

GILMARA MARIA DUARTE PEREIRA

**GERMINAÇÃO “IN VITRO” DE ESPOROS DE *Pisolithus* sp.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2004

## RESUMO

PEREIRA, Gilmara Maria Duarte, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2004. **Germinação *in vitro* de esporos de *Pisolithus* sp.** Orientador: Maurício Dutra Costa. Conselheiros: Arnaldo Chaer Borges e Maria Catarina Megumi Kasuya.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a germinação *in vitro* de basidiósporos de *Pisolithus* sp. visando a elucidação dos fatores que atuam no processo. Neste estudo foram avaliadas a influência do número de esporos, a presença de plantas hospedeiras e não-hospedeiras e a adição de ácidos orgânicos e compostos flavonóides ao meio de cultura sobre a germinação *in vitro* dos basidiósporos. Pesquisou-se, também, a influência do extrato do basidiocarpo fresco de *Pisolithus* sp. sobre a germinação de esporos e sobre o crescimento vegetativo de algumas espécies fúngicas. Não foram observadas relações entre a densidade de basidiósporos espalhados na superfície do meio de cultura e as percentagens de germinação obtidas, indicando a inexistência de compostos inibitórios difusíveis nos esporos. O extrato de basidiocarpo adicionado ao meio de cultura inibiu a germinação dos basidiósporos de *Pisolithus* sp. e, também, dos esporos dos fungos *Penicillium griseoroseum* e *Colletotricum lindemuthianum*, os quais não necessitam da presença da planta como indutora da germinação. Por outro lado, a adição do extrato do basidiocarpo ao meio de cultura aumentou significativamente a produção de massa seca micelial de *Pisolithus* sp. e de *P. griseoroseum*, sugerindo que os compostos inibitórios presentes no corpo de frutificação atuam especificamente no processo de germinação de esporos. As percentagens de germinação obtidas na presença das espécies hospedeiras foram baixas, variando de 0 a

0,0024%. A germinação dos basidiósporos foi estimulada pela presença das raízes da espécie hospedeiras no meio, especialmente a *E. citriodora*. As plantas leguminosas não-hospedeiras testadas estimularam a germinação, indicando que os fatores que favorecem o processo não são específicos das plantas hospedeiras. A adição dos ácidos fumárico, succínico, láctico ou cítrico estimulou significativamente a germinação dos basidiósporos em comparação ao tratamento controle, sem a adição desses compostos. O estímulo variou de acordo com o ácido adicionado, resultando em percentagens de germinação de 0 a 0,0025%. A adição do flavonóide quercetina ao meio de cultura promoveu a germinação dos basidiósporos de *Pisolithus* sp. Já a rutina, um flavonol estimulador do crescimento micelial de *Pisolithus tinctorius*, não estimulou o processo germinativo. A germinação dos esporos de fungos ectomicorrízicos provavelmente envolve a participação de vários compostos químicos, com papéis diferentes ou sobrepostos, que iniciam e sustentam o processo. O estímulo à germinação promovido pela quercetina e pelas plantas leguminosas não-hospedeiras indica que os eventos iniciais de interação planta-microrganismo nas simbioses mutualistas devem envolver processos conservados de comunicação química.

## ABSTRACT

PEREIRA, Gilmara Maria Duarte, M.S., Universidade Federal de Viçosa, July, 2004. ***In vitro* germination of *Pisolithus* sp. spores.** Advisor: Maurício Dutra Costa. Committee members: Arnaldo Chaer Borges and Maria Catarina Megumi Kasuya.

The objective of this work was to study the *in vitro* germination of *Pisolithus* sp. basidiospores aiming at elucidating the factors that govern the process. The influence of spore numbers, the presence of host and non-host plants and the addition of organic acids and flavonoids to the culture medium on the *in vitro* germination of the spores were tested. The influence of an extract produced from a fresh basidiocarp of *Pisolithus* sp. on spore germination and vegetative growth of some fungal species was also evaluated. No relationship between spore density and germination percentages was observed, suggesting that *Pisolithus* sp. basidiospores do not contain readily diffusible inhibitory compounds. The basidiocarp extract inhibited the germination of *Pisolithus* sp. spores as well as that of *Penicillium* sp. and *Colletotrichum lindemuthianum*, two species that do not require the presence of the host plant in the culture medium for germination to occur. On the other hand, the addition of the extract to the culture medium significantly increased mycelial dry matter production by *Pisolithus* sp. and *P. griseoroseum*, suggesting that the inhibitory compounds present in the fungal fruit body act specifically on the process of spore germination. The germination percentages obtained in the presence of the host plants were low, varying from 0 to 0.0024%. Basidiospore germination was stimulated by the presence of the roots of host plants in the medium, especially those of *E. citriodora*. The non-host leguminous plants tested stimulated

germination, indicating that the factors that favor the process are not specific of the host plants. The addition of fumaric, succinic, lactic, and citric acid significantly stimulated basidiospore germination. The stimulus varied from one organic acid to the next, resulting in germination percentages of 0 to 0.0025%. The addition of the flavonoid quercetin to the culture medium promoted the germination of the *Pisolithus* sp. basidiospores, while rutin, a flavonol that promotes mycelial growth of *Pisolithus tinctorius*, did not. The germination of spores of ectomycorrhizal fungi probably involves the participation of several chemical compounds with different or overlapping roles that initiate and sustain the process. The stimulus to germination promoted by quercetin and the non-host leguminous plants indicates that the initial events in the interaction between plants and symbiotic microbes must involve conserved processes of chemical communication.