

## **PATOGENICIDADE *IN VITRO* DE *Pythium sp.* EM CULTIVARES DE ALFACE (*Lactuca sativa L.*)**

**JOZIANE MARTINS FIALHO<sup>1</sup>, ARIIVALDO JOSÉ DA SILVA<sup>2</sup>, DERLENE  
ATTILI DE ANGELIS<sup>3</sup>, MILENA BINATTI FERREIRA<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Doutoranda- Universidade Estadual de Campinas, (18) 99707-2787, jozifialho@gmail.com;

<sup>2</sup> Professor Dr. – Universidade Estadual de Campinas, (19) 99719-6954, arijs@g.unicamp.br;

<sup>3</sup> Pesquisadora Dra. Universidade Estadual Campinas, (19) 98123-8937, derlene@cpqba.unicamp.br;

<sup>4</sup> Mestranda – Universidade Estadual de Campinas, (19) 98176-1710, mbinatti@cpqba.unicamp.br.

Apresentado no  
L Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2021  
08 a 10 de novembro de 2021 - Congresso On-line

**RESUMO:** O *Pythium spp.* é um dos fitopatógenos que mais causam doenças às culturas hidropônicas no Brasil e no mundo. A presença de água constante no sistema e as altas temperaturas em determinadas épocas do ano, favorecem o desenvolvimento e disseminação do microrganismo em ambientes protegidos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a patogenicidade de *Pythium sp.* em duas variedades de alface sendo elas as cultivares Vera (Crespa) e a Mimosa. Para isto, placas de Petri contendo Agar-Água foram incubadas com sementes das alfaces e um fragmento do micélio disposto centralmente em cada uma delas. Como controle, foram avaliadas somente as sementes contidas no referido meio de cultura. As placas foram incubadas a 20°C e 27°C, temperatura ótima para o desenvolvimento da planta e do patógeno, respectivamente. Após 10 dias de incubação foram avaliados o comprimento das radículas, dos hipocótilos e a porcentagem de plântulas vivas. A espécie que se mostrou mais suscetível ao ataque do *Pythium sp.* foi a cultivar Vera em ambas as temperaturas.

**PALAVRAS-CHAVE:** hidroponia; oomiceto; sobrevivência.

### **IN VITRO PATHOGENICITY OF *Pythium sp.* IN LETTUCE CULTIVARS (*Lactuca sativa L.*)**

**ABSTRACT:** *Pythium spp.* it is one of the phytopathogens that most cause diseases to hydroponic crops in Brazil and in the world. The presence of constant water in the system and the high temperatures at certain times of the year favor the development and dissemination of the microorganism in protected environments. The objective of this work was to evaluate the pathogenicity of *Pythium sp.* in two lettuce varieties, the cultivars Vera (Crespa) and Mimosa. For this, Petri dishes containing Agar-Water were incubated with lettuce seeds and a fragment of mycelium placed centrally in each one. As a control, only the seeds contained in that culture medium were evaluated. The plates were incubated at 20°C and 27°C, the optimum temperature for plant and pathogen development, respectively. After 10 days of incubation, the length of the radicles, hypocotyls and the percentage of live seedlings were evaluated. The species that was most susceptible to attack by *Pythium sp.* was the cultivar Vera at both temperatures

**KEYWORDS:** hydroponics; oomycete; survival

**INTRODUÇÃO:** O *Pythium spp.* é considerado atualmente um dos fitopatógenos de grande importância econômica no mundo, especialmente, pelo seu grande potencial destrutivo em sistemas agrícolas. A hidroponia que tem como principal característica a constante presença

de água no sistema é a forma de cultivo que mais sofre com o ataque do *Pythium*, ressaltando que o microrganismo se desenvolve muito bem em ambientes aquáticos (Patekoski e Pires-Zottarelli, 2009). Os principais sintomas observados em plantas hidropônicas são apodrecimento das raízes, caules e frutos e, em situações extremas, pode ocorrer o tombamento da planta (“damping off”) logo após a emergência. Há relatos na literatura de perdas de 100% da produção hidropônica causadas por *Pythium* (Sutton, 2006). Outro problema ocasionado por *Pythium* é a redução significativa da produtividade, mesmo sem a observação de sintomas aparentes nas plantas, fenômeno esse caracterizado como infecção subclínica (Stanghellini e Kronland, 1986; Owen-Going e Sutton., 2002. Esse estudo teve como objetivo avaliar a patogenicidade de *Pythium sp.* em duas variedades de alface *in vitro* observando as temperaturas ótimas de desenvolvimento da planta (20°C) e na temperatura ótima de crescimento do *Pythium sp.*

**MATERIAL E MÉTODOS:** O *Pythium sp.* utilizado para inocular as variedades de alface (*Lactuca sativa L.*) foi obtido por meio de iscagem em água residuária de cultivo hidropônico de tomates na cidade de Campinas/SP. O processo de iscagem foi realizado pela adição de sementes de sorgo (*Sorghum sp.*) divididas ao meio, previamente autoclavadas em shots contendo 500 mL da solução nutritiva descartadas após nutrição das plantas. Após observação de formação de micélios em torno das sementes, as mesmas foram transferidas para placa de Petri contendo meio de cultura Corn Meal Agar (CMA) acrescido de penicilina + sulfato de estreptomicina. Contados 4 dias, foi observada a formação de crescimento de cultura por toda a placa de Petri, das quais foram retirados repiques e transferidas para novas placas de Petri contendo água destilada e autoclavada com sementes de sorgo as quais foram mantidas em temperatura ambiente por cerca de 3 a 4 dias. Após esse período, fragmentos dos micélios migrados para as sementes foram avaliados em microscópio para a observação da morfologia do isolado, comparando com as características descritas na literatura. Os espécimes encontram-se preservados em frascos “Wheaton” em temperatura ambiente, com água destilada esterilizada e sementes de sorgo e pelo método de Castellani os quais estão mantidos sobre refrigeração (Drechsler, 1930) e, em seguida, incorporados à Coleção Brasileira de Micro-organismos de Ambiente e Indústria (CBMAI) do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas da Unicamp (CPQBA). A avaliação da patogenicidade de *Pythium sp.* foi realizada em laboratório, na temperatura ótima para o crescimento da alface, em torno de 20°C (Nascimento, 2002) e a 27°C, temperatura ótima de crescimento do isolado (Baptista, 2011). O método utilizado foi o descrito em Teixeira et al. (2005), que consistiu na desinfestação das sementes com hipoclorito de sódio (0,625% de cloro ativo) durante 24 horas. Após a desinfestação as sementes foram lavadas com água esterilizada e levadas para pré-germinação por 24 horas a 21°C em papel filtro umedecido que depois foram dispostas em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar-Água (7 sementes/placa) com um fragmento de micélio de aproximadamente 6 mm de diâmetro postos no centro das placas. Placas de Petri apenas com sementes de alface em meio de cultura Ágar-Água foi utilizada como controle. A incubação foi realizada por dez dias (Patekoski e Pires-Zottarelli, 2009; Barbosa, 2011), tempo necessário para o surgimento de sintomas nas plantas. As placas foram mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas de luz branca e 12 horas sem iluminação. O comprimento das radículas e hipocótilos foi observado com auxílio de régua (centímetros), com concomitante avaliação da porcentagem das plântulas sobreviventes.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Avaliando-se o comprimento da radícula mantidas por 10 dias a temperatura de 20°C, a cultivar Mimosa foi considerada a mais resistente ao *Pythium sp.*, com diminuição da radícula em 59 % em relação ao controle, enquanto a variedade Vera sofreu redução de 77%. Em relação ao comprimento do hipocótilo a Mimosa reduziu 18%

enquanto a variedade Vera reduziu 3% do tamanho dessa estrutura, portanto, nesse caso a cultivar Vera foi a mais resistente (Tabela 1).

**Tabela 1.** Avaliação do efeito patogênico *in vitro* de *Pythium sp.* a 20°C sobre quatro cultivares de alface Mimosa e Vera com base nos comprimentos de radícula e de hipocótilo

	Cultivares	
	Mimosa	
	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)
<b>20°C</b>		
Controle	3,4d	0,54
Mimosa	1,38	0,45
<b>Redução</b>	<b>59%</b>	<b>18%</b>
	Vera	
	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)
	<b>20°C</b>	
Controle	3,07	0,34
Vera	0,71	0,33
<b>Redução</b>	<b>77%</b>	<b>3%</b>

Na temperatura de 27°C, considerada a temperatura ótima de desenvolvimento do *Pythium sp.* (Baptista, 2007), a variedade Vera foi a mais suscetível, pois, foi observada a redução em 82% do comprimento da radícula e 40% do hipocótilo. Já a variedade Mimosa a redução das raízes foi de 15% e não houve queda do comprimento do hipocótilo (Tabela 2). Em relação a porcentagem de plântulas sobreviventes ao ataque do patógeno quando avaliada as duas temperaturas, os dados da tabela 2 podem corroborar para tal entendimento.

**Tabela 2.** Avaliação do efeito patogênico *in vitro* de *Pythium sp.* a 20°C sobre quatro cultivares de alface Mimosa e Vera com base nos comprimentos de radícula e de hipocótilo

	Cultivares	
	Mimosa	
	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)
<b>27°C</b>		
Controle	2,31	0,71
Mimosa	1,96	0,83
<b>Redução</b>	<b>15%</b>	-
	Vera	
	Comprimento da radícula (cm)	Comprimento do hipocótilo (cm)
	<b>27°C</b>	
Controle	4,44	0,64
Vera	0,82	0,38
<b>Redução</b>	<b>82%</b>	<b>40%</b>

A taxa de sobrevivência da variedade Mimosa foi de 94% na temperatura de 20°C e de 80% na temperatura de 27°C, na variedade Vera foi observada uma taxa de sobrevivência de 89% e de 40% respectivamente. Com isso pode-se destacar a severidade do ataque do patógeno a certas variedades de alface (Tabela 3).

**Tabela 3.** Avaliação do efeito patogênico *in vitro* de *Pythium sp.* na temperatura de 27°C, sobre as duas cultivares de alface sob a porcentagem de plântulas vivas

	Cultivares	
	Mimosa	Vera
<b>20°C</b>		
Controle	35	35
Plantas Vivas	33	32
<b>Taxa de Sobrevivência</b>	<b>94%</b>	<b>89%</b>
<b>27°C</b>		
Controle	35	35
Plantas Vivas	28	14
<b>Taxa de Sobrevivência</b>	<b>80%</b>	<b>40%</b>

De modo geral, a partir das análises realizadas, foi observado que a cultivar Vera é a menos resistente ao ataque do *Pythium sp.* quando comparada a Mimosa o que vai de acordo com estudos realizados (Pinto et al. 2005; Baptista 2011). Contudo, essa variedade é que apresenta maior aceitação do público, segundo levantamento de estudos realizados no estado de São Paulo (Horticeres, 2021).

**CONCLUSÕES:** Diante do exposto, concluiu-se que a variedade Vera (Crespa) é a menos resistente ao ataque do *Pythium dissotocum*, com reduções das raízes em 77% na temperatura ótima de desenvolvimento da folhosa (20°C), enquanto, para a cultivar Mimosa a redução foi de 59%. Quando avaliada a temperatura ótima de desenvolvimento do patógeno (27°C), a redução da radícula da variedade Vera foi de 82% *versus* 15% da Mimosa. Em relação a taxa de sobrevivência, a variedade Vera foi a menos resistente nas duas temperaturas avaliadas, em que foi observado a morte de 11% das plantas cultivadas a 20°C e de 60% cultivadas a 27°C. Já a cultivar Mimosa, mais resistente, reduziu em 6% quando cultivada a 20°C e 20% na temperatura mais alta.

#### **REFERÊNCIAS:**

BAPTISTA, F.R.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; TEIXEIRA, L. D.; JUNIOR, A. S. Avaliação patogênica *in vitro* de *Pythium middletonii* Sparrow e *Pythium dissotocum* Drechsler em alface. *Summa Phytopathologica*, v.37, n.1, p.52-58, 2011

DRECHSLER, C. Some new species of *Pythium*. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, Washington DC., v.20, p.398-418, 1930.

Horticeres. Horticeres lança nova cultivar de alface crespa. Disponível em: <<http://www.horticeres.com.br>>. Acesso em: jul. 2021.

NASCIMENTO, W.M.; Cantliffe, D.J. Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.20, n.1, p.103-106, 2002.

OWEN-GOING, N.; SUTTON, J.C.; Grodzinski, B. Relationships of *Pythium* isolates and sweet pepper plants in single-plant hydroponic units. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Ottawa, v.25, n.2, p.155-167, 2002.

PATEKOSKI, K.S. & PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. Patogenicidade *in vitro* de *Pythium aphanidermatum* e *Pythium dissotocum* em variedades e alface (*Lactuca sativa* L.). *Hoehnea*, São Paulo, v.36, n.1, p.161-172, 2009.

PINTO, Z.V.; SOUZA, A.L.O.P.; SILVA, C.P.; DUARTE, D.G.; PATRÍCIO, F.R.A.; SANTOS, A.S.; TEIXEIRA, L. D. Reação de cultivares de alface à podridão de raízes, causada por *Pythium helicoides*, em sistemas hidropônicos. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.31. p. 96-96, 2005.

PLAATS-NITERINK, A.J. van der. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, Baarn, v. 1, p.1-242, 1981.

STANGHELLINI, M.E.; KRONLAND, W.C. Yield loss in hydroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissotocum*. *Plant Disease*, St. Paul, v.70, n.11, p.1053-1056, 1986.

SUTTON, J.C.; SOPHER, C.R.; OWEN-GOING, T.N.; LIU, W.; GRODZINSK, B.; HALL, J.C.; Benchimol, R.L. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.32, n. 4, p.307-321, 2006.