

**PREDACÃO DE *Arthrobotrys dactyloides* (ASCOMYCOTA: ORBILIACEAE)
SOBRE *Pratylenchus coffeae* (NEMATODA: PRATYLENCHIDAE) EM
INHAME-DA-COSTA**

**ROMERO MARINHO DE MOURA^{1, 2, 3}
VANESSA LOPES LIRA³**

¹ Academia Pernambucana de Ciência Agronômica.

² Academia Brasileira de Ciência Agronômica.

³ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências.

E-mail para correspondência: romeromoura@yahoo.com.br

Resumo: Foi relatada a predação de *Arthrobotrys dactyloides*, fungo que forma armadilhas, sobre *Pratylenchus coffeae*, nematoide parasita de plantas e agente causal da podridão seca do inhame. A gravidade desta doença aumenta drasticamente durante o armazenamento. O fungo foi encontrado se desenvolvendo sobre tecidos de túberas comerciais de inhame da costa, altamente infectados pelo nematoide. Amostras desses tecidos haviam sido previamente submetidas a condições de câmara úmida. O micélio era hialino com hifas ramificadas e septadas. Sobre hifas, eram produzidas as armadilhas, constituídas por anéis constritivos, compostos por três células e formados na parte apical de um pedúnculo mono septado. Vários espécimes de *P. coffeae* foram encontrados aprisionados por anéis. De acordo com as características micológicas que foram analisadas e do processo de predação, o fungo foi identificado como *Arthrobotrys dactyloides*.

Temas para indexação: Biocontrole de nematoides, fitonematoides, fungo nematófago, nematoides do inhame.

**PREDATION OF *Arthrobotrys dactyloides* (ASCOMYCOTA: ORBILIACEAE) ON
Pratylenchus coffeae (NEMATODA: PRATYLENCHIDAE) ON YAM**

Abstract. It was reported the predation of *Arthrobotrys dactyloides*, a trap forming fungus, on *Pratylenchus coffeae*, a plant-parasitic nematode and causal agent of the dry rot of yams. The severity of this disease increases drastically during storage. The fungus was found growing over yam tuber tissues highly infected by the nematode. The mycelium was hyaline, and the hyphae branched, with septa. Along the hyphae three cell constricting rings were formed always on the top of a short one septum stalk. Several specimens of *P. coffeae* were found entrapped by rings. According to the analyzed morphological characteristics of the fungus and the predatory process, the predacious organism was identified as *Arthrobotrys dactyloides*.

Index terms: Nematode biocontrol, plant parasitic nematode, nematophagous fungi, yam nematode.

INTRODUÇÃO

O controle biológico de nematoides por fungos antagônicos tem sido investigado desde o século passado sem muito foco, entretanto, em relação aos aspectos do controle biológico prático (DRECHSLER, 1941). No entanto, nas últimas décadas, foram publicadas diversas revisões sobre o tema abordando também praticidade e aplicabilidade e uma das mais completas foi a de Baker (1987). Nessa publicação, que é básica em termos de conceitos e métodos, foi dada ênfase ao uso dos fungos. Após tantos anos de pesquisas e resultados promissores, muitas informações fundamentais ficaram disponíveis. Por exemplo, quanto ao modo de ação antagônica desses fungos nematófagos, as espécies foram classificadas em quatro categorias: predadoras, endoparasitas, oportunistas (parasitos de ovos, de cistos e de fêmeas sedentárias) e produtoras de metabólitos tóxicos (FERRAZ et al., 2010). Motivados pelos impactos causados à saúde humana e ao meio ambiente pelo uso dos nematicidas na agricultura, os pesquisadores intensificaram os estudos sobre controle biológico de fitonematoides por meio de inimigos naturais, especialmente fungos

predadores (ASKARY, 2015). Do ponto de vista prático e econômico, a viabilidade do controle biológico na Fitonematologia continua incipiente, devido às dificuldades metodológicas para produção massal de inóculo, insuficientes conhecimentos de ecologia microbiana do solo e da dinâmica da decomposição da matéria orgânica.

Entre os fungos predadores de nematoides se encontram espécies do gênero *Arthrobotrys* Corda. Esse gênero possui 130 espécies registradas (INDEX FUNGORUM, 2018). Muitas dessas espécies possuem duas fases distintas no ciclo de vida; uma necrotrófica (saprofitismo), obtendo energia a partir de matéria orgânica morta do solo, e outra biotrófica, quando se nutrem do corpo de nematoides capturados.

O objetivo desta investigação foi descrever a ação predatória de um fungo hifomiceto sobre o nematoide-das-lesões causador da doença “podridão seca do inhame”, o mais importante problema fitossanitário de *Dioscorea* spp. no Nordeste e, formular, de acordo com os resultados obtidos, uma hipótese para controle biológico do fitopatógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

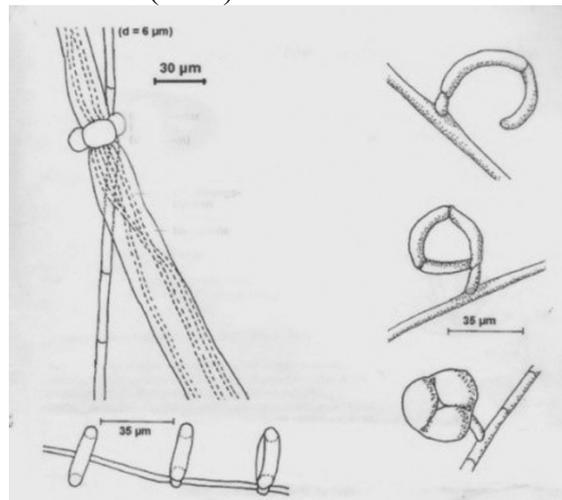
O Laboratório de Fungos Fitopatogênicos e Biocontroladores do Departamento de Micologia, da Universidade Federal de Pernambuco, recebeu rizóforos (antigas túberas comerciais) de inhame-da-costa (*Dioscorea cayenensis* Lam.) infectados pelo nematoide *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filipjev & Stekhoven, para estudos de diagnóstico. Fragmentos infectados pelo nematoide foram adicionados em placa de Petri contendo água destilada e esterilizada, formando-se

condições de câmara úmida, para observações, após sete dias em incubação. Após esse período, foram pesquisados dados com microscópio estereoscópico em todo o material. Em seguida, estruturas fúngicas de colônias que se desenvolveram sobre o material foram transferidas assepticamente para meios de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), para isolamento. Foram preparadas lâminas para microscopia ótica, segundo procedimentos convencionais, sem o uso de corantes. Com foco nas estruturas fúngicas e nos

nematóides observados em diferentes aumentos, foram procedidas microfotografias e micromensurações, por meio de um sistema de aquisição de imagens digitais, constituído por uma câmera digital LEICA, modelo ICC50 HD, acopladas a um microscópio LEICA,

modelo DM 500, associados a um microcomputador, utilizando-se o programa LAS EZ (*Leica Aplicacion Suite*). As observações fúngicas foram submetidas à análise comparativa com os dados de Drechsler (1941) e as de predação com os de Jacobs (2002) (Figura 1).

Figura 1- Estrutura de captura e suas dimensões e modo de predação de *Arthrobotrys dactyloides*. Foto/crédito: W. P. Jacobs (2002).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de incubação de tecidos infectados de inhame-da-costa em câmara úmida, as primeiras observações microscópicas indicaram presença de colônias fúngicas brancas, sobre os tecidos. Por meio da microscopia de luz, foi visto um fungo hifomiceto com estruturas de captura de nematóides, em forma de anéis constritivos (Figura 2 A e B). As colônias eram hialinas, formadas por hifas septadas, muitas portando anéis constritivos separados por espaços de mais ou menos 30µ. Os anéis possuíam três células e se localizavam na extremidade de um pequeno pedúnculo projetado da hifa, contendo um septo. Observações mais detalhadas revelaram espécimes de *P. coffeae* capturados por anéis constritivos

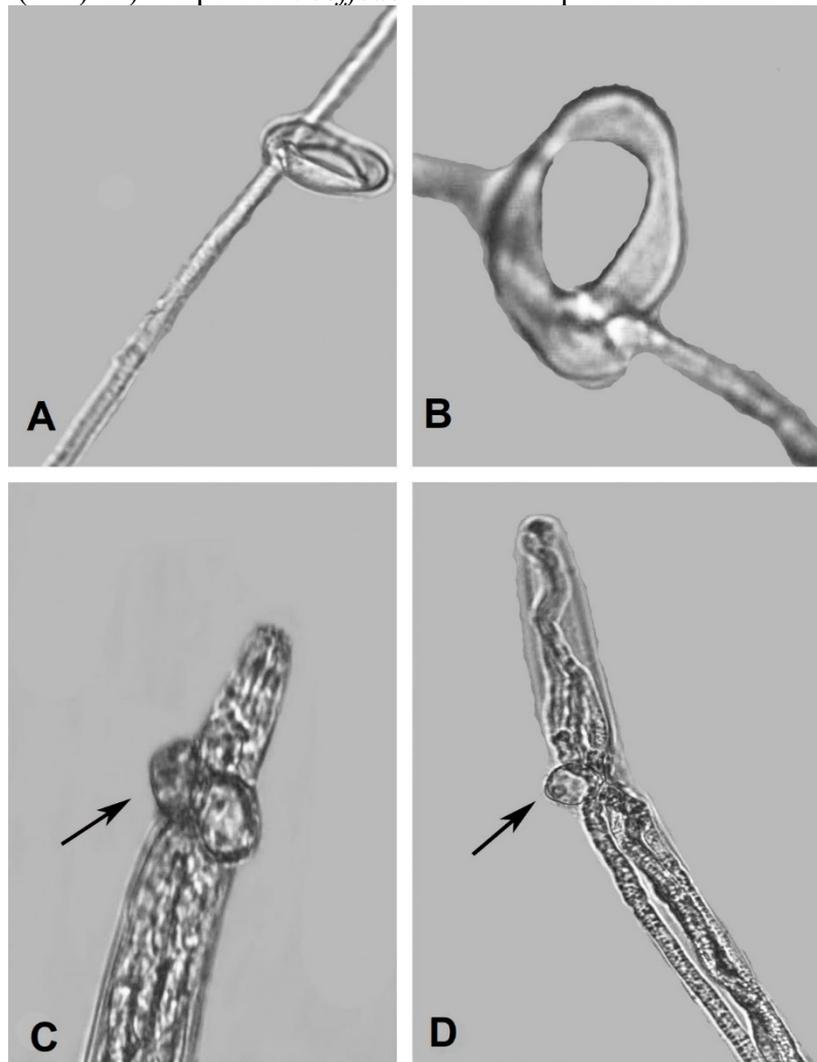
(Figura 2 C) que morreram após tentarem passar internamente por deles. De acordo com a literatura, *Arthrobotrys* spp. liberam substâncias quimioatrativas aos nematóides, atraindo-os para as armadilhas (WU et al., 2013). Após permitir a passagem de uma porção do corpo, as três células presentes na armadilha se inflam bruscamente, prendendo o nematoide, que, ao reagir para se libertar, induz o fungo a restringir cada vez mais a armadilha, estrangulando a presa (Figura 1 e 2 C). Após a morte do nematoide, o fungo penetra a sua cutícula (epiderme) e desenvolve longas hifas assimilativas, que consomem todo o conteúdo do corpo do animal (Figura 2 D). Em seguida, lança para fora do corpo da presa conidióforos

longos, que produzem conídios. Essas estruturas não foram observadas.

Todos os dados ora obtidos foram analisados comparativamente por meio de referências micológicas e de biocontrole de nematoides (DRECHSLER, 1941;

JACOBS, 2002). Os resultados mostraram similaridade suficiente aos apresentados pela literatura (FIGURA 1), referentes à espécie *Arthrobotrys dactyloides* Drechsler (FIGURA 2 A, B)

Figura 2- *Arthrobotrys dactyloides* predando *Pratylenchus coffeae*. A) hifa hialina, portando anel-constritor. B) anel-constritor em *close up*. C) *P. coffeae* aprisionado e morto pelo anel constritor do fungo (seta). D) corpo de *P. coffeae* consumido por hifas assimilativas.



As espécies de *Arthrobotrys* são essencialmente necrotróficas, retirando carbono e nitrogênio do substrato. Os nematoides, aparentemente, são fontes secundárias alternativas desses elementos e, por certo, de outros fatores necessários ao fungo na sua fase biotrófica. O fato ora

registrado gerou a hipótese da viabilidade do uso desse tipo de fungo no controle biológico de *P. coffeae*, em inhame-da-costa (*Dioscorea cayanensis* Lam) e cará (*Dioscorea alata* L.), durante o processo de armazenamento das túberas comerciais. *Pratylenchus coffeae* é um fitopatógeno

que inflige altas perdas anuais à cultura do inhame, especialmente durante o armazenamento, e o controle químico é inviável. O inhame-da-costa é bom substrato para diversos fungos e provavelmente adaptável à fase necrotrófica do fungo. Esta indicação de pesquisas de controle biológico de *P. coffeae* se fundamenta também em dados obtidos por outros autores, quanto ao uso da espécie *Arthrobotrys robusta* Dudd., produzido comercialmente na França (Royal 300), para o controle do nematoide *Ditylenchus myceliophagus* Goodey (CAYROL et al., 1978), principal problema sanitário do cultivo comercial do cogumelo comestível (*Agaricus bisporus bisporus* Imback), conhecido por *Champignon-de-Paris*. A prática se mostrou efetiva, ecologicamente limpa e economicamente viável. Outra versão desse agente biológico, agora Royal 350, à base de *Arthrobotrys irregularis* (Matr.) Mekht. foi desenvolvida para controle da meloidoginose do tomateiro, com resultados práticos significativos (CAYROL; FRANKOWSKI, 1980). Nesse caso, o fungo foi aplicado diretamente no solo sob forma de grânulos.

Técnicas de produção massal de *A. dactyloides* em meio líquido para conversão em produtos comerciais e sua efetividade, foram avaliadas em laboratório e casa de vegetação na Austrália. Os resultados foram promissores; o fungo proliferou bem a partir de uma formulação granulada e, consistentemente, produziu as armadilhas no solo. Redução do número de no solo até 96% foi obtida nos experimentos de casa de vegetação (STIRLING et al., 1998). É sempre importante ser mencionado que o controle biológico com fungos nematófagos é uma técnica que não causa impactos ambientais, não deixa resíduos em alimentos e não favorece o surgimento de espécies resistentes. Mesmo diante de dificuldades técnicas, as pesquisas têm demonstrado que espécies fúngicas predadoras, especialmente *A. oligospora* Fresenius e *A. dactyloides*, são promissoras para o controle biológico de certos nematoides, tanto parasitas de plantas (AJITOMI et al., 2018) quanto de animais domésticos (GRÆNVOLD et al., 1993). *Arthrobotrys* spp têm se mostrado inócuas ao homem e mamíferos em geral.

REFERÊNCIAS

- AJITOMI, A.; TABA, S.; AJITOMI, Y.; KINJO, M.; SEKINE, K. T. Efficacy of a Simple Formulation Composed of Nematode-Trapping Fungi and *Bidens pilosa* var. *radiata* Scherff Aqueous Extracts (BPE) for Controlling the Southern Root-Knot Nematode. **Microbes and Environments**, 33: 4-9. 2018
- ASKARY, T. H. Nematophagous fungi as biocontrol agents of phytonematodes. In ASKARY, T. H.; MARTINELLI, P. R. P. (Eds.) **Biocontrol Agents of Phytonematodes**, Wallingford, CAB, International. p. 81-125. 2015.
- BAKER, K. F. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 25: 67-85. 1987.
- CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P.; LANIECE, A.; D'HARDEMARE, G.; TALON, J. P. Contre les nematodes en champignonnières: mise au point d'une methode de lutte biologique

a l'aide d'un Hyphomycete predateur: *Arthrobotrys robusta* souche antipolis (Royal 300). **PHM Revue Horticole**, 184: 23-30. 1978.

CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P. New information on the nematophagus fungus *Arthrobotrys irregulares* (Royal 350). *Pepinieristes Horticulteurs Maraichers - PHM Revue Horticole*, 203, 33–38. 1980.

DRECHSLER, C. Predaceous fungi. **Biological Reviews**, 16:265-290. 1941.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**, 1 ed., Viçosa: Editora UFV. 306 p. 2010.

GRÆNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN S. A Nematode-trapping fungi against parasitic cattle nematodes. **Parasitology Today**, 9: 137-140. 1993.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: ,

JACOBS, P. Nematophagous fungi: Guide by Philip Jacobs, BRIC version, 2002. Disponível em: http://www.biological_research.com/

STIRLING, G. R.; SMITH, L. J.; LICASTRO, K. A.; EDEN, L. M. Control of root-knot nematode with formulations of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Biological Control**, 11: 224-230. 1998.

WU., D. K.; ZHANG, C. P.; ZHU, C. Y.; WANG, Y. L.; GUO, L. L.; ZHANG, K. Q.; NIU, X. M. Metabolites from carnivorous fungus *Arthrobotrys entomopaga* and their functional roles in fungal predatory ability. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, 61: 4108-4113. 2013.