

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - MODALIDADE LICENCIATURA.

# RAQUEL MOURA ARAÚJO

ESTUDO DO GÊNERO PYTHIUM (OOMYCOTA): Aplicação na Bacia do Guaribas

## RAQUEL MOURA ARAÚJO

# ESTUDO DO GÊNERO PYTHIUM (OOMYCOTA): Aplicação na Bacia do Guaribas

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus, Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Me. Paulo César Lima Sales

Eu, **Raquel Moura Araújo**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 19 de Abril de 2013.

#### FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

A663e Araújo, Raquel Moura.

Estudo do gênero pythium (oomycota): aplicação na bacia do guaribas / Raquel Moura Araújo. – 2013.

CD-ROM: il.; 4 ¾ pol. (54 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2013. Orientador(a): Prof. MSc. Paulo César Lima Sales

1. Oomycota. 2. Gênero Pythium. 3. Revisão. I. Título.

CDD 570.92

## RAQUEL MOURA ARAÚJO

## ESTUDO DO GÊNERO PYTHIUM (OOMYCOTA): Aplicação na Bacia do Guaribas

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus, Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Me. Paulo César Lima Sales

Aprovado em <u>JL / 94 / 8015</u>

#### BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Paulo César Lima Sales - Orientador Departamento de Ciências Biológicas - UFPI

Profa Me. Artur Henrique Freitas Florentino de Souza - Examinador

Departamento de Ciências Biológicas - UFPI

Prof. Me. Victor de Jesus Silva Meireles - Examinador

Departamento de Ciências Biológicas - UFPI

# **DEDICATÓRIA**

A **Deus**, pela condição de poder me aperfeiçoar, e por me manter firme mesmo em meio as dificuldades. "És o Deus em quem eu confio".

A minha mãe **Maricilde Francisca de Moura Araújo** e meu pai **Jonas Macêdo Araújo** pelo apoio, suporte e carinho sem os quais esta jornada não teria sido possível e por me fazerem acreditar no estudo com o objetivo de tornar-me melhor tendo uma vida digna.

As minhas queridas irmãs **Aline Moura Araújo** e **Amanda Moura Araújo**, pelos momentos de alegrias e descontração que tanto me ajudaram nos momentos tensos.

Ao meu nêgo **Carleandro Nolêto** por ser tão paciente e compreensivo nos momentos mais difíceis, e por estar sempre dirigindo palavras de motivação e perseverança, e ainda, pelas suas orações por mim.

Ao professor Mestre **Paulo Cézar Lima Sales**, pela orientação, pelo empenho e dedicação na realização desse trabalho. E de uma maneira geral aos professores do curso de Ciências Biológicas pela paciência que tiveram comigo durante toda a minha trajetória, neste curso, buscando sempre me fornecer a melhor formação possível.

As amigas que trabalharam juntamente comigo nos projetos de pesquisa, trabalhos e nas disciplinas do curso, Rafaela Pessoa, Carleusa Macêdo, Luzilene Barbosa, Josângela Matos, Gênera Herlane, Rhayla Tárcylla. Obrigada meninas, pela amizade, paciência e alegrias vividas durante todo o curso!

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

"Os jovens se cansam e se fatigam, e os moços de exaustos caem, mas os que esperam no SENHOR renovam as suas forças, sobem com asas como águias, correm e não se cansam, caminham e não se fatigam."

Isaías 40.30-31.

#### **RESUMO**

O filo Oomycota compreende um grupo de organismos polifiléticos, também conhecidos como fungos aquáticos. São cosmopolitas e apresentam representante fitopatógenos de interesse econômico, tendo como representantes principais os do gênero *Pyhium*. O presente trabalho objetivou revisar os principais aspectos no estudo do gênero *Pythium* (Oomycota) no que concerne à sua morfologia, terminologia, métodos e técnicas de pesquisa utilizadas na coleta, isolamento e identificação dos táxons, bem como aplicar as informações levantadas em coletas de espécimes do gênero na Bacia do Guaribas. A revisão do gênero foi realizada por meio de literatura específica. Após a revisão, foram executadas duas coletas de água e solo, uma às margens do Rio Guaribas e outra na Barragem de Bocaina. Os espécimes foram coletados, isolados e identificados ao microscópio óptico. Concluiu-se que para a identificação dos táxons no gênero *Pythium* é necessário que o pesquisador tenha domínio dos aspectos morfológicos e terminológicos específicos do grupo e que há na Bacia do Guaribas representantes do gênero nesses ambientes, fazendo-se necessário estudos para o levantamento das espécies, principalmente as de interesse econômico.

Palavras-chave: Oomycota. Gênero Pythium. Revisão.

#### **ABSTRACT**

The phylum Oomycota comprises a polyphyletic group of organisms, also known as aquatic fungi. They are cosmopolitan and have representative pathogens of economic interest, having as the main representatives of the genre *Pyhium*. This study aimed to review the main aspects in the study of the genus *Pythium* (Oomycota) with regard to their morphology, terminology, methods and research techniques used in the collection, isolation and identification of taxa, and to apply the information gathered in collections of specimens gender Guaribas Basin. The revision of the genus was conducted through specific literature. After reviewing two collections were performed in water and soil, one on the bank of Guaribas River and one on Bocaina dam. The specimens were collected, isolated and identified by optical microscopy. It was concluded that for the identification of taxa in the genus Pythium is necessary that the researcher has the field of morphology and terminology aspects specific of each group and that there is in the Guaribas Basin representatives of the genus in these environments, making it necessary to study the lifting of species especially those of economic interest.

Keywords: Oomycota. Genus Pythium. Revision.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Ausência de raízes na alface, devido a podridão causada por <i>Pythium sp</i>	21
Figura 2-	Pontos de Coleta às margens do Rio Guaribas	29
Figura 3-	Pontos de Coleta na Barragem de Bocaina	29
Figura 4-	Ciclo de vida de <i>Pythium debaryanum</i>	36
Figura 5-	Oogônio terminal com anterídio díclino anfígeno	37
Figura 6-	Oogônio terminal com anterídio monóclino parágino e ooplasto hialino	37
Figura 7-	Oogônio intercalar com ornamentação amorfa, anterídio parágino e ooplasto	37
	granular	31
Figura 8-	Oogônio lateral com anterídio monóclino parágino e ooplasto granular	37
Figura 9-	Oósporo cêntrico com parede externa papilada e ooplasto hialino	38
Figura 10-	Oósporo cêntrico com ooplasto	38
Figura 11-	Oósporo subcêntrico com ooplasto granular	38
Figura 12-	Oósporos subcêntricos dentro de oogônio polioósporos	38
Figura 13-	Oósporo subexcêntrico com gotículas de gordura aglutinadas	38
Figura 14-	Oogônio polioósporo com ooplasto excêntrico e gotículas de gordura	38
	aglutinadas	30
Figura 15-	Oósporo subcêntrico com parede externa terminal papilada e ooplasto hialino	39
Figura 16-	Oósporo cêntrico com parede externa papilada e ooplasto hialino	39
Figura 17-	Pythium sp.1	41
Figura 18-	Pythium sp.1	41
Figura 19-	Pythium grupo T	42
Figura 20-	Pythiogeton sp. 1	43
Figura 21-	Pythiogeton ramosum	44

# SUMÁRIO

1	IN	ΓRO	<b>DUÇAO</b> 1	. 1
2	00	)MI(	CETOS	13
	2.1	Car	acterísticas Gerais	13
	2.2	Rep	produção1	13
	2.2.	.1	Reprodução assexuada	13
	2.2.	.2	Reprodução sexuada	14
	2.3	Dist	tribuição1	15
	2.4	Par	asitismo e importância econômica	17
	2.5	Am	ostragem em fungos aquáticos	18
3	00	GÊN	ERO Pythium	20
	3.1	Car	acterísticas gerais	20
	3.2		opatogenicidade	
	3.3		ose	
	3.3.		Características Gerais	
	3.3.	.2	Ciclo de vida e infecção	24
	3.3.	.3	Sintomas	25
	3.3.	4	Pitiose em humanos	26
	3.3.	.5	Tratamento	26
	3.3.	6	Pitiose no Brasil	27
4	MA	ATEI	RIAIS E MÉTODO	28
	4.1	Car	racterização da área	28
	4.2		eta e isolamento de oomicetos	
	4.3		álise dos espécimes isolados	
5	RE		TADO E DISCUSSÃO	
	5.1	For	nília <i>Pythiaceae</i> : características gerais	21
	5.2		es para o estudo no gênero <i>Pythium</i>	
	5.2.		Micélio	
	5.2.		Reprodução assexuada	
	5.2.		Reprodução sexuada	
	<b>5.2</b> . <b>5.3</b>		todologia para identificação de <i>Pythium</i>	
	5.3.		Coleta	
				_

	5.3.2	Isolamento	39
5.	4	Gênero <i>Pythium</i> na Bacia do Guaribas	40
5.	5	Gênero <i>Pythium</i> T na Bacia do Guaribas	43
5.	.6	Gênero Pythiogeton na Bacia do Guaribas	43
6	CO	NCLUSÃO	45
7	BIB	LIOGRAFIA	46
Glos	ssári	0	50
Ane	xo: F	icha de identificação de <i>Pythium</i>	53

## 1 INTRODUÇÃO

O filo Oomycota compreende um grupo de organismos polifiléticos, também conhecidos como fungos aquáticos. Os oomicetos, além do filo Chytridiomycota, são uns dos principais representantes do grupo. Atualmente, com base em sua ultraestrutura, os oomicetos são classificados no Reino Chromista, filo Pseudofungi, classe Oomicetes (CAVALIER-SMITH; CHAO, 2006).

Os Oomicetos podem ser encontrados tanto em ambientes aquáticos (continentais e marinhos) quanto terrestres (úmidos ou secos). Apresentam importantes características, tais como: produção assexuada de células flageladas móveis (zoósporos), ou produção sexuada (planogametas); presença de parede celular constituída por glucanas e celulose; e reprodução sexuada por contato gametangial (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Diversos oomicetos são sapróbios sobre detritos animais ou vegetais, desempenhando importante papel na reciclagem de nutrientes. No solo, atuam, juntamente com as bactérias, na decomposição da matéria orgânica. Alguns representantes podem ser parasitas de algas, fungos, angiospermas aquáticas e terrestres, esporos de plantas vasculares, ovos de animais microscópicos, de insetos aquáticos, crustáceos e vertebrados, inclusive do homem (SPARROW, 1960; ALEXOPOULOS et al., 1996).

Outros são patógenos a diversas culturas de interesse econômico, podendo ser isolados de amostras de água e de solo de áreas cultivadas, existindo representantes com conhecido potencial fitopatogênico, como os pertencentes aos gêneros *Pythium* Pringsheim e *Phytophthora* De Bary (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). Entretanto, devese ressaltar que os dados sobre sua ocorrência em áreas cultivadas ainda são escassos para o Brasil, devido um número reduzido de estudos relacionados à distribuição e diversidade de oomicetos. A maior parte das pesquisas foram realizadas na região Sudeste do país, provocando assim uma carência em estudos de oomicetos nas outras regiões (SALES, 2009).

Apesar do crescente número de pesquisas com oomicetos realizadas no Estado do Piauí, este ainda é reduzido se comparado com sua grande extensão. O fato de a maior parte de seu território ser ainda inexploradas na pesquisa de oomicetos faz com que conheçamos ainda muito pouco sobre a diversidade desses organismos no Estado (SALES, 2009).

Diante do exposto vale a pena indagar quais os principais aspectos a serem observados no estudo do gênero *Pythium*?

Dessa forma a presente pesquisa teve como objetivo geral revisar os principais aspectos no que concerne ao estudo do gênero *Pythium* e aplicá-los na Bacia do Guaribas. A pesquisa ainda tem como objetivos específicos identificar na literatura os principais métodos e e técnicas de pesquisa no gênero *Pythium*; conhecer a terminologia empregada na taxonomia do grupo; descrever o ciclo de vida do gênero, bem como analisar as espécies da Bacia do Guaribas por meio de coleta, isolamento e identificação.

O presente trabalho está dividido em cinco partes. A primeira parte consiste na revisão de literatura sobre os assuntos abordados na pesquisa. A segunda o foco recai sobre a apresentação de conceitos e terminologias básicas da pesquisa, assim como o levantamento bibliográfico necessário para a realização do trabalho. A terceira traz uma descrição da metodologia utilizada. A quarta parte é composta pelos resultados e discussões dos oomicetos isolados e o contexto no qual este trabalho foi desenvolvido. E a quinta e última parte consiste na conclusão do trabalho.

#### 2 OOMICETOS

#### 2.1 Características Gerais

O grupo de organismos informalmente conhecido como oomicetos são agora reconhecidos como constituindo um filo, o Oomycota, composto por apenas uma classe, Oomycetes, no reino Chromista. A classe é formada por seis ordens, onde se estima que agrupem entre 800 a 1.000 espécies (DICK, 2001; WEBSTER; WEBBER, 2007).

Num notável produto de evolução paralela, se assemelham-se a verdadeiros fungos na estrutura e no estilo vida, motivo pelo qual sempre foram estudados por micologistas e até recentemente considerado como fungos (DICK, 2001; WEBSTER; WEBBER, 2007).

A principal característica dos oomicetos é a presença de dois flagelos, um liso e outro franjado, localizados posteriormente no zoósporo, nos quais auxiliam sua dispersão no meio aquático, distinguindo-os dos fungos. Os zoósporos biflagelados apresentam-se durante a sua reprodução assexuada, enquanto que a sua reprodução sexuada é oogâmica (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Estudos ultra-estruturais e bioquímicos demonstraram que os oomicetos diferem dos fungos em outras estruturas fundamentais, como por exemplo, paredes celulares compostas principalmente de β-1,3 e β-1,6-glucanos, material semelhante à celulose, em vez de quitina, como é o caso dos fungos verdadeiros. Além disso, também apresentam o aminoácido hidroxiprolina, bem como pequenas quantidades de celulose, além de mitocôndrias com cristas tubulares (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

#### 2.2 Reprodução

#### 2.2.1 Reprodução assexuada

A reprodução assexuada na maioria dos oomicetos dá-se principalmente por meio de zoósporos biflagelados que se desenvolvem tanto em esporângios ou, em algumas espécies, em uma vesícula evanescente que se projeta do zoosporângio (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Dois tipos morfologicamente distintos de zoósporos biflagelados são produzidos nos oomicetos, embora não ocorra em todas as espécies. Um tipo é o denominado zoósporo

primário, apresentando forma de pêra, ou piriforme, com os flagelos ligados na extremidade anterior do oósporo. Os zoósporos primários não são bons natantes e são considerados por Dick (1990a) como estruturas primitivas.

O segundo tipo de zoósporos (secundário) é produzido por todos os oomicetos que formam zoósporos. Este tipo apresenta a forma reniforme, "forma de rim", com os flagelos inseridos lateralmente numa ranhura na superfície zoósporica. Os flagelos são dirigidos opostamente um do outro num ângulo de cerca de 130 ° (DICK, 1990a), com o flagelo franjado dirigido para frente e o flagelo mais curto, liso e em forma de chicote de reboque.

A função dos zoósporos no ciclo de vida dos oomicetos é nadar distâncias curtas através da água, encontrar substratos orgânicos ou hospedeiros potenciais, encistar, e, finalmente, formar tubos germinativos que subsequentemente originam novos talos. Existem vários padrões de natação e encistamento exibidos por espécies diferentes e desempenham importante papel na taxonomia (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

#### 2.2.2 Reprodução sexuada

Em oomicetos, nas formas mais simples o talo inteiro atua como um gametângio. No entanto, na maioria das espécies os gametângios tipicamente são diferenciados em hifas gerando pequenas estruturas, denominadas de anterídio, e estruturas globosas maiores, denominadas de oogônios (DICK, 1990a).

A reprodução sexual em oomicetos é quase sempre heterogametângica, assim anterídios e oogônios podem se desenvolver a partir do mesmo talo ou de talos diferentes. Dessa forma, gametângios produzidos no mesmo talo podem ou não ser compatíveis (DICK, 1990a).

Dentro de um oogônio, ocorre a meiose e, dependendo da espécie, uma ou poucas oosferas (ovos não fertilizados) são produzidos. Em cada um deles contém, quando maduro, um único núcleo haploide (CARLILE, 2001). Dependendo das espécies, oosferas são diferenciadas, quer por um processo de clivagem centrífuga ou pela agregação centrípeta de citoplasma oogonial periférica, conhecida como periplasm. Neste caso, o citoplasma que é excluído dos oogônios. Na maturidade, cada oosfera contém um vacúolo de armazenamento proeminente denominado de ooplasto, uma estrutura filogenética de considerável importância taxonômica, e um ou mais núcleos (DICK, 1990a).

A meiose também ocorre nos anterídios, que crescem em direção ao oogônio. Isso ocorre devido aos anterídios desenvolvidos serem atraídos pelos oogônios por hormônios, cuja origem dos tubos de fertilização se desenvolvem apenas depois de entrarem em contato com a superfície do oogônio. Deste contato um núcleo haploide, resultante da meiose no anterídio, é introduzido na oosfera através do tubo de fertilização, fundindo-se com o núcleo haploide da oosfera (CARLILE, 2001).

Após a fecundação, uma oosfera se desenvolve em um oósporo que amadurece no oogônio. Cada oósporo tem um único núcleo diploide. Quando o oósporo germina dá origem a um micélio diploide, em contraste com a maioria dos micélios haploides de outros fungos (DICK, 1990a).

Os Oósporos apresentam paredes espessas, cujas estruturas possuem resistência que os capacitam a sobreviver às condições ambientais desfavoráveis. De acordo com Dick (1990a), esta parede do oósporo maduro é constituída por três camadas: uma exospórica, derivado de periplasma residual; outra epispórica, ou parede zigoto; e a terceira endospórica, cuja função, pelo menos em parte, é de reservar hidratos de carbono usado ou redistribuído durante a germinação (DICK, 1990a).

Após a germinação, um oósporo dá origem a um talo diploide. Vale ressaltar que a perda da fase sexual aparentemente ocorreu em vários oomicetos (DICK, 1990a).

#### 2.3 Distribuição

Os oomicetos são cosmopolitas, encontrados tanto em águas continentais ou marinhas, bem como em ambientes terrestres, apesar de todos dependerem de condições úmidas para dispersão de seus zoósporos. Contudo, a maioria das formas aquáticas crescem em água doce, principalmente em locais bem arejados, córregos, rios, lagoas e lagos (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Estes organismos, dentro destes habitats, são mais comuns em águas rasas ou em terra. Águas estagnadas, às vezes, exibem comunidades distintivas de oomicetos, e algumas espécies têm sido descritas como anaeróbios facultativos (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). A maioria das formas aquáticas são sapróbias sobre restos de plantas e

animais mortos, tendo um papel importante na degradação e reciclagem de nutrientes em ecossistemas aquáticos (DICK, 1990a).

Em espécies adaptadas a ambientes mais secos, os esporângios germinam diretamente e a dispersão de zoósporos é usada apenas como um método alternativo na presença de umidade (WEBSTER; WEBBER, 2007).

No Estado do Piauí, o primeiro estudo da diversidade de oomicetos iniciou-se com o trabalho de tese de Rocha (2002), realizado no Parque Nacional de Sete Cidades, onde foram isoladas e descritas 36 espécies de oomicetos, sendo 75 delas os primeiros registros para o Estado do Piauí e 17 para o Brasil.

Em 2002 foi criado o Laboratório de Fungos Zoospóricos da UFPI juntamente com a Coleção de Cultura de Fungos Zoospóricos da UFPI. A criação desse laboratório deu suporte a várias pesquisas com oomicetos no Estado por meio de Trabalhos de Conclusão de Curso e Dissertações de Mestrado.

Os Trabalhos de Conclusão de Cursos concentraram-se na cidade de Teresina. Soares (2002), isolou 8 espécies nas lagoas do Parque Zoobotânico de Teresina. Pereira (2003) trabalhou com o levantamento de oomicetos em hortas comunitárias, isolando algumas espécies de interesse econômico como as do gênero *Pythium*. Nascimento (2004) estudou a diversidade de oomicetos em uma lagoa da capital, verificando a ocorrência de 11 espécies.

Nos anos de 2005 e 2006 foram realizados os primeiros estudos da diversidade de oomicetos nos rios da capital. Oliveira (2005) estudou a ocorrência de oomicetos no rio Poti através de coletas realizadas próximas à Floresta Fóssil da capital e Martins (2006) isolou 17 espécies no rio Parnaíba.

Ampliando os estudos sobre fungos zoospóricos no rio Parnaíba e, consequentemente, no Piauí, Negreiros (2008) desenvolveu a primeira pesquisa com oomicetos em nível de mestrado no Estado. O autor investigou a ocorrência de oomicetos às margens do rio Parnaíba, no município de Floriano, relacionando aqueles com potencial fitopatogênico, segundo literatura especializada, e as culturas suscetíveis praticadas pelos agricultores locais. Neste trabalho, detectou-se a ocorrência de importantes fitopatógenos, tais como Aphanomyces cladogamus, Pythium mamillatum, P. periilum, P. aphanidermatum e P. ultimum var. ultimum, que podem causar danos às culturas de interesse econômico dessa região.

Pereira (2008), abordando o mesmo tema, estudou a ocorrência de oomicetos fitopatógenos no campo agrícola da cidade de Nazária e identificou 15 espécies, a maioria pertencente ao gênero *Pythium* e com potencial fitopatogênico sobre uma ampla variedade de culturas como *Pythium aphanidermatum*, *P. graminicola*, *P. indigoferae*, *P. inflatum*, *P. mamillatum*, *P. myriotylum*, *P. periilum*, *P. perplexum*, *P. vexans* e *P. ultimum* var. *sporangiiferum*.

#### 2.4 Parasitismo e importância econômica

Oomicetos podem parasitar animais (rotíferos, nematódeos e artrópodes), plantas, algas e até outros fungos (DICK, 1990a). Alguns são parasitas importantes de peixe (e sua ova), incluindo bagre e salmão.

A maioria dos oomicetos terrestres são parasitas facultativos ou parasitas altamente especializados de plantas vasculares, causando algumas das doenças mais graves de determinadas culturas agronomicamente importantes (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Segundo Dick (1990a), a importância econômica dos oomicetos está relacionada principalmente a seu potencial patogênico, especialmente em plantas. Exemplos incluem a requeima da batata; podridão das raízes e frutos cítricos, doenças míldio de cucurbitáceas, uva, cebola e alface; ferrugem branca do repolho e tombamento de mudas de muitas espécies (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). A maioria dos oomicetos fitopatógenos de importância econômica são responsáveis pelo apodrecimento de raízes e necrose de outros órgãos, como caule, folhas e frutos, podendo causar epidemias de grandes proporções em uma cultura (WEBSTER; WEBBER, 2007).

Dentre os oomicetos, o gênero *Pythium* apresenta o maior número de representantes responsáveis por quedas na produção agrícola e consequente perdas econômicas. Espécies fitopatógenas de *Pythium* presentes no solo podem acarretar o apodrecimento de sementes, tombamento de plântulas e podridão radicular de vegetais, sendo especialmente problemático em estufas. Também são responsáveis pela podridão de partes moles de frutos carnosos e outros órgãos vegetais em contato com partículas do solo no campo, no armazenamento, no transporte ou no comércio (GOULD, 2003).

Apenas um oomiceto é conhecido como parasita de mamíferos. *Pythium insidiosum* é responsável por ulcerações na pele de vários mamíferos como equinos, bovinos, ovinos, animais domésticos como cães e gatos e até mesmo no homem. A doença é conhecida como pitiose e sua transmissão está relacionada com o contato de humanos e animais com a água contaminada pelo agente (DICK, 2002; SANTURIO et al., 2006). A pitiose acomete principalmente equinos. No Brasil já foram registrados mais de 90 casos distribuídos entre os Estados do Rio Grande do Sul, Mato Grasso do Sul, São Paulo, Pará, Paraíba, Paraná e Rio de Janeiro, comprovando a provável distribuição de *P. insidiosum* por todo o Brasil.

#### 2.5 Amostragem em fungos aquáticos

Devido à diversidade de Oomycetes e sua ocorrência em muitos ambientes diferentes, várias experiências representativas têm sido feitas para o estudo exclusivo deste grupo (TRIGIANO, 2004).

Em termos de diversidade, a micota aquática é composta, predominantemente, por fungos zoospóricos, hifomicetos aquáticos (principalmente em substratos submersos), alguns representantes de basidiomicetos (geralmente fases teleomórficas), ascomicetos (incluindo fases teleomórficas de fungos imperfeitos) e porcentagens imprevisíveis de fungos de origem terrestre e leveduras. Em águas poluídas, a incidência desses últimos pode ser bastante elevada. (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Fungos aquáticos têm sido estudados, principalmente, quanto a sua diversidade e, algumas vezes, quantificados no ambiente aquático, seja por meio de esporos dispersos na água ou associados a substratos orgânicos colonizados (BICUDO et al., 2004).

Tratando-se de fungos, torna-se difícil definir, com precisão, o que é uma unidade ou um indivíduo. Determinados fungos alternam fases sexuadas e assexuadas durante seu ciclo de vida. (BICUDO et al., 2004).

Alguns fungos zoospóricos têm sido observados em associação direta com folhedo em decomposição. Até o momento, não se verificou produção de ergosterol pelos fungos zoospóricos, porém, tendo em vista que esses fungos são capazes de produzir enzimas para degradar celulose, amido e certos polissacarídeos, sua participação como decompositores ativos de substratos alóctones deve ser levada em consideração. Assim, é necessário

aperfeiçoar os métodos de quantificação desses grupos de fungos nos ecossistemas aquáticos. (BICUDO et al., 2004).

A diversidade de fungos aquáticos tem, em geral, sido expressa por sua ocorrência em unidades amostrais de água provenientes de pontos ou estações de coleta preliminarmente definidas ou escolhidas aleatoriamente em determinado período de tempo e em diferentes tipos de substratos (BICUDO et al., 2004).

### 3 O GÊNERO Pythium

#### 3.1 Características gerais

O gênero *Pythium* caracteriza-se pela presença de estruturas de reprodução sexuada, denominadas oogônios (gametângios femininos) e anterídios (gametângios masculinos). O esporo originado da fecundação, após contato gametangial, é denominado oósporo. As estruturas de reprodução assexuada são chamadas zoosporângios, que abrigam os zoósporos biflagelados, sendo maturados no interior de uma vesícula evanescente, formada no ápice do seu tubo de liberação (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). Tais estruturas são fundamentais para a identificação desses organismos (SPARROW, 1960).

Membros deste gênero habitam o solo e são organismos que ocorrem em todo o mundo. Eles são, no entanto, mais comumente encontradas em solos cultivados onde acarretam sérios problemas para diversas culturas agronomicamente importantes (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

O gênero *Pythium* possui mais de 120 espécies conhecidas, sendo a maioria de importância fitopatógena e causando grandes perdas econômicas na agricultura (ALEXOUPOLOS et al., 1996), como o apodrecimento de raízes e frutos em muitas espécies de plantas, causando uma doença conhecida como *damping-off* ou "tombamento", responsável pelo apodrecimento de sementes e a morte do gérmen no pré e pós-plantio.

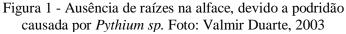
Dick (1990b) incluiu sete gêneros da família Pythiaceae, sendo os mais comuns *Pythium* e *Phytophthora*, além do gênero *Pythiogeton*. O primeiro inclui algumas espécies aquáticas parasitas de algas, assim como muitas espécies habitantes do solo parasitas de plantas com flores. *Pythium debaryanum* é uma das espécies mais conhecidas do gênero, causadora do tombamento de plântulas. O gênero *Phytophthora* inclui muitos patógenos importantes de planta. Destes, *P. infestans*, a causa da requeima da batata.

Algumas espécies têm-se mostrado capazes de parasitar outros fungos ou larvas de mosquito. *P. insidiosum* é a causa da pitiose, doença granulomatosa cosmopolita comum em cavalos, bovinos, cães e, ocasionalmente, é relatado em humanos. *P. debaryanum* causa podridões de sementes e tombamento de um grande número de hospedeiros (PLAATS-NITERINK, 1981).

#### 3.2 Fitopatogenicidade

Espécies de *Pythium* são as causas mais importantes de doenças de tombamento pré e pós-emergência de mudas. O termo refere-se ao tombamento de pós-emergência como uma condição na qual plântulas são atacadas e apodrecem perto da linha do solo, fazendo com que caia. Esta condição é particularmente problemática em estufas, onde um grande número de plântulas é cultivado em estreita proximidade uma com a outra. Espécies de *Pythium* também atacam e apodrecem as sementes no campo e pode destruir mudas antes de surgir a partir do solo, uma condição conhecida como tombamento pré-emergência. Adicionalmente, algumas espécies também atacam as raízes de diversas plantas. Por exemplo, espécies de *Pythium* pode ser um problema muito grave em gramados usados para o golfe e campos de futebol. Plantas carnudas e partes de plantas, como a couve, abóbora, feijão e batatas também podem ser afetadas pela podridão por certas espécies de *Pythium* (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Há cerca de 120 espécies de *Pythium*, muitas delas acarretando podridão da semente e da raiz em plântulas na pré e pós-emergência, tendo como consequência seu tombamento (Figura 1). Doenças na raiz causadas por *Pythium* também pode danificar gravemente as plantas já estabelecidas em estufas e no campo. Raízes de plantas infectadas, muitas vezes, não apresentam pequenas raízes alimentadoras e as raízes secundárias são descoloridas. As plantas infectadas muitas vezes murcham e alguns podem apresentar sintomas que imitam deficiências minerais. Plantas mais velhas infectadas com *Pythium* também podem se apresentar necróticas, aquosas e com lesões no caule. *Pythium* causador da ferrugem em plantas também se tornou um grave problema de gramado, especialmente em áreas de alto valor de esportes e campos de golfe (TRIGIANO, 2004).





No tombamento observado em vasos, a muda germinada é atacada, colonizada, e morta antes de emergir através da superfície do solo. No tombamento pós-emergência, mudas emergem do solo e logo começam a murchar. Neste cenário, as raízes alimentadoras jovens são destruídas e os tecidos corticais da raiz primária são invadidas pelo patógeno (TRIGIANO, 2004).

Lesões escuras e com excesso de umidade se desenvolvem no caule na linha do solo. Enzimas hidrolíticas extracelulares como a pectinase, celulases, hemicelulases são produzidas pelo patógeno, degradando as paredes celulares dos tecidos vegetais, acarretando a perda de sua integridade estrutural. Quando as mudas não podem mais se sustentar, elas entram em colapso e caem sobre a superfície do solo, tombamento. Muitas vezes, e especialmente em ambientes de alta umidade, o micélio com aparência aquosa pode ser visto crescendo sobre os restos das plântulas em decomposição (TRIGIANO, 2004).

Espécies de *Pythium* sobrevivem no solo como hifas somáticas ou oósporos. Zoósporos ou oósporos são atraídos às raízes, onde encistam e germinam para infectar o tecido. Hifas somáticas também podem infectar diretamente raízes. Hifas crescem intercelularmente dentro do tecido hospedeiro e não produzem haustórios. A porção assexuada do ciclo de vida é completada com a formação de esporângios. Os esporângios podem ser indistinguíveis das hifas somáticas ou bastante diferentes, dependendo da espécie. O conteúdo dos esporângios migra em vesículas que são diferenciados zoósporos. Vesículas se rompem e zoósporos são liberados para o meio ambiente (TRIGIANO, 2004).

#### 3.3 Pitiose

#### 3.3.1 Características Gerais

A pitiose é uma doença causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum*, se enquadra no reino Chromista, filo Pseudofungi, classe dos Oomycetes, família Pythiaceae (LACAZ et al. 2002). Dentre as espécies do gênero *Pythium*, apenas o *P. insidiosum* é patógeno para mamíferos.

P. insidiosum acomete várias espécies animais, porém a doença é mais frequentemente observada em equinos, podendo, também, afetar os humanos. Epidemiologicamente a pitiose está intimamente relacionada com o contato dos animais e humanos com águas contaminadas pelo agente, onde produz zoósporos móveis que se constituem na forma infectante do P.

insidiosum. A enfermidade em equinos caracteriza-se principalmente pelo desenvolvimento de lesões subcutâneas ulcerativas e granulomatosas de aparência tumoral com presença de massas branco-amareladas, chamadas internacionalmente de "kunkers". Já nas outras espécies a formação dos "kunkers" não é observada (SANTURIO et al., 2006).

A doença foi originalmente relatada na Índia sob o nome *burusattee* como uma doença de cavalos pastando em ou perto de água estagnada, mas a natureza fúngica e o organismo causal não foi observado até o ano de 1901. A doença foi subsequentemente descrita como "ficomicose de cavalos", "pântano cancro", "dermatite granular", "pitiose equina", e finalmente passou a ser chamado como "pitiose insidiosum". O organismo causal foi inicialmente considerado como micélio sem esporulação, mas zoósporos foram relatados em cultura em 1974, quando o organismo foi considerado como uma espécie de *Pythium* (HOWARD, 2002).

Comumente, observa-se que os animais afetados permanecem por longos períodos em contato com águas paradas em lagos, açudes ou locais pantanosos.

A pitiose ocorre em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, em áreas alagadiças ou com histórico de inundação e temperaturas médias de 25°C (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). Não há predisposição por sexo, idade ou raça, e a fonte de infecção são os zoósporos ambientais, não havendo relatos de transmissão direta entre animais e entre animais e o homem.

As condições ambientais são fundamentais para o desenvolvimento de qualquer organismo no meio ambiente. Para a produção de zoósporos do *P. insidiosum* são necessárias temperaturas entre 30 e 40°C e o acúmulo de água em banhados e lagoas. A grande maioria dos casos de pitiose é observada durante ou após a estação chuvosa. Baseados nos dados epidemiológicos, acredita-se na existência de um período de incubação de várias semanas. No Brasil especificamente no Pantanal Matogrossense, a maioria dos casos de pitiose equina é registrada entre os meses de fevereiro e maio, verão-outono, período que corresponde ao ápice das cheias (LEAL et al., 2001). A maioria dos 38 casos de pitiose observados na Paraíba foi registrada nos meses de julho a outubro, sete a dez meses após o início das chuvas (SANTURIO, 2004).

Segundo Lacaz et al. (2002), a pitiose geralmente provoca lesões em equinos e outros animais, tendo sido registrados, também, casos humanos, em pacientes imunocomprometidos

ou não. Os equinos são os mais afetados e os caninos são a segunda espécie mais afetada, geralmente acometidos na forma gastrointestinal.

#### 3.3.2 Ciclo de vida e infecção

Um ciclo ecológico foi proposto para descrever o comportamento ambiental e a cadeia infecciosa do *P. insidiosum*. O ciclo baseia-se na colonização de plantas aquáticas, que servem de substrato para o desenvolvimento e reprodução do organismo, formando os zoosporângios. Os zoósporos livres na água movimentam-se até encontrar outra planta ou animal, onde se encistam e emitem tubo germinativo, dando origem a um novo micélio e completando seu ciclo (SANTURIO et al., 2006).

Análises *in vitro* demonstraram a atração dos zoósporos por tecidos animal e tecido vegetal, sendo a quimiotaxia atribuída a algumas substâncias presentes nesses tecidos. Uma substância amorfa é liberada pelo zoósporo após o seu encistamento, a qual provavelmente é produzida em resposta ao fator quimiotáxico do hospedeiro; essa substância agiria como um adesivo para ligar o zoósporo a superfície do hospedeiro e permitir a formação de tubo germinativo (SANTURIO et al., 2006).

Essas observações sustentaram a teoria de infecção, sugerindo que os cavalos em contato com águas contaminadas poderiam atrair os zoósporos, os quais germinariam a partir de uma pequena lesão cutânea. Existe também, a possibilidade de penetração dos zoósporos através dos folículos pilosos, baseados na detecção de hifas no interior do folículo de bovinos infectados naturalmente e no fato do quimiotaxismo ser mais ativo na região localizada dentro do folículo piloso. Essa observação pode questionar a necessidade de lesão na pele para que ocorra a germinação dos zoósporos. Por outro lado, nos casos e relatos acompanhados no Brasil, foi possível detectar diferenças na suscetibilidade de equinos à infecção. Comparandose com os dados de pitiose humana, onde a maior parte dos casos ocorre em indivíduos talassêmicos, pode-se suspeitar da presença de algumas características que torne alguns animais mais suscetíveis, mas, para Santurio et al. (2006), são necessárias mais investigações nesse sentido.

#### 3.3.3 Sintomas

A transmissão da Pitiose está relacionada com o contato de humanos e animais com a água contaminada pelo agente (DICK, 2002; SANTURIO et al., 2006).

A espécie equina é a mais acometida pela doença apresentando-se geralmente na forma cutânea e/ou subcutânea. Caracteriza-se pelo desenvolvimento de granulomas eosinofílicos de difícil tratamento denominadas de *kunkers*. Estruturas são formadas por hifas de *P. insidiosum* cobertas por células necróticas que originam massas que se assemelham a corais, de forma irregular, ramificadas e aspecto arenoso que se desprendem das lesões. Em humanos, a doença apresenta-se nas formas oftálmica, subcutânea e sistêmica, sendo as duas últimas associadas a α e β-talassemias, comuns no Sudeste da Ásia (LEAL et al. 2001).

A pitiose na espécie canina apresenta-se nas formas cutânea e gastrintestinal. Na forma gastrintestinal é comum o aparecimento de distúrbios digestivos como vômito, anorexia crônica, perda de peso, diarreia e presença de nódulos quando submetidos a palpação abdominal. Os caninos afetados geralmente são originários de regiões rurais ou estiveram em locais alagados como açudes e banhados. As lesões gastrintestinais caracterizam-se por granulomas e piogranulomas no estômago, intestino, esôfago, laringe e faringe (SANTURIO et al., 2006).

Na Costa Rica, foram registrados 39 casos de pitiose equina entre 1981 e 1984. Lesões necróticas foram observadas em diversas partes dos animais, principalmente patas, abdome, tórax e glândulas mamárias, com o isolamento do *Pythium* sp. Registraram ainda, mais quatro casos de pitiose equina com lesões ósseas, também na Costa Rica (LACAZ et al., 2002).

As lesões possuem forma irregular, e variam de tamanho. Os animais apresentam intensa coceira e normalmente mutilam a lesão na tentativa de aliviar o desconforto. Sem tratamento essas lesões geralmente evoluem rapidamente levando o animal ao emagrecimento progressivo e morte (LEAL et al., 2001).

Na forma intestinal, a infecção causada pelo *P. insidiosum* em equinos se apresenta como cólica, cuja causa é a presença de massas teciduais, com diminuição e/ou obstrução da cavidade intestinal. Além da pitiose óssea, cutânea e intestinal, outros órgãos e tecidos podem ser atingidos posteriormente (CATTO, 2008).

Os animais apresentam lesões deformantes, mas, de forma diversa, não ocorre a saída constante de linfa e outros fluídos corporais e o tecido granulomatoso é recoberto com pele

escurecida e grossa. Ao ser pressionada a lesão, facilmente consegue-se extrair *kunkers* com facilidade de onde foram isoladas estruturas posteriormente identificadas como *P. insidiosum*. Os equinos com tais lesões atípicas de pitiose não apresentam emagrecimento progressivo e, após um ano de observação as lesões permanecem do mesmo aspecto e tamanho. Segundo os autores, somente no pantanal brasileiro foram registradas estas formas bizarras da pitiose nos equinos (SANTURIO et al., 2006).

#### 3.3.4 Pitiose em humanos

Dois casos de pitiose humana na forma subcutânea foram registrados na Austrália. No Brasil o primeiro e único relato foi feito em 2005 em São Paulo na forma cutânea (CATTO, 2008)

As infecções por *P. insidiosum* em humanos podem apresentar-se de três formas. A primeira forma são lesões granulomatosas no tecido subcutâneo de pacientes talassêmicos, a segunda é a forma sistêmica, caracterizada por desenvolvimento de artrite crônica, trombose arterial e gangrena, atingindo geralmente a extremidade dos membros inferiores de pacientes talassêmicos e a terceira por ceratite podendo ou não ser associada à talassemia. As lesões podem-se apresentar na região periorbital e o aspecto histopatológico é similar ao das infecções em equinos (SANTURIO et al., 2006).

#### 3.3.5 Tratamento

O tratamento da pitiose é difícil. Três métodos terapêuticos – quimioterapia, cirurgia e imunoterapia – têm sido utilizados. Embora a literatura registre casos de cura com antifúngicos (anfotericina B, iodeto de potássio, e combinação de itraconazole com terbinafine), o tratamento é demorado, caro exige dedicação diária e tem efeitos colaterais. O tratamento cirúrgico, associado ou não à cauterização, é eficaz quando se faz a retirada de todo o tecido contaminado. No entanto, a cirurgia não pode ser usada em todos os casos, porque a localização, as estruturas anatômicas envolvidas e o tamanho das lesões inviabilizam essa abordagem terapêutica em boa parte dos casos (LACAZ et al., 2002).

O sucesso das diferentes formas de tratamento é variável e, em muitos casos, influenciados pelo tamanho e duração da lesão, idade e estado nutricional do animal. O

tratamento de infecções causadas pelo *P. insidiosum* em animais e humanos é complicado pelas características singulares do agente. O *P. insidiosum* difere dos fungos verdadeiros na produção de zoósporos móveis e na composição de sua parede celular. Os fungos verdadeiros possuem quitina em sua parede, enquanto o *Pythium* contém celulose e β-glucanas. A membrana plasmática não contém esteróides, como o ergosterol, que é o componente-alvo de ação da maioria das drogas antifúngicas. Devido a essas características, não existe droga antifúngica eficiente contra o *P. insidiosum* (SANTURIO, 2004).

Tradicionalmente, o diagnóstico da pitiose baseava-se nos aspectos clínicos, histopatológicos e no isolamento e identificação do agente através de suas características culturais, morfológicas e reprodutivas. A identificação precoce da doença, no entanto, tornase difícil através desses métodos. Atualmente, métodos como imunohistoquímica e técnicas sorológicas auxiliam e suportam um diagnóstico precoce e correto (SANTURIO et al., 2006).

#### 3.3.6 Pitiose no Brasil

No Brasil, a pitiose já foi descrita em equinos, bovinos e caninos. A maioria dos casos corresponde a lesões cutâneas em equinos. O primeiro relato ocorreu no Rio Grande do Sul, em 1997, atingindo uma fêmea com lesão cutânea no membro posterior direito. Posteriormente, foram descritos mais dois casos de pitiose no município de Santa Maria e um no município de Pelotas, RS (LACAZ et al., 2002).

Os relatos de pitiose equina no Brasil somam mais de 90 casos e têm sido descritos em vários estados como Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Paraíba, Pernambuco e São Paulo. Além dos casos publicados, relatos informais de médicos veterinários indicam a presença da doença em vários estados brasileiros. O Pantanal brasileiro é provavelmente o local de maior ocorrência de pitiose equina do mundo. O Pantanal é uma planície inundável de aproximadamente 140.000 km² e possui em torno de 140.000 equinos (CATTO, 2008). Embora não existam dados precisos da ocorrência no Brasil, os dados disponíveis indicam que a pitiose representa um problema à criação de equinos, especialmente em regiões alagadiças.

Na região mato-grossense, a pitiose que afeta os equinos é conhecida como "feridabrava" ou "mal dos pântanos", ela pode vir acompanhada de lesões ósseas e intestinais, sua coloração é branca-amarelada, que se dá por meio de células inflamatórias, com aspecto purulento (LACAZ et al. 2002).

#### 4 MATERIAIS E MÉTODO

#### 4.1 Caracterização da área

O vale do Rio Guaribas ocupa uma área de 22.059,4 Km² e apresenta a caatinga como bioma predominante. Possui clima megatérmico do tipo isotérmico e as precipitações anuais estão entre 400 mm e 800 mm, abrangendo 36 municípios do Estado do Piauí. Na área, habita uma população em torno de 302.203 habitantes com densidade demográfica de 13,70 hab./km², distribuídas entre 36 municípios do estado do Piauí, dentre eles o município de Picos e Bocaína (BRASIL, 2006).

O município de Picos apresenta uma população de 73.414 habitantes e uma área territorial de 535 Km². Parte da economia do município provém de atividades agrícolas permanentes e semipermanentes. O município é banhado pelo rio Guaribas, mas o potencial hídrico do rio é subaproveitado, principalmente devido à sua baixa vazão, consequência da represagem de suas águas na barragem do município de Bocaína (BRASIL, 2010).

A Barragem de Bocaina foi construída em 1985 no curso d'água do rio Guaribas, a montante das cidades de Bocaina e Picos, distando cerca de 6 km da primeira e 27 km da segunda. Localizada a 41,38 de longitude oeste e 6,92 de latitude sul, apresenta uma área de 960 km² com capacidade máxima de armazenamento de 106 hm³ de água e vazão de 360,0 L/s com garantia de 95%. A barragem pereniza um grande trecho do rio Guaribas e tem capacidade de suprir inúmeras irrigações às margens. Além de abastecer pequenas comunidades da região através de carros pipas, no reservatório é praticada a pesca, através de associação de pescadores da região (FREITAS, 2000).

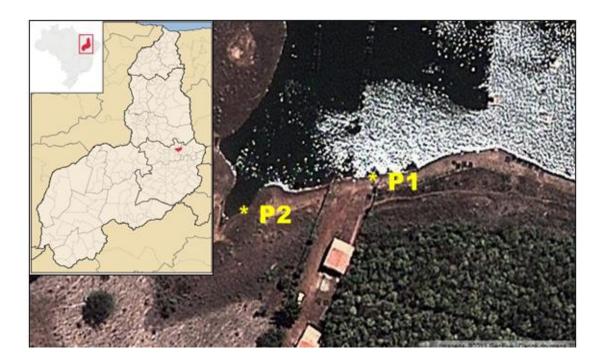
#### 4.2 Coleta e isolamento de oomicetos

Foram realizadas duas coletas de água e solo, uma às margens do Rio Guaribas e outra na Barragem de Bocaina, em 17 de janeiro de 2013, sendo dois pontos de coleta de água e dois pontos de coleta de solo, em cada.

Figura 2 - Pontos de coleta às margens do Rio Guaribas - PI (Fonte: mapa adaptado do IBGE e Google Mapas).



Figura 3 - Pontos de coleta na Barragem de Bocaina – PI (Fonte: mapa adaptado do IBGE e Google Mapas).



Para o estudo e isolamento de representantes do gênero *Pythium* presentes nas amostras, foi utilizada a técnica descrita por Milanez (1989). As amostras de água foram coletadas em frascos coletores de 75 ml e o solo em sacos plásticos com capacidade para 200g. As amostras foram transportadas para o Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia, Saúde e Meio Ambiente – NUPBSAM – da Universidade Federal do Piauí.

As amostras de água foram depositadas em placas de Petri 140 x 20 mm, contendo substratos orgânicos celulósicos (semente de sorgo, epiderme de cebola, palha de milho), queratinosos (ecdise de cobra e cabelo) e quitinoso (asa de cupim). Cada substrato foi anteriormente preparado para uso como "iscas" para os espécimes, segundo técnicas específicas (MILANEZ, 1989).

Cada amostra de solo foi homogeneizada com água destilada esterilizada em placa de Petri. Após 10 minutos de decantação, foram acrescentados os substratos orgânicos para iscagem. Decorrida uma semana, as iscas foram transferidas para placas de Petri contendo apenas iscas novas e água destilada esterilizada.

#### 4.3 Análise dos espécimes isolados

Após uma semana, as iscas foram observadas ao microscópio óptico. As colonizadas foram colocadas em placas de Petri com novos substratos para multiplicação dos isolados.

Lâminas com iscas foram preparadas para observação dos isolados em microscópio óptico Bioval, L1000-AC. O ciclo de vida foi descrito e as estruturas vegetativas e reprodutivas, sexuadas e assexuadas, foram ilustradas e fotografadas para caracterização morfológicas das espécies.

Para o estudo e identificação de *Pythium* foram utilizados os seguintes trabalhos: Sparrow (1960), Dick (1990b, 2001), Alexopoulos, Mims e Blackwell (1996), Johnson, Seymour e Padgett (2002), além de outros trabalhos específicos.

#### 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 5.1 Família *Pythiaceae*: características gerais

A família Pythiaceae compreende dez gêneros, dentre eles o gênero *Pythium* e *Pythiogeton*. Estes dois gêneros incluem alguns dos patógenos de plantas mais destrutivas e notórias (TRIGIANO,2004).

A família Pythiaceae inclui fungos aquáticos, terrestres e anfíbios, sendo a maior parte dos representantes terrestres causadores de doenças graves de plantas de interesse econômico. O micélio é bem desenvolvido e haustórios são produzidos em algumas espécies, principalmente as parasitas. As hifas que suportam os zoosporângios geralmente são indistinguíveis do micélio. Em algumas espécies, no entanto, são formados esporangiósforos bem definidos. Em tais casos, o crescimento do esporangióforo é indeterminado (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Nas formas mais simples os zoosporângios permanecem ligados à hifas que os suportam. Na maturação, os zoosporângios produzem e liberam uma série de zoósporos. Nas espécies mais especializadas os zoosporângios são decíduos e muitas vezes germinam por um tubo germinativo em vez de zoósporos produtores. O tipo de germinação, se por zoósporos ou por tubo germinativo, parece ser regulado, em grande medida pelas condições ambientais, especialmente pela temperatura (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Sexualmente, os membros da Pythiaceae estão em conformidade com o padrão geral descrito para Oomycota como um todo. Oósporos são formados por partenogênese em algumas espécies, mas é provável que ocorra a fertilização de um grande número (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

#### 5.2 Bases para o estudo no gênero *Pythium*.

Espécies de *Pythium* são de difícil identificação. A taxonomia do gênero é baseada em características morfológicas dos zoosporângios, oogônios e anterídios. Infelizmente, há considerável plasticidade nessas estruturas, fato que tem causado muitos trabalhos para exploração de novas abordagens para a taxonomia de espécies de *Pythium*, dentre elas o uso

de sorologia e comparações de ácidos nucleicos, bem como biometria de oósporos e oogônios (PLAATS-NITERINK, 1981).

#### 5.2.1 Micélio

O micélio de *Pythium* é incolor, às vezes brilhante, às vezes ligeiramente amarelado ou lilás acinzentado. As hifas são hialinas e as hifas principais são na sua maioria 5-7 e, ocasionalmente, até 10 µm de largura. Septos sem ausentes nas hifas, exceto em hifas velhas e quase vazias, ou onde ocorre delimitação de órgãos reprodutivos. O material protoplasmático é muitas vezes visível em hifas jovem. (PLAATS-NITERINK, 1981).

Em meio de cultura, a produção de micélio aéreo é mais ou menos dependente do meio utilizado. Em Agar fubá, batata e cenoura a maioria das espécies não produz micélio aéreo, mas em ágar aveia várias espécies desenvolvem micélio aéreo abundante. (PLAATS-NITERINK, 1981).

O micélio de algumas espécies, como *P. sylvaticum* e *P. ultimum*, apresenta-se visualmente com uma textura de algodão grosso em ágar de farinha de milho. Para a avaliação do desenvolvimento micelial, é necessário conhecer o meio no qual o fungo foi cultivado. As colônias de algumas espécies podem ser amarelada, devido a oósporos abundantes, como em *P. oligandrum* ou regiões infladas nas hifas, como em *P. intermedium*. As hifas de *P. torulosum* e algumas espécies afins são frequentemente ligeiramente lilás. Os vários padrões de colônia possuem características distintivas. Eles podem consistir em triângulos agudo - padrão de crisântemo -, lóbulos obtusos - roseta padrão -, ou pode ser simplesmente irradiar-se (PLAATS-NITERINK, 1981).

Em muitas espécies de *Pythium* apressórios são formados. Essas estruturas podem ser únicas ou unidas em cadeias ou cachos. Em uma planta hospedeira, podem formar estacas de infecção distal ou lateral.

#### 5.2.2 Reprodução assexuada

Em muitas espécies de *Pythium*, regiões infladas nas hifas indiferenciadas são formadas podendo germinar e formar um novo talo. Regiões infladas nas hifas podem ser intercalares ou terminais. Em *P. intermedium*, cadeias dessas regiões são formadas

terminalmente, a partir do qual células individuais são destacadas. Formação de clamidósporos são mais raros no gênero, mas eles ocorrem em *P. tracheiphilum e P. dimorphum* (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

A reprodução assexuada ocorre principalmente por meio de zoosporângios e zoósporos. O zoosporângio é separado do resto do micélio por uma parede transversal e são globosos a ovais, posicionados terminal ou intercalarmente nas hifas somáticas. Em certo ponto no zoosporângio um tubo de liberação se desenvolve.

Em *Pythium* os zoósporos não são formados no esporângio em si, mas em uma vesícula fora dela. O conteúdo indiferenciado do esporângio, o protoplasma, move-se através do tubo e forma uma vesícula na sua extremidade. Nela ocorre a diferenciação dos zoósporos, sendo delimitados e adquirindo movimento. Depois de algum tempo, cerca de 10 a 20 minutos, a parede da vesícula desaparece e zoósporos nadam em direções divergentes (PLAATS-NITERINK, 1981; ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Os zoósporos são apenas liberados em meio aquoso. A produção de zoosporângios pode ser estimulada por Mg, K, e os íons de Ca. Exsudatos de raízes e sementes em germinação têm um efeito estimulador sobre a germinação de esporos e crescimento micelial. A germinação de zoósporos tem sido demonstrada por meio de estimulação em *P. irregulare* e *P. vexans*, e a geminação de oósporos em *P. mamillatum*. Em *P. aphanidermatum* observouse a germinação por estimulação de zoósporos encistados e oósporos. Estudos têm mostrado que certos açúcares e aminoácidos e, especialmente, suas combinações apresentam efeitos semelhantes na germinação. As mesmas substâncias causam uma quimiotaxia positiva dos zoósporos. Esteróis também podem ter influência positiva sobre a reprodução assexuada (PLAATS-NITERINK, 1981).

O zoosporângio pode ser filamentoso a esférico. Num certo número de espécies o esporângio filamentoso não pode, ou dificilmente pode ser distinguido do resto do micélio, a menos que a vesícula e zoósporos indica a localização da parte esporângios. Em outras espécies os esporângios filamentosos são ligeiramente inflados ou formando estruturas dendróide. Em *P. aphanidermatum* e espécies afins os esporângios são fortemente inflados, formando complexos ou lóbulos torulóides. Esporângios filamentosos têm frequentemente longos tubos de liberação, enquanto que as espécies com esporângios esféricos os tubos de liberação são na sua maioria mais curto (PLAATS-NITERINK, 1981).

Dois tipos de esporângios esféricos podem ser distinguidos: num certo número de espécies os esporângios proliferam na parte inferior, formando um esporângio novo dentro do primeiro esporângio, ou o filamento cresce através do primeiro esporângio e do tubo de liberação, formando um novo esporângio fora do primeiro. Em outras espécies a proliferação nunca foi observada (PLAATS-NITERINK, 1981).

Os zoósporos de *Pythium* são reniformes ou piriformes. A partir de um sulco no zoósporo insere-se dois flagelos laterais. O flagelo anterior consiste de um eixo franjado e o flagelo posterior consiste apenas de um eixo abruptamente terminando e liso, tipo chicote (PLAATS-NITERINK, 1981).

Para Plaats-Niterink (1981), após um período como natante, os zoósporos sofrem um encistamento. Em *P. aphanidermatum*, na bainha dos flagelos surge uma forma semelhante a uma coroa e o axonema parece ser absorvido para dentro do citoplasma. O flagelo finalmente desaparece e a camada externa do zoósporo torna-se espessa. Posteriormente uma nova região de crescimento dá origem a um tubo germinativo. Em algumas espécies de *Pythium*, os zoósporos primários encistados podem produzir zoósporos secundários.

#### 5.2.3 Reprodução sexuada

A reprodução sexuada ocorre por meio de oogônios e anterídios. Os órgãos femininos, ou oogônios, são limiformes a esféricos, intercalados ou terminais. A parede do oogônio pode ser lisa ou ornamentada com projeções. Os órgãos masculinos, ou anterídios, consistem de uma célula que pode ser séssil em uma hifa, intercalado ou formado sobre uma haste terminal. A célula anteridial toca o oogônio e forma um tubo de fertilização que penetra no oogônio. Quando originados da mesma hifa que o oogônio, os anterídios são denominados monóclinos, se a origem for de uma hifa diferente a do oogônio, os anterídios são diclinos (PLAATS-NITERINK, 1981).

Em certas espécies a parte proximal da haste do oogônio torna-se um anterídio que é então chamado hipógino. Após fertilização do conteúdo oogonial forma-se o zigoto, o oósporo. Apenas em casos raros, mais do que um oósporo é produzido no interior de um oogônio. A parede é lisa, exceto oósporo de *P. dictyosporum* que são reticulados (PLAATS-NITERINK, 1981).

Há isolados de *Pythium* que formam apenas zoosporângios ou regiões infladas nas hifas, mas não produzem oogônios em culturas simples ou dupla. Os isolados sem observação de oogônios com esporângios filamentosos não inflados foram agrupados como Grupo 'F'; isolados com filamentosos inflados ou mais ou menos torulóides formam o Grupo 'T', isolados com zoosporângios globosos não-proliferando formam o Grupo 'G'; isolados com zoosporângios globosos proliferando formam o Grupo 'P'; e os isolados com regiões infladas nas hifas formam o Grupo "HS". Exceções são as espécies nomeadas *P. undulatum, e P. carolinianum P. elongatum* (PLAATS-NITERINK, 1975).

A produção de oósporos é dependente de vários fatores. A temperatura mais favorável para a reprodução sexual é em grande parte um tanto mais baixa do que para o crescimento linear, mas mais elevado do que para o desenvolvimento zoosporangial, podendo ter também alguns efeitos estimuladores de íons Ca, Mg, K, Zn e Mn (PLAATS-NITERINK, 1981).

Fatores importantes para a propagação sexuada são os esteróis. Esteróis estimulam o crescimento, aumentam a resistência a altas temperaturas e afetam a permeabilidade das membranas celulares (PLAATS-NITERINK, 1975).

Os oósporos podem preencher todo o oogônio, oósporos pleróticos, ou não, oósporos aplerótico. A espessura da parede oospórica é característica em cada espécie.

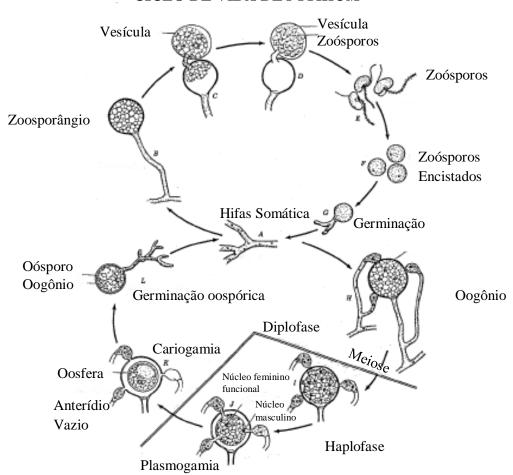
Após a maturação do oósporo ocorre uma fase de dormência antes da germinação. Na germinação o oósporo é convertido em uma estrutura de parede fina, produzindo um tubo de germinação ou atua como esporângio e zoósporos. A primeira etapa na germinação de oósporos é a absorção do esporo, o qual é dependente de uma fonte de cálcio exógeno. Esta fase é seguida pela formação de tubo germinativo e depende da presença de fontes de hidratos de carbono exógenos. A germinação do oósporo é, por outro lado, dependente de um potencial elevado de água, um pH adequado e da temperatura. A estimulação da germinação do oósporo já foi observada por meio de caseína, luz, passagem através do intestino de um caracol ou um tratamento com a enzima de caracol, a glucuronidase (PLAATS-NITERINK, 1981).

Baixas temperaturas e falta de nutrientes favorecem a germinação de oósporos por meio de esporângios e zoósporos. Os oósporos são estruturas importantes de sobrevida. Oósporos foram observados sendo viáveis depois de 8 meses a 12 anos (PLAATS-NITERINK, 1975).

A maioria das espécies de *Pythium*, incluindo *P. debaryanum*, é homotálico. Espécies heterotálicas foram observadas apenas a partir de 1967 e apenas em torno de sete espécies heterotálicas são conhecidos. Em *P. debaryanum*, oogônios desenvolvem anterídios em estreita proximidade, muitas vezes na mesma hifa, com o anterídio logo abaixo da oogônio (Fig. 4 H). O oogônio é globoso com um oósporo multinucleado rodeado por uma camada de periplasma. Anterídios são muito menores e um pouco alongados. Após contato gametangial, um tubo de fertilização desenvolve e penetra na parede do oogônio e no periplasma. A meiose ocorre em ambos os gametângios e todos, menos um núcleo funcional em cada um, se desintegraram. O núcleo masculino passa através do tubo para a oosfera, funde-se com núcleo do oogônio e forma o zigoto (Fig. 4 J). A oosfera desenvolve uma parede espessa, com forma mais ou menos esférica e sem ornamentos oósporo (Fig. 4 K).

Figura 4 - Ciclo de vida de *Pythium debaryanum*: (A) somática hifa, (B) zoosporângio, (C) germinação e formação de vesículas, (D) zoósporos maduros na vesícula; (E) a liberação de zoósporos; (F) zoósporos encistados; (G) germinando zoósporo; (H); gametangia (I) gametangia depois da meiose; (J) entrada do núcleo masculino em oosferas; (K) a fusão nuclear e formação oospórica; (L) germinando oósporo (periplasma distinguível). (Desenho de R. W Scheetz).

#### CICLO DE VIDA DE PYTHIUM



A temperaturas em torno de 28 °C, o oósporo germina por um tubo de germinação e se desenvolve em um micélio (Fig. 4 L). No entanto, a temperaturas entre 10-17° C, o tubo de germinação para de crescer quando atinge um comprimento de 5-20, seguido da migração do protoplastos do oósporo através do tubo, formando uma vesícula na extremidade na qual zoósporos desenvolvem-se (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

## Reprodução sexual em Oomicetos

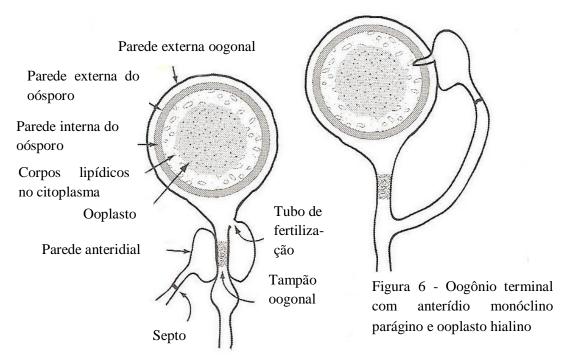


Figura 5 - Oogônio terminal com anterídio díclino anfígeno

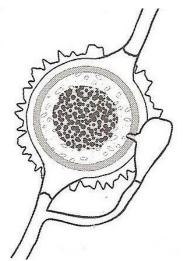


Figura 7 - Oogônio intercalar com ornamentação amorfa, anterídio parágino e ooplasto granular.

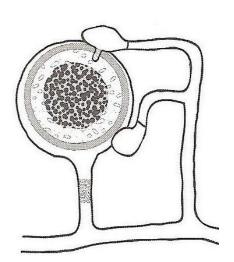


Figura 8 - Oogônio lateral com anterídio monóclino parágino e ooplasto granular.

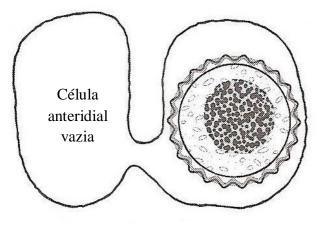


Figura 9 - Oósporo cêntrico com parede externa papilada e ooplasto hialino

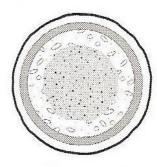


Figura 10 - Oósporo cêntrico com ooplasto hialino

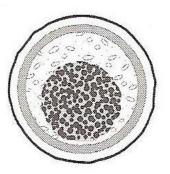


Figura 11 - Oósporo subcêntrico com ooplasto granular

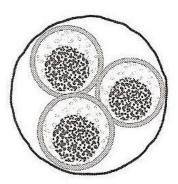


Figura 12 - Oósporos subcêntricos dentro de oogônio polioósporos

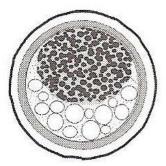


Figura 13 - Oósporo subexcêntrico com gotículas de gordura aglutinadas

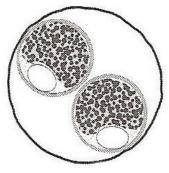


Figura 14 - Oogônio polioósporo com ooplasto excêntrico e gotículas de gordura aglutinadas



Figura 15 - Oósporo subcêntrico com parede externa terminal papilada e ooplasto hialino

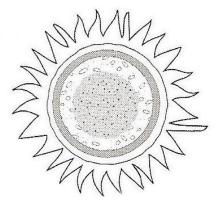


Figura 16 - Oósporo cêntrico com parede externa papilada e ooplasto hialino

## 5.3 Metodologia para identificação de *Pythium*

#### 5.3.1 Coleta

As amostras de água são coletadas em recipientes de boca larga e de capacidade de 75 ml (frascos coletores), previamente esterilizados e com etiqueta de identificação. A diversidade da micobiota em uma amostra de água é substancialmente reduzida com o processo de estocagem. Para diminuir este efeito, algumas iscas são colocadas nos frascos de coletas, antes de ir ao campo. Deste modo, alguns fungos podem estabelecer-se nas iscas, enquanto em trânsito, diminuindo a perda de zoósporos viáveis. Nas coletas de amostras de água, o solo da margem, precisamente da linha de água, ou logo abaixo desta, é resolvido vigorosamente antes da coleta. As amostras de solo superficial são coletadas com o auxílio de uma espátula esterilizada, aproximadamente 20 g, em saco de poetileno, de capacidade 100g, devidamente identificado (MILANEZ, 1970).

#### 5.3.2 Isolamento

Dos materiais coletados, a água e o solo são retirados, em seguida colocados em placas de Petri com água destilada estéril e iscas de substratos celulósicos (semente de sorgo, epiderme de cebola e palha de milho), quitinosos (asa de cupim) e queratinosos (ecdise de cobra e fio de cabelo). As amostras são incubadas à temperatura ambiente (22- 25° C), por 7

dias. Posteriormente, são examinadas diariamente para observação da colonização e produção das estruturas dos fungos nos substratos (MILANEZ, 1989).

Para a purificação e cultivo de espécies de *Pythium* utiliza-se o meio de cultura Maltose-Peptona, MP-5 (BENEKE; ROGERS, 1962)

Maltose 4 g

Peptona 1 g

Ágar

Água destilada 1000 ml

É necessário dissolver e autoclavar os ingredientes a 120° C, por 20 min. Dispor em placas de Petri ou estocar em Erlenmayer, sob refrigeração.

15 g

Para a identificação dos táxons de *Pythium* utiliza-se principalmente a publicação de Plaats-Niterink, "Monograph of genus *Pythium*", de 1981, onde o autor traz chaves de identificação e a descrição das espécies. Também utiliza-se a publicação de Dick, "Keys to *Pythium*", de 1990, onde o autor traz uma chave de identificação baseada principalmente na biometria. No anexo do presente trabalho encontra-se uma ficha de identificação para *Pythium* baseada na chave de identificação de Dick, elaborada no laboratório de Fungos Zoospóricos da UFPI, em Teresina.

## 5.4 Gênero Pythium na Bacia do Guaribas

Parte das técnicas descritas de coleta, isolamento e cultura de espécies da família Pyhtiaceae foi empregada em dois pontos da Bacia do Guaribas. Foram isoladas duas espécies de *Pythium* e duas de *Pythiogeton*.

#### Pythium sp1.

O micélio é incolor, às vezes brilhante, às vezes ligeiramente amarelado ou lilás acinzentado. As hifas são hialinas. O esporângio pode ser filamentoso ou mais ou menos esférico (PLAATS-NITERINK, 1975).

Figura 17 - *Pythium* sp1. A-B: Oogônio ornamentado com uma papila contendo um único oósporo.

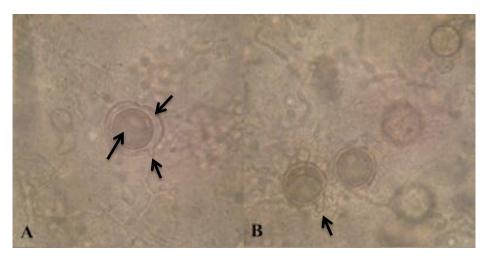
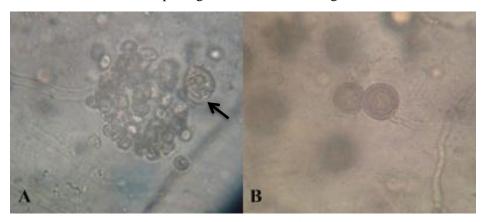


Figura 18 - *Pythium* sp1. A: Diferenciação de zoósporos dentro de uma vesícula na extremidade de um zoosporângio filamentoso. B: Oogônio intercalar.



Fonte: Autoria Própria

# 5.5 Gênero *Pythium T* na Bacia do Guaribas

Formam apenas esporângios ou inchaços hifais, mas não produz qualquer oogônio em culturas simples ou dupla (PLAATS-NITERINK, 1975). O gênero *Pythium T* apresentam esporângios torulóide.

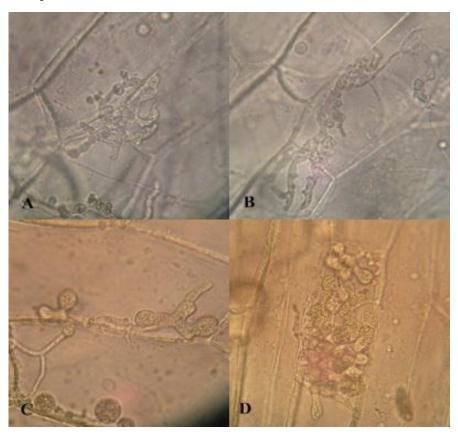


Figura 19 - *Pythium* grupo T. A-D: Zoosporângios toruloides formados em epiderme de cebola.

**5.6 Gênero** *Pythiogeton* **na Bacia do Guaribas** (Minden, Falck, Mykolog. Untersuch. Berichte, 2(2):241, 1916).

O gênero *Pythiogeton* apresenta micélio bem desenvolvido, ramificado; apressório ocasionalmente formado. Zoosporângio terminal ou intercalar; esférico, assimétrico ou busiforme; ocasionalmente proliferando; um ou mais tubos de descargas presentes. Zoósporos reniformes lateralmente biflagelados, formados em uma vesícula externa ao zoosporângio após a liberação, maturação fora da vesícula. Oogônio terminal ou intercalar; esférico ou poligonal. Ramos anteridiais geralmente monóclinos, frequentemente 1 por oogônio. Oósporo esférico, preenchendo o oogônio (SPARROW, 1960).

A B

Figura 20 - *Pythiogeton* sp 1: A-C: Zoosporângios vazios após a liberação dos zoósporos. D: Zoosporângios globoso com conteúdo protoplasmático.

D

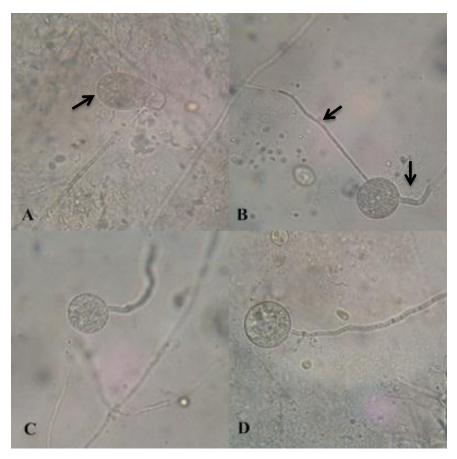
Pythiogeton ramosum Minden, Falck, Mykolog. Untersuch. Berichte, 2(2):238. 1916.

Colônia medindo 1 cm de diâmetro em semente de sorgo após duas semanas. Zoosporângio terminal, esférico, 20-40 µm de diâmetro, busiforme, 20-30 x 40-52 µm; tubo de liberação tendendo a formar ângulo reto com o eixo da hifa de sustentação do zoosporângio, 20-155 µm de comprimento; proliferação não observada. Oogônio e anterídios ausentes.

Substrato: Semente de sorgo.

Distribuição geográfica no Brasil: Amazonas, Rio de Janeiro, São Paulo, Pernambuco e Piauí (MILANEZ et al., 2007).

Figura 21 - *Pythiogeton ramosum*. A: Zoosporângio busiforme. B-D: Zoosporângios esféricos com tubo de liberação em 90° com a hifa sustentadora do zoosporângio.



## 6 CONCLUSÃO

Com base no estudo do gênero *Pythium* pode-se concluir que:

- a) O gênero *Pythium* apresenta representantes fitopatógenos que acarretam prejuízos em cultivos de interesse econômico;
- b) Das espécies do gênero, apenas uma, *Pythium insidiosum*, é parasita em mamíferos, provocando dermatose denominada de pitiose;
- c) Pesquisas com oomicetos ainda são escassas no Brasil, principalmente na região Nordeste e em especial no estado do Piauí, sendo os estudos com o grupo concentrando-se principalmente na região Sudeste;
- d) Para a identificação dos táxons no gênero *Pythium* é necessário que o pesquisador tenha domínio dos aspectos morfológicos e terminológicos específicos do grupo;
- e) A aplicação das técnicas de coleta, isolamento e identificação na Bacia do Guaribas demonstrou haver representante do gênero nesses ambientes, fazendo-se necessário estudos para o levantamento das espécies, principalmente as de interesse econômico.

Desta forma, a formação de especialista no estudo do gênero, em especial no estado do Piauí, torna-se relevante a medida que o conhecimento de sua riqueza, distribuição e diversidade pode contribuir para o entendimento da ecologia do grupo e o controle e manejo de espécies vegetais acometida por representantes fitopatógenos.

#### **BIBLIOGRAFIA**

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology.** 4. ed. New York: John Wily, Sons, 1996. 869 p.

BENEKE, E. S.; ROGERS, A. L. 1962. Aquatic Phycomycetes isolated in the states of Minas Gerais, São Paulo and Paraná, Brasil. Rickia 1: 181-193.

BICUDO, C. E. M; BICUCO, D. C; **Amostragem em Limnologia.** 2 ed. São Paulo: RiMa, 2004.

BRASIL. **Plano de ação para o desenvolvimento integrado da Bacia do Parnaíba**, **PLANAP**: síntese executiva: Território Vale do Rio Guaribas / Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba – CODEVASF. Brasília: TDA Desenhos & Arte Ltda, 2006.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades,** 2010. Disponível em:< http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. Acesso em: 06 mar. 2013.

CARLILE, M.J.; WTKINSON, S,C.; GOODAY, G.N.; **The Fungi.** 2 ed. Copyright Academic Press, 2001. 25-26 p.

CATTO, J. B.; SANTURIO, J. M.; Habronemose Cutânea e Pitiose Equina - no Pantanal Brasileiro. 2008.

CAVALIER-SMITH, T; CHAO, E. E. Phylogeny and megasystematics of phagotrophic heterokonts (kingdom Chromista). **J. Mol. Evol**. n. 62, v. 4, p. 388–420. 2006.

DICK, M. W. **Key to** *Pythium*. United Kingdom: University of Reading Press, Reading, 1990a.

DICK, M. W. Oomycota. In: MARGULIS, L. et al (Org.). **Handbook of Protoctista**. Boston: Jones and Bartlett, 1990b. p. 661-685.

DICK, M. W. **Straminipilous Fungi:** systematics of the Peronosporomycetes including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids and similar organismses. Holanda: Kluwer Academic Publishers, 2001. 670 p.

DICK, M. W. The Peronosporomycetes and other flagellate fungi. In: HOWARD, D. H.(Org.) **Pathogenic fungi in humans and animals.** 2. ed. Los Angeles: UCLA School of Medicine, 2002.

FREITAS, H.M. As tendências em sistemas de informação com base em recentes congressos. Porto Alegre: **READ - Revista Eletrônica de Administração. Porto Alegre,** n. 13, Fev.2000.

GOULD, A. B. Plant Pathogenic Fungi. In: TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. (Org.). **Plant pathology**: concepts and laboratory exercises. New York: CRC Press LLC, 2003. p. 126-159.

HOWARD, D. H.; **Pathogenic Fungi in Humans and Animals**. 2 ed. Marcel Dekker,Inc. New York,2002.

JOHNSON JR., SEYMOUR, R.L. & PADGETT, D.E. **Biology and systematics of Saprolegniaceae**. 2002. Disponível em:

<dl.uncw.edu/digilib/biology/fungi/taxonomy%20and%20systematics/padgett%20book>.
Acesso em: 11 mar. 2013.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS. J.E.C.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N. T.; **Tratado de micologia médica**. 9. ed. São Paulo: SAVIER, 2002.

LEAL, A.B.M.; LEAL, A.T.; SANTURIO, J.M.; KOMMERS, G.D.; CATTO J.B. Pitiose equina no pantanal brasileiro: Aspectos clínico-patológico de casos típicos e atípicos. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2001, v.21, p.151-156.

MARTINS, L. S. Diversidade de fungos zoospóricos (PROTISTA, OOMYCOTA) do rio Parnaíba, no perímetro urbano central de Teresina-PI, Brasil. 2006. 65 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) — Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2006.

MILANEZ, A.I. Contributions to the knowledge of the aquatic Phycomycetes of São Paulo State. I. Oomycetes from the West Region. Rickia, 1970. 5: 23-43.

MILANEZ, A.I. Fungos de águas continentais. In: FIDALGO, O.; BONONI. V. L. R. (Org.). **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. p. 17-20.

MILANEZ, A. I.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; GOMES, A. L. **Brazilian zoosporic fungi**. São Paulo: Autores com recursos do CNPq, 2007.

NASCIMENTO, C. A. **Fungos zoospóricos (Oomycota) ocorrentes em uma lagoa do município de Teresina, Piauí**. 2004. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) — Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2004.

NEGREIROS, N. C. Uso sustentável de culturas agrícolas suscetíveis a oomicetos (Oomycota) fitopatogênicos às margens do rio Parnaíba no município de Floriano, Piauí. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) — Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.

- OLIVEIRA, D. G. **Oomicetos (Oomycota) ocorrentes na cachoeira do rio Poti no Parque Ambiental da Floresta Fóssil, Teresina-PI**. 2005. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2005.
- PEREIRA, A. A. **Fungos zoospóricos em horta comunitária em Teresina, Piauí**. 2003. 69 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2003.
- PEREIRA, A. A. Oomicetos (Oomycota) no campo agrícola de Nazária, Piauí: sustentabilidade na prevenção e controle dos fitopatógenos em agricultura familiar. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2008.
- PLAATS-NITERINK, A. J. V. Monograph of genus *Pythium*. **Studies in Mycology**, n. 21, p. 1-242, 1981.
- PLAATS-NITERINK, A. J. Species of *Pythium* in the Netherlands. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 81, 1975.
- ROCHA, J. R. S. **Fungos zoospóricos em área de cerrado no Parque Nacional de Sete Cidades, Piauí, Brasil**. 2002. 266 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas Área Biologia Vegetal) Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, São Paulo, 2002.
- SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H.; PEREIRA, D.B.; ARGENTA, J.S. **Pitiose: uma micose emergente**. Acta Scientiae Veterinariae. 2006, v.34, p. 1-14.
- SANTURIO, J.M. *Pythium insidiosum*: avaliação de imunoterápico para equinos, utilizando-se de coelhos como modelo experimental. Tese (doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- SOARES, G. S. Espécies de *Achlya* (Oomycetes) ocorrentes nas lagoas do Parque **Zoobotânico de Teresina, Piauí**, Teresina, 2002. 58 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Piauí.
- SALES, P. C. L. Potabilidade da água e presença de oomicetos (Oomycota) em poços freáticos nos povoados Banco de Areia, Bacuri e Roncador no município de Timon, Maranhão [manuscrito] Teresina, 2009.
- SPARROW JR., F.K. **Aquatic Phycomycetes**. 2. ed. Ann Arbor: University of Michigan Press, 1960. 1187 p.
- TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. (Org.). **Plant Pathology**: concepts and laboratory exercises. New York: CRC Press LLC, 2004. p. 303,318 319.

WEBSTER, J.; WEBBER, R. W. S. **Introduction to Fungi**. New York: Cambridge University Press, 2007. 841 p.

#### Glossário

**Andrógino:** anterídio originado no pedúnculo do oogônio. Em Pythiaceae, é denominado de monóclino.

Anterídio: gametângio masculino formado pelo ramo anteridial e pela célula anteridial.

Aplerótico: oósporo que preenche parcialmente o espaço no interior do oogônio.

**Apressório:** Estrutura formada pelo inchaço do tubo germinativo ou de uma hifa, aderindo-se à superfície do hospedeiro.

Cariogamia: fusão de núcleos, formando um zigoto diploide.

Celulose: principal composto químico da parede celular dos vegetais.

Cisto (zoósporo encistado): estado de repouso do zoósporo

Copulação de gametângios:

Heterogâmica: fusão de gametas móveis de tamanhos ou formas diferentes.

**Oogâmica:** o gameta feminino é imóvel e o masculino é pequeno e flagelado.

**Díclino:** referente ao anterídio; quando anterídio e oogônio são originados em hifas diferentes.

**Dimórfico:** zoósporo que apresenta dois tipos morfológicos.

Dióico: fungos que apresentam micélios unissexuados ou talos sexuadamente distintos.

**Diploide:** diz-se do núcleo celular que possui um número par de cromossomos, o dobro do número de gametas.

**Episporo:** camada principal da parede do oósporo, determinando a sua forma.

**Esporo**: estrutura reprodutiva de fungos.

**Endósporo:** camada mais interna da parede do oósporo, geralmente fina, sendo a última a desenvolver-se.

**Exósporo:** camada externa do oósporo.

Flagelo: estrutura filiforme, vibrátil e hialina, que permite o movimento dos zoósporos.

Gametângio: estrutura produtora de gametas.

**Gema:** porção distendida e delimitada de uma hifa apresentando uma espessa parede; pode dar origem a uma nova hifa, convertendo-se em zoosporângio.

**Haploide:** diz-se do núcleo celular que possui n cromossomos, ou seja, a metade do número de cromossomos de um ovo fecundado.

Hifa: unidade estrutural da maioria dos fungos; filamento tubular.

**Hipógino:** célula anteridial única, delimitada no pedúnculo imediatamente abaixo do oogônio.

**Homotálico:** cujo talo é sexualmente auto fecundável, não necessitando de outro talo para reproduzir-se sexuadamente.

Meiose: reduz o número de cromossomos a condição haploide, entre organismos compatíveis.

Micélio: conjunto de hifas constituindo o corpo de um fungo.

Monóclino: referente ao anterídio; quando anterídio e oogônio são originados na mesma hifa.

Em *Pythiaceae*, também quando o anterídio origina-se em algum ponto ao longo do pedúnculo, abaixo do septo basal do oogônio.

**Monóico:** que apresenta órgãos masculinos e femininos no mesmo talo, podendo ser compatíveis sexualmente ou não.

Monomórfico: zoósporo que apresenta um único tipo morfológico.

Oogônio: gametângio feminino contendo uma ou mais oosferas.

Oosfera: gameta feminino não móvel produzido no oogônio.

**Ooplasto:** plasma do oogônio que envolve a oosfera.

**Oósporo cêntrico:** cujo ooplasto é circundado inteiramente pelo citoplasma, contendo uma ou duas camadas concêntricas de gotas de óleo na periferia do oósporo.

**Oósporo excêntrico:** que possui um único glóbulo lipídico situado contíguo e opostamente ao ooplasto no citoplasma.

**Oósporo subcêntrico:** cujo ooplasto é circundado parcialmente pelo citoplasma, apresentando diferentes números de camadas de gotas de óleo em cada lado da periferia do oósporo.

**Oósporo:** esporo formado pela fertilização da oosfera ou por partenogênese.

**Pedúnculo:** porção de hifa sustentadora do oogônio.

Plasmogamia: união dos protoplastos (conteúdo vivo de uma célula).

Plerótico: oósporo que preenche todo o espaço no interior do oogônio.

**Quitina**: composto químico que forma parte da parede celular dos fungos.

Ramo anteridial: ramo que produz a célula anteridial.

Rizóide: talo semelhante a raízes, servindo de órgão de nutrição e fixação.

Sapróbio: organismo que se nutre absorvendo as substâncias orgânicas que decompõe.

Septo: parede que separa duas células contíguas de uma hifa.

**Simpodial:** sucessão de dois ou mais eixos de uma hifa em que o eixo anterior termina em um zoosporângio.

Talassemia: é uma doença hereditária autossômica recessiva que afeta o sangue.

Talo: parte vegetativa de um fungo; micélio.

**Torulóide:** que dá a impressão de haver sido traçado e, por tanto, com porções mais estreita e mais largas.

Tubo de germinação: hifa primária que emerge de uma estrutura germinativa.

Zoosporângio: esporângio produtor de zoósporos.

Zoósporo: um esporo móvel produzido assexuadamente.

## **ANEXO**

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA - CCN LABORATÓRIO DE FUNGOS ZOOSPÓRICOS – LFZ FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DE Pythium (ver DICK, M. W. Keys to Pythium, 1990)

Projeto:		Identificador:	Data/	
		Amostra:		
1. Homotálico	()	Parede com protuberâncias	()	Ramos anteridiais:
Heterotálico	()	Parede com projeções:	( )	reto
2. Hifa com corpos	( )	irregularmente papiladas	()	às vezes envolvendo o oogônio
esféricos ou citriforme	()	com poucas papilas	()	ramificado
lobados ou torulóides	()	com papilas ramificadas	ίí	com voltas
simples intercalar	()	curvas, em forma de gancho	()	contorcido
simples terminal	()	espinhosas [muitas]	()	diâmetro regular
catenulados	()	espinhosas [poucas]	()	com diâmetro irregular
3. Zoosporângio ausente	()	mamiformes	()	coralóide
Zoosporângio presente:	.,	6. Pedúnculo	.,	envolvendo ou entrelaçando-se com
esférico ou subesférico	()	reto	()	pedúnculo
filamentoso	()	recurvado em direção a hifa	()	
filamentoso inflado	()	curvo em direção ao anterídio	()	Célula anteridial:
lobulado (L)	()	diâmetro irregular e recurvado	()	em forma de sinoE
torulóide (T)	()	algumas vezes dilatado	()	lobulada
digitado	()	7. Oosporo		séssil
digitadamente dendróide	()	parede lisa	()	com o ápice em curto contato com o
proliferando	()	parede reticulada	()	oogônio <b>C</b>
renovação cimosa	()	8. Anterídio		com o ápice em largo contato com o
4. Diâmetro do cisto:	=	ausente ou raramente presente	()	oogônio (B) <b>F</b>
5. Oogônio		hipógino <b>A</b>	()	com contato lateral com o oogônio
simetricamente intercalar	()	díclino	()	
lateralmente intercalar	()	intercalar	()	com uma curva em forma de
terminal	()	monoclino com origem próxima ao		ganchoC
Parede lisa	()	basal do oogônio <b>D</b>		
. Grodo nod	( )	distância entre a origem e o septo		
		L major que o comprimento do ocoô	nio ( )	

		Tabela (	de mensuração		
		Espessura			
	Oogônio	Oosporo	Ooplasto	Esporângio	P. oosporo
1	, µm	. µm	. µm	. µm	, µm
2	μm	μm	μm	μm	μm
3	μm	μm	μm	μm	μm
4	μm	μm	μm	μm	μm
5	μm	μm	μm	μm	μm
6	μm	μm	μm	μm	μm
7	μm	μm	μm	·μm	·μm
8	μm	μm	μm	μm	μm
9	μm	μm	μm	μm	μm
10	μm	μm	μm	μm	μm
11	μm	μm	μm	μm	μm
12	μm	μm	μm	μm	μm
13	μm	μm	μm	μm	μm
14	μm	μm	μm	μm	μm
15	μm	μm	μm	μm	μm
16	μm	μm	μm	μm	μm
17	μm	μm	μm	μm	μm
18	μm	μm	μm	μm	μm
19	μm	μm	μm	μm	μm
20	μm	μm	μm	μm	μm

Diâmetro do oogônio:
Diâmetro do oosporo:
Diâmetro do esporângio:
Expessura da parede do oosporo:
Volumedo esporângio globoso:
Nº de anterídio por oogônio:
Diâmetro da maioria dos oosporos:
Índice aplerótico:
Índice do ooplasto:
Índice da parede do oosporo:
Razão L:B =
C E
B B

Média

Célula anteridial (preencher com X as linhas L e B)																				
N° de Observações	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Qt. por oogōnio																				
L																				
В																				