XII Salão de Iniciação Científica PUCRS

Influência da concentração de íons de hidrogênio na viabilidade de zoósporos do oomiceto *Pythium* spp.

Bruna Ferraz Corrêa[1],Júlia de Souza Silveira Valente [1], Francielle Elisa Stoll[1], Daniela Isabel Brayer Pereira[1]

[1]*Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia.*

Introdução

Pythium spp. é um oomiceto do Reino Stramenipila, no qual as espécies podem ser saprófitas ou patógenas de plantas e somente *P. insidiosum* como patógeno de animais, sendo o agente etiológico da pitiose, uma doença de importância médica e veterinária (MENDOZA; HERNANDEZ; AJELLO,1993). Este microrganismo realiza seu ciclo biológico em ambientes aquáticos, requerendo baixas concentrações de íons, pH próximo da neutralidade e uma planta como hospedeiro. O ciclo biológico se baseia na colonização de plantas aquáticas, que servem de substrato para o desenvolvimento e reprodução de microrganismos, formando os zoosporângios. Os zoósporos liberados ficam livres na água movimentando-se até encontrar uma nova planta, onde se encistam e emitem tubos germinativos, dando origem a um novo micélio e completando seu ciclo (MILLER, 1983). Estudos *in vitro* demonstram que a composição dos sais minerais do meio pode alterar a motilidade dos zoósporos de *P.insidiosum* (SHIPTON, 1987). A concentração de íons de hidrogênio (pH) está entre os parâmetros de qualidade da água mais importantes que influenciam a germinação de zoósporos (KONG et al, 2009). Entretanto, a influência de fatores como pH na viabilidade de zoósporos em ambientes aquáticos não tem sido avaliada. Desta forma, o objetivo é avaliar a viabilidade de zoósporos de *P. insidiosum* e *Pythium* spp. quando submetidos a diferentes valores de pHs.

Metodologia

Foram utilizados 14 isolados de *P. insidiosum* oriundos de equinos com doença clínica e 01 oriundo de água; e 12 amostras de *Pythium* spp. isolados de águas de locais pantanosos no Rio Grande do Sul. Os testes avaliaram a germinação dos zoósporos em faixas de pHs que variaram de 2 a 10. Para isto, 900µL de caldo Sabouraud dextrose foi distribuído em duplicatas de tubos de hemólise e o pH de cada duplicata foi ajustado nos respectivos valores, usando soluções de 1N de HCl e 1N de NaOH. O inóculo utilizado constitui-se de uma suspensão de 10^3 a 10^4 zoósporos/mL de *P. insidiosum* obtidos através de indução de zoosporogênese (MENDOZA; PRENDAS, 1988). Volumes de 100µL do inoculo foram transferidos para cada tubo, os quais foram incubados a 37°C por 48h. A leitura foi realizada as 24 e 48 horas e considerou o crescimento ou não de hifas. Como controle negativo foi utilizado 100µL de caldo Sabouraud sem o inoculo.

Resultados e Discussão

Todas as amostras avaliadas (27) apresentaram crescimento em pH 6 e pH 7. Verificou-se que 10 amostras cresceram em pH 5,0 e 6 em pH 10. Nas amostras isoladas dos equinos com pitiose clínica nenhuma amostra cresceu em pH menor que 4, entretanto, observou-se que 5 isolados (18%) apresentaram crescimento em pHs entre 8 e 9. Já 9 (33,33%) das amostras de *Pythium* spp. cresceram em pHs entre 2 e 4 (Fig.1). Esses achados permitem inferir que *P. insidiosum*, única espécie patógena para mamíferos, apresenta ótimo crescimento em ambientes com pHs próximos da neutralidade ou alcalinos, o que vem de encontro com Mendoza, Hernandez e Ajello (1993). Estudos com *P. marsipum* e *P. fluminum* isolados de águas, mostraram que a produção de zoósporos ocorreu em pHs entre 5,5 e 9,5 (ABDELZAHER, ICHITANI, ELNAGHY; 1994). Todavia, no presente estudo, observou-se que *Pythium* spp. apresentou crescimento em pHs ácidos. Embora todas as amostras avaliadas, independente da espécie, tenham crescido em pHs entre 6 e 7, evidencia-se que as mesmas comportaram-se diferentes, quando submetidas a pHs ácidos e alcalinos.

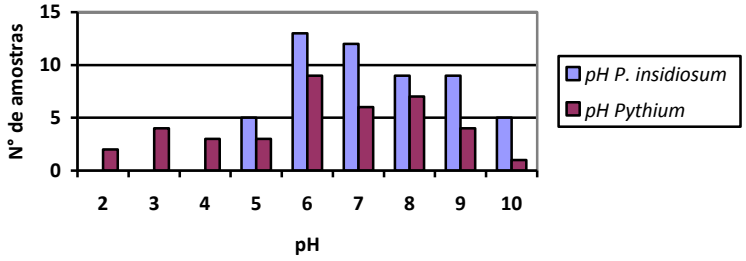

Figura 1: Crescimento de *P. insidiosum* e *Pythium* spp. em diferentes valores de pH.

Conclusão

Os isolados de *P. insidiosum* e *Pythium* spp. apresentam crescimento em faixas diferentes de pH.

Referências

ABDELZAHER, H. M. A.; ICHITANI, T.; ELNAGHY, M. A. Effect of temperature, hydrogen íon concentration and osmotic potential on zoospore production by three *Pythium* species isolated from pond water. **Mycoscience**, Vol. 35, N° 1 (1994), 1994.

BLAKER, N. S.; MacDONALD, J.D. Influence of Container Medium pH on Sporangium Formation, Zoospore Release and Infection on Rhododendron by *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Disease**, Vol. 87, N°. 3(1983), pp. 259-263.

MENDOZA, L.; HERNANDEZ, F.; AJELLO, L. Life Cycle of the Human and Animal Oomycete Pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal of Clinical Microbiology**, Vol. 31, N° 11 (1993), pp. 2967-2973.

MENDOZA, L.; PRENDAS, J. A method to obtain rapid zoosporogenesis of *Pythium insidiosum*. **Mycopathologia**, Vol. 104, N°. 1 (1988), pp. 59-62.

MILLER, R. I. Investigation into the biology of three "phycomycotic" agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia.** Vol. 81, N°1 (1983), pp. 23-28.

SCHURKO, A.; MENDOZA, L.; COCK, A. W. A. M.; KLASSEN, G. R. Evidence for geographic clusters: Molecular genetic differences among strains of *Pythium insidiosum* from Asia, Australia and the Americas are explored. **Mycologia**, Vol. 95, N° 2 (2003), pp. 200-208.

SHIPTON, W. A. Regulation by Ions of Zoospore Release in *Pythium*. **Australian Journal of Botany**, Vol. 35, N°1 (1987), pp.79-89.