7000000
EF 44,3000000 50,3000000
MF 38,4000000 61,1000000
=====
```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```
=====
====
 Média Variância Desv. Pad. EPM

PDA 21,0500000 0,60500000 0,77781746
0,55000000
MM 57,2000000 4,50000000 2,12132034
1,50000000
EF 47,3000000 18,0000000 4,24264069
3,00000000
MF 49,7500000 257,645000 16,0513239
11,3500000
=====
====
```

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

```
=====
=====
Causas de Variação GL SQ QM F
P

```

|              |   |              |              |
|--------------|---|--------------|--------------|
| Tratamentos  | 3 | 1489,5450000 | 496,51500000 |
| 7,07* 0,0446 |   |              |              |
| Resíduo      | 4 | 280,75000000 | 70,187500000 |
| -----        |   |              |              |
| Total        | 7 | 1770,2950000 | -            |
| =====        |   |              |              |

Média Geral.....: 43,825000  
 Desvio Padrão.....: 8,3777980  
 Erro Padrão da Média...: 5,9239978  
 Coeficiente de Variação: 19,116482

### Comparação das Médias de Tratamentos

| Teste de Tukey     |                  |           |
|--------------------|------------------|-----------|
| Tratamento         |                  |           |
|                    | 3                |           |
| <b>MM</b>          | <b>57,200000</b> | <b>a</b>  |
| <b>MF</b>          | <b>49,750000</b> | <b>ab</b> |
| <b>EF</b>          | <b>47,300000</b> | <b>ab</b> |
| <b>PDA</b>         | <b>21,050000</b> | <b>b</b>  |
| -----              |                  |           |
| DMS (5%) = 34,1048 |                  |           |

### Delineamento Inteiramente Casualizado

#### UV

Variável: 4

Nomes dos Tratamentos/Fatores:

| Tratamentos |
|-------------|
| 1 - PDA     |
| 2 - MM      |
| 3 - EF      |
| 4 - MF      |

Dados Obtidos no Experimento:

| Tratamentos | 1ª Rep. | 2ª Rep. |
|-------------|---------|---------|
|-------------|---------|---------|

```

PDA 9,40000000 3,80000000
MM 27,90000000 16,30000000
EF 29,70000000 17,70000000
MF 15,20000000 20,80000000
=====

```

Estatística Descritiva dos Tratamentos:

```

=====
==
 Tratamentos Média Variância Desv. Pad. EPM

--
PDA 6,60000000 15,6800000 3,95979797
2,80000000
MM 22,10000000 67,2800000 8,20243866
5,80000000
EF 23,70000000 72,0000000 8,48528137
6,00000000
MF 18,00000000 15,6800000 3,95979797
2,80000000
=====
==

```

**Análise de Variância para Efeitos de Tratamentos**

```

=====
=====
Causas de Variação GL SQ QM F
P

Tratamentos 3 357,24000000 119,08000000
2,79NS 0,1733
Resíduo 4 170,64000000 42,66000000
-

Total 7 527,88000000 -
-
=====
=====

```

Média Geral.....: 17,600000  
 Desvio Padrão.....: 6,5314623  
 Erro Padrão da Média...: 4,6184413  
 Coeficiente de Variação: 37,110581

**Comparação das Médias de Tratamentos**

## =====

## Teste de Tukey

-----  
Tratamento                    4  
-----

|            |                  |          |
|------------|------------------|----------|
| <b>EF</b>  | <b>23,700000</b> | <b>a</b> |
| <b>MM</b>  | <b>22,100000</b> | <b>a</b> |
| <b>MF</b>  | <b>18,000000</b> | <b>a</b> |
| <b>PDA</b> | <b>6,600000</b>  | <b>b</b> |

-----DMS (5%) = 26,5886  
=====