

Technical Note

## Potencial de produtos à base de fosfitos no controle de *Pythium* sp. em condições *in vitro*

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de produtos a base de fosfitos de potássio, cobre e manganês no controle de *Pythium* sp. em condições *in vitro*. O experimento foi conduzido no laboratório de fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri®. Os fosfitos foram adicionados nas concentrações de 0,001; 0,002; 0,004; 0,006% ao meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Agar), corrigido o pH do meio com NaOH até pH 6,0, e então, vertidos para as placas de Petri® onde foram inseridos discos de 5 mm, com micélio fungo no centro da placa. As placas foram acondicionadas em incubadora B.O.D à 25°C com fotoperíodo de 12 horas, por um período de 12 dias, quando obteve-se o crescimento micelial até atingir as bordas das placas da testemunha. Os resultados observados demonstraram haver um efeito fungistático significativo entre as concentrações dos produtos e o crescimento micelial, sendo que com o aumento das concentrações ocorreu uma redução do crescimento micelial do *Pythium* sp.. Na concentração de 0,006% ocorreu uma ação fungicida, não havendo o crescimento do patógeno, demonstrando a eficácia dos mesmos no controle *in vitro* de *Pythium* sp..

**Palavras-chave:** oomicetos, crescimento micelial, ação fungistática, fungicida.

### Abstract

## Potential of phosphite-based products in the control of *Pythium* sp. under *in vitro* conditions

The objective of this work was to evaluate the potential of products based on potassium, copper and manganese phosphites in the control of *Pythium* sp. under *in vitro* conditions. The experiment was conducted at the Phytosanitary Laboratory of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos campus. The design was completely randomized with four replicates, with the experimental unit consisting of a Petri® plate. The phosphites were added at concentrations of 0.001; 0.002; 0.004; 0.006% to the BDA (Potato, Dextrose and Agar) medium, corrected the pH of the medium with NaOH to pH 6.0, and then poured into the Petri® plates where 5mm discs were inserted with fungal mycelium in the center of the board. The plates were conditioned incubator B.O.D at 25 °C with 12-hour photoperiod for a period of 12 days, when the mycelial growth was obtained until reaching the edges of the control plates. The observed results showed a significant fungistatic effect. Among the concentrations of the products and mycelial growth, with the increase of the

Received at: 20/04/2017

Accepted for publication at: 18/10/2017

<sup>1</sup> Eng. Agrônoma. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos - UTFPR - Estrada Boa Esperança - Zona Rural, Dois Vizinhos - PR, 85660-000. Email: sthelucca@hotmail.com

<sup>2</sup> Eng. Florestal. Mestranda do programa de pós-graduação. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos - UTFPR - Estrada Boa Esperança - Zona Rural, Dois Vizinhos - PR, 85660-000. Email: thayllanecampos@hotmail.com

<sup>3</sup> Eng. Agrônomo. Mestrando do programa de pós-graduação. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos - UTFPR - Estrada Boa Esperança - Zona Rural, Dois Vizinhos - PR, 85660-000. Email: nean.locatelli@hotmail.com

<sup>4</sup> Eng. Agrônomo. Dr. Prof. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos - UTFPR - Estrada Boa Esperança - Zona Rural, Dois Vizinhos - PR, 85660-000. Email: sergio@utfpr.edu.br

concentrations a reduction of the mycelial growth of *Pythium* sp. At the concentration of 0.006%, a fungicidal action occurred, without the growth of the pathogen, demonstrating their efficacy in the in vitro control of *Pythium* sp.

**Key words:** oomycetes, mycelial growth, fungistatic action, fungicide.

## Resumen

### Potencial de productos a base de fosfitos en el control de *Pythium* sp. en condiciones *in vitro*

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de productos a base de fosfitos de potasio, cobre y manganeso en el control de *Pythium* sp. en condiciones *in vitro*. El experimento fue conducido en el laboratorio de fitosanidad de la Universidad Tecnológica Federal de Paraná, campus Dois Vizinhos. El delineamiento fue completamente casualizado con cuatro repeticiones, siendo la unidad experimental constituida por placa de Petri. Se añadieron los fosfitos a las concentraciones de 0,001; 0,002; 0,004 al medio de cultura BDA (Patata, Dextrosa y Agar). corrigido el pH del medio con NaOH hasta pH6,0 y entonces drenados para las placas de Petri donde se insertaron discos de 5 mm, con micelio de lo hongo en el centro de la placa. Las placas fueron acondicionadas en incubadora B.O.D a 25 ° con fotoperíodo de 12 horas, por un período de 12 días, cuando se obtuvo el crecimiento micelial hasta alcanzar los bordes de las placas del testigo. Los resultados observados demostraron un efecto fungistático significativo entre las concentraciones de los productos y el crecimiento micelial, siendo que con el aumento de las concentraciones ocurrió una reducción del crecimiento micelial del *Pythium* sp. En la concentración de 0,006% ocurrió una acción fungicida, no habiendo el crecimiento del patógeno, demostrando la eficacia de los mismos en el control *in vitro* de *Pythium* sp.

**Palabras clave:** oomicetos; crecimiento micelial; acción fungistática; fungicida.

## Introdução

O *Pythium* spp. é um Oomiceto do Reino Stramenipila, que faz parte do filo Oomycota, podendo ter espécies saprófitas ou patogênicas de plantas. É um fungo necrotrófico que pode causar tombamento de plântulas em pré e pós-emergência, atacando o embrião, hipocótilo, e radícula. O gênero *Pythium* é um dos principais infestantes de solo e possui grande impacto econômico, causando danos severos que podem reduzir o rendimento e a qualidade das culturas. (SCHROEDER et. al. 2013).

Os sintomas do ataque do patógeno muitas vezes podem ser confundidos com deficiência nutricional ou ataque de outros patógenos que possuem sintomas semelhantes. Podemos destacar que o tombamento de plântulas, é ocasionado por um complexo de fungos que estão no solo, e dentre esses fungos podemos destacar o *Pythium* sp. (SARTI; MIYAZAKI, 2013).

Com isso, o controle mais indicado para o *Pythium* é basicamente o preventivo, evitando a entrada e proliferação do patógeno na área (GHINI, 2002). Dentre as medidas de controle preventivo

pode-se salientar sementes de qualidade, manejo da irrigação, rotação de culturas e o tratamento de sementes com fungicidas.

Os fosfitos ( $H_2PO_3$ ) são fertilizantes foliares formados pela redução de uma base do ácido fosforoso (CAIXETA, 2012). Estes, podem ser combinados com outros nutrientes como potássio, cobre ou manganês (RIBEIRO JUNIOR, 2008). Os fosfitos apresentam ação direta em condições *in vitro* sobre os patógenos, reduzindo o crescimento micelial e esporulação em Oomicetos (NIERE et. al.,1990), bem como, a formação de esporângios e a liberação de zoósporos (BONETI e KATSURAYAMA, 2011).

Na grande maioria dos trabalhos, os fosfitos vem demonstrando potencial de controle de fitopatógenos, seja em condições *in vitro* e até mesmo *in vivo*. Destes trabalhos, destaca-se o uso de fosfito de potássio, possivelmente por serem as primeiras formulações a base de fosfito disponíveis no mercado. No entanto, tem crescido a oferta de outros fosfitos, entre estes de cobre e manganês.

Sobrinho et.al., (2016) testou fosfito de potássio no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro, e obteve resultados positivos na inibição do patógeno

nas concentrações de 50 ppm em cultivo in vitro. Bem como Araujo (2010), onde observou-se o controle de *Colletotrichum gloesporioides*, e obteve-se ação direta do produto sobre o crescimento do patógeno, nas doses testadas com o uso do fosfito de potássio.

Considerando importância do *Pythium* sp. em doenças de plantas, bem como o potencial dos fosfitos e ainda a carência de informações, o trabalho como objetivo avaliar produtos a base de fosfito potássio, cobre e manganês no controle de *Pythium* sp. em condições in vitro.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. Os isolados de *Pythium* foram obtidos da micoteca do próprio laboratório, sendo cultivados em placas de Petri® contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), acondicionados em BOD à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após 12 dias de crescimento o micélio puro do patógeno foi utilizado no experimento.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema 4x4x4 com três fosfitos e a testemunha, quatro doses e quatro repetições, sendo cada unidade experimental

composta por placas de Petri® de vidro com 9 cm de diâmetro.

Foram utilizados fosfito de potássio (Ultra K10®), cobre (CUBO 700) e manganês (Ultra Mn10®). Os produtos foram adicionados nas concentrações de 0,001; 0,002; 0,004; 0,006% ao meio de cultura BDA, corrigido o pH do meio com NaOH, até pH 6,0, e então, vertidos para as placas de Petri® onde foram inseridos discos de 5 mm, com micélio fungo no centro da placa. Como testemunha foi utilizado apenas meio BDA. As placas foram acondicionadas em incubadora BOD a 25° com fotoperíodo de 12 horas. O crescimento micelial foi monitorado diariamente e os valores foram obtidos em milímetros (mm).

Os dados foram avaliados quanto à normalidade, e submetidos à análise de variância e análise de regressão através do programa estatístico Genes (CRUZ, C.D GENES, 2013.)

## Resultados e discussões

Os resultados observados demonstraram que houve efeito significativo entre as concentrações dos produtos e o crescimento micelial. O aumento das concentrações ocasionou redução do crescimento micelial do *Pythium* sp.

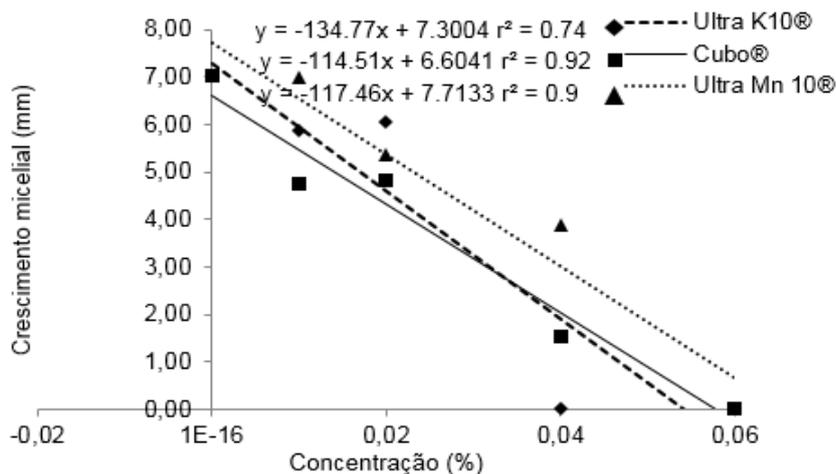


Figura 1. Crescimento micelial de *Pythium* sp. em função dos produtos a base de fosfito de potássio, cobre e manganês.

Na concentração de 0,006% todos os fosfitos apresentaram ação fungicida, não havendo o crescimento do patógeno, demonstrando a eficácia dos mesmos para o controle *in vitro* de *Pythium* sp. Resultados diferentes dos encontrados por DANIEL E GUEST (2006), que afirmam que os fosfitos não são capazes de paralisar o crescimento micelial de Oomicetos, mas apenas contê-los.

A inibição do patógeno pelos produtos a base de fosfitos, possivelmente, foi devido à ação direta do produto sobre o fungo, pela atuação no processo da fosforilação oxidativa como observado em Oomicetos (MCGRATH,2004).

A fosforilação oxidativa ocorre nas mitocôndrias e em condições de aerobiose. No caso do *Pythium* sp. a presença dos produtos a base de fosfitos impediram a respiração aeróbica, afetando a produção de ATP, a qual é responsável pelo seu desenvolvimento. Dessa forma, o crescimento foi afetado e á medida que as concentrações aumentaram houve inibição total de crescimento, caracterizando efeito fungicida.

Em alguns trabalhos, é possível observar o uso dos fosfitos de potássio no controle de fitopatógenos *in vitro* (ARAUJO et al., 2010; SCHURT et al., 2013. Ainda, CATAO (2013) testou fosfito de potássio no controle de *Alternaria tomatophila* (pinta preta do tomate) *in vitro*, e pode observar que houve inibição total do crescimento micelial e redução da germinação de esporos. Os pesquisadores Araújo et al., 2008 e 2010, verificaram que os fosfitos de potássio tem efeito direto, reduzindo o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, patógeno responsável pela doença mancha da gala.

Além da ação direta dos fosfitos sobre patógenos em condições *in vitro*, diversos trabalhos apresentam o potencial dos mesmos em diferentes patossistemas. Em pós-colheita de maçãs, estudos realizados por Spolti (2015), verificou que o fosfito de potássio apresentou potencial fungicida erradicante; com redução de 60% nos danos de podridão olho de boi e ainda inibição *in vitro* do desenvolvimento do fungo. Na cultura do abacate verificou a redução da doença causada por *Phytophthora cinnamomi* (podridão de raiz), diminuição da população do

patógeno, e ainda aumento da altura das plântulas (SILVA, 2014).

Ainda, com fosfito de manganês, Riberio JR. (2008) trabalhando com *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola* em cafeeiro, observou redução de das doenças em casa de vegetação e a campo.

No feijoeiro, foi observada a redução da área abaixo da curva de progresso da doença, para antracnose, quando aplicado fosfito de Mn, bem como redução da severidade da doença e aumento da atividade enzimática peroxidases e polifenóis oxidases. (GADAGA. et.al,2017).

Da mesma forma, o uso de fosfito de cobre proporcionou o controle da severidade de *Fusarium solani* no feijoeiro em condições de campo, tendo um controle de até 42% da doença. (JUNIOR. et. al, 2013).

MELO.et.al. (2016), testou fosfito de cobre no controle da fusariose em frutos de abacaxi e constatou o controle da doença em 67,68%, verificando que o produto pode auxiliar de forma efetiva no controle de patógenos.

Em uma avaliação conjunta dos resultados, os quais demonstraram o potencial dos fosfitos de potássio, cobre e manganês de forma direta sobre o patógeno, e prospectando novos estudos, vale ressaltar a importância de estudos *in vivo*, que considerem um patossistema de interesse agrícola. Nesse sentido, deve-se considerar que os fosfitos possuem a particularidade de apresentarem translocação via floema, diferente dos fungicidas, o que pode contribuir no controle de fungos presentes em sistemas radiculares.

## Conclusões

Todos os fosfitos apresentaram efeitos sobre o crescimento micelial de *Phyitium* sp. com o aumento das concentrações utilizadas.

Os fosfitos de cobre e manganês nas concentrações de 0,001% a 0,004% apresentam efeito fungistático e na concentração 0,006% efeito fungicida.

O fosfito de potássio apresentou efeitos semelhantes, porém a inibição total ocorreu já na concentração 0,004%.

## Referências

ARAUJO, L.; STADNIK, M. J.; BORSATO, L.; VADEBENITO-SANHUEZA, R. M. fosfito de potássio e ulvana no controle da macha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n.2, p.148-152. 2008.

ARAÚJO, L. SANHUEZA, R.M.V. STADNIK, M. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro e no controle pós-infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. **Tropical Plant Pathology**. v.35, n.1, 2010.

ARAÚJO, L.; VADEBENITO-SANHUEZA, R. M.; STADNIK, M. J. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro no controle pós-infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.1, p.54-59. 2010.

BONETI, J. and KATSURAYAMA, Y., 2011. Uso dos fosfitos e compostos naturais no controle das doenças da macieira. **Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado**, 12, pp.54-66.

CAIXETA, A.O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, 2012, v.3.p.35-43.

CATAO, Hugo César Rodrigues Moreira et al. Fungicidas and alternative products in the mycelial growth and germination control of *Alternaria tomatophila*. **Idesia**, 2013, vol.31, n.3, pp.21-28.

CRUZ, C.D GENES. A software package for analyses in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v. 35, n.3, p.271-276, 2013.

DANIEL, R. GUEST, D.I. Defence responses induced by potassium phosphanate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.67, n.1, p. 194-201. London, 2006.

GADAGA, et.al. Phosphites for the control of anthracnose in common bean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2017, v.5, n.1,p.36-44.

GHINI, R. SCHOENMAKER, I.A.S, BETTIOL, W. Solarização do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica no controle de *Pythium* spp. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v.37, n.9, Brasília, 2002.

HENDRIX, F.F. and W.A. Campbell. 1973. *Pythium* as plant pathogens. **Annu. Rev. Phytopathol.** 11: 77-98.

JÚNIOR, M. B. D. S. et.al Fosfito de cobre no manejo da podridão radicular do feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**. Ouro Preto, 2013.p.244.

MELO, et.al. Indutores de resistência abióticos no controle da fusariose do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2016, v.51,n.10, p.1703-1709.

MCGRATH, M.T. What are fungicides? The Plant Health Instructor. Disponível em: < <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/Fungicidas.aspx>> Acesso em Nov. 2016.

NIERE, J.O.; GRIFFITH, J.M.; GRANT, B.R. P NMR studies of the effect of phosphate on *Phytophthora palmivora*. **Journal of General Microbiology**,1990,v.136,p.147-156.

RIBEIRO JÚNIOR, P. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***, Lavras : UFLA, 2008. 105 p. (Tese Doutorado).

SCHROEDER, K.L.; MARTIN, F.N.; DE COCK, A.W.; LÉVESQUE, C.A; SPIES, C.F.; OKUBARA, P.A. & PAULITZ, T.C. Molecular detection and quantification of *Pythium* species: evolving taxonomy, new tools, and challenges. **Plant Disease**, 2013.

SCHURT, D. A.; RODRIGUES, F. A.; SOUZA, N. F. A.; REIS, R. D. Eficiência de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani* in vitro. **Revista Ceres**. v.60, n.2 p. 221-225. Viçosa, mar-abr, 2013.

SARTI, G.C.; MIYAZAKI, S.S. Actividad antifúngica de extractos crudos de *Bacillus subtilis* contra fitopatógenos de soja (*Glycine max*) y efecto de su coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*. **Agrociencia**, v. 47, n. 4, México, jun. 2013 .

SILVA, Matheus Silva e et al. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Rev. Ciênc. Agron**, 2014, vol.45, n.4, pp.718-725.

SPOLTI, P.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; CAMPOS, A. D.; DEL PONTE, E. M. Modo de ação de fosfitos de potássio no controle da podridão olho de boi em maçã. **Summa phytopathol**, 2015, vol.41, n.1, pp.42-48.

*Applied Research & Agrotechnology* v.11, n.1, jan/apr. (2018)

Print-ISSN 1983-6325 (On line) e-ISSN 1984-7548

Santos et al. (2018)

SOBRINHO, G.G.R. et.al. Efeito de fosfito de potássio no crescimento e na densidade micelial do *Fusarium solani* do maracujazeiro. *Summa Phytopathol*, v.42, n.2, p.180-182, 2016.

WILKINSON, C. J.et.al. Effect of phosphite in plant zoospore production of *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 50, p.587-593. 2001