

Limiares térmicos para a germinação de conídios de *Exserohilum turcicum*¹

Juliane Nicolodi Camera^{2*}, Carolina Cardoso Deuner²

10.1590/0034-737X201764020005

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é cultivado em todo o Brasil e apresenta grande importância econômica, dentre as doenças que causam redução na produtividade está a helmintosporiose. O objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação de conídios do agente causal da helmintosporiose, *Exserohilum turcicum*, em diferentes temperaturas e diferentes regimes luminosos, para determinar os limiares térmicos inferior e superior e a temperatura ótima para a germinação. As temperaturas avaliadas foram 0; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35 e 40 °C, com tempos de exposição de 3, 6, 9 e 12 horas. Após cada tempo de exposição, determinou-se o número de conídios germinados e o comprimento do tubo germinativo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para os conídios de *E. turcicum*, submetidos à luz contínua, verificou-se que a maior taxa de germinação ocorreu na temperatura de 23,3 °C, para o tempo de exposição de três horas; na de 22,3 °C, para seis horas; na de 21,8 °C, para nove horas e, na de 21,7 °C, para 12 horas. Para o escuro contínuo, a maior taxa de germinação foi verificada na temperatura de 24,0 °C, para o tempo de exposição de três horas, na de 22,5 °C, para seis horas; na de 21,8 °C para nove horas e, na de 21,7 °C, para 12 horas. Os esporos de *E. turcicum* germinaram numa faixa de temperatura de 0 a 40 °C, sendo a temperatura ótima de 23 °C. O escuro favoreceu a germinação dos esporos de *E. turcicum*.

Palavras-chave: helmintosporiose; processo germinativo; temperatura.

ABSTRACT

Thermal thresholds for the germination of conidia of *Exserohilum turcicum*

Corn (*Zea mays* L.) is cultivated throughout Brazil and presents great economic importance. Among the diseases that cause reduction in its productivity is helmintosporiosis. The objective of this study was to evaluate the conidial germination of the pathogen that causes helmintosporiosis, *Exserohilum turcicum*, in different temperatures and under different light regimes, to determine lower and upper temperature thresholds and optimum temperature for germination. The temperatures evaluated were 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, and 40 °C, with exposure times of 3, 6, 9, and 12 h. After each exposure time, the number of germinated conidia and germinative tube length were determined. The experimental design was completely randomized with four replications and the data were subjected to analysis of variance and regression. For conidia of *E. turcicum* subjected to continuous light, it was found that most conidia germination occurred at the temperature of 23.3 °C for 3-h exposure; at 22.3 °C for 6 h; at 21.8 °C for 9 h; and at 21.7 °C for 12 h. For continuous darkness, the higher germination was observed in the temperature 24.0 °C for an exposure time of 3 h; at 22.5 °C for 6 h, at 21.8 °C for 9 h; in 21 7 °C for 12 h. *Exserohilum turcicum* spores germinated in a temperature range of 0 to 40 °C, the optimum temperature being 23 °C. The dark regime favored the germination of *E. turcicum* spores.

Key words: helminthosporium; germination process; temperature.

Submetido em 08/04/2015 e aprovado em 08/02/2017.

¹Este trabalho é parte da tese de doutorado da primeira autora.

²Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. ju_camera@yahoo.com.br; carolinadeuner@upf.br

*Autora para correspondência: ju_camera@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância mundialmente, tanto para a alimentação humana como para a animal. Diversos patógenos podem infectar a cultura, sendo que mais de 20 doenças já foram identificadas, algumas de importância econômica por causa da frequência e da intensidade com que ocorrem (Fernandes & Balmer, 1990). Entre elas, as doenças fúngicas são as que acarretam maiores danos à cultura, destacando-se a helmintosporiose que tem como agente causal *Exserohilum turcicum* (Pass.) K. J. Leonard & E. G. Suggs.

A temperatura interfere nos processos biológicos, razão pela qual tanto as plantas como os patógenos requerem uma temperatura mínima para crescer e desenvolver normalmente suas atividades. Em certas faixas de temperatura, geralmente as mais altas, os patógenos tornam-se ativos e, quando a umidade é favorável, podem infectar as plantas e, conseqüentemente, causar doença (Reis & Bresolin, 2004). A infecção causada por *E. turcicum* é favorecida por temperaturas que variam de 18 °C a 27 °C (Juliatti & Souza, 2005). Porém, é de fundamental importância para o desenvolvimento de trabalhos com fungos, conhecer os limiaries térmicos superior e inferior, assim como a temperatura ótima que permita o crescimento e desenvolvimento dos fungos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação de conídios de *E. turcicum* em diferentes temperaturas e diferentes regimes luminosos, para determinar os limiaries térmicos inferior e superior e a temperatura ótima para germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Passo Fundo, em estufas tipo BOD.

As temperaturas testadas foram 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, com tempos de exposição de 3, 6, 9 e 12 horas à luz contínua e ao escuro contínuo.

O fungo foi isolado de folhas de milho com sintomas da doença, procedentes do município de Passo Fundo, RS. Fragmentos de 5 mm do tecido doente foram cortados e desinfestados em solução aquosa de hipoclorito de sódio (1%) por três minutos; em seguida, lavados três vezes com água destilada, distribuídos em caixas de acrílico, tipo gerbox, contendo uma espuma de nylon e duas folhas sobrepostas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada, formando uma câmara úmida. As caixas foram mantidas em ambiente com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após cinco dias, com agulha histológica flambada, estruturas do patógeno foram transferidas para placas de Petri com

o meio LCH (Lactose Caseína Hidrolisada) (Tuite, 1969) e incubadas a 25 ± 2 °C, no escuro, durante 30 dias, até obter-se esporulação abundante. Em seguida, procedeu-se ao isolamento monospórico (Alfenas & Mafia, 2007). A partir da cultura pura, preparou-se uma suspensão de conídios, da qual 600 µL foram depositados em placas de Petri esterilizadas, com o substrato ágar-água 1%, para cada uma das temperaturas testadas. As placas foram mantidas em câmara DBO durante 3, 6, 9 e 12 horas, com luz contínua e no escuro contínuo. Decorrido o tempo desejado, as placas foram retiradas e foram adicionados 2 mL de uma solução de acetona com a finalidade de paralisar o crescimento do fungo. Este procedimento foi realizado para cada temperatura, regime luminoso e tempo de exposição.

A germinação de 100 conídios foi determinada pela mensuração do tubo germinativo, sendo considerado germinado o conídio com o tubo germinativo maior do que sua largura (Zadoks & Schein, 1979). Procedeu-se também à medição do comprimento do tubo germinativo de 100 conídios, com a régua da lente ocular de um microscópico óptico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão.

A temperatura ótima para a germinação dos conídios foi calculada pela derivada da curva de regressão obtida em cada um dos tempos testados. Os limiaries térmicos inferior e superior foram as temperaturas nas quais não se observou a germinação dos conídios de *E. turcicum*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para placas incubadas sob luz contínua, a maior porcentagem de germinação dos conídios de *E. turcicum* ocorreu, na temperatura de 23,3 °C, para o tempo de exposição de três horas (Figura 1A); na de 22,3 °C, para seis horas (Figura 1B); na de 21,8 °C, para nove horas (Figura 1C) e, na de 21,7 °C, para 12 horas (Figura 1D). A média da temperatura para a germinação dos conídios em luz contínua, nos quatro tempos de exposição, foi de 22,2 °C e a temperatura ótima foi de 22 °C.

Quando as placas foram submetidas ao escuro contínuo, a maior taxa de germinação foi verificada na temperatura de 24,0 °C, para o tempo de exposição de três horas (Figura 2A); na de 22,5 °C, para seis horas (Figura 2B); na de 21,8 °C, para nove horas (Figura 2C) e, na de 21,7 °C, para 12 horas (Figura 2D). A média da temperatura para a germinação dos conídios no escuro, nos quatro tempos de exposição, foi de 22,5 °C e a temperatura ótima, 23 °C.

Observou-se que os conídios de *E. turcicum*, quando submetidos às temperaturas de 0 °C, não apresentaram

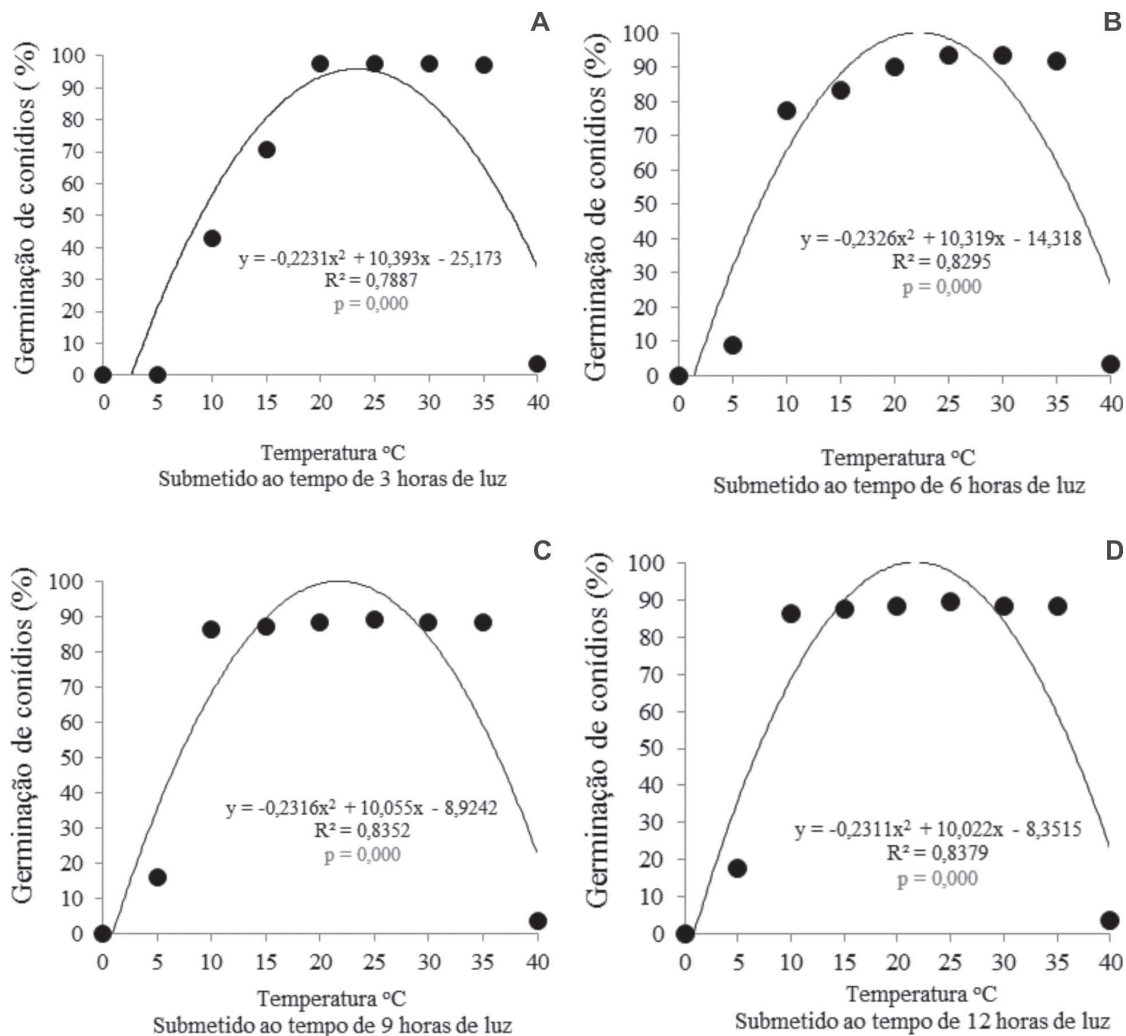


Figura 1: Efeito da temperatura e do tempo de exposição na germinação de conídios de *Exserohilum turcicum* sob luz contínua.

germinação, independentemente do regime luminoso, sendo que a 40 °C a germinação foi próxima de 0%. Portanto, o limiar térmico inferior foi de 0°C e o limiar térmico superior foi acima de 40 °C (Figura 1 e 2).

Na temperatura de 25 °C, foi observado o maior comprimento do tubo germinativo de *E. turcicum*, independentemente do regime luminoso, sendo de 684 µm para a luz contínua (Figura 3B) e de 768 µm para o escuro contínuo (Figura 3A), portanto, foi favorecido pela ausência de luz. Nas temperaturas de 0 °C, 5 °C e 40 °C, não foi possível fazer a mensuração dessa variável, por causa da baixa percentagem de germinação dos conídios.

As condições ambientais ideais para a ocorrência de *E. turcicum* são obtidas com temperaturas de 20 °C e molhamento foliar de aproximadamente 8 h (Vitti *et al.*, 1995). Em folhas de milho a 25 °C, duas horas após a inoculação do fungo, Levy & Cohen (1983) observaram percentagem de germinação de 87%, em ambiente com escuro contínuo, enquanto, sob luz contínua, a germinação foi de apenas 17%. Os autores registraram que as

melhores temperaturas estão entre 20 e 25 °C, sendo que abaixo de 15 °C e acima de 30 °C inibe-se a germinação do patógeno.

O fungo *E. turcicum* pode-se desenvolver em temperaturas que variam de 17 a 28 °C e alta umidade, podendo tolerar condições climáticas adversas (White, 1999). De acordo com Khatri (1993), as condições mais favoráveis para o desenvolvimento da helmintosporiose do milho foram de 22 a 25 °C de temperatura e de 75 a 90% de umidade relativa. Em condições de campo, o patógeno é favorecido por temperatura média diária superior a 25 °C (Pelmus *et al.*, 1986), embora outros autores tenham relatado 21,1 °C como a temperatura ótima (Sharma & Mishra, 1988).

A temperatura tem maior influência nas atividades do patógeno do que o teor de água no substrato e a umidade relativa do ar. Todas as fases do ciclo das relações patógeno-hospedeiro são influenciadas pela temperatura. No processo de reprodução, a temperatura pode alterar tanto a velocidade de produção de esporos quanto o nú-

mero de propágulos formados (Amorin & Bedendo, 1995). Dessa forma, para o cultivo *in vitro*, é importante que as exigências térmicas do patógeno sejam determinadas, em

trabalhos de pesquisa, visando a definir o menor tempo necessário para a produção do inóculo (Alfenas & Mafia, 2007).

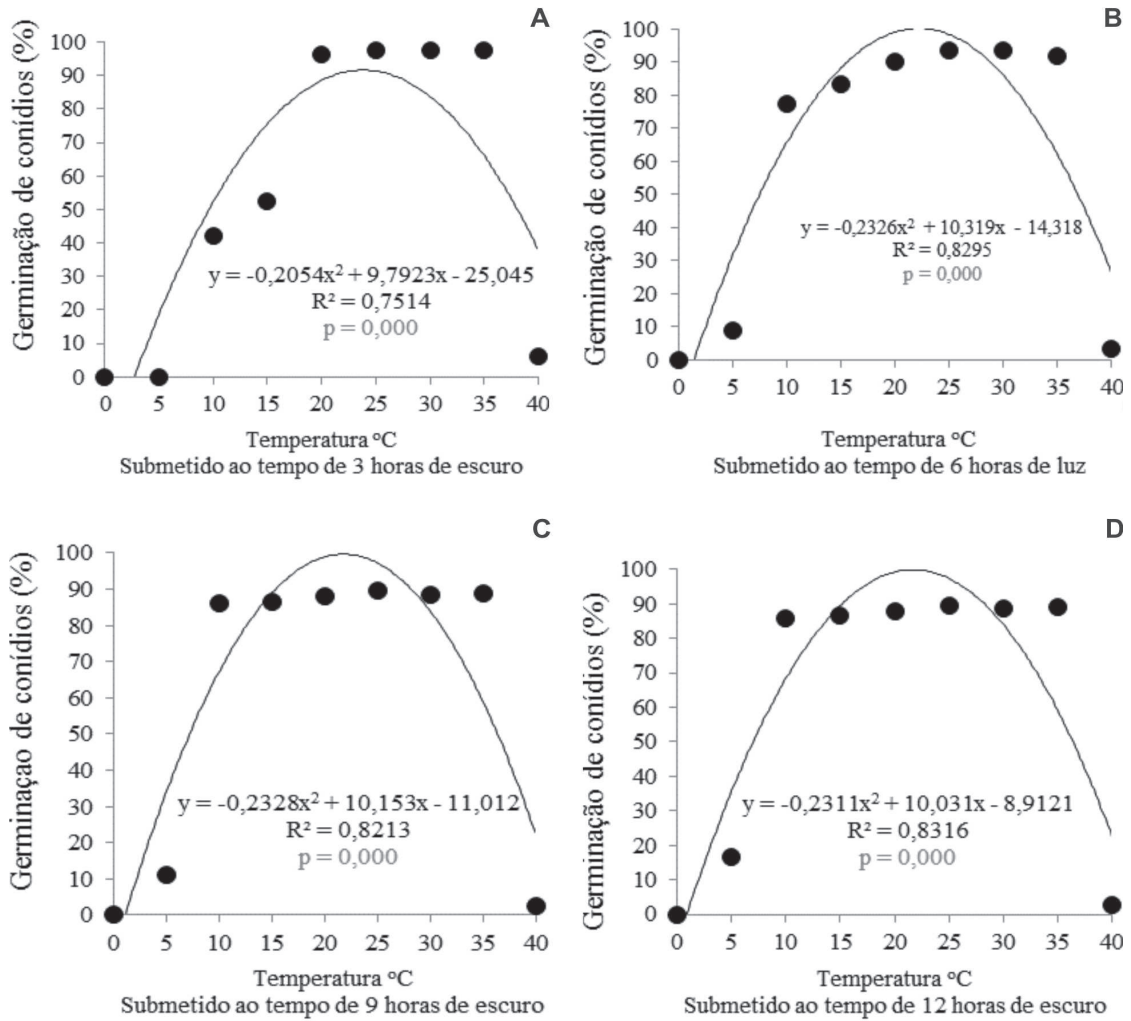


Figura 2: Efeito da temperatura e do tempo de exposição na germinação de conídios de *Exserohilum turcicum* no escuro.

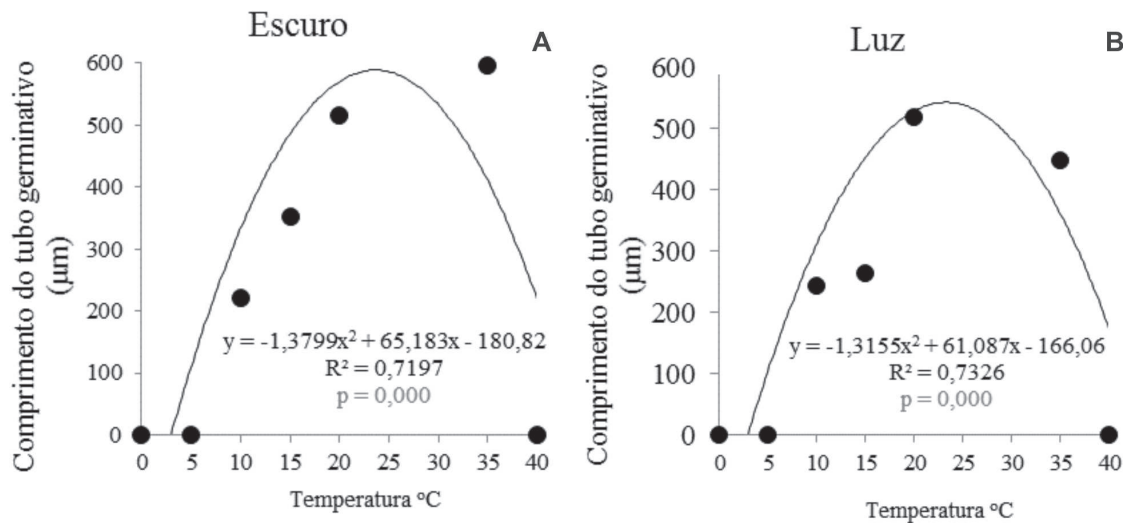


Figura 3: Efeito da temperatura e regime luminoso no comprimento do tubo germinativo de *Exserohilum turcicum* no escuro contínuo e luz contínua, no tempo de 12 horas.

CONCLUSÃO

Os esporos de *E. turcicum* germinam numa faixa de temperatura de 0 a 40 °C, sendo a temperatura ótima de 23 °C.

O escuro favorece a germinação dos esporos de *E. turcicum*.

REFERÊNCIAS

- Alfenas AC & Mafia RG (2007) Métodos em Fitopatologia. Viçosa, Editora UFV. 382p.
- Amorin L & Bedendo IP (1995) Ambiente e doença. In: Bergamin Filho A (Ed.) Manual de fitopatologia. 3ª ed. São Paulo, Agronômica Ceres. p.331-341.
- Fernandes FT & Balmer E (1990) Situação das doenças de milho no Brasil. Informe Agropecuário, 14:165:35-37.
- Juliatti FC & Souza RM (2005) Efeito de épocas de plantio na severidade de doenças foliares e produtividade de híbridos de milho. Bioscience Journal, 21:103-112.
- Khatri NK (1993) Influence of temperature and relative humidity on the development of *Helminthosporium turcicum* on maize in western Georgia. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 23:35-37.
- Levy Y & Cohen Y (1983) Biotic and environmental factors affecting infection of sweet corn with *Exserohilum turcicum*. Phytopathology, 73:722-725.
- Pelmus V, Crain D & Craciud M (1986) Effect of some ecological factors on *Helminthosporium turcicum* on successive maize crop problem. Protectia-Pkntel, 14:119-132.
- Reis EM & Bresolin ACR (2004) Sistemas de previsão de doenças de plantas. In: Reis EM (Ed.) Previsão de doenças de plantas. Passo Fundo, UPF. p.155-287.
- Sharma JP & Mishra B (1988) Effect of spray schedule of mancozeb on turcicum leaf blight and impact on grain yield in maize. Indian Journal of Plant Protection, 16:189-193.
- Tuite JF (1969) Plant Pathological Methods – Fungi and Bacteria. 5ª ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company. 239p.
- Vitti AJ, Bergamin Filho A, Amorim L & Fergies NC (1995) Epidemiologia comparativa entre a ferrugem comum e a queima de turcicum do milho: I. Efeito de variáveis climáticas sobre os parâmetros monocíclicos. Summa Phytopathologica, 21:127-130.
- White DG (1999) Compendium of corn diseases. 3ª ed. St Paul, The American Phytopathological Press. 78p.