LFT-5830 FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA FITOPATOLÓGICA
2º Semestre de 2016
Aula prática - 30.09.2016

ASSUNTO: Mecanismos bioquímicos de resistência – efeito de composto fenólico na germinação *in vitro* de esporos fúngicos.

a) Preparo da solução de fenól

Ácido clorogênico 1 e 0,005 mM – (m.m. = 354,3)

b) Preparo da suspensão de esporos

Colocar 10 mL de água destilada esterilizada sobre a superfície do meio de cultivo contendo o fungo e raspar com alça de Drigalski. Ajustar a concentração para 1 x 10^5 esporos/mL.

c) Preparo do ensaio para germinação

Em 3 placas de Petri de poliestireno (9,0 cm de diâmetro com três subdivisões) colocar: **Placa 1** (controle) - colocar uma gota com 50 uL da suspensão de esporos + 50 uL de água destilada em cada subdivisão; **Placa 2** - uma gota com 50 uL da suspensão de esporos + 50 uL da preparação de fenol 1 mM em cada subdivisão; **Placa 3** - uma gota com 50 uL da suspensão de esporos + 50 uL da preparação de fenol 0,005 mM em cada subdivisão.
Colocar as placas no interior de sacos plástico (umedecidos com água no interior), lacrar o saco e incubar a temperatura ambiente no escuro.
Após 12-24 horas, colocar uma lamínula sobre cada gota e avaliar a porcentagem de germinação em relação ao controle. Se desejar, coloque uma gota de azul de algodão com lactofenol.

IMPORTANTE – Placa 1 – água (controle)
Placa 2 – ácido clorogênico 1 mM
Placa 3 – ácido clorogênico 0,005mM

---

a) Discutir os resultados obtidos e a influência dos compostos na germinação;
b) Discutir a validade do bioensaio utilizado para a verificação do efeito de compostos na germinação de esporos;
c) Caso o experimento não tenha funcionado adequadamente, comente sobre as possíveis causas;
d) Você conhece algum fungo, o qual poderia ser usado para a realização do experimento acima ? Caso positivo, explique a razão.

LFT-5830 FISIOLOGIA E BIOQUÍMICA FITOPATOLÓGICA
2º Semestre de 2016
Aula prática - 30.09.2016

ASSUNTO: Mecanismos bioquímicos de resistência – efeito de composto fenólico na germinação *in vitro* de esporos fúngicos.

Bibliografia específica

CHOHAN,S. & PERVEEN, R. Phytochemical analysis and antifungal efficacy of rhizome extracts of various plants against Fusarium wilt and root rot of tomato**.** **International Journal of Agriculture and Biology** 17: 1193-1199, 2015.

LEITE, B. & NICHOLSON, R.L. Mycosporine-alanine, a self-inhibitor of germination from the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. **Experimental Mycology** 16: 76-86, 1992.

MERCK INDEX. 15th Edition. 2013.

MERCURE, E.W.; LEITE, B. & NICHOLSON, R.L. Adhesion of ungerminated conidia of *Colletotrichum graminicola* to artificial hydrophobic surfaces. **Physiol.Mol.Plant Pathol**. 45: 421-440, 1994.

NICHOLSON, R.L. & HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annu.Rev. Phytopathol**. 30: 369-389, 1992.

TUITE, J. **Plant pathological methods – fungi and bacteria**. Minneapoles, Burgess Pub. Co., 1969. 239 p.

WATERMAN, P.G. & MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1994. 238 p.