

Extração e ação de toxinas de *Exserohilum turcicum* em plantas de milho

Erna Elisabeth Bach

Doutora em Agronomia – USP;
Professora na pós-graduação – UMC/UNESP;
Professora na graduação – UNINOVE.
ernabach@uol.com.br, Santo André [Brasil]

Cleusa Limiro

Graduada em Química – UNICASTELO.
São Paulo [Brasil]

Eliana Rodrigues

Doutora em Ciências Biológicas [Biologia Vegetal]
– UNESP;
Diretora do Departamento de Ciências da Saúde
– UNINOVE;
lirodrigues@uninove.br, São Paulo [Brasil]

A mancha foliar é uma doença causada pelo fungo *Exserohilum turcicum* em milho, capim e sorgo. Para demonstrar a ação do patógeno nas plantas, a reação realizada é a de patogenicidade, importante em procedimentos de melhoramento de plantas. A forma de substituir está na ação de toxinas produzidas por isolados do fungo. Para isso, os isolados de milho e capim de *E. turcicum* foram desenvolvidos em meio de Fries, sendo depois extraídas as toxinas. As folhas de milho foram coletadas após dez dias da germinação e colocadas em placas de *Petri* recebendo gotas de toxinas de milho, capim, suspensão de conídios ou água, sendo depois submetidas a diferentes análises. Os resultados preliminares demonstraram que, em plantas de milho tratadas com toxina do isolado de milho, foi constatada necrose enquanto as plantas, recebendo somente suspensão de conídio, apresentaram as lesões. As fitotoxinas foram capazes de reproduzir os sintomas da mancha foliar causada pelo patógeno, podendo este ser utilizado em processos de melhoramento de plantas.

Palavras-chave: Capim. *Exserohilum turcicum*.
Milho. Toxinas.

1 Introdução

Exserohilum turcicum é um fungo fitopatogênico com capacidade de causar mancha foliar em plantas de milho, sorgo e capim (BHOWMIK; PRASADA, 1970). No Brasil, para o milho, Fernandes e Oliveira (2000) descreveram que a doença tem sido maior em plantios de safrinha cujas perdas podem atingir 50% ou mais em ataques antes do período de floração. A cultura do sorgo, no Brasil, mostra-se suscetível a um grande número de doenças, muitas das quais podem ser limitantes à sua produção, dependendo das condições ambientais e da suscetibilidade da cultivar como, por exemplo, doença conhecida como helmintosporiose, tendo como fungo o *E. turcicum*, que vem causando perdas em torno de 40% (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1973-2002). No caso de capim, não há relatos de perdas em relação à doença; entretanto há indícios de mudança na palatabilidade do capim para os animais (SHREE; REDDY, 1986).

Bach (1991) avaliou plantas de milho, capim e sorgo oriundas do campo, quando atacadas pelo fungo *E. turcicum* e, após isolamento do fungo, os conídios destes isolados foram pulverizados nas plantas sadias de milho, capim e sorgo, sendo observado o desenvolvimento ou não da mancha foliar por meio do denominado teste de patogenicidade. O motivo do estudo foi que agricultores vinham plantando milho e, ao lado, sorgo ou capim. Os autores detectaram que os isolados de milho apresentaram-se virulentos a plantas de milho e sorgo, com apresentação de manchas foliares e isolados de capim fracamente virulentos ao milho, isto é, poucas lesões nas folhas, sendo esta diferença confirmada por meio de testes sorológicos (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunoabsorbent assay*) e análise

eletroforética envolvendo enzima esterase e peroxidase (BACH; KIMATI, 1999).

No melhoramento de plantas, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) tem procurado obter variedades resistentes a doenças, sendo para isso, realizado o teste de patogenicidade, procedimento demorado e trabalhoso. Para a substituição desse teste foram obtidas as toxinas ou fitotoxinas dos isolados de *E. turcicum*, a fim de selecionar mais rapidamente as plantas resistentes ou suscetíveis, acelerando, assim, a avaliação final do melhoramento.

Toxinas ou fitotoxinas são produtos de patógenos microbianos, produtos esses que causam danos aos tecidos vegetais e que estão reconhecidamente implicados no desenvolvimento da doença. Estas substâncias podem ser produzidas tanto na planta infectada quanto em meio de cultura, sendo, no geral, de baixo peso molecular (BALLANCE; LAMARI; BERNIER, 1989; BROWN; HUNGER, 1993; LAMARI; BERNIER, 1989; MEINHARDT et al., 2002; SCHEFFER, 1983; ZHANG, 1997). Existem várias fitotoxinas estudadas como é o caso da toxina HV (*victorina*), produzida por *Helminthosporium victoriae*, agente causal da queima das folhas em cultivares de aveia (*Puccinia coronata*). Nesse processo, o cultivar que carrega o gene mostra-se pelo menos 10 mil vezes mais sensível à toxina do que os cultivares que não o possuem (WOLPERT; MACKO, 1989).

As toxinas não exibem características químicas estruturais comuns e incluem substâncias como peptídeos, glicopeptídeos, derivados de aminoácidos, terpenóides, esteróides, poliketóides e quinonas (SMEDEGARD-PETERSEN, 1977a, 1977b). Estas substâncias podem agir em diferentes sítios em nível celular, alterando a permeabilidade e/ou potencial das membranas, tendo como consequência, por

exemplo, mudanças no equilíbrio iônico, inibição ou estimulação de enzimas específicas, podendo induzir deficiências nutricionais na planta e diminuição na clorofila, conforme demonstrado por Bach e Kimati (1999).

Diante do descrito, o presente trabalho teve como objetivo extrair as toxinas de *E. turcicum* isolados de milho e capim e avaliar o efeito dessas toxinas sobre folhas de plantas de milho resistentes e suscetíveis à mancha foliar, a fim de utilizar o resultado na seleção de plantas.

2 Material e métodos

Conforme enumeração a seguir:

2.1 Cultura do patógeno

Os isolados de *E. turcicum* foram obtidos a partir de folhas de milho e capim naturalmente infectadas, oriundas do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa (SP) e do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo de Minas Gerais, respectivamente. Os conídios foram mantidos em meio batata-dextrose-ágar (BDA) por até dez dias de crescimento vegetativo.

A suspensão de conídios em água destilada estéril na concentração de 10^5 conídios por mililitro (conídios/mL), dos isolados de milho e capim de *E. turcicum*, foi pulverizada em plantas saudias de milho e capim com o objetivo de realizar o teste de patogenicidade, isto é, confirmar se os conídios reproduzem o sintoma da doença. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação, por até 15 dias para ser avaliada a resposta.

2.2 Extração da toxina

Os conídios obtidos foram transferidos para erlenmeyer contendo 100 mL de meio de Fries (TOMAS; BOCKUS, 1987; TOMAS et

al., 1990) e incubados os frascos sem agitação por 21 dias e 25°C, com luz constante, para a produção de toxinas.

A extração seguiu o método descrito por Bach e Kimati (1999). O micélio de cada isolado em cada frasco foi removido por filtração a vácuo com Whatmann de número 1. Os filtrados de cada isolado foram concentrados em rotoevaporador, sob vácuo e 40°C, até 20% do volume original. Igual volume de metanol foi adicionado e mantido em geladeira por 24 horas. O metanol foi removido no rotoevaporador a vácuo a 40°C, sendo igual volume tratado com éter. Após a remoção do éter no rotoevaporador, a fase aquosa foi guardada em geladeira até a elaboração dos testes e quantificação de proteína (LOWRY et al., 1951) e fenol (SWAIN; HILLIS, 1959).

2.3 Bioteste da toxina em plântulas de milho

Sementes de milho (variedades Ag 303, Ag 405, Ag 64A e M28C), fornecidas pela empresa de sementes Agrocere, de Capinópolis (PR), foram germinadas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada estéril, em câmara escura. As plântulas foram transferidas para frascos contendo 5 mL de cada toxina extraída (milho e capim) na concentração de 3 miligramas de soro albumina bovina (SAB) por mL (mg SAB/mL) e para frascos-controles contendo 5 mL de água. Essas plântulas foram mantidas sob luz constante durante oito dias. Após este período, foram medidos os tamanhos das plantas.

2.4 Bioteste da toxina em folhas destacadas e quantificação de clorofila

As sementes de milho (variedades Ag 303, Ag 405, Ag 64A e M28C) foram semeadas em vasos contendo terra adubada, a ra-



ção de oito sementes por saco. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação até a utilização no estádio de quatro a cinco folhas. Uma parte das plantas foi inoculada com suspensão de conídios dos referidos isolados a fim de realizar a patogenicidade.

As folhas saudáveis das referidas plantas foram destacadas e levadas ao laboratório e colocadas em placas de *Petri* com algodão úmido, a fim de manter a umidade relativa. Logo após foram colocadas gotas das toxinas (obtidas dos isolados de milho e capim) sobre as folhas de milho e, após quatro ou cinco dias sob luminosidade constante, as folhas foram submetidas à extração de clorofila e à quantificação.

Para a extração da clorofila, foi triturado um grama (g) de folha em 5 mL de uma solução de acetona-água (80:20), filtrado em gaze e ajustado o volume até 10 mL. As amostras foram transferidas para uma cubeta e analisadas em espectrofotômetro Pye Unicam contra o branco acetona no comprimento de onda de 645 nanômetros (nm). O conteúdo de clorofila foi calculado pela equação utilizada por Arnon (1949), sendo também calculada a porcentagem de inibição da clorofila perante as folhas-controle.

3 Resultados e discussão

Os isolados obtidos foram avaliados perante a patogenicidade, observando-se que isolados de milho apresentaram lesões em plantas de milho suscetível ao fungo (Ag 64A e M28C), enquanto nas variedades resistentes não apareceram lesões. Já os isolados de capim foram fracamente virulentos nas plantas de milho, isto é, apareceram pequenas lesões cloróticas (Tabela 1). Os resultados estão de acordo com os encontrados por Bach (1991),

comprovando a virulência dos isolados perante as plantas de milho e capim.

Tabela 1: Avaliação da resposta de patogenicidade das plantas de milho perante isolados de milho e capim de *E. turcicum*

Plantas	Isolados de <i>E. turcicum</i>		Resposta
	Isolado milho	Isolado capim	
Milho Ag 303	Plantas com ausência de sintomas visíveis	Plantas com ausência de sintomas visíveis	Resistente
Milho Ag 405	Folhas: presença de pequenas lesões cloróticas de formato alongado	Plantas com ausência de sintomas visíveis	Resistente
Milho Ag 64A	Presença de lesões necróticas nas folhas, murchamento e seca da parte distal das folhas contendo lesões.	Folhas: presença de pequenas lesões cloróticas de formato alongado	Suscetível
Milho M28C	Presença de lesões necróticas nas folhas, murchamento e seca da parte distal das folhas contendo lesões.	Folhas: presença de pequenas lesões cloróticas de formato alongado	Suscetível

Fonte: Os autores.

As toxinas preparadas a partir de *E. turcicum* (isolados de milho e capim) mostraram níveis de proteínas de 3 a 6 mg de SAB/mL e concentração de fenóis de 0,3 a 0,4 mg de ácido clorogênico/mL.

3.1 Bioteste do efeito da toxina em plântulas de milho

A toxina apresenta efeitos nas plantas como danificar suas células, promover a liberação de nutrientes para as atividades me-

tabólicas do patógeno para que este possa se desenvolver, facilitando, assim, seu movimento através da planta, podendo promover e acelerar a senescência do hospedeiro (DURBIN, 1983). Caso tenha este efeito, a planta não se desenvolverá, podendo ser esse bioteste o primeiro a comprovar o efeito da presença de uma toxina oriunda de um patógeno.

Para o referido experimento foi utilizada a toxina de milho e capim na concentração de 3 mg de SAB/mL diluída em água destilada. Os resultados demonstraram que os isolados de milho e capim agem diferentemente no desenvolvimento das plântulas de milho entre as quatro variedades utilizadas. As plantas suscetíveis de milho (variedades Ag 64A e M28C) perante toxina do isolado de milho apresentaram 20,55 a 33,33% de inibição no desenvolvimento, enquanto a toxina do isolado de capim apresentou 0,61 a 0,64% de inibição, demonstrando que a toxina deste isolado quase não teve efeito nas plântulas (Tabela 2).

Quanto às variedades de milho resistentes, a toxina do isolado de milho apresentou um valor superior à da toxina do isolado de capim, mas, comparando com as variedades de milho suscetíveis, o valor da inibição perante a toxina de milho foi bem menor (Tabela 2). As plântulas, quando desenvolvidas em água ou somente em meio de Fries, não apresentaram diferenças nos tamanhos.

Os resultados vieram demonstrar que as toxinas obtidas do fungo *E. turcicum* apresentam a capacidade de retardar o desenvolvimento das plântulas, deixando-as mais sensíveis ao ataque do patógeno. Isto também foi obtido por Bach e Kimati (1999) que, ao trabalharem no sistema trigo *Bipolaris* observaram que as plântulas de trigo em contato com as toxinas também inibiam o seu desenvolvimento.

Tabela 2: Ação das toxinas extraídas de *E. turcicum* isolados de milho e capim no desenvolvimento das plântulas de milho

Plantas	Tratamento	Toxinas de <i>E. turcicum</i> *	
		Isolado milho	Isolado capim
Ag 303	controle	33,1**	33,1
	toxina	32,3	32,8
	inibição (%)***	2,41	0,9
Ag 405	controle	34	34
	toxina	31,6	33,9
	inibição (%)	7,05	0,29
Ag 64 ^a	controle	32,6	32,6
	toxina	25,9	32,4
	inibição (%)	20,55	0,61
M28C	controle	31,2	31,2
	toxina	20,8	31
	inibição (%)	33,33	0,64

Obs.: * Toxinas na concentração de 3 mg SAB/mL.

** Desenvolvimento em centímetros de plântulas de milho. Média de 50 plântulas, sem diferença significativa entre si.

*** Inibição de desenvolvimento.

Fonte: Os autores.

Uma observação importante realizada foi em relação à cor das raízes das plântulas de milho submetidas ao tratamento com toxina de milho ou capim, tendo variado de marrom escuro a branco (para variedades suscetíveis) ou marrom claro (para variedades resistentes). Para as raízes de plantas submetidas ao tratamento com água, estas permaneceram brancas.

3.2 Tratamento com toxinas em folhas destacadas e quantidade de clorofila

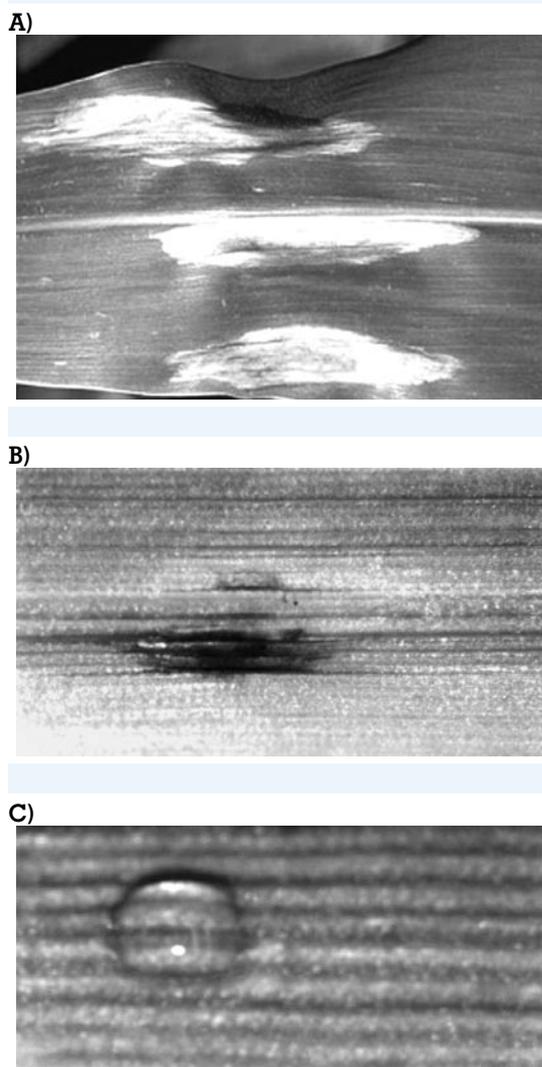
Nas folhas de milho destacadas das variedades suscetíveis (Ag 64A e M28C), as toxinas dos isolados de milho induziram necrose (como na formação de lesões) e, nas variedades resistentes (Ag 303 e Ag 405), apenas clorose. Este resultado pode

ser comparado com o teste de patogenicidade no qual o isolado de milho provocou lesões nas plantas de milho suscetíveis, e a formação de necrose quando utilizada a toxina do mesmo isolado. Estas observações foram também visualizadas por Smedegard-Petersen (1977a, 1977b) que, trabalhando com isolados altamente virulentos de *Pyrenophora teres* (patógeno de cevada), verificou a produção de fitotoxinas e observou correlação com a presença do efeito da doença nas folhas de cevada.

Quando avaliado o efeito da toxina de isolados de capim, este isolado por apresentar-se fracamente virulento a plantas de milho, exibiu apenas clorose nas variedades de milho, provando que isolados fracamente virulentos não liberam toxina na mesma concentração. Todos os tratamentos foram comparados com resultados obtidos com controles (água e meio de Fries), não tendo demonstrado nenhum efeito nas folhas. O resultado da variedade suscetível Ag 64A aparece demonstrado na Fotografia 1 (A, B, C).

3.3 Quantificação de clorofila nas folhas das variedades suscetíveis e resistentes

Em relação à quantificação de clorofila, observou-se que, nas folhas das variedades suscetíveis, foi obtida maior inibição da clorofila total (49 a 57%) para toxinas dos isolados de milho, enquanto, para toxina dos isolados de capim, a inibição foi menor (2 a 6%). Para variedades resistentes, a inibição da clorofila total para todos os isolados variou de zero a 10% (Gráfico 1). A mancha foliar reduziu a clorofila levando também à diminuição da produção de carboidratos, sendo correlacionada com a inibição do desenvolvimento da planta.



Fotografia 1: Observação dos sintomas em folhas de milho na variedade Ag 64A

Obs.: A) infectadas com *E. turcicum* (isolado de milho), B) gota de toxina do isolado de milho, C) gota de toxina do isolado de capim.

Fonte: Os autores.

Assim, as toxinas no referido trabalho foram extraídas de um meio de cultura em que os fungos se desenvolveram (LEISTNER; KRÄMER; KRETSCHMANN, 1995; SMEDEGARD-PETERSEN, 1977a, 1977b), mas essas toxinas podem ser liberadas durante a germinação dos conídios na superfície da

folha de uma planta, levando à penetração da superfície do hospedeiro e mostrando-se indispensáveis à subsequente colonização dos tecidos da planta; podem também promover pequenas alterações nas atividades metabólicas do hospedeiro, gerando irritação nas células (necrose), além de suprimir a expressão do mecanismo geral de resistência presente nas plantas suscetíveis (SCHEFFER, 1983, 1989; SCHEFFER; LIVINGSTON, 1984). Diante disso, as toxinas podem reproduzir os sintomas típicos da doença no hospedeiro, em nível ultra-estrutural e macroscópico, constituindo-se critério útil na avaliação da seleção de plantas quanto ao melhoramento, como descrito por Hunold e outros (1990), Krämer, Opel e Siebert (1989) e Weiergang e outros (2002).

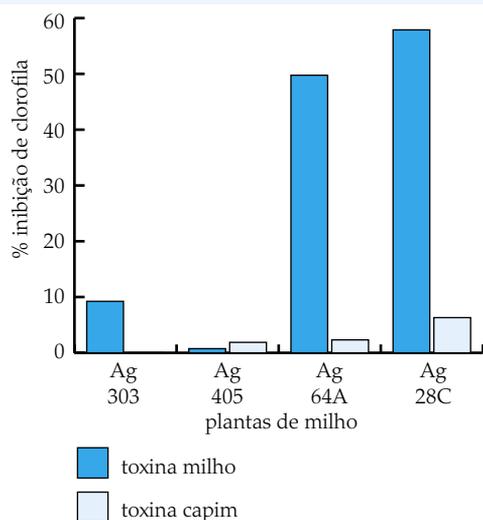


Gráfico 1: Porcentagem de inibição da clorofila total nas folhas de milho destacadas e tratadas com toxinas de *E. turcicum* isolados de milho e capim

Obs.: Variedades Ag 303, Ag 405, Ag 64A e M28C.

Fonte: Os autores.

Por conclusão, as toxinas extraídas de *E. turcicum* isolados de milho e capim po-

dem ser utilizadas em processos de melhoramento para auxiliar na seleção de variedades resistentes, por ser método rápido, barato e simples.

Extraction and action of *Exserohilum turcicum* toxins in maize plants

Spot blotch, caused by *Exserohilum turcicum* is important disease in maize, grass and sorghum. To demonstrate the action of the pathogen in plants the reaction is pathogenicity important in procedures of improvement of plants. The form of substituting the pathogenicity reaction, it is the action of toxins produced by the different isolates of the fungi. For this, isolates of *E. turcicum* from maize and grass were developed in Fries medium and than toxins were extracted. After ten days of the seed of maize germination, the leaves were collected and placed in *Petri* plates and receiving drops of maize and grass toxins, conidial suspension or water being later submitted to different analyses. The preliminary results demonstrated that maize plants with toxin of the isolate of maize fungi, presented necrosis besides, when the leaves were treated with conidial suspension they presented lesions. Like this, phytotoxins were capable to reproduce, the symptoms of the disease by the pathogens and that can be used in improvement plant processes.

Key words: Grass. *Exserohilum turcicum*. Maize. Toxins.

Referências

- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, Rockville, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- BACH, E. E. *Comparação morfológica, patogênica, serológica e eletroforética de E. turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs, isolado de milho, sorgo e capim massambará. 1991. Dissertação (Mestrado em Agronomia [Fitopatologia])–Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.
- _____.; KIMATI, H. Purification and characterization of toxins from wheat isolates of *Drechslera tritici-repentis*, *Bipolaris bicolor*, and *Bipolaris sorokiniana*. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 189-199, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-79301999000200006&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em: 5 maio 2005.
- BALLANCE, G. M.; LAMARI, L.; BERNIER, C. C. Purification and characterization of a host-selective necrosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Physiology Molecular Plant Pathology*, New York, v. 35, n. 3, p. 203-213, 1989.
- BHOWMIK, T. P.; PRASADA, R. H. Physiologic specialization in *Helminthosporium turcicum* (Pass.) from India. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 68, p. 84-87, 1970.
- BROWN, D. A.; HUNGER, R. M. Production of a chlorosis-inducing, host-specific low-molecular weight toxin by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, cause of tan spot of wheat. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 137, p. 221-232, 1993.
- DURBIN, R. D. The biochemistry of fungal and bacterial toxins and their modes of action. In: CALLOW, J. A. (Ed.). *Biochemical plant pathology*. 1. ed. Chichester: John Wiley and Sons, 1983. p. 137-162.
- FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. *Principais doenças na cultura do milho*. 1. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 2000.
- HUNOLD, R. et al. *In vitro* – seleção bei gerste (*hordeum vulgare* L.) auf resistenz gegen *Drechslera teres*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 129, p. 291-302, 1990.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Rio de Janeiro: 1973-2002.
- KRÄMER, R.; OPEL, M.; SIEBERT, A. Reaktion abgetrennter gerstenblätter auf ein teilgereinigtes Toxinpräparat von *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz*, Berlin, v. 25, p. 277-283, 1989.
- LAMARI, L.; BERNIER, C. C. Toxin of *Pyrenophora tritici-repentis*: host-specificity, significance in disease, and inheritance of host reaction. *Phytopathology*, St. Paul, v. 79, p. 740-744, 1989.
- LEISTNER, H-U.; KRÄMER, R.; KRETSCHMANN, M. Cytological characterization of *Hordeum vulgare* L. Under the influence of a toxin produced by *Drechslera teres*. *Microbiological Research*, New York, v. 150, p. 281-289, 1995.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*, Baltimore, v. 193, p. 265-275, 1951. Disponível em: <<http://www.jbc.org/cgi/reprint/193/1/265.pdf>>. Acesso em: 5 maio 2005.
- MEINHARDT, S. W. et al. Role of the arginyl-glycyl-aspartic motif in the action of Ptr ToxA produced by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Physiology*, Rockville, v. 130, n. 3, p. 1545-1551, 2002.
- SCHEFFER, R. P. Toxins as chemical determinants of plant disease. In: DALY, J. M.; DEVERALL, B. J. (Ed.). *Toxins and plant pathogenesis*. 1. ed. London: Academic Press, 1983, p. 1-40.
- _____. Ecological consequences of toxin production by *Cochliobolus* and related fungi. In: GRANITI, A.; DURBIN, R. D.; BALLI, A. (Ed.). *Phytotoxins and Plant Pathogenesis*. 1. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1989. p. 285-300.
- SCHEFFER, R. P.; LIVINGSTON, R. S. Host-selective toxins and their role in plant diseases. *Science*, Washington, DC, v. 223, p. 17-21, 1984.
- SHREE, M. P.; REDDY, C. N. Effect of *Helminthosporium* infection on certain biochemical constituents in the resistant and susceptible varieties of sorghum. *Indian Journal of Plant Pathology*, India, v. 4, p. 46-52, 1986.

SMEDEGARD-PETERSEN, V. Isolation of two toxins produced by *Pyrenophora teres* and their significance in disease development of net-spot blotch of barley. *Physiological Plant Pathology*, New York, v. 10, p. 203-211, 1977a.

_____. Respiratory changes of barley leaves infected with *Pyrenophora teres* or affected by isolated toxins of this fungus. *Physiological Plant Pathology*, New York, v. 10, p. 213-220, 1977b.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. (1953). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The qualitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 10, p. 63-68, 1959.

TOMAS, A.; BOCKUS, W. W. Cultivar-specific toxicity of culture filtrates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 77, p. 1337-1340, 1987.

TOMAS, A. et al. Purification of a cultivar-specific toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, New York, v. 3, p. 221-224, 1990.

WEIERGANG, I. et al. Correlation between sensitivity of barley to *Pyrenophora teres* toxins and susceptibility to the fungus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, v. 60, n. 3, p. 121-129, 2002.

WOLPERT, T. J.; MACKO, V. Specific binding of victorin to a 100-kda protein from oats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 86, n. 11, p. 4092-4096, 1989. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/reprint/86/11/4092.pdf>>. Acesso em: 5 maio 2005.

ZHANG, H. Structural and physical properties of a necrosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 87, p. 154-160, 1997.

recebido em: 3 maio 2005 / aprovado em: 8 jul. 2005

Para referenciar este texto:

BACH, E. E.; LIMIRO, C.; RODRIGUES, E.
Extração e ação de toxinas de *Exserohilum turcicum* em plantas de milho. *ConScientiae Saúde*, São Paulo, v. 4, p. 105-113, 2005.



