

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

**ELIEZER PEREIRA DE ANDRADE**

**Tolerância à radiação UV-B do fungo entomopatogênico  
*Metarhizium rileyi* para o desenvolvimento com o agente  
microbiano para o manejo das principais espécies lepidópteras nas  
culturas de soja e algodão**

Tolerance to UV-B radiation of the entomopathogenic fungus  
*Metarhizium rileyi* for development as a microbial agent for  
management of main lepidopteran species in soybean and  
cotton crops

São Paulo – SP  
2022

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

**ELIEZER PEREIRA DE ANDRADE**

**TOLERÂNCIA À RADIAÇÃO UV-B DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO  
*METARHIZIUM RILEYI* PARA O DESENVOLVIMENTO COM O AGENTE  
MICROBIANO PARA O MANEJO DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES LEPIDÓPTERAS  
NAS CULTURAS DE SOJA E ALGODÃO**

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.

Prof. Dr. Drauzio Eduardo Naretto Rangel  
**Orientador**

São Paulo – SP  
2022

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

A567t      ANDRADE, Eliezer Pereira de.

Tolerância à radiação UV-B do fungo entomopatogênico *Metarhizium Rileyi* para o desenvolvimento com o agente microbiano para o manejo das principais espécies lepidópteras nas culturas de soja e algodão / Eliezer Pereira de Andrade. -- São Paulo: Universidade Brasil, 2022.

45 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. Fungos Entomopatogênicos. 2. Radiação solar. 3. Microbiologia agrícola. 4. Tolerância ao estresse. 5. Radiação Ultravioleta. I. Rangel, Drauzio Eduardo Naretto. II. Título.

CDD 620.82

## TERMO DE APROVAÇÃO



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

### TERMO DE APROVAÇÃO

**ELIEZER PEREIRA DE ANDRADE**

**“TOLERÂNCIA À RADIAÇÃO UV-B DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium rileyi*  
PARA DESENVOLVIMENTO COMO AGENTE MICROBIANO PARA MANEJO DAS PRINCIPAIS  
ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS EM CULTURAS DE SOJA E ALGODÃO”**

Dissertação aprovada como 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, 03 de maio de 2022

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

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

**FOLHA DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DO TEXTO NA PÁGINA  
UNIVERSIDADE BRASIL E CATÁLOGO DE TESES E DISSERTAÇÕES DA  
CAPES E REPRODUÇÃO DO TRABALHO**



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

### Termo de Autorização

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo 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: **"TOLERÂNCIA À RADIAÇÃO UV-B DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium rileyi* PARA DESENVOLVIMENTO COMO AGENTE MICROBIANO PARA MANEJO DAS PRINCIPAIS ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS EM CULTURAS DE SOJA E ALGODÃO"**

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

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Autor(es):

Discente: **Drauzio Eduardo Naretto Rangel**

Assinatura: \_\_\_\_\_

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Airlton Abrahão Martin**

Assinatura: \_\_\_\_\_

Coorientador(a):

Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: 03/05/2022

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

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse projeto à minha família pelo apoio e suporte emocional em todas as fases da minha vida, inclusive nesse projeto em especial, bem como meu orientador e meus amigos de longa data.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela saúde e sabedoria para desenvolver esse projeto, bem como minha família por me darem suporte e sempre me incentivarem a estudar e galgar novas metas e novos desafios.

Agradeço também aos meus amigos próximos que sempre estiveram presentes e me apoiaram nas minhas decisões e me incentivaram na maneira que puderam.

E finalmente agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Drauzio Eduardo Naretto Rangel, assim como o Prof. Dr. Daniel Sosa-Gómez, o Prof. Dr. Breno Pupin e ao colega mestrando Alcides Pereira de Brito que me auxiliaram direto e indiretamente e contribuíram de forma ímpar na execução desse projeto nas diversas fases dessa longa caminhada.



## RESUMO

As culturas de soja, milho e algodão são atingidas por várias pragas, portanto, o desenvolvimento de bioinseticidas pode proporcionar o controle dessas pragas com a sustentabilidade do sistema. O fungo *Metarhizium rileyi* tem o maior potencial, já que suas epizootias dizimam populações de lagartas na ausência de aplicações de inseticidas. Dessa forma, a baixa sobrevivência de fungos patogênicos quando usados para o controle de insetos na agricultura, deve-se principalmente aos efeitos deletérios da radiação ultravioleta e do calor da irradiação solar. Neste estudo, quatorze isolados de *M. rileyi* foram estudados e comparados com os isolados ARSEF 324 e ARSEF 2575 de *Metarhizium acridum* e *Metarhizium robertsii*, respectivamente, cuja sensibilidade à radiação UV-B foi previamente estudada. As suspensões conidiais foram expostas à temperatura ambiente (cerca de 26 °C) a 847,90 mWm<sup>2</sup> de UV-B ponderado por Quaité, usando duas lâmpadas fluorescentes TL 20W12 RS (Philips, Eindhoven, Holland). As placas contendo as suspensões de conídios foram irradiadas por 1, 2 e 3 h, fornecendo doses de 3,05, 6,10 e 9,16 kJ m<sup>2</sup>, respectivamente. Notável variabilidade na tolerância conidial UV-B foi encontrada entre 14 isolados de *M. Rileyi*. O isolado CNPSo-Mr 150 foi mais tolerante (germinação acima de 80% após exposição de 2 h), o que foi comparável ao ARSEF 324 (germinação acima de 90% após exposição de 2 h), o mais tolerante isolado. O isolado menos tolerante foi o CNPSo-Mr 597 (germinação abaixo de 5% após exposição de 2 h). Nove isolados foram semelhantes ao ARSEF 2575 (germinação acima de 50% após exposição de 2h). Concluindo, a maioria dos isolados de *M. rileyi* pôde suportar 1 ou 2 h de exposição à radiação UV-B. No entanto, após 3h de exposição, a exposição causou grande redução da germinação abaixo de 40% para todos os isolados, exceto para o CNPSo-Mr 150 e ARSEF 324.

**Palavras-chave:** Fungos Entomopatogênicos; Radiação solar; Microbiologia agrícola;

Tolerância ao estresse

## ABSTRACT

Soybean, corn and cotton crops are afflicted by several noctuid pests, therefore, the development of bioinsecticides can provide the control of these pests with the sustainability of the system. The fungus *Metarhizium rileyi* has the greatest potential since its epizootics decimate caterpillar populations in the absence of fungicide applications. The low survival of insect-pathogenic fungi when used for insect control in agriculture, however, is mainly due to the deleterious effects of ultraviolet radiation and heat from solar irradiation. In this study, fourteen isolates of *M. rileyi* were studied and compared with isolates ARSEF 324 and ARSEF 2575 of *Metarhizium acridum* and *Metarhizium robertsii* respectively, which sensitivity to UV-B radiation had been previously studied. Conidial suspensions were exposed at room temperature (ca. 26 °C) to 847.90 mWm<sup>2</sup> of Quate-weighted UV-B using two fluorescent lamps TL 20W12 RS (Philips, Eindhoven, Holland). The plates containing the conidial suspensions were irradiated for 1, 2, and 3 h, providing doses of 3.05, 6.10, 9.16, and 12.21 kJ m<sup>2</sup>, respectively. Remarkable variability in conidial UV-B tolerance was found among 14 isolates of *M. rileyi*. Isolate CNPSo-Mr 150 was the most tolerant isolate (germination above 80% after 2 h exposure), which was comparable to ARSEF 324 (germination above 90% after 2 h exposure), the most tolerant *Metarhizium* isolate. The least tolerant isolate was CNPSo-Mr 597 (germination below 5% after 2 h exposure). Nine isolates were similar with ARSEF 2575 (germination above 50% after 2 h exposure). Concluding, the majority of *M. rileyi* isolates can endure 1 or 2 h of UV-B radiation exposure. However, after 3 h exposure caused great reduction of germination below 40% for all isolates, except for CNPSo-Mr 150 and ARSEF 324.

Keywords: Entomopathogenic fungi; solar radiation; agricultural microbiology; stress tolerance

## DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Na natureza em si acontece de alguns fungos fazerem o controle natural de pragas como equilíbrio da cadeia alimentar, uma vez que todos disputam lugar no nicho ecológico.

O fungo *M. rileyi* possui capacidade de controlar pragas, mas a radiação ultravioleta proveniente da radiação solar é deletéria ao fungo.

Dessa forma, foi feito alguns experimentos com 14 isolados, alguns provenientes da EMBRAPA do estado do Paraná e outros advindos do acervo laboratorial, sendo que foi comparado três espécies de fungos: *M. rileyi*, *M. robertsii* e *M. acridum* que possuem essa prerrogativa de controlar pragas, no qual foram expostos à radiação ultravioleta e sendo analisados após 1, 2 e 3 horas de exposição.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 *Anticarsia gerrmatalis* recoberta por esporos do *M. rileyi* .....1 23
- Figura 2: Faixa de radiação ultravioleta utilizada no experimento. ....9
- Figura 3: Gráfico do comprimento de onda ultravioleta da lâmpada UV ..... 10
- Figura 4: Germinação conidial média de 16 espécies de fungos entomopatogênicos após exposição à radiação UV-B para 0 (controle), 1, 2 e 3 h. Após a irradiação, as placas foram mantidas a 26 C no escuro. As barras de erro são desvio -padrão ..... 13
- Figura 5: Dendrograma da análise hierárquica do cluster com base nos resultados de viabilidade por cento conidial. .... 16
- Figura 6: A germinação de *Metarhizium rileyi* isolados CNPSo-Mr 10 e CNPSo- CNPSo-Mr 27 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV ..... 17
- Figura 7: A germinação dos isolados de *Metarhizium rileyi* CNPSo-Mr 142 e CNPSo-Mr 150 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV ..... 19
- Figura 8: A germinação do isolado de *Metarhizium rileyi* CNPSo-Mr 156 e após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV .....21
- Figura 9: Germinação de *Metarhizium acridum* ARSEF 324 e *Metarhizium robertsii* ARSEF 2575 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV-B. ....21

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>5</b>
Isolados de fungos	5
Produção e colheita conidial	6
Exposição conidial à radiação UV-B simulada	7
Análises estatísticas	8
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>10</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>19</b>
REFERÊNCIAS	19

## 1 INTRODUÇÃO

Um exemplo interessante são as epizootias naturais causadas pelo fungo *Metarhizium rileyi* que infecta diversas espécies da ordem Lepidoptera (figura 1). *M. rileyi* pode ocorrer com elevada prevalência nas populações da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*), lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*), outras espécies do gênero *Spodoptera* (*S. litura*), lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*), curuquerê do algodão (*Alabama argillacea*), espécies de Plusiinae (*Plathypena scabra*, *Trichoplusia ni*) e mais raramente no Arctiinae *Spilosoma virginica*, entre outros (Boucias et al., 1982; Boucias et al., 2000b; Devi et al., 2007; Fronza et al., 2017; Sosa-Gómez et al., 2010; Souza et al., 2021).

Figura 1: *Anticarsia gemmatalis* recoberta por esporos do *M. rileyi*



Apesar de sua importância como inimigo natural *M. rileyi* tem sido pouco estudado e o número de produtos comerciais é muito baixo em comparação com *M. anisopliae* e *B. bassiana* possivelmente devido à sua instabilidade para produzir esporos (Faria e Wraight, 2007; Morrow et al., 1989). No entanto, alguns

produtos comerciais como os bioinseticidas foram produzidos em poucos países, como Colômbia e África do Sul (Faria e Wraight, 2007; Janks et al., 2019). Mais recentemente, estudos sobre sua eficiência de campo têm sido realizados contra roibos (um arbusto da família de leguminosas usado para fazer uma infusão chamada chá roibos) e pragas de soja (Hatting et al., 2013; Lopes et al., 2020) sem o benefício de conhecer sua atividade residual após as aplicações.

Estudos sobre o impacto da radiação ultravioleta são muito úteis para aprender a melhorar a persistência de biopesticidas no filoplano. O fungo *M. rileyi* é altamente sensível a condições nutricionais e ambientais, o que dificulta a produção como biopesticida estável (Edelstein et al., 2004; Grijalba et al., 2018).

## 2 OBJETIVOS

Avaliar as tolerâncias conidiais de 14 isolados de *M. rileyi* à radiação UV-B e comparar suas tolerâncias com *M. robertsii* e *M. acridum*, cujas tolerâncias à radiação UV-B são conhecidas.

- Demonstrar a taxa de germinação de conídios dos fungos após a radiação ultravioleta.
- Avaliar a germinação dos fungos *Metarhizium rileyi* após a exposição à radiação ultravioleta.
- Comparar os isolados de *Metarhizium* relacionado à exposição à radiação Ultravioleta.



### 3 REVISÃO DA LITERATURA

O fungo entomopatogênico *Nomurea rileyi* (Farlow) Samson, agora denominado *Metarhizium rileyi* pode produzir epizootias em populações de lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, controlando essa praga naturalmente (Sujii et al, 2002). Sendo que, pode-se evidenciar epizootias naturais causadas pelo fungo mitospórico *M. rileyi* (Farlow) Samson e que frequentemente surgem em populações de campo em pragas tidas como lepidópteros (Thorvilson & Pedigo, 1984).

*O fungo Metarhizium rileyi pode ser utilizado como inseticida biológico, principalmente quando aplicado sobre os primeiros estágios larvais da lagarta Anticarsia gemmatalis, sendo observado em média 80% de mortalidade nos primeiros três dias após a aplicação (Ignoffo et al, 1976b; Lopes et al, 1995).*

A partir da safra 2001/2002, observou-se um aumento expressivo do uso de fungicidas na agricultura, conseqüentemente ocorreu reflexo negativo na população de fungos entomopatogênicos, os quais controlavam de forma natural *Chrysodeixis. includens*, neste caso pelo fungo *M. rileyi*, acarretando no aumento das populações dessa lagarta (Sosa-Gómez et al., 2003; Lima, 2015).

As lagartas *A. gemmatalis* têm de cinco a sete instares larvais, sendo seis instares os mais comuns. A duração de cada instar varia em decorrência de vários fatores, como a temperatura, a planta hospedeira e a qualidade do alimento. As lagartas maiores que 1,5 cm são encontradas em formas verdes apresentando três linhas longitudinais brancas no dorso e quatro pares de falsas abdominais, além de um par anal (Sosa-Gómez et al., 2010). Cada lagarta de *A. gemmatalis* pode consumir de 85 cm<sup>2</sup> a 150 cm<sup>2</sup> de área foliar de soja até completar a fase larval (Bueno et al., 2011). Essas lagartas transformam-se em pupas, que apresentam coloração marrom, usualmente localizadas no solo (Bueno et al., 2012; Lima, 2015). Dessa forma, essa lagarta manejada de forma incorreta, pode causar até 100% de desfolha, ocasionando perdas consideráveis, após seis instares larvais.

Produtos comerciais baseados em fungos entomopatogênicos, incluindo *M. rileyi*, estão atualmente em uso ou em desenvolvimento. Para o bem da produção em massa de fungos, meios simples com poucos elementos de baixo preço deve ser utilizados. Embora tenha sido registrado um crescimento altamente variável. O

*M. rileyi* é rotineiramente cultivado para ensaios e para conservação em ágar Sabouraud maltose com levedura (SMAY), sozinho ou com amido solúvel (Getzi, 1961; Kish et al. 1974; Bell, 1975; Goettel & Inglis, 1997). Além disso, arroz e sorgo com extrato de levedura adicionado, fervido ou esmagado, foram testados como meio (Sosa-Gómez et al. 1990; Vimala Devi, 1994).

O crescimento mais rápido de *M. rileyi* foi observado em meios contendo batata e maltose (Valadares et al. Não publicado.), sendo que nenhuma comparação com outros meios foi realizada e publicada. Acredita-se que é devido à alta sensibilidade de *M. rileyi* às condições nutricionais (Goettel & Roberts, 1991), em comparação com outros fungos entomopatogênicos, culminando na conclusão que nenhum meio de cultura totalmente ideal foi desenvolvido ainda.

Tem sido amplamente provado que a temperatura afeta o desenvolvimento do micélio (Thomas & Blanford 2003; Fargues et al. 1992; 1997; Ouedraogo et al. 1997) dessa forma, foi encontrado diferentes padrões de crescimento *in vitro* dependentes da temperatura em isolados de várias espécies de fungos entomopatogênicos.

Respostas particulares a estímulos térmicos foram relatadas por diversos autores, dependendo do isolado de *M. rileyi*. A maioria dos diferentes isolados foram obtidos de diferentes hospedeiros.

Os países mais citados que utilizam esse fungo como controle de pragas foram a Argentina, Brasil e Uruguai, no qual o fungo infecta principalmente larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), *Colias lesbia* (F.), *Spilosoma virginica* (F.) e subfamília Plusiinae, incluindo *Rachiplusia nu* (Guenée), *Chrysodeixis includens* (Walker) e *Plusia spp.* (Gazzoni et al., 1994); (Rizzo & La Rossa, 1994), (H.F. Rizzo com. Pess.), tidas como muito difíceis de identificar no escotismo de campo.

A seleção de linhagens mais eficientes pode ser feita por meio de bioensaios, os quais permitem a avaliação da potencialidade do patógeno para o controle de determinada espécie de inseto, com a utilização da determinação da dose letal (DL<sub>50</sub>), do tempo letal (TL<sub>50</sub>) e da concentração letal (CL<sub>50</sub>) (Alves, 1996); (Lopes et al, 1995).

O conhecimento da sequência genômica permite diferenciar raças e realizar estudos comparativos entre as mesmas, determinando a variabilidade genética

e localizando regiões no genoma que permitam a diferenciação entre elas. Portanto, o sequenciamento do genoma de *M. rileyi* permitirá o desenvolvimento de ferramentas que facilitarão a caracterização e a identificação de diferentes cepas do fungo (Sosa-Gómez et al., 2010).

Também será possível a comparação entre genomas com outras espécies já conhecidas para, por homologia, reconhecer genes associados com características de interesse, como fatores de virulência, capacidade de esporulação, tolerância a fungicidas, taxa de crescimento e outros parâmetros de interesse, além de contribuir nos estudos de transformação genética (Sosa-Gómez et al., 2010).

#### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

##### **Isolados de fungos**

Todos os isolados de *Metarhizium rileyi* (Tabela 1) foram obtidos da Embrapa Soja (Sosa-Gómez e da Silva, 2002) os fungos *Metarhizium robertsii* (ARSEF 2575) e *Metarhizium acridum* (ARSEF 324) foram obtidos do USDA-ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Robert W. Holley Center for Agriculture and Health, Ithaca, NY (Estados Unidos) . As culturas de estoque foram mantidas a 4 °C em tubos de ensaio em inclinações de sabouraud maltose e ágar extrato de levedura (SMAY - 2,5 g de neopeptona, 10 g de maltose, 2,5 g de extrato de levedura, 3,75 g de ágar e 250 ml de água destilada) (Binneck et al., 2019; Morrow et al., 1989) ajustado para pH 7. 0.

Tabela 1: Lista de Isolados, seus insetos hospedeiros, origem geográfica e ano de coleta.

isolado	espécie	substrato	origem geográfica	ano
ARSEF 324	<i>Metarhizium acridum</i>	<i>Austracris guttosa</i> (Orthoptera: Acrididae)	Queensland, Australia	1979
ARSEF 2575	<i>Metarhizium robertsii</i>	<i>Curculio caryae</i> (coleóptera: curculiniodae)	South Carolina, USA	1988
CNPSO-Mr 10	<i>Metarhizium rileyi</i>	Lepidoptera: Noctuidae	Assis, SP – Brasil	1990
CNPSO-Mr 27	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Warta, PR – Brasil	1990
CNPSO-Mr 32	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Ponta Grossa, PR – Brasil	1990
CNPSO-Mr 137	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Quincy, FL, USA	1993
CNPSO-Mr 139	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Quincy, FL, USA	1993
CNPSO-Mr 141	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Quincy, FL, USA	1994
CNPSO-Mr 142	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Spodoptera sp</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Quincy, FL, USA	1994
CNPSO-Mr 146	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Quincy, FL, USA	1993
CNPSO-Mr 148	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Goiânia, GO - Brasil	1994
CNPSO-Mr 149	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Oliveiros, Santa fé – Argentina	1994
CNPSO-Mr 150	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Anticarsia Germmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Brasília, DF- Brasil	1996

CNPSo-Mr 156	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Brasília, DF- Brasil	1988
CNPSo-Mr 493	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Spodoptera cosmioides</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Vilhena, RO - Brasil	2006
CNPSo-Mr 597	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Lepidoptera:</i> <i>Noctuidae</i>	Warta, PR – Brasil	2018
CNPSo-Mr 602	<i>Metarhizium rileyi</i>	<i>Lepidoptera:</i> <i>Noctuidae</i>	Warta, PR – Brasil	2018

### **Produção e colheita conidial**

Os conídios foram produzidos em 23 ml de meio SMAY. Uma suspensão de conídios (100 µl de 10<sup>7</sup> conidia ml<sup>-1</sup>) foi inoculada uniformemente com um espalhador de vidro no meio de cultura SMAY. As culturas foram incubadas a 26 ± 1 °C no escuro e aproximadamente 90% de umidade relativa (RH) por 14 dias. Foram produzidos três lotes diferentes de conídios, um para cada replicação.

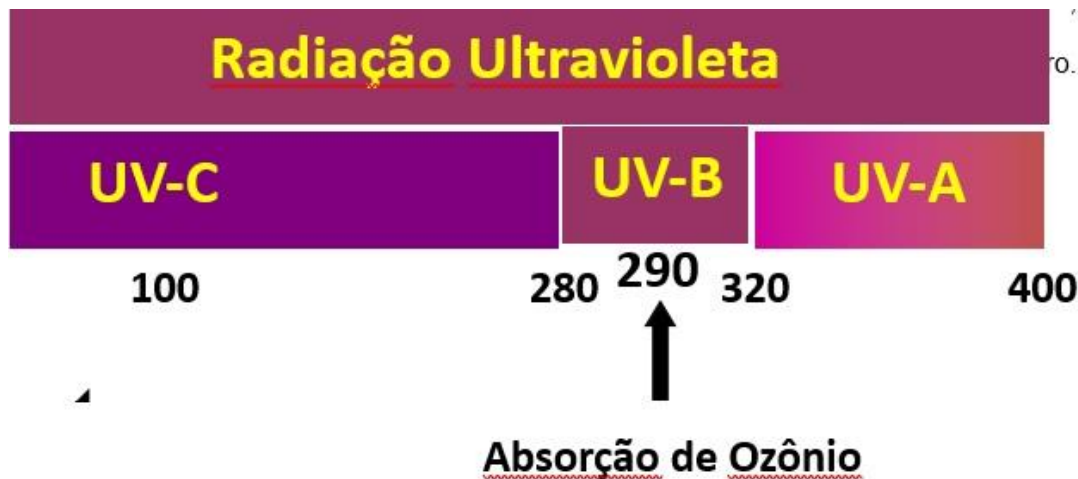
Conídios frescos de todos os isolados (Tabela 1) produzidos no meio SMAY foram coletados após 14 dias de crescimento e transferidos para 10 ml de Tween 80 (0,01 % v/v) em tubos Pyrex com tampa (20 × 125 mm). Para cada fungo, uma suspensão ajustada a 10<sup>5</sup> conidia ml<sup>-1</sup> foi produzida e agitada vigorosamente por 1 min. Todas as suspensões foram usadas imediatamente após a preparação.

### **Exposição de conídios à radiação UV-B simulada**

As suspensões de conídios preparados como descrito anteriormente foram retiradas 40 µl, mas não espalhadas no centro do meio SMAY em placas de Petri de polietileno (35 × 10 mm) contendo 5 ml de SMAY suplementado com benomyl 0,003% com ingrediente ativo de 25% (Hi-Yield Chemical Company, Bonham,

TX, USA). A baixa concentração de benomyl no meio permite que a germinação seja monitorada por períodos mais longos de tempo, pois reduz o crescimento de tubos germinativos sem afetar negativamente a germinação (Milner et al., 1991).

Figura 2: Faixa de radiação ultravioleta utilizada no experimento.

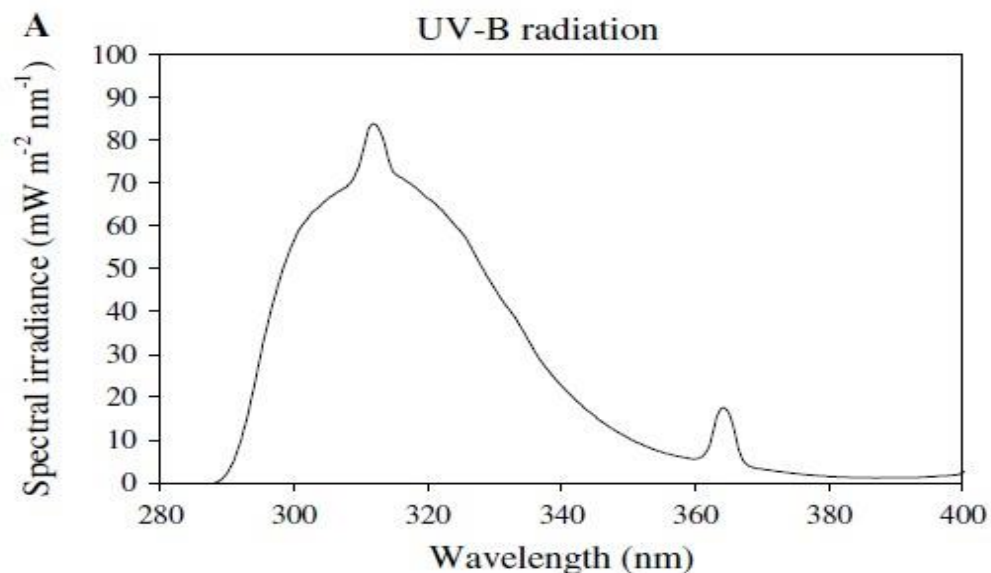


Os experimentos de irradiação UV-B foram realizados a 26 °C com duas lâmpadas fluorescentes UV-B (figura 2). (TL 20W/12 RS, Philips, Eindhoven, Holanda). As suspensões de conídios foram expostas a 847,90 mW m<sup>-2</sup> de UV-B ponderado por Quaitte (Quaitte et al., 1992a, b) para 0 (controle), 1, 2, e 3 horas, que forneceram doses de 0 (controle), 3,05, 6,10, e 9,15 kJ m<sup>-2</sup>, respectivamente. A irradiação das lâmpadas foi medida com um espectrômetro USB2000 RAD (Ocean Optics, Dunedin, FL, USA) de acordo com Rangel et al. (2004).

As placas de polietileno Petri (35 × 10 mm) sem tampas foram colocadas na bandeja e cobertas com filtro de diacetato de celulose (JCS Industries, Le Miranda, CA, USA) para excluir a radiação UV-C (figura 3). e o comprimento de onda curto (< 290 nm) (Rangel et al., 2006; Rangel et al., 2008). A fonte de

radiação UV-B foi fixada a 21 cm acima da superfície do meio de cultura inoculado. As placas de Petri de controle foram mantidas dentro da câmara envolta em papel alumínio durante o tempo de exposição de 3 horas. Pelo menos quatro repetições independentes foram realizadas utilizando culturas diferentes para cada repetição. As repetições ocorreram primeiro na hora zero (controle) e após 1h, 2h e após a exposição à radiação, as placas foram mantidas a 26 °C no escuro.

Figura 3: Gráfico do comprimento de onda ultravioleta da lâmpada UV.



A germinação dos conídios foi observada em 24 (para controle) ou a 48 h (para tratamentos de irradiação UV) após a suspensão de conídios ter sido inoculada no meio. Após a germinação, os conídios foram tingidos com uma gota de solução azul de metileno (Braga et al., 2002). Em seguida, esta área foi coberta com uma lamínula de vidro circular (15 mm de diâmetro), para evitar o ar entre o meio, e examinada sob microscópio a 400× de ampliação. Conídios foram considerados germinados quando o tubo germinativo foi visivelmente projetado a partir do conídio. Pelo menos 300 conídios por placa foram avaliados, e o

percentual de germinação foi calculado. A percentagem de germinação foi calculada com base no controle, onde a porcentagem de germinação após a exposição UV-B foi multiplicada por 100 e dividida pela porcentagem de germinação das placas de controle. Cada tratamento utilizou uma réplica de cada fungo e foi repetido pelo menos três vezes com um lote fresco de conídios produzida para cada repetição.

### **Análises estatísticas**

A análise do cluster hierárquico (Sneath e Sokal, 1973) foi realizada com o algoritmo de Ward para obter grupos de acesso semelhantes calculando a distância euclidiana usando a viabilidade conidial dos isolados para a exposição à radiação UV-B de 2 e 3 horas. O resultado da análise foi apresentado de forma gráfica (dendrograma), que ajudou a identificar os grupos isolados para comparar a tolerância à radiação UV-B entre os isolados (Figura 3). A análise hierárquica do cluster foi processada na versão 10 do software STATISTICA (StatSoft, 2010). As tolerâncias dos isolados de fungos foram classificadas em três categorias da seguinte forma: Grupo 1 – Baixa tolerância, Grupo 2 – Tolerância moderada e Grupo 3 – Alta tolerância.

O agrupamento hierárquico fornece excelentes representações visuais porque facilitam comparações rápidas e simples de dois ou mais conjuntos de dados. O agrupamento hierárquico tem sido usado em muitas abordagens, incluindo a organização de genes em dendrogramas hierárquicos com base em sua expressão. O coeficiente de diversidade euclidiano permite que a diversidade em um conjunto de espécies seja medida além de suas abundâncias relativas usando informações biológicas sobre a diferença entre as espécies. Também envolve interpretações geométricas e representações gráficas. Além disso,



várias populações podem ser comparadas usando um coeficiente de diferença euclidiano derivado do coeficiente de diversidade euclidiana (Champely e Chessel, 2002). Utilizamos agrupamento hierarcânico com sucesso para separar diferentes grupos de fungos de acordo com suas tolerâncias ao estresse (Araújo et al., 2018; Araújo et al., 2020; Dias et al., 2018; Lima et al., 2021).

O efeito do tratamento sobre a germinação percentual foi avaliado com a análise de variância de um fatorial unidirecional. Os níveis de significância das comparações médias em pares entre os tratamentos foram controlados para erro tipo I em experimento usando o método Tukey com  $\alpha = 0,05$ . Todas as análises foram realizadas no programa estatístico gratuito Sisvar (Ferreira, 1999; Ferreira, 2011).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os efeitos deletérios da radiação UV foram demonstrados em vários *gêneros de fungos entomopatogênicos como Aschersonia, Beauveria, Isaria, Lecanicillium, Metarhizium, Mariannaea, Simplicillium, Tolypocladium e Torribiella* (Dias et al., 2018). No entanto, não foram feitos estudos sobre as tolerâncias do fungo *M. rileyi*, que é um patógeno muito importante que induz epizootias naturais em muitas espécies de Lepidoptera (Boucias et al., 2000a; Boucias et al., 2000b; Devi et al., 2007).

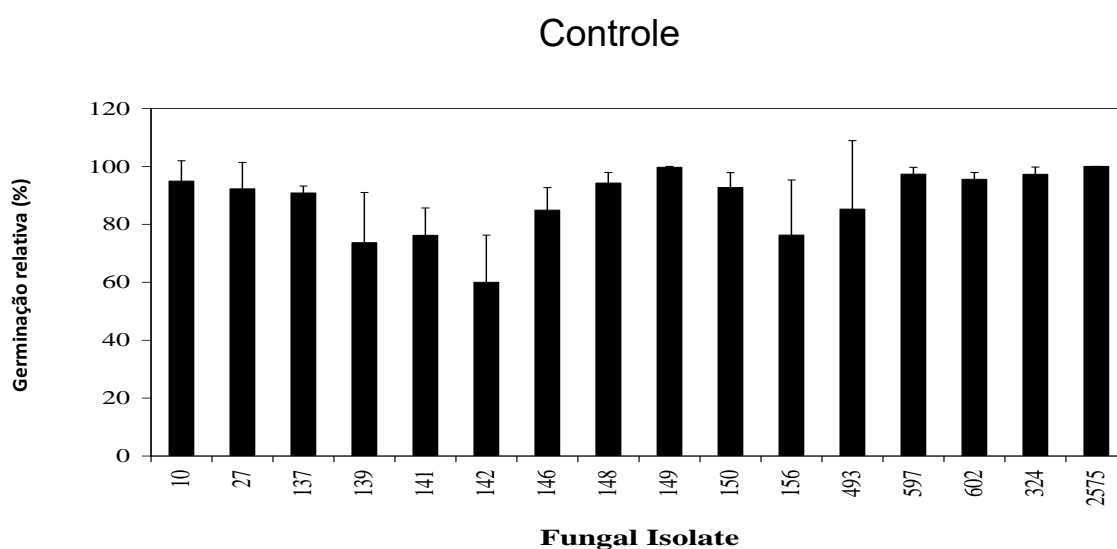
Notável variabilidade na tolerância à radiação UV-B conidial foi encontrada entre quatorze isolados estudados de *M. rileyi*. Isolado CNPSo-Mr 150 foi o isolado mais tolerante (germinação acima de 80% após exposição de 2h), o que foi comparável ao ARSEF 324 (germinação acima de 90% após exposição de 2h), o fungo *Metarhizium acridum* mais tolerante isolado (Figura 4). O isolado menos tolerante foi o CNPSo-Mr 597 (germinação abaixo de 5% após exposição de 2h).

Dez isolados têm tolerâncias semelhantes à radiação UV-B como o fungo *Metarhizium robertsii* ARSEF 2575 (germinação acima de 50% após exposição de 2h) (Figura 4)

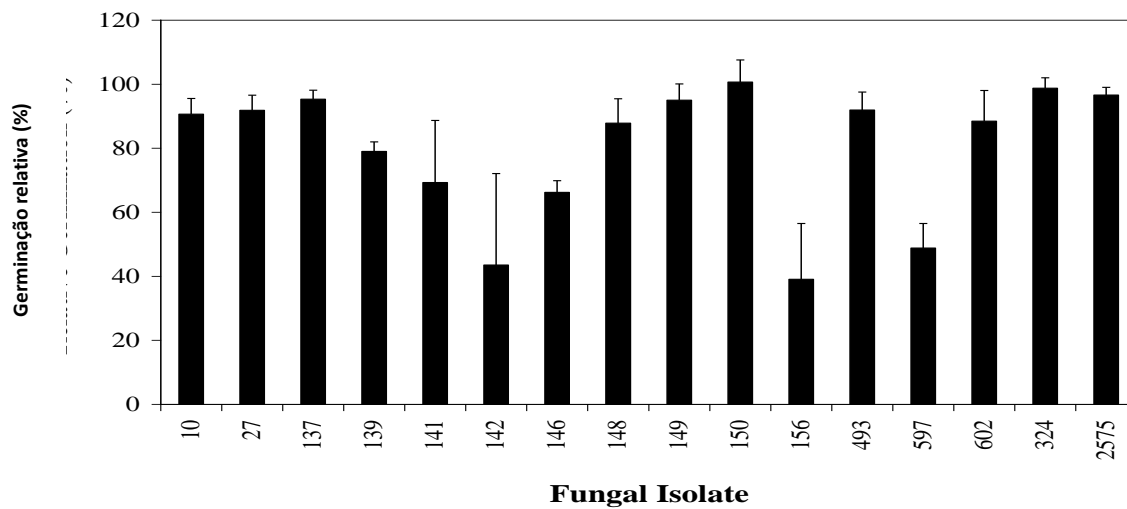
Observamos que *M. rileyi* isolado CNPSo-Mr 142 (o menos tolerante) também não germinou acima de 60% no tratamento de controle, sem ser exposto à radiação UV-B (Figura 4) e quando exposto por três horas à radiação UV menos de 10% da conídios germinados foram encontrados (Figura 4).

Um dendrograma, obtido a partir de análises de cluster baseadas em percentual de germinação conidial, dividiu as espécies de fungos em três grupos com base na tolerância à radiação ultravioleta (Figura 2). Os isolados de fungos mais tolerantes foram ARSEF 324 e CNPSo-Mr 150 (Figura 2 grupo 2). Os isolados CNPSo-Mr 156, o CNPSo-Mr 142, o CNPSo-Mr 141 e o CNPSo-Mr 597 foram os menos tolerantes à radiação UV-B (Figura 2 grupo 3). Nove isolados de *M. rileyi* teve média tolerância (Figura 2 grupo 1). semelhante ao fungo *M. robertsii* (ARSEF 2575), que é bem conhecida por ter tolerâncias moderadas à radiação UV-B (Braga et al., 2001; Dias et al., 2018; Rangel e Roberts, 2018).

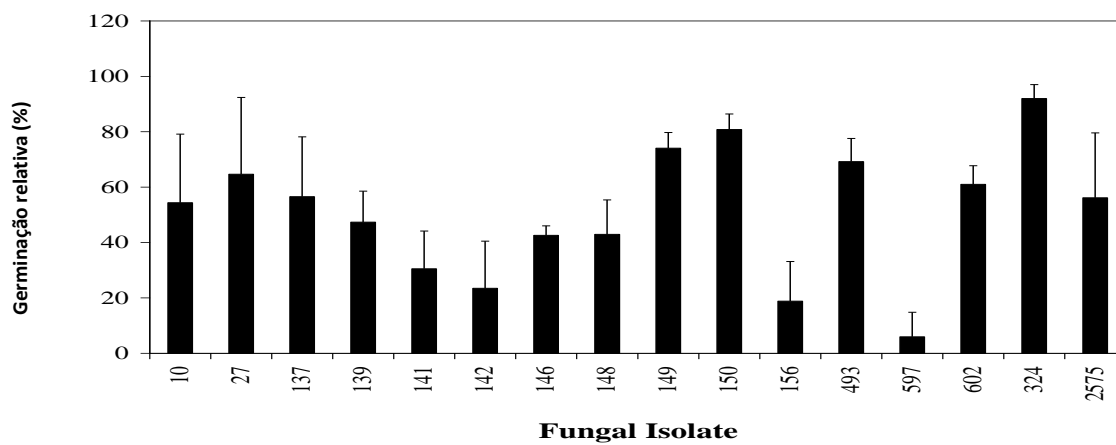
Figura 4: Germinação conidial média de 16 espécies de fungos entomopatogênicos após exposição à radiação UV-B para 0 (controle), 1, 2 e 3 h. Após a irradiação, as placas foram mantidas a 26 C no escuro. As barras de erro são desvio -padrão .



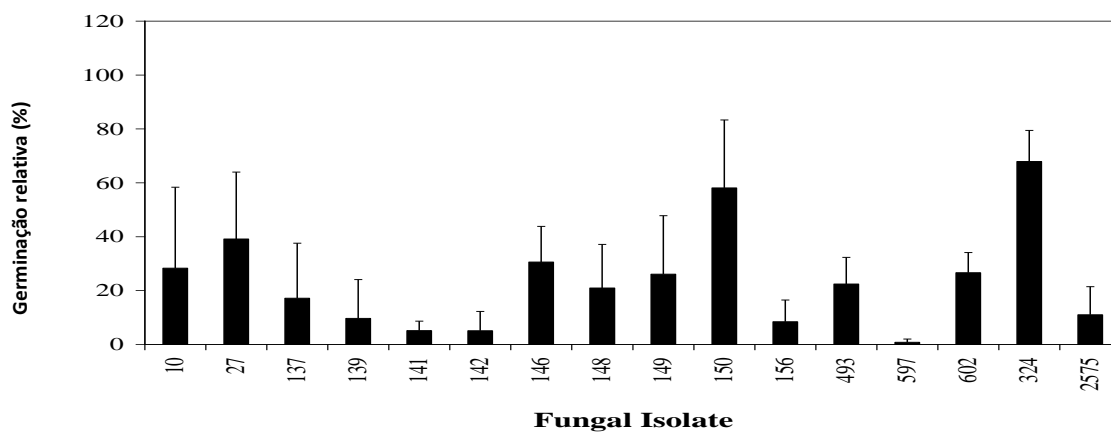
## 1 h UV-B



## 2 h UV-B



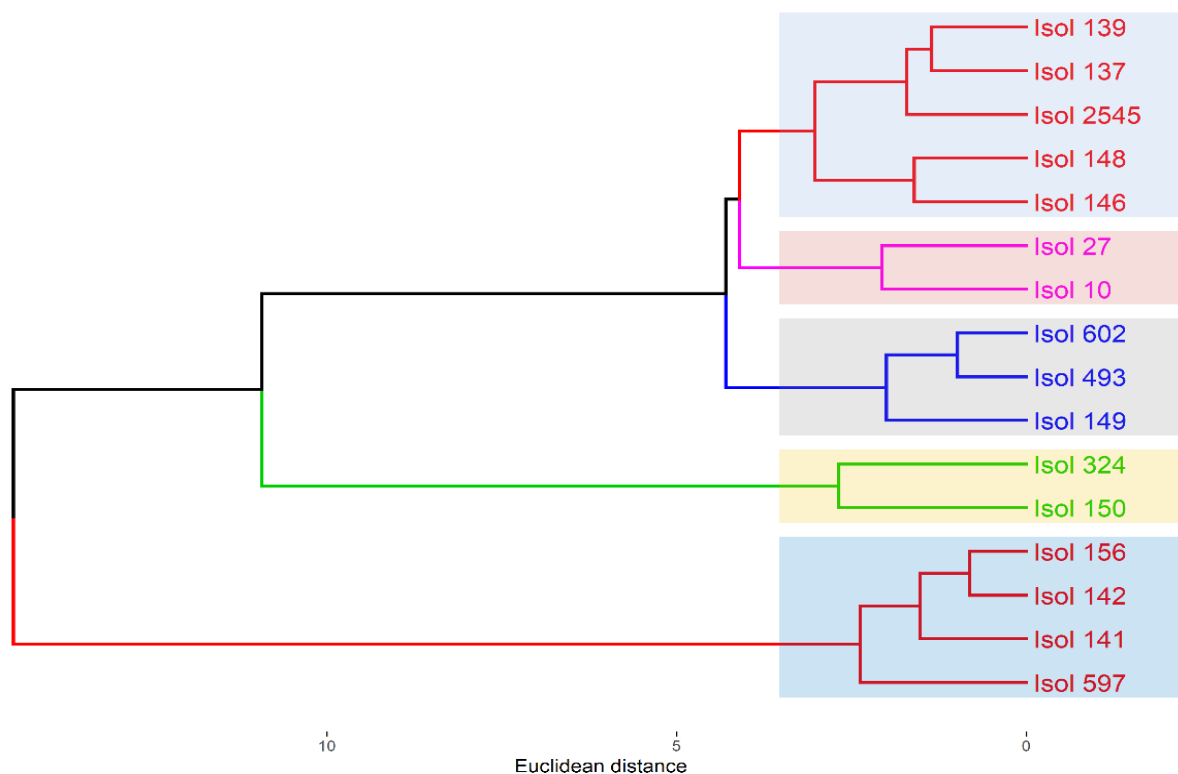
## 3 h UV-B



O conhecimento sobre a tolerância de conídios à radiação UV é importante para compreender sua sobrevivência e persistência ambiental quando conidia fúngica é aplicada no campo para controlar pragas de insetos (Braga et al., 2001; Moore et al., 1993; Rangel e Roberts, 2018; Santos et al., 2011). Neste estudo, constatamos que o isolado CNPSO-Mr 150 de *M. rileyi* é o mais tolerante do que todos os outros *M. rileyi* isolados e, portanto, poderá ser usado para produção massal e aplicação na agricultura. Entretanto, experimentos de avaliação de virulência deverão ser realizados.

O dendrograma (Figura 5) foi construído utilizando a distância euclidiana e a associação entre os isolados pelo método de Ward. Os clusters são numerados de acordo com sua tolerância à radiação UV-B e UV-A, com isolados do cluster 1 tendo a menor tolerância, o cluster 2 com tolerância moderada e o cluster 3 com maior tolerância.

Figura 5: Dendrograma da análise hierárquica do cluster com base nos resultados de viabilidade por cento conidial.



Os isolados *M. rileyi* CNPSo-Mr 10 e CNPSo-Mr 27 ambos com tolerância moderada à radiação UV-B germinaram muito bem após exposição de 2 h, mas após 3 h de irradiação houve uma grande redução da porcentagem de germinação (Figura 3).

Comparando-se o isolado CNPSo-Mr 142 com baixa tolerância a radiação UV-B e o isolado CNPSo-Mr 150 com alta tolerância a radiação UV-B nota-se que CNPSo-Mr 142 em apenas 1 hora está com reduzida germinação comparado com CNPSo-Mr 150 (Figura 4). Nota-se que o isolado CNPSo-Mr 142 teve uma baixa germinação no controle (Figura 4) o que também afetou a germinação dos conídios irradiados após 1, 2 e 3 horas (Figura 4). Após três horas de irradiação do isolado CNPSo-Mr 142 foi observado apenas um conídio germinado no campo de visão do microscópio (Figura 4).

O isolado CNPSo-Mr 156 do fungo *M. rileyi* teve também uma baixa taxa de germinação após 2 e 3 h (Figura 6), que é comparável com a taxa de germinação do isolado CNPSo-Mr 142. O isolado CNPSo-Mr 156 também teve uma baixa taxa de germinação no controle (Figura 6).

Figura 6: A germinação de *Metarhizium rileyi* isolados CNPSo-Mr 10 e CNPSo-CNPSo-Mr 27 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV.

### Controle

Isolado CNPSo-Mr 10

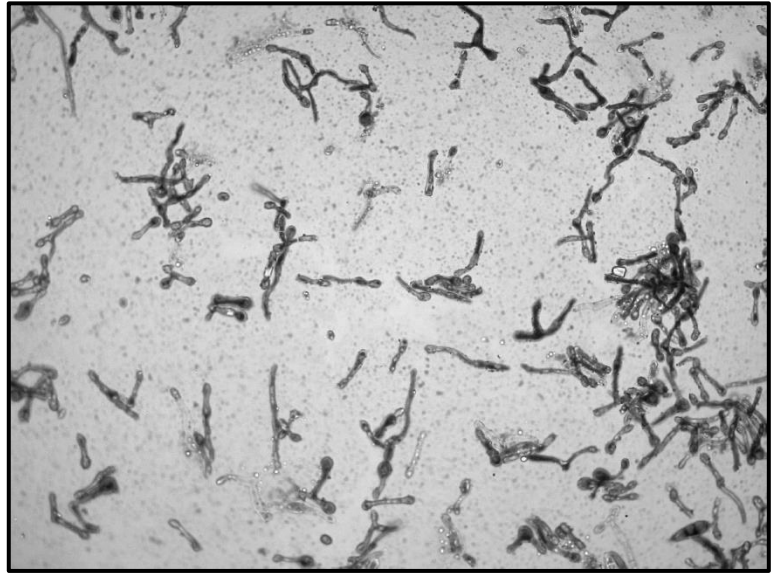
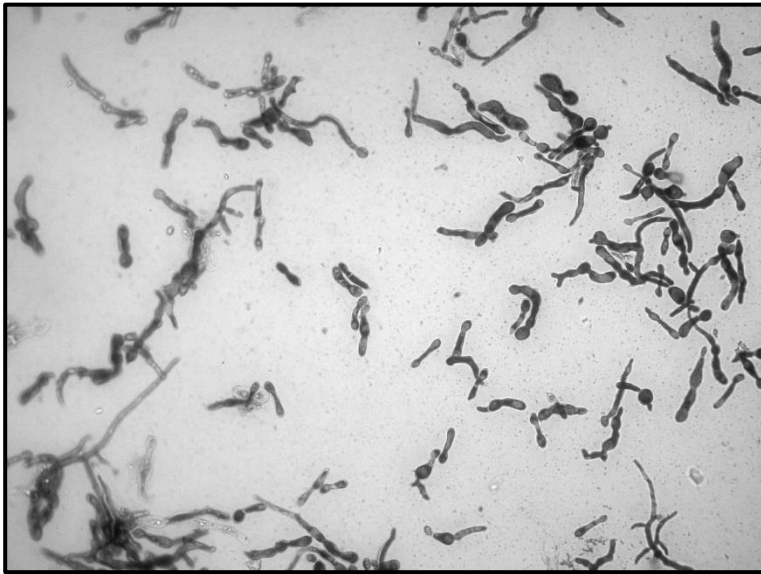


Isolado CNPSo-Mr 27

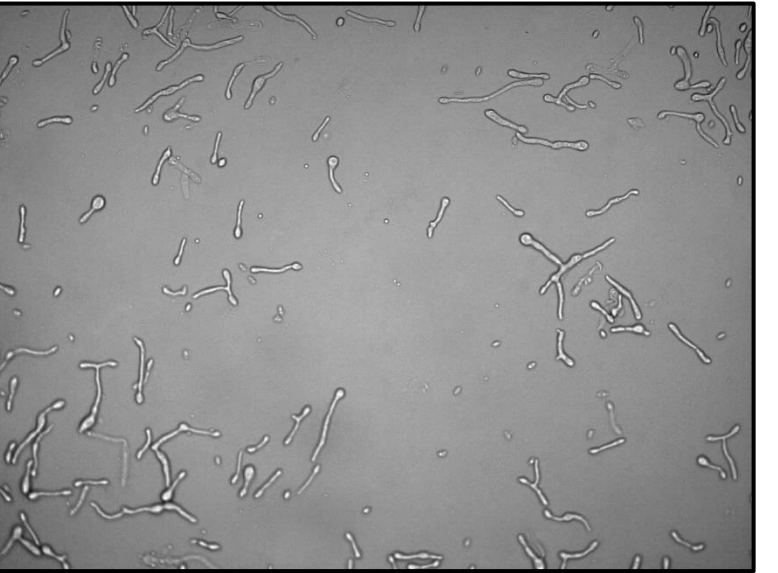


1 h UV-B

18



2 h UV-B



3 h UV-B

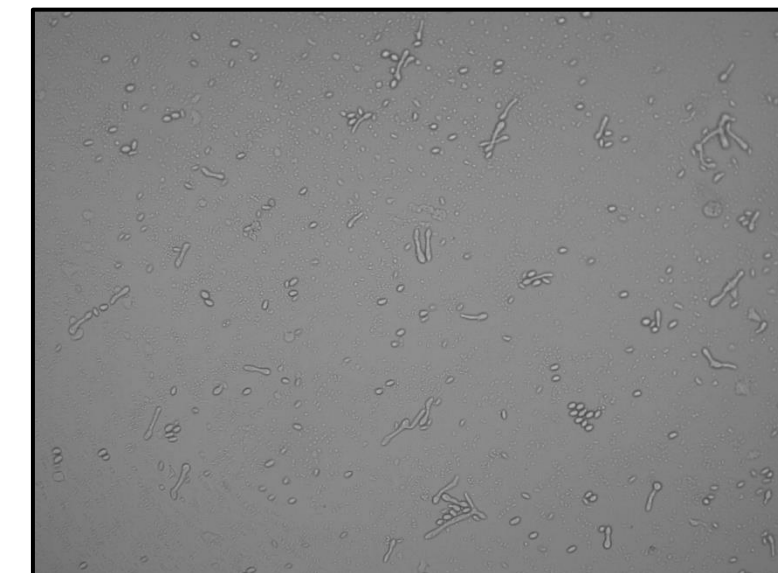
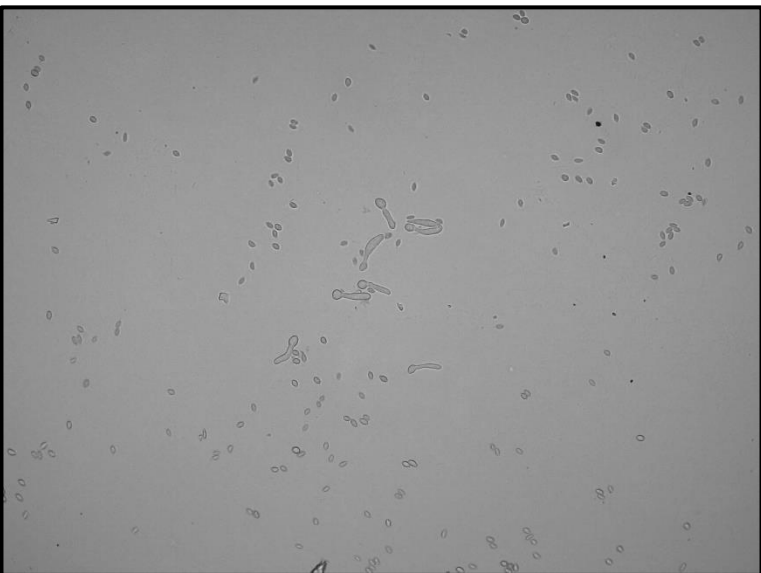
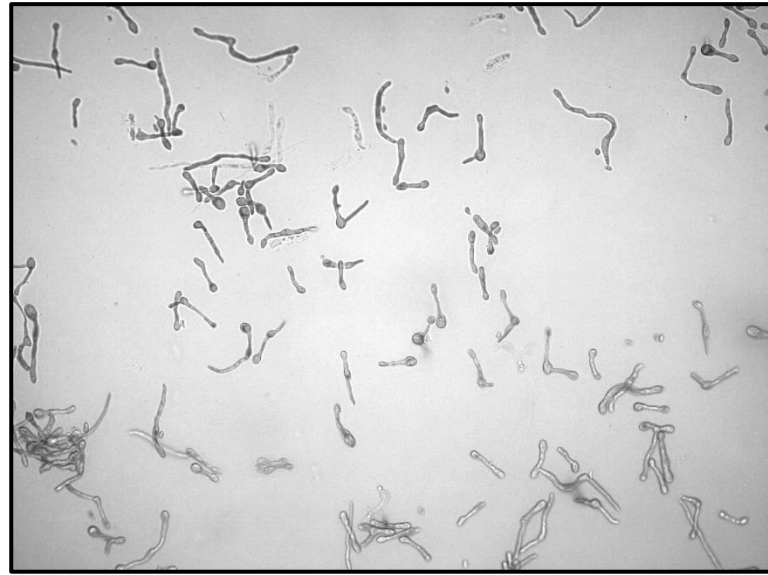
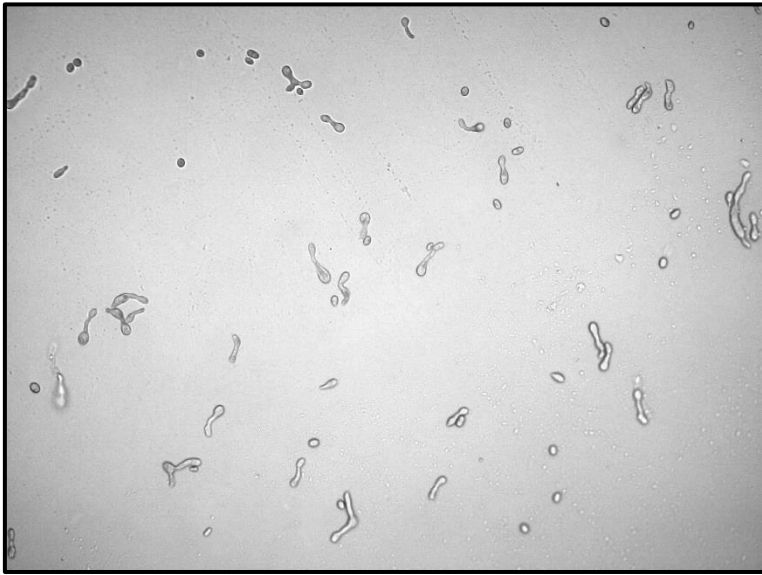


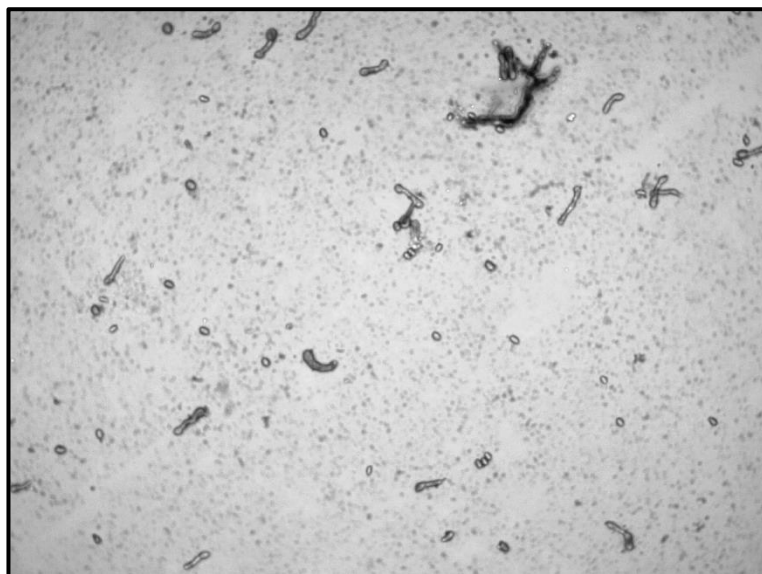
Figura 7: A germinação dos isolados de *Metarhizium rileyi* CNPSO-Mr 142 e CNPSO-Mr 150 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV.

Isolado CNPSO-Mr 142

Isolado CNPSO-Mr 150

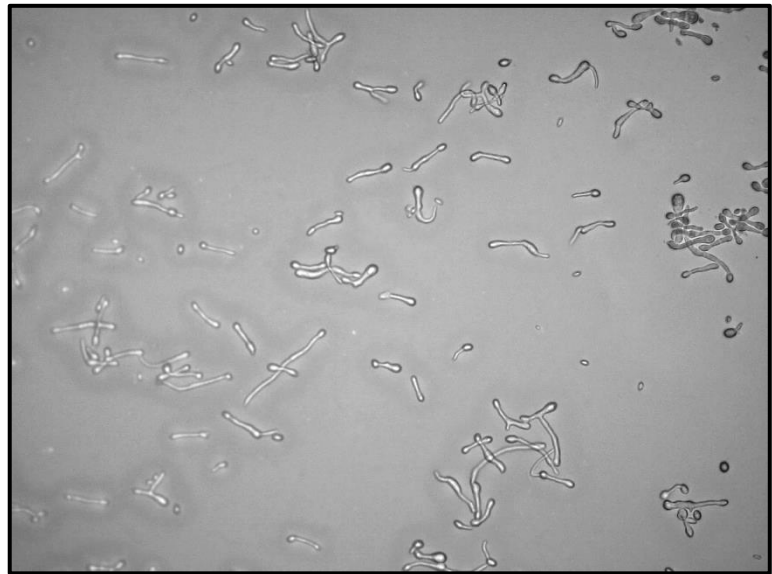


1 h UV-B





**2 h UV-B**



**3 h UV-B**

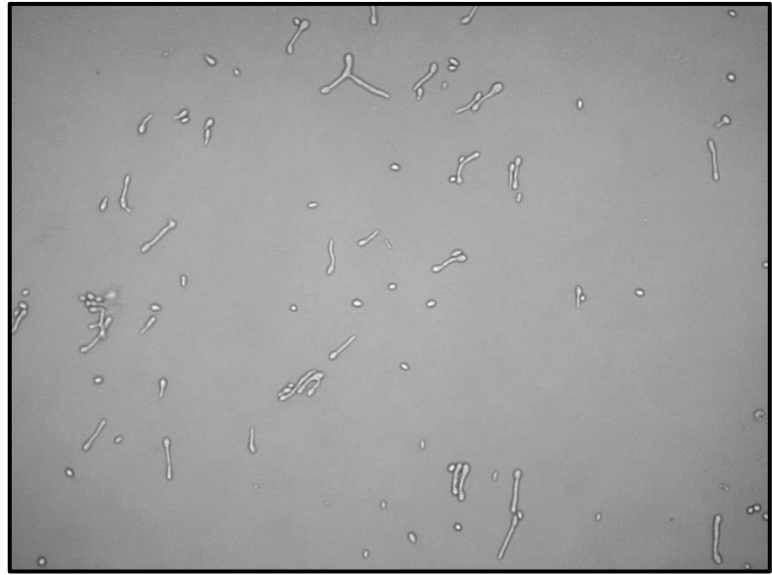
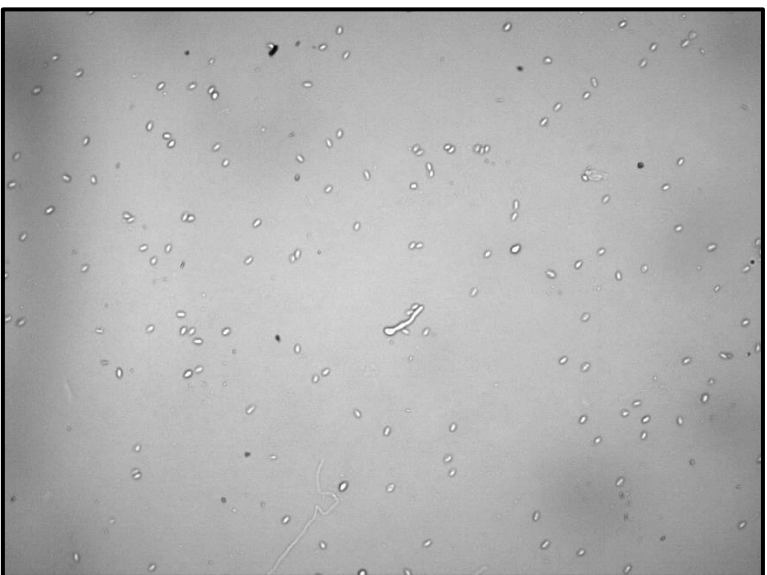
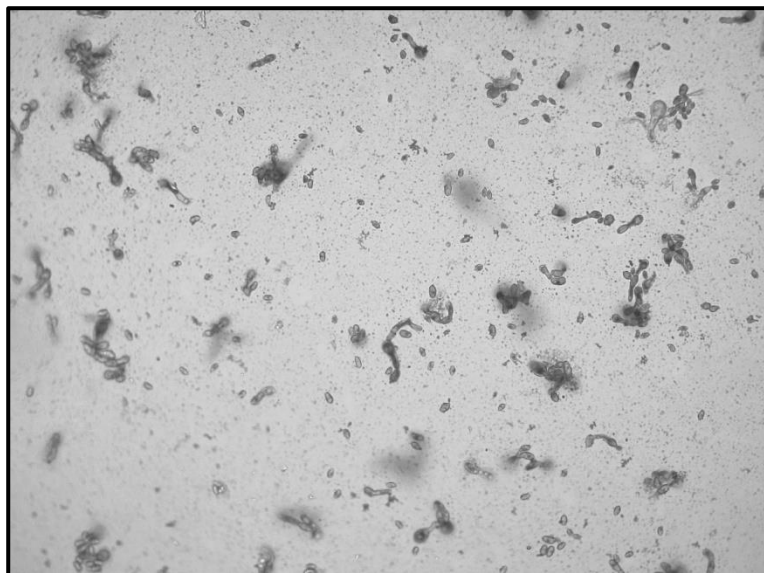
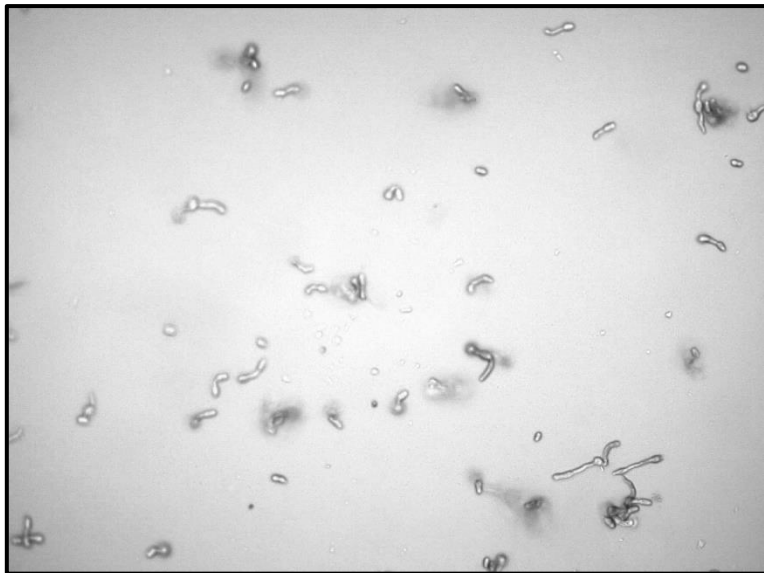


Figura 8: A germinação do isolado de *Metarhizium rileyi* CNPSo-Mr 156 e após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV.

**Controle**

Isolado CNPSo-Mr 156

**1 h UV-B**



**2 h UV-B**

**3 h UV-B**

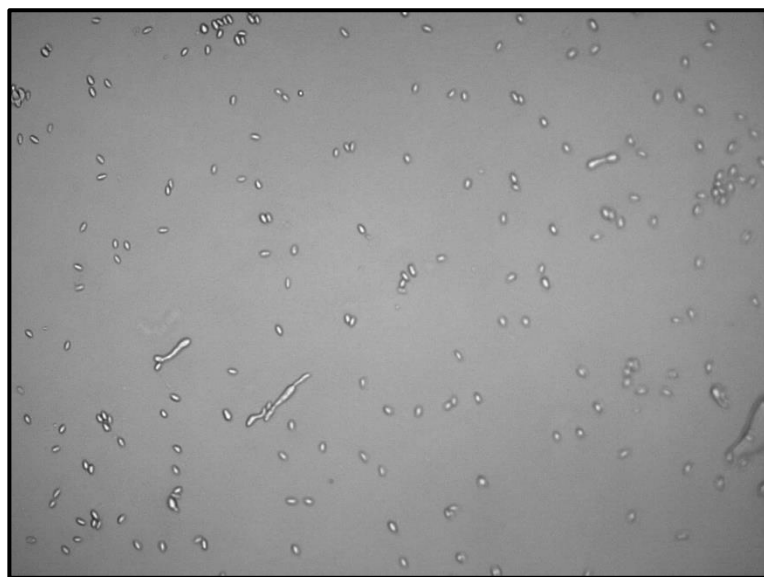
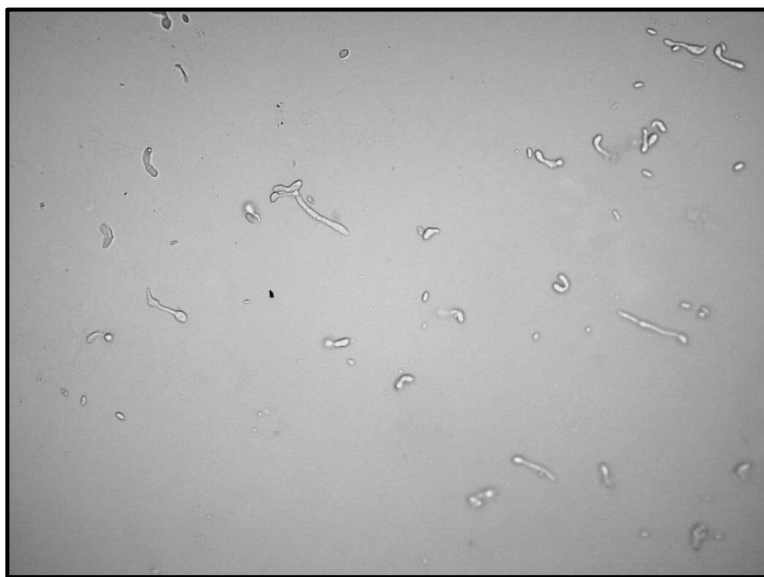
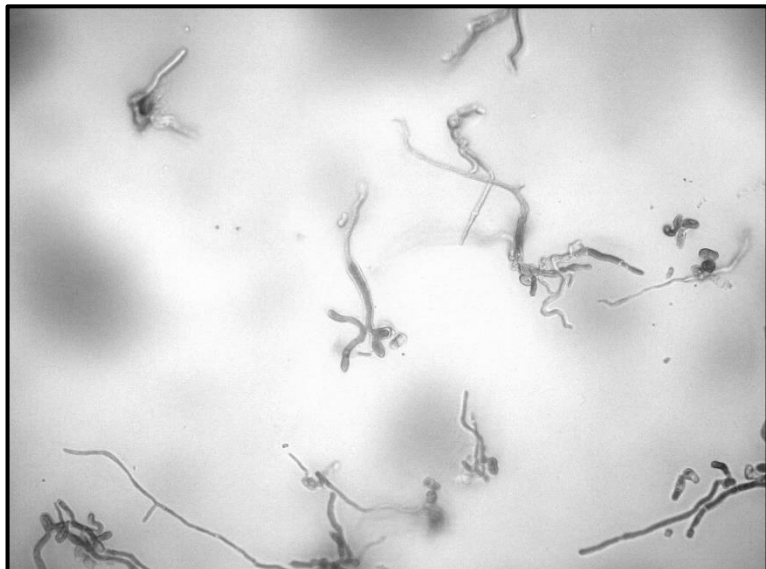


Figura 9: Germinação de *Metarhizium acridum* ARSEF 324 e *Metarhizium robertsii* ARSEF 2575 após 0 (controle) 1, 2 e 3 h de radiação UV-B.

Isolado ARSEF 324

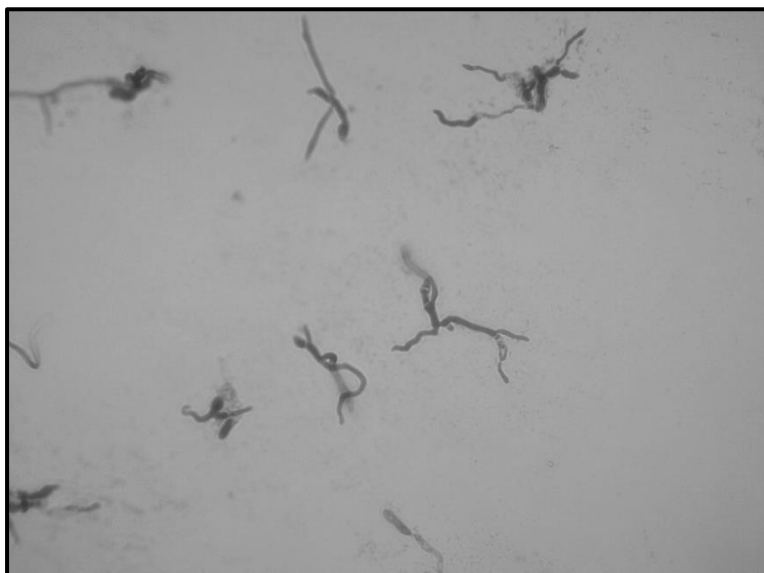
Isolado ARSEF 2575

**Controle**



**1 h UV-B**

**2 h UV-B**



O isolado *M. acridum* ARSEF 324 mostrou alta tolerância após 3 h de exposição UV-B (Figura 9), o que é normal para este isolado (Rangel e Roberts, 2018), no entanto, o *M. robertsii* ARSEF 2575 foi muito mais suscetível do que ARSEF 324 (Figura 4) e isso tem também sido mostrado por vários autores (Braga et al., 2001; Rangel e Roberts, 2018). Estes dois isolados foram inseridos neste estudo para possibilitar a comparação da tolerância à radiação UV-B dos isolados de *M. rileyi*. Interessantemente foi verificado que um dos isolados de *M. rileyi* CNPSo-Mr 150 teve similar tolerância que o fungo *M. acridum* ARSEF 324. Comparação da tolerância a estresses entre espécies de fungos têm sido realizadas em muitos estudos (Araújo et al., 2018; Araújo et al., 2020; Azevedo et al., 2014; Dias et al., 2018; Lima et al., 2021; Santos et al., 2011). Por exemplo Santos et al. (2011) verificou a tolerância à radiação UV-B de vários isolados do gênero do fungo *Tolypocladium* e notou que o fungo *M. robertsii* ARSEF 2575 foi duas vezes mais tolerantes que os isolados do gênero de *Tolypocladium*.

## 6 CONCLUSÃO

Em suma, a maioria dos isolados *M. rileyi* pode suportar acima de 50% da sobrevivência após 1 ou 2 h de exposição à radiação UV-B, embora alguns isolados sejam muito suscetíveis a este tempo de irradiação. No entanto, após 3h de exposição, a exposição causou grande redução da germinação abaixo de 40% para todos os isolados, com exceção do CNPSo-Mr 150 e ARSEF 324 (Figura 9).

Corrobora-se que houve redução na germinação dos isolados de *Metarhizium* quando expostos à radiação ultravioleta. Mesmo algumas espécies sendo mais resistentes à ação da radiação ultravioleta, houve uma queda significativa.

Conclui-se que a exposição à radiação solar pode reduzir a eficácia de fungos patógenos de insetos para o controle biológico de insetos prejudiciais à agricultura.

## 7 REFERÊNCIAS

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. Respostas de fungos entomopatômicos ao mutagen 4-nitroquinolina 1-óxido. *Fúngico Biol-Reino Unido* 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 como determinante da ecologia microbiana: Um estudo de fungos filogeneticamente diversos. *Biol Fúngico* 124, 273-288.

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 Biology* 122, 621-628.

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.

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.

Alves, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: Controle Microbiano de Insetos, Alves, S. B. 245 editor. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ – Piracicaba/SP. 1998. p. 246 289-371.

Binneck, E., Lastra, C.C.L., Sosa-Gomez, D.R., 2019. Sequência de genoma de *Metarhizium rileyi*, um agente de controle microbiano para lepidoptera. *Leilao de Microbiol* 8. 10.1128/MRA.00897-19.

Bell, J.V. 1975. Production and pathogenicity of the fungus *Spicaria rileyi* from solid and liquid media. *J. Invertebr. Pathol.* 26: 129-130.

Bueno, Adeney de Freitas et al . Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. *Cienc. Rural, Santa Maria* ,v. 47,n. 6, e20160829, 2017.

Boucias, D., Stokes, C., Suazo, A., Funderburk, J., 2000a. Análise AFLP do entomopatogen *Nomuraea rileyi*. *Mycologia* 92, 638-648. 10.1080/00275514.2000.12061204.

Boucias, D.G., Schoborg, E.A., Allen, G.E., 1982. A suscetibilidade relativa de seis espécies noctuidas à infecção por *Nomuraea rileyi* isolada de *Anticarsa gemmatalis*. *Revista de Patologia Invertebrada* 39, 238-240. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(82\)90017-9](https://doi.org/10.1016/0022-2011(82)90017-9).

Boucias, D.G., Tigano, M.S., Sosa-Gomez, D.R., Glare, T.R., Inglis, P.W., 2000b. Propriedades genotípicas do fungo entomopatômico *Nomuraea rileyi*. Controle Biol 19, 124-138. <https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0857>.

Braga, G.U.L., Flint, S.D., Miller, C.D., Anderson, A.J., Roberts, D.W., 2001. Variabilidade em resposta ao UV-B entre espécies e cepas de *metarhizium anisopliae* isolada de locais em latitudes de 61°N a 54°S. Journal of Invertebrate Pathology 78, 98-108. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5048>. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5048>.

Champely, S., Chessel, D., 2002. Medindo a diversidade biológica usando métricas euclidianas. Estatísticas Ambientais e Ecológicas 9, 167-177. [10.1023/a:1015170104476](https://doi.org/10.1023/a:1015170104476).

Devi, Reino Unido, Reineke, A., Rao, U.C., Reddy, N.R., Khan, A.P., 2007. AFLP e estudos de polimorfismo de conformação de fios únicos de recombinação no fungo entomopatômico *Nomuraea rileyi*. Mycol Res 111, 716-725. [10.1016/j.mycres.2007.03.003](https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.003).

Dias, L.P., Araújo, C.A.S., Pupin, B., Ferreira, P.C., Braga, G.Ú.L., Rangel, D.E.N., 2018. A Câmara de Teste de Xenon Q-SUN® para testar tolerâncias realistas de fungos expostos à radiação solar de espectro completo simulado. Fúngico Biol 122, 592-601. [10.1016/j.funbio.2018.01.003](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.01.003).

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.

Edelstein, J.D., Lecuona, R.E., Trumper, E.V., 2004. Seleção de mídia cultural e avaliação in vitro do desenvolvimento dependente da temperatura de *Nomuraea rileyi*. Entomologia neotropical 33, 737-742. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2004000600011>.

Faria, M.R., Wraight, S.P., 2007. Mycoinsecticides e mycoacaricides: Uma lista abrangente com cobertura mundial e classificação internacional de tipos de formulação. Controle Biol 43, 237-256.

Fargues, J., M.S. Goettel, N. Smits, A. Ouedraogo & M. Rougier. 1997. Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. Mycologia 89: 383-392.

Ferreira, D.F., 1999. SISVAR 4.3. Sistema de análises estatísticas, CD-ROM ed. Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, MG, Brazil.

Ferreira, D.F., 2011. Sisvar: um sistema de análise estatística de computadores. Ciência e Agrotecnologia 35, 1039-1042.

Fronza, E., Specht, A., Heinzen, H., de Barros, N.M., 2017. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* como agente de controle biológico. *Biocontrol Ciência e Tecnologia* 27, 1243-1264. 10.1080/09583157.2017.1391175.

Gazzoni, D.L., D.R. Sosa Gómez, F. Moscardi, C.B. HoffmanCampo, B.S. Correa-Ferreira, L.J. de Oliveira, & I.C. Corso. 1994. Insects, p.81-108. In EMBRAPA-CNPSo, FAOUN, Rome (eds.). *Tropical soybean: Improvement and production*. Plant Production and Protection Series, 262p.

Goettel, M.S. & D.W. Roberts. 1991. Mass production formulation and field application of entomopathogenic fungi, p. 232-238. In C.J. Lomer & C. Prior (eds.). *Biological control of locusts and grasshoppers*. Wallingford, UK, 256p

Grijalba, E.P., Espinel, C., Cuartas, P.E., Chaparro, M.L., Villamizar, L.F., 2018. *Metarhizium rileyi* biopesticida para controlar *Spodoptera frugiperda*: Estabilidade e atividade inseticida sob condições de casa de vidro. *Fúngico Biol* 122, 1069-1076. 10.1016/j.funbio.2018.08.010.

Hatting, J.L., Brand, J., Thiebaut, N.M., 2013. Controle da Mariposa Clara, *Monopetalotaxis candescens* (Lepidoptera: Sesiidae), em rooibos cultivados, *Aspalathus linearis* (Fabaceae), na África do Sul. *Entomologia Africana* 21, 294-303.

Ignoffo, C. M. et al. Seasonal incidence of the entomopathogenic fungus *Spicaria rileyi* 313 associated with noctuid pests of soybeans. *Journal of Invertebrate Pathology*, Califórnia, 314 v.25 n.1, p. 135-137, 1975.

Janks, C., Rahman, M.N.A., Lim, U.T., 2019. Novo produto de biocontrole, Nomu-Protec, desenvolvido através da fermentação de estado sólido do fungo entomopatômico *Metarhizium (Nomuraea) rileyi*, Congresso Internacional sobre Patologia Invertebrada e Controle Microbiano & 52ª Reunião Anual da Sociedade de Patologia Invertebrada & 17º Encontro do Grupo de Trabalho Microbiano e Nematode Control of Invertebrate Pests, p. 10.

Kish, L.P., R.A. Samson & G.E. Allen. 1974. The genus *Nomuraea* Moubanc. *J. Invertebr. Pathol.* 24: 154-158.

Lacey, L.A., R. Frutos, H.K. Kaya & P. Vail. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biol. Control* 21: 230-248.

Lima, A. R. et al. Ocorrência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson na *Spodoptera* 324 cosmioide (Walk.) 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) em Chapadão do Sul-MS. *Tecnologia & 325 Ciência Agropecuária*, João Pessoa, v.9, n.2, p.57-59, 2015.

Lima, D.M.C.G., Costa, T.P.C., Emri, T., Pócsi, I., Pupin, B., Rangel, D.E.N., 2021. Fungal tolerance to Congo red, a cell wall integrity stress, as a promising indicator of ecological niche. *Fungal Biology* 125, 646-657.

Li, Z.Z., Alves, S.B., Roberts, D.W., Fan, M.Z., Delalibera, I., Tang, J., Lopes, R.B., Faria, M., Rangel, D.E.N., 2010. Controle biológico de insetos no Brasil e na China: história, programas atuais e razões para seus sucessos utilizando



fungos entomopatômicos. *Biocontrol Sci e Technol* 20, 117-136. 10.1080/09583150903431665.

Lopes, Maria Inez Lopes e; BARROS, Neiva Monteiro de. Virulência de conídios armazenados do fungo *Nomuraea rileyi* à lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. *Cienc. Rural*, Santa Maria , v. 25,n. 2,p. 197-200, 1995.

Lima, D.M.C.G., Costa, T.P.C., Emri, T., Pócsi, I., Pupin, B., Rangel, D.E.N., 2021. Tolerância fúngica ao vermelho congolês, um estresse de integridade da parede celular, como um indicador promissor de nicho ecológico. *Fúngico Biol-Reino Unido* 125, 646-657. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.03.007>.

Lopes, R.B., Sosa-Gómez, D.R., Oliveira, C.M., Sanches, M.M., de Souza, D.A., Benito, N.P., Schmidt, F.G.V., Faria, M., 2020. Eficácia de uma formulação à base de óleo que combina *metarhizium rileyi* e nucleopolyhedrovírus contra pragas lepidópteras de soja. *Revista de Entomologia Aplicada* 144, 678-689. <https://doi.org/10.1111/jen.12787>.

Milner, R.J., Huppatz, R.J., Swaris, S.C., 1991. Um novo método para avaliação da germinação de *Metarhizium conidia*. *J. Invertebr. Pathol.* 57, 121-123.

Moore, D., Bridge, P.D., Higgins, P.M., Bateman, R.P., Prior, C., 1993. Danos de radiação ultravioleta ao *metarhizium flavoviride* conidia e a proteção dada por óleos vegetais e minerais e protetores solares químicos. 122, 605-616.

Morrow, B.J., Boucias, D.G., Heath, M.A., 1989. Perda de virulência em um isolado de um fungo entomopatômico, *Nomuraea rileyi*, após passagem *in vitro* serial. *Revista de Entomologia Econômica* 82, 404-407. 10.1093/jee/82.2.404.

Quedraogo, A., J. Fargue, M.S. Goettel & C.J. Lomer. 1997. Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathol.* 137: 37-43.

Quaite, F.E., Sutherland, B.M., Sutherland, J.C., 1992a. Espectro de ação para danos de DNA em alfafa diminui o impacto previsto do esgotamento do ozônio. *Natureza* 358, 576-578.

Quaite, F.E., Sutherland, B.M., Sutherland, J.C., 1992b. Quantitação de dimers de pirimidina no DNA de mudas de alfafa irradiadas UVB (*Medicago sativa* L.). *App. Eletroforese teórica* 2, 171-175.

Rangel, D.E.N., Anderson, A.J., Roberts, D.W., 2006. O crescimento da *anisoplia metarhizium* em fontes de carbono não preferidas produz conidia com maior tolerância UV-B. *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., 2008. Avaliando o estresse físico e nutricional durante o crescimento micelial como indutores de tolerância ao calor e radiação UV-B em *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., Flint, S.D., Anderson, A.J., Roberts, D.W., 2004. Variações na tolerância UV-B e velocidade de germinação de *Metarhizium anisopliae* conidia produzida em substratos artificiais e naturais. Revista de Patologia Invertebrada 87, 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2004.06.007>.

Rangel, D.E.N., Roberts, D.W., 2018. Possível fonte da alta tolerância uv-B e térmica do *Acridum de Metarhizium* (isolado ARSEF 324). J. Invertebr. Pathol. 157, 32-35. 10.1016/j.jip.2018.07.011.

Rizzo, H.F. & F.R. La Rossa. 1994. Aspectos morfológicos y biológicos de una especie argentina poco conocida, *Plusia bonaerensis* Berg. (Lep. Noctuidae). Rev. Fac. Agron. 14: 13-16.

Santos, M.P., Dias, L.P., Ferreira, P.C., Pasin, L.A., Rangel, D.E.N., 2011. Atividade fria e tolerância do fungo entomopatômico *Tolypocladium* spp. à irradiação UV-B e calor. Journal of Invertebrate Pathology 108, 209-213. 10.1016/j.jip.2011.09.001.

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.

Sneath, P.H., Sokal, R.R., 1973. Taxonomia numérica: Os princípios e a prática da classificação numérica. W.H. Freeman, São Francisco.

Sosa-Gomez, D.R., Lastra, C.C., Humber, R.A., 2010. Uma visão geral dos fungos associados ao artrópode da Argentina e do Brasil. Mycopathologia 170, 61-76. 10.1007/s11046-010-9288-3.

Souza, D.A., Oliveira, C.M., Tamai, M.A., Faria, M., Lopes, R.B., 2021. Primeiro relatório sobre a ocorrência natural de fungos entomopatômicos em populações da froça *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae): Identificações patógenas e sua incidência nas culturas de milho. Fúngico Biol 125, 980-988. 10.1016/j.funbio.2021.08.004.

Soza-Gómez, D.R., da Silva, J.J., 2002. Documentos 188: Fungos Entomopatogênicos: Catálogo de Isolados, in: Soja, E. (Ed.). EMBRAPA, Londrina, PR, p. 32.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; DELPIN, K.E. ; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. Neotropical Entomology, v. 32, p. 287-291, 2003.

Sosa Gómez, D.R., M.L. Vera & A.J. Nasca. 1990. Producción de conidios de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson y su virulencia en orugas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner. CIRPON Rev. Invest. VIII: 79-84.

Sujii, Edison R., Tigano, Myrian S., Carvalho, Vanessa A. Cinética da Esporulação e Viabilidade de Conídios de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson

sobre Cadáveres da Lagarta-da-Soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), em Condições de Campo. Brasília, DF, 2002.

StatSoft, 2010. STATISTICA, 10 ed. DELL Software.

Thomas, M.B. & N.E. Jenkins. 1997. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviridae* and virulence to the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. Mycol. Res. 101: 1469-1474.

Thorvilson, H.G. & L.P. Pedigo. 1984. Epidemiology of *Nomuraea rileyi* in *Plathypena scabra* populations from Iowa soybeans. Environ. Entomol. 13: 1491-1497.

Vimala Devi, P.S. 1994. Conidia production of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* and its evaluation for control of *Spodoptera litura* (Fab) on *Ricinus communis*. J. Invertebr. Pathol. 63: 145-150.

Vimala Devi, P.S., A. Chowdary & Y.G. Prasad. 2000. Costeffective multiplication of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson. Mycopathol. 151: 35-39.

ANEXO A

