



ESTÁGIOS DA FASE REPRODUTIVA DA RELAÇÃO ARACNOPATOGÊNICA MACROPHYES PACOTI POR GIBELLULA SP. : CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CRIAÇÃO DE FICHA DE CAMPO

Julie Alves¹
Fláido Araújo²
Emily Fonseca³
Joher Sobczak⁴

RESUMO

Dentre os fungos entomopatogênicos, o gênero *Gibellula* destaca-se, por conta de sua especificidade ao hospedeiro, sendo exclusivamente encontrado em aracnídeos. No Ceará, esses fungos são encontrados na Serra de Baturité. Nessa região já é registrada a ocorrência do parasitismo de *Macrophyes pacoti* por *Gibellula* sp., que ao parasitar a aranha recobre o corpo do hospedeiro parcial ou integralmente com suas estruturas de reprodução. Estudos já desenvolvidos, sugerem os termos “novo”, “maduro” e “velho” para descrever variações morfológicas da fase reprodutiva, embora pouco explorados. Espera-se que exista uma variação significativa no padrão de cor, aspectos morfológicos, e outros aspectos da biologia desta interação, que estejam relacionados de acordo com a progressão do estágio reprodutivo do fungo, que precisam ser investigadas e melhor padronizadas. O presente trabalho propõe renomear esses termos e sugerir classificá-los como estágios da fase reprodutiva do fungo, através de uma tabela de campo, que divide em três estágios a fase reprodutiva, caracterizando as diversas formas que a interação aracnopatogênica *Macrophyes pacoti* por *Gibellula* sp. se expressa na natureza. As coletas foram realizadas em uma área de floresta da APA (Área de Proteção Ambiental) da Serra de Baturité, Ceará, Brasil. Sendo 100 o N amostral de aranhas parasitadas coletadas, os dados foram analisados, e estabelecido a presente divisão: estágio imaturo, estágio maduro e estágio Senil. Para identificação de cada estágio, observou-se características como coloração; preservação do hospedeiro; estruturas reprodutivas e massa abdominal. A partir dos resultados obtidos, foi possível apontar as características mais evidentes em cada estágio, e que podem ser utilizadas como estratégia de diferenciação na identificação dos mesmos.

Palavras-chave: Estágios reprodutivos; Estruturas reprodutivas; Fungos Entomopatogênicos.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências exatas e da natureza, Discente, julie.eric49@gmail.com¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências exatas e da natureza, Discente, flaidodasilvabizi@gmail.com²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências exatas e da natureza, Discente, emilyfonsec@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências exatas e da natureza, Docente, jobczak@unilab.edu.br⁴



INTRODUÇÃO

Estima-se que existam aproximadamente de 2.8 a 3.8 milhões de espécies de fungos no mundo (HAWKSWORTH, 2017). Kirk et al. (2008) aponta que desse número total, são descritas aproximadamente 99.000 espécies de fungos. Contudo sabe-se que, apenas um grupo de 750 a 1000 espécies, colocados em mais de 100 gêneros são conhecidos como fungos entomopatogênicos (ST. LEGER & WANG, 2010). Sendo os artrópodes seu grande grupo alvo, esses organismos utilizam o corpo do seu hospedeiro para se desenvolver e manter o ciclo reprodutivo sempre constante (DEVOTTO et al., 2000).

O gênero *Gibellula* destaca-se nesse tipo de interação, por conta de sua especificidade ao hospedeiro, sendo exclusivamente encontrado em aranhas e opiliões (JOHNSON et al., 2009). Esse tipo de relação pode também ser denominada como relação aracnopatogênica (COSTA, 2014). Pertencentes ao filo Ascomycota, ordem Hypocreales, sendo relacionados com *Cordyceps* sensu lato em virtude de parasitarem artrópodes (Evans, 2013). Esses indivíduos em sua maioria apresentam estruturas de reprodução espalhadas no micélio, as quais são denominadas conidioma. Os conidiomas, quando agrupados, denominam-se sinêmio. Os sinêmios possuem conidióforos densamente unidos, responsáveis pela formação dos conídios, unidades infectivas com função de disseminação, capazes de formar novas células (Kirk et al. 2008).

Após a infecção do artrópode pelo conídio do fungo, ele começa a se desenvolver dentro de seu corpo, inicialmente como células únicas (hifas). Que após germinação proliferam dentro da hemocele, músculos ou outros tecidos do hospedeiro para que o sistema do mesmo entre em colapso de forma que ele morra depois. Denominamos esta fase inicial como somática, que tem as funções de absorção, assimilação e fixação do fungo no hospedeiro (GARCÉS DE GRANADA et al, 2003).

Quando em condições de temperatura e umidade favoráveis, as hifas do fungo conseguem atravessar o tegumento do inseto, geralmente em regiões menos esclerosadas (MORA, 2015), ocorrendo a emergência do fungo em direção ao exterior, através de estruturas produtoras de esporos compactas e eretas (sinêmio e conidióforos) (Samson & Evans, 1992). Uma vez que estas estruturas atravessam o tegumento, saem da fase somática e começam o processo de esporulação (fase reprodutiva) (CAÑEDO & AMES, 2004).

No Ceará, esses fungos são encontrados na Serra de Baturité. Nessa região já é registrada a ocorrência do parasitismo de *Macrophytes pacoti* por *Gibellula* sp.. Arruda et.al. (2021) descreve que ao parasitar a aranha *Macrophytes pacoti* o fungo recobre o corpo do hospedeiro parcial ou integralmente com suas estruturas de reprodução, que se caracterizam como sendo um micélio amarelo-dourado a alaranjado. Possuindo ainda um micélio multisseptado, verrugoso, que se unem num enovelado de hifas dando origem aos sinêmios. Estes, por sua vez, são espalhados por todo corpo do hospedeiro, com uma haste longa e robusta, de cor amarelo-dourado a alaranjado com conidióforos brancos formados apenas no ápice (ARRUDA et al., 2021).

No trabalho de Arruda et al. (2021), surge pela primeira vez as sugestões dos termos “novo”, “maduro” e “velho” para descrever variações morfológicas da fase reprodutiva. Apesar destes estudos recentes envolvendo aspectos de descrição e ecologia desta interação, ainda não se tem uma descrição aprofundada sobre as características morfológicas do crescimento e reprodução do fungo no corpo do hospedeiro. Entretanto, espera-se que exista uma variação significativa no padrão de cor, aspectos morfológicos, e outros aspectos da biologia desta interação, que estejam relacionados de acordo com a progressão do estágio reprodutivo do fungo, que precisam ser investigadas e melhor padronizadas.

Compreendendo isto, o presente trabalho propõe renomear esses termos e sugerir classificá-los como estágios da fase reprodutiva do fungo, através de uma tabela de campo, que divide em três estágios a fase reprodutiva, caracterizando as diversas formas que a interação aracnopatogênica *Macrophytes pacoti* por *Gibellula* sp. se expressa na natureza e contribuir para os avanços nos estudos ecológicos do gênero *Gibellula*.



METODOLOGIA

2.1 Localização das coletas

As coletas foram realizadas em uma área de floresta da APA (Área de Proteção Ambiental) da Serra de Baturité, Ceará, Brasil. Uma região que se apresenta como exceção no contexto do Estado do Ceará, uma vez que possui enclaves úmidos que apresentam resquícios de mata atlântica, tornando esses ecossistemas refúgios para espécies de floresta Atlântica nordestina dentro dos domínios da Caatinga, sendo classificada como Mata Úmida e Mata Seca do Cristalino (CAVALCANTE, 2005). As temperaturas médias anuais variam entre 19° C e 22°C, com amplitude térmica em torno de 2° C (Semace, 2022). Dentro desta região total, foi selecionada a área da Mata do Purgatório (4° 13' 21.10" S, 38° 53' 35.80" W), localizada no Sítio São Luís, no município de Pacoti-CE.

2.2 Ficha de campo e estágios do fungo

Inicialmente houve a produção de uma ficha de campo, para auxiliar no processo de caracterização dos estágios do fungo na fase reprodutiva. A ficha foi dividida em duas partes: "Características da interação" e "Características morfológicas do fungo". A primeira parte, "Características da interação", foi utilizada para observar a influência do fungo no corpo do hospedeiro. Para isso, foram coletados dados sobre a coloração e preservação dos hospedeiros infectados, presença ou ausência de outros fungos, bem como a massa dos corpos dos hospedeiros infectados. Já a segunda parte, "características morfológicas do fungo" foi direcionada para descrever a morfologia do fungo, nos seus respectivos estágios. Onde foram coletados dados morfológicos das estruturas reprodutivas, como presença e/ou ausência e quantidade sinêmios e conidióforos.

2.3 Coleta de campo

As coletas foram feitas uma vez ao mês no período de Junho de 2021 a Outubro de 2021, através de buscas ativas por aranhas infectadas por *Gibellula* sp. ao longo da Trilha do Purgatório durante o dia, em inspeções cuidadosa na parte inferior de folhas vivas na vegetação. Quando encontrados os corpos das aranhas infectadas, a interação era observada, feitas as medições corporais e os dados relacionados às características morfológicas eram anotados. Posteriormente as aranhas foram cuidadosamente coletadas, e mantidas em tubos plásticos rotulados e transportados para o Laboratório de Ecologia e Evolução da Unilab, para serem analisadas. Ainda em campo, todos os espécimes foram fotografados individualmente com uma câmera NIKON D5100 equipado com uma lente AF-S DX NIKKOR 18-55 mm f/3.5-5.6G VR.

2.4 Análise de dados

Para testar a variância de cada estágio da fase reprodutiva, planilhamos os dados referentes à ficha de coleta no excel. Inicialmente todas as amostras foram identificadas e seus respectivos dados padronizados para melhor distribuição dos resultados. Posteriormente, foram feitas três planilhas separadas, para cada estágio, com os dados de coloração; preservação do hospedeiro; estruturas reprodutivas, para serem analisadas individualmente em relação ao todo. Os dados obtidos individualmente foram convertidos em porcentagem e destacados quais características eram mais expressivas em cada estágio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento reprodutivo é a última fase do estágio infeccioso, e a única que é previamente possível de ser observada em campo pelos pesquisadores que estudam esta interação. Sendo portanto a fase reprodutiva um fator determinante que classifica visualmente um hospedeiro saudável de um infectado. A partir de observações morfológicas, foram descritas as condições de cada estágio da fase reprodutiva da relação *Macrophytes pacoti* por *Gibellula* sp..

3.1 Estágios da fase reprodutiva

-Imaturo

No estágio imaturo, observou-se que as interações se caracterizavam com uma coloração amarelo-dourado a alaranjado, em relação à morfologia do hospedeiro, nesta etapa inicial a aranha ainda se apresenta preservada, havendo ainda a ausência total ou início de brotamento do sinêmio e quando comparada com outros estágios a visualização de conidióforos a olho nu, é quase nula.

-Maduro

O estágio maduro, se apresenta como sendo o mais apto em condições de dispersão do fungo, onde o mesmo a partir de condições ambientais prevalentes, consegue se estabelecer no corpo do hospedeiro e suscetibilizar ao máximo a produção e liberação de esporos, através de estruturas especializadas, como sinêmio e conidióforos. Portanto, essas estruturas são indispensáveis para uma identificação deste estágio. Logo, o estágio maduro se caracteriza com surgimento do sinêmio (1 ou mais), maior fixação do hospedeiro na vegetação (musculatura rígida na vegetação), apresenta uma cor amarelo-dourado a alaranjado e os conidióforos brancos são visíveis.

-Senil

Quando em condições de estágio Senil, há a perda na coloração, onde a mesma perde o amarelo e se mostra em tons mais escuros, a morfologia do hospedeiro é alterada (desidratação e perda de massa) e são observadas poucas estruturas fúngicas, uma vez que em sua maioria são perdidas, isso pode ser explicado pela deficiência que o fungo sofre ao final deste ciclo.

-Hiperparasitado

Há ainda um apontamento relevante observado em campo, de acordo com o desenvolvimento do trabalho é possível sugerir o surgimento de uma condição do estágio Senil, que seria o hiperparasitismo, onde existe a presença de um fungo filamentosso branco recobrendo o corpo da aranha parasitada. Tal relação vai muito além do agente parasita x hospedeiro x ambiente. Nesta relação participam agentes microbianos, presentes no sítio de infecção, podendo ter efeitos positivos ou negativos na relação parasítica (BETTIOL, 1991). A partir das observações feitas em campo podemos supor que a interação que envolve a aranha *Macrophyes pacoti* e o fungo *Gibellula* sp.. podem sofrer um hiperparasitismo no final do seu ciclo reprodutivo. Entretanto, para melhor compreensão, é necessário investir em estudos, que comprovem tal hipótese.

3.2 Ficha de campo e análise dos dados

Foram estabelecidas variáveis morfológicas padronizadas, tanto para caracterizar o fungo como a interação, através da ficha de campo, onde a partir dos dados se era possível estabelecer o estágio da interação. Sendo 100 o N amostral de aranhas parasitadas coletadas, os dados foram coletados, e estabelecido a presente divisão: estágio imaturo, estágio maduro e estágio Senil.

3.2.1 Imaturo

Dentre o número amostral total, 14 foram identificadas como imaturas. Destas, 100% apresentaram coloração amarelo-dourado a alaranjado, logo a cor Ocre não se mostrou presente. Em relação à morfologia do hospedeiro, 100% das amostras apresentaram o corpo preservado. Nenhuma das 14 amostras apresentou a presença de outros fungos. Os dados referente à estrutura reprodutiva do sinêmio mostraram que apenas 15% das amostras apresentou a estrutura, enquanto que 85% mostrou ter a estrutura ausente no seu estágio inicial. Já o conidióforo, se mostrou presente em 93% das amostras coletadas, embora que em pouca quantidade, sendo ausente em apenas 7% das aranhas parasitadas.

3.2.2 Maduro

Em relação à quantidade total de amostras, a interação se mostrou maior no estágio maduro, sendo 57 amostras coletadas. Assim como no estágio imaturo, 100% apresentaram coloração amarelo-dourado a



alaranjado, logo Ocre não se mostrou presente. Em relação a morfologia do hospedeiro, 98% das amostras apresentaram o corpo preservado, onde apenas 2% tiveram a morfologia alterada. Nenhuma das 57 amostras apresentou a presença de outros fungos. A estrutura reprodutiva do sinêmio mostrou-se como sendo uma característica obrigatória na identificação deste estágio, onde 100% das amostras apresentaram a estrutura. Já o conidióforo, se mostrou presente em 98% das amostras coletadas, sendo ausente em apenas 2% das aranhas parasitadas.

3.2.3 Senil

No estágio Senil, foram coletadas 29 amostras. Em relação a este quantitativo, 100% apresentaram coloração Ocre, diferentemente dos estágios anteriores, nenhuma amostra apresentou coloração amarelo-dourado a alaranjado. Em relação a morfologia do hospedeiro, nenhuma das amostras apresentaram o corpo preservado, sendo 100% o número de amostras com a morfologia alterada. Já em relação à presença de outros fungos na amostra parasitada, 59% apresentaram. Os dados referente a estrutura reprodutiva do sinêmio mostraram que 59% das amostras apresentou a estrutura, enquanto que 41% mostrou ter a estrutura ausente no seu estágio inicial. Já o conidióforo, se mostrou presente em 10% das amostras coletadas, sendo ausente na maioria, em 90% das aranhas parasitadas.

3.3 Diferenciação dos estágios

De acordo com os resultados obtidos, o estágio imaturo possui coloração amarelo-dourado a alaranjado, assim como o estágio maduro, entretanto possui como diferenciação dos demais estágios, um corpo preservado e um baixo número ou ausência de sinêmios em seu corpo. Isso se justifica uma vez que, nos primeiros dias de infecção, o fungo quando em contato com os nutrientes provenientes da aranha, investe no crescimento micelial no corpo da aranha, sendo as estruturas reprodutivas formadas por completo posteriormente.

O brotamento da estrutura reprodutiva do fungo (sinêmio), pode ser observado nos momentos finais do estágio imaturo, mas seu crescimento inicial até a sua formação completa é o que melhor caracteriza o estágio maduro, portanto tais estruturas são melhores observadas nesse estágio, sendo considerada sua condição mais expressiva, logo obrigatória.

No parasitismo da *Macrophyes pacoti* por *Gibellula* sp., observamos que no estágio imaturo e maduro ambos possuíam a mesma coloração de amarelo-dourado a alaranjado, e um padrão diferente para o estágio Senil, onde todas as amostras coletadas apresentaram cor Ocre. A pigmentação produzida pelo fungo no corpo do hospedeiro está relacionado com o metabolismo fúngico, já que a maioria dos fungos é consumidor de matéria orgânica e são capazes de produzir metabólitos secundários como ácidos orgânicos e pigmentos (AKILANDESWARI & PRAPEED, 2016), uma vez que os recursos nutritivos são escassos no último estágio, o fungo deixa de produzir a pigmentação. Outra característica importante observada no estágio Senil, seria a alteração morfológica que o hospedeiro sofre ao final do ciclo reprodutivo, onde 100% das amostras coletadas demonstraram ressecamento, perda de massa e membros.

CONCLUSÕES

Os estudos que investigam interações entre aranhas e fungos aracnopatogênicos, são ainda escassos e necessitam de maiores investigações, principalmente a relação apontada neste estudo, uma vez que a espécie *Gibellula* destacada nesta pesquisa seja ainda desconhecida, já que a espécie do hospedeiro foi recém nova registrada, estudos futuros podem comprovar isto.

Logo, todas as investigações que auxiliem a caracterização destas espécies, corroboram em futuras pesquisas na área. A partir deste estudo, é possível apontar as características mais evidentes em cada estágio, e que podem ser utilizadas como estratégia de diferenciação na identificação morfológica desta espécie de fungo



em questão. Conseguimos identificar traços, como a diferença entre a coloração de cada estágio, o ganho e/ou perda das estruturas reprodutivas durante seu ciclo de reprodução, bem como as alterações morfológicas sofridas no corpo da aranha. Dessa forma, abrimos o leque para a investigação de novos trabalhos com esta interação.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC- UNILAB que financiaram essa pesquisa e permitiram que a mesma fosse uma realidade, bem como a assistência de bolsa durante minha graduação.

REFERÊNCIAS

- AKILANDESWARI, P.; PRADEEP, B.V. Exploration of industrially important pigments from soil fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(4): 1631-1643, 2016.
- ARRUDA, I.D.P.; BONILLA-VILLANUEVA, G.A.; FAUSTINO, M.L.; SOBCZAK- MOURA, J.C.M.S.; SOBCZAK, J.F. Behavioral manipulation of the spider *Macrophyes pacoti* (Araneae: Anyphaenidae) by the araneopathogenic fungus *Gibellula* sp. (Hypocreales: Cordycipitaceae). *Canadian Journal of Zoology*, 2021.
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. Jaguariúna: Embrapa, Cnpda, 338p, 1991.
- Cañedo, V & Ames, T. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 2004.
- CAVALCANTE, A. M. B. A Serra de Baturité. Fortaleza: Livro Técnico, 84p, 2005.
- COSTA, P. P. *Gibellula* spp. associadas a aranhas da Mata do Paraíso, Viçosa-MG (M.Sc.). Minas Gerais, Brazil: Universidade Federal de Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Dissertação de mestrado, 2014.
- DEVOTTO, L. M.; GERDING, A.; FRANCE, A. Hongos entomopatógenos: una alternativa para la obtencion de Biopesticidas. *Bioleche*, v. 23, p. 30-33, 2000.
- EVANS, H. C. Fungal pathogens of spiders. In: *Spider Ecophysiology*, pp. 107-121), 2013.
- GARCÉS, G.E.; CORREA, R. M.; COBA, G.B.; OROZCO, A. M.; ZAPATA, L.; ANACONA, C. A.; SABOGAL, S. Morfología y clasificación de los hongos. Universidad Nacional de Colombia, 2003.
- HAWKSWORTH, D.L.; LUCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr*, 2017.
- JOHNSON, D.; SUNG, G.H.; HYWELL-JONES, N. L.; LUANGSA-ARD, J. J.; BISCHOFF, J. F.; KEPLER, R. M.; SPATAFORA, J. W. Systematics and evolution of the genus *Torrubiella* (Hypocreales, Ascomycota). *Mycological Research*, v. 113, p. 279-289, 2009.
- KIRK, P. M.; CANON, P. F.; MINTER, D. W.; STAPLERS, J. A. *Dictionary of the Fungi* (10th ed.), 2008.
- SAMSON, R.A.; EVANS, H.C. New species of *Gibellula* on spiders (Araneida) from South America) *Mycologia*. 84: 300-314, 1992.
- Semace, Superintendência Estadual do Meio Ambiente. Zoneamento ambiental da APA da Serra de Baturité: diagnóstico e diretrizes. Fortaleza, 1992. . Acesso em: 28 de maio de 2022.
- ST. LEGER, R. J.; WANG, C. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve efficacy against insect pests. *Applied of Microbiology and Biotechnology*, v. 85, p. 901-907, 2010.