

ADEQUAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO DE *Phyllosticta* sp. (f.p. *Phaeosphaeria maydis*) E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE EXOENZIMAS ENVOLVIDAS NA PENETRAÇÃO DO PATÓGENO NA PLANTA. Eliane Patrícia Cervelatti ⁽¹⁾; Luzia Doretto Paccola-Meirelles ⁽²⁾; Fernando Tavares Fernandes ⁽³⁾ & Antônio Carlos de Oliveira ⁽³⁾. ⁽¹⁾ - Aluna do curso de mestrado em Genética e Melhoramento da UEL/Embrapa/Iapar, Londrina/PR, ⁽²⁾ - Docente da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Depto. de Biologia Geral, Londrina/PR, ⁽³⁾ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas/MG.

Palavras-Chaves : *Phyllosticta* sp, *Phaeosphaeria maydis*, *Zea mays*, mancha foliar, exoenzimas

A crescente ocorrência da mancha por *phaeosphaeria* em milho gerou a necessidade de maiores conhecimentos sobre a biologia de *Phyllosticta* sp (f.p. *Phaeosphaeria maydis*), fitopatógeno descrito como agente causal da doença. O presente trabalho teve como objetivo adequar as condições de crescimento e germinação do fungo e avaliar a produção de exoenzimas importantes para a penetração do fungo na planta (celulase, protease, lipase e amilase). Para avaliação do crescimento micelial, discos de micélio de 0,5mm de um isolado foram inoculados em oito meios de cultura, meio de batata com diferentes fontes de carbono - açúcar cristal, sacarose p.a., glicose e açúcar mascavo; meio de extrato de folhas de milho; meio de aveia; de amido de milho e de farinha de milho, nos pHs 5,7 e 6,9. Os tratamentos foram incubados a 22° +/- 2° C (12h claro/12h escuro) e, após 48 horas de incubação, realizou-se a medida do diâmetro das colônias, duas vezes ao dia. Observou-se que o crescimento micelial foi significativamente maior no meio de batata + açúcar cristal, pH 6,9 (Tabela 1). Em pH 5,7, o meio de batata + açúcar mascavo apresentou as melhores resultados (Tabela 2). A porcentagem de germinação foi avaliada em três meios de cultura (Meio Completo de Pontecorvo, BDA e Ágar-Água), em cinco temperaturas (12°, 15°, 18°, 22° +/- 2° e 25°C) (Figuras 1, 2 e 3). As observações foram feitas em microscópio óptico em intervalos de duas horas. Em cada amostra foram avaliados 50 conídios, sendo considerados como germinados aqueles cujo tamanho do tubo germinativo era duas vezes maior que o diâmetro do conídio. A porcentagem de germinação foi influenciada pelo meio de cultura, tempo e temperatura, sendo menor a 12°C em todos os tratamentos. Para os testes quantitativos da produção de exoenzimas, discos de micélio de 0,5 mm de diâmetro, de sete diferentes isolados foram inoculados em meios para detecção da atividade enzimática. As amostras foram incubadas a 22° +/- 2° C e, após 48 horas de crescimento, foi feita a revelação do halo de degradação enzimática, com reveladores específicos conforme descrito por Hankin & Anagnostakis (1975). Todos os isolados produziram e secretaram lipase para o meio de cultura. Não foi observada a formação do halo de detecção enzimática celulolítico, amilolítico e proteolítico pela metodologia empregada.

Tabela 1. Médias, dos diâmetros das colônias de *Phyllosticta* sp., em seis meios de cultura, pH 6,9, no sexto dia de incubação. (média de seis repetições). Sete Lagoas, MG. 1998.

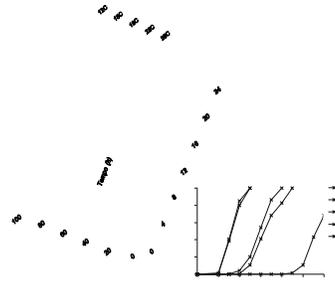
Meio de cultura	Média dos diâmetros (cm)
batata + açúcar cristal	84,42 a
aveia	81,33 ab
extrato de folha de milho	80,00 ab
farinha de milho	77,58 ab
batata + sacarose p.a.	74,92 b
batata + açúcar mascavo	74,42 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Médias dos diâmetros das colônias de *Phyllosticta* sp., em 8 meios de cultura, pH 5,7, no sexto dia de incubação. (media de seis repetições). Sete Lagoas, MG. 1998.

Meio de cultura	Médias dos diâmetros (cm).
batata + açúcar mascavo	90,00 a
batata + glicose	86,83 a
batata + açúcar cristal	82,83 ab
batata + sacarose p.a.	78,83 b
aveia	78,50 bc
extrato de folha de milho	75,83 bc
farinha de milho	71,17 cd
amido de milho	64,83 d

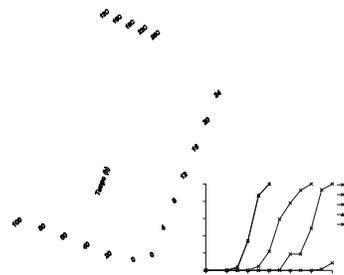
Médias seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.



!

0

Figura 1: Percentagem de germinação de conídios em meio AA em cinco temperaturas (12°, 15°, 18°, 22° +/-2° e 25°C), em períodos de duas horas.



!

0

Figura 2: Percentagem de germinação de conídios em meio BDA em cinco temperaturas (12°, 15°, 18°, 22° +/-2° e 25°C), em períodos de duas horas.

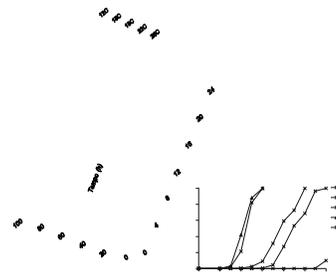


Figura 3: Percentagem de germinação de conídios em meio Meio Completo de Pontecorvo em cinco temperaturas (12°, 15°, 18°, 22° +/-2° e 25°C), em períodos de duas horas.

Bibliografia

- Hankin, L. & Anagnostakis, S.L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*, v.67:, p. 597-607. 1975.
- Pontecorvo, G.; Roper, J.A & Buffon, A.W.J. The use of genetics of *Aspergillus nidulans*. *Adv. Genet.*, v.5:, p.141-238. 1953.