

**EFEITO DE *Saccharomyces cerevisiae* NA SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM
SORGO, NA GERMINAÇÃO E FORMAÇÃO DE APRESSÓRIOS POR
FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E NA PROTEÇÃO DE PEPINO A
Colletotrichum lagenarium E SORGO A *Colletotrichum sublineolum***

SOLANGE MARIA BONALDO

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo – Brasil
Fevereiro – 2005

**EFEITO DE *Saccharomyces cerevisiae* NA SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM
SORGO, NA GERMINAÇÃO E FORMAÇÃO DE APRESSÓRIOS POR
FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E NA PROTEÇÃO DE PEPINO A
Colletotrichum lagenarium E SORGO A *Colletotrichum sublineolum***

SOLANGE MARIA BONALDO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI**

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de concentração: Fitopatologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo – Brasil

Fevereiro – 2005

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/ USP**

Bonaldo, Solange Maria

Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum* / Solange Maria Bonaldo. - - Piracicaba, 2005.

150 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.
Bibliografia.

1. Antracnose 2. Fitoalexina 3. Fungo fitopatogênico 4. Levedura 5. Pepino
6. Purificação 7. Sorgo I. Título

CDD 633.174

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

"Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende de nossa vontade e perseverança".

Albert Einstein

"Já ancorado na Antártida, ouvi ruídos que pareciam de fritura. Pensei:

- será que até aqui existem chineses fritando pastéis?

Eram cristais de água doce congelada que faziam aquele som quando entravam em contato com a água salgada. O efeito visual era belíssimo... Pensei em fotografar, mas falei para mim mesmo:

- Calma, você terá muito tempo pra isso... Nos 367 dias que se seguiram, o fenômeno não se repetiu. Algumas oportunidades são únicas."

Almir Klink

**Ao meu pai, pelos 8 anos de
sobriedade, ofereço.**

**A minha família, fonte inesgotável de
amor, força e compreensão, dedico.**

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor, pela benção da vida... "Sei em quem pus minha confiança..." II Timóteo 12.

Ao professor Sérgio F. Pascholati pela oportunidade, orientação, respeito e carinho com que me acolheu.

A Dra. Márcia Regina Braga pelas valiosas sugestões e atenção durante a realização do trabalho.

Ao Dr. Luiz Alberto Colnago e a Dra. Denise Osiro da EMBRAPA-CNPDIA pela oportunidade e ajuda na realização das análises de Infravermelho.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica: André, Eduardo Alves, Leonardo Cavalcanti, Leonardo Toffano, Patrícia Cia, Maria Cristina, Marizete, Nívea, Odair, Danilo, Paulão, Nelson, Robson e Júlio.

Ao Maurício B. Fialho, pelo carinho, amizade constante e auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

A Kátia R. F. Schwan-Estrada, minha "*mãe científica*" pela oportunidade e pelo carinho com que me acolheu e me guiou nos primeiros passos na pesquisa fitopatológica.

Aos amigos que aqui encontrei, em especial Liliane e David, Marissônia, Ana Paula, Alexandre, Andressa, Alessandra, Carol Junqueira, Antônio, Daniele, Denise, Gilberto Rocha, Ivan, Maristela, Renata, Rock, Sílvia, Santiago e Vanessa.

As amigas que nem à distância e a ausência foram suficientes para o esquecimento, Ana Fiori, Carla Pegoraro, Luciane, Luciane Torquato, Renata Soares, Mara Lucí, Maria Eugênia, meu carinho e admiração.

Ao Eve que tem sido mais que um irmão e amigo durante todos estes anos, obrigada pelo incentivo e todo auxílio durante esta caminhada.

A Juliana, o grande presente que Deus nos deu durante esta caminhada, obrigada pelo carinho, atenção e presença quando o desânimo e as dificuldades do cotidiano se fizeram presentes.

Aos funcionários Jefferson, Fernanda, Rodolfo, Heloísa, Marise, Pedro Arthuso, Marina, Edivaldo, Carmen, Sandra, pela agradável convivência e atenção durante o transcorrer do curso.

Aos demais professores do Setor de Fitopatologia pelos conhecimentos transmitidos.

Meu agradecimento especial a todas as pessoas aqui omitidas que contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

A CAPES pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Controle alternativo.....	4
2.1.1 Indução de resistência.....	5
2.2. Mecanismos de defesa da planta.....	9
2.2.1 Peroxidases.....	11
2.2.2 Fitoalexinas.....	12
2.3 Elicitores.....	15
2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.4.1 Potencial de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na proteção de plantas.....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - preparação elicitora bruta.....	24
3.2 Curva de autoclavagem.....	24
3.3 Curva dose resposta.....	26
3.4 Curva de incubação.....	26
3.5 Separação dos componentes da preparação elicitora bruta através de cromatografia de troca iônica (CTI).....	26
3.5.1 Cromatografia de troca iônica utilizando tampão Tris-HCl.....	27
3.5.2 Cromatografia de troca iônica utilizando tampão bicarbonato de amônio.....	28
3.6 Bioensaio para produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo	29

3.6.1 Obtenção de controles positivos eficientes para o bioensaio de produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo.....	30
3.6.2 Efeito de antibiótico na produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo.....	32
3.7 Obtenção, manutenção e preparo das suspensões de esporos dos fitopatógenos.....	32
3.7.1 Obtenção e manutenção dos fitopatógenos.....	32
3.7.2 Preparo das suspensões de esporos dos fitopatógenos.....	33
3.8 Efeito das preparações brutas e das frações parcialmente purificadas por CTI na germinação de esporos e formação de apressórios por fitopatógenos.....	33
3.8.1 Bioensaio de germinação de esporos e formação de apressórios por <i>Colletotrichum lagenarium</i> e <i>Colletotrichum sublineolum</i>	33
3.9 Proteção de plântulas de pepino a <i>Colletotrichum lagenarium</i> , em câmara de crescimento e casa-de-vegetação, utilizando as frações obtidas nas CTIs.....	34
3.9.1 Proteção de plântulas de pepino em câmara de crescimento.....	34
3.9.2 Proteção de plântulas de pepino em casa-de-vegetação.....	35
3.10 Análise bioquímica.....	36
3.10.1 Atividades de peroxidases.....	38
3.11 Proteção de plantas de sorgo a <i>Colletotrichum sublineolum</i> em casa-de-vegetação utilizando as frações obtidas nas CTIs.....	38
3.12 Determinação da concentração de proteínas e carboidratos.....	42
3.13 Espectrofotometria de infravermelho.....	42
4 RESULTADOS.....	43
4.1 Curva de autoclavagem para extração do elicitor produzido por <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
4.2 Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo.....	49
4.2.1 Obtenção dos controles positivos.....	49
4.2.2 Efeito da adição de antibiótico na produção de fitoalexinas	50

4.2.3 Efeito de preparações de <i>S. cerevisiae</i> com concentração original de carboidratos na produção de fitoalexinas.....	51
4.2.4 Efeito de preparações de <i>S. cerevisiae</i> com concentração reduzida de carboidratos na produção de fitoalexinas.....	58
4.2.5 Curva dose resposta da preparação elicitora de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na produção de fitoalexinas em sorgo.....	61
4.2.6 Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo após diferentes tempos de incubação.....	62
4.3 Germinação de esporos e formação de apressórios por <i>Colletotrichum lagenarium</i> e <i>Colletotrichum sublineolum</i>	64
4.3.1 Efeito de preparações de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> com concentração original de carboidratos na germinação de esporos e formação de apressórios.....	64
4.3.2 Efeito de preparações de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> com concentração reduzida de carboidratos na germinação de esporos e formação de apressórios.....	67
4.3.3 Curva dose resposta da preparação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , autoclavada por 4 horas seqüencialmente, na germinação de esporos e formação de apressórios.....	67
4.4 Espectrofotometria de Infravermelho.....	69
4.5 Separação dos componentes da preparação elicitora de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> por cromatografia de troca iônica.....	71
4.5.1 Produção de fitoalexinas em sorgo.....	75
4.5.2 Germinação de esporos e formação de apressórios por fitopatógenos fúngicos.....	81
4.5.3 Proteção de plântulas de pepino a <i>Colletotrichum lagenarium</i> , em condições de câmara de crescimento e casa-de-vegetação, utilizando as frações obtidas nas CTIs.....	86

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

