

TESTES DE ESPORULAÇÃO DE *FUSARIUM GRAMINEARUM*, O AGENTE CAUSAL DA GIBERELA

Lorant Cavanha Gabriel¹; Amanda do Prado Mattos²; Priscila Angelotti¹; Renato Garozi¹; Dauri José Tessmann³

¹Doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, lorrantcg@hotmail.com, priangelotti@gmail.com; rgarози@hotmail.com

²Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEM pradamattosa@gmail.com

³Orientador, Doutor, Departamento de Agronomia, UEM, lorrantcg@gmail.com

RESUMO

Uma das doenças mais importantes da cultura da cevada (*Hordeum vulgare*) é a giberela, causada pelo fungo *Fusarium graminearum*. O objetivo do estudo foi avaliar diferentes meios de cultura utilizados para a produção de macroconídios de *F. graminearum* em placas de Petri para serem utilizados em ensaios que requerem inoculação do patógeno. Os métodos avaliados foram: a) meio de cultura líquido de feijão mungo com apenas uma agitação diária de duração de um minuto; b) meio de cultura de feijão mungo líquido mantido sem agitação; c) meio de cultura líquido de feijão mungo sob agitação constante; d) meio de cultura de feijão mungo sólido (com a adição de ágar); e) meio SNA (sólido); e f) meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro. O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. A quantidade de macroconídios foi avaliada com 9 e 18 dias de incubação. A maior produção de macroconídios foi obtida no meio de cultura líquido de feijão mungo sob agitação constante.

PALAVRAS-CHAVE: Cevada; Conídios; Meios de cultura.

1 INTRODUÇÃO

A cultura da cevada (*Hordeum vulgare*) tem grande importância para a indústria cervejeira do Brasil. Na safra de 2018, o cultivo de cevada no estado do Paraná produziu 353 mil toneladas do grão, consolidando-se assim como o maior estado produtor do cereal (CONAB, 2019). Entre os fatores que limitam a produção nacional de cevada, as doenças têm grande relevância, sendo que a giberela é uma das mais importantes (PANISSON et al., 2003; DEL PONTE et al., 2004). No Brasil, mais de uma espécie de *Fusarium* pode causar a doença e a principal é *F. graminearum* s. str. (DEL PONTE et al., 2014). A importância dessa doença se deve não apenas às perdas no rendimento de grãos das lavouras, mas também em função da redução da qualidade dos grãos, principalmente devido à contaminação das micotoxinas.

Os estudos que envolvem a inoculação do agente causal de giberela normalmente requerem a produção *in vitro* de esporos assexuados de *F. graminearum*, denominado macroconídios, em grande quantidade. Entre os protocolos mencionados com maior frequência na literatura constam o cultivo desse fungo em meio de feijão mungo (*Vigna radiata*) em meio líquido, em meio de feijão mungo em meio sólido (com adição de ágar) e meio *Spezieller Nährstoffarmer Agar* (SNA) (LESLIE e SUMMERELL, 2006). Assim, o objetivo do estudo foi avaliar métodos de produção de macroconídios de *F. graminearum* nesses diferentes meios de cultura.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Maringá, onde foi conduzido em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos comparados foram: tratamento 1 – meio de feijão mungo líquido sob agitação constante; tratamento 2 – meio de feijão mungo líquido com apenas uma agitação diária de duração de um minuto; tratamento 3 – meio de feijão mungo líquido mantido sem agitação; tratamento 4 – meio de feijão mungo sólido (com a adição de ágar); tratamento 5 – meio SNA sólido; e tratamento 6 – meio SNA sólido suplementado

com pedaços de papel filtro. Os meios sólidos foram avaliados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo 20 mL de meio de cultura e os meios líquidos foram avaliados em frasco Erlenmeyer com capacidade de 125 mL, contendo 70 mL de meio de cultura.

O preparo dos meios de cultura foi de acordo os protocolos estabelecidos em Leslie e Summerell (2006). No meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro, oito pedaços de aproximadamente 1 cm² de papel filtro esterilizado foram depositados na superfície do meio de cultura após este estar sólido. A inoculação dos meios de cultura foi mediante a adição de 1 mL de uma suspensão de conídios na concentração de 5.10⁴ esporos por mL, distribuída homogeneamente na superfície do meio de cultura. Os frascos contendo os meios de cultura foram mantidos na temperatura de 22±30°C, com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações das concentrações de esporos em cada meio foram realizadas com 9 e 18 dias de incubação. Para a quantificação dos esporos nos meios sólidos foram adicionados 5 mL de água esterilizada na placa e em seguida a suspensão de esporos e hifas foi filtrada em uma camada de gaze. Para o meio líquido, uma fração de 5 mL foi filtrada em uma camada de gaze e, em seguida, o filtrado contendo esporos foi avaliado. A concentração final foi determinada em câmara de Neubauer.

Uma análise estatística descritiva foi utilizada para verificar a diferença entre os tratamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação realizada aos 9 dias de incubação, apenas o tratamento 1 (meio de feijão mungo líquido sob agitação constante) apresentou esporulação em todas repetições, demonstrando rápido desenvolvimento do fungo neste meio de cultura. Na avaliação final, aos 18 dias de incubação, a maior produção de macroconídios foi observada no tratamento 1, e o segundo melhor método foi meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro (Tratamento 6). Os tratamentos 3, 4 e 5 apresentaram baixa esporulação e no tratamento 2 não ocorreu esporulação (Quadro 1).

Quadro 1: Produção de macroconídios (conídios por mL) de *Fusarium graminearum* em diferentes meios de cultura e sistemas de incubação.

Tratamentos	Média (± desvio padrão)
1) Meio de feijão mungo líquido sob agitação constante	46550 (±4082)
2) Meio de feijão mungo líquido com apenas uma agitação diária de duração de um minuto	0
3) Meio de feijão mungo líquido mantido sem agitação	167 (±118)
4) Meio de feijão mungo-ágar	250 (±204)
5) Meio SNA	417 (±312)
6) Meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro	3550 (±4601)

Tais resultados só podem ser inferidos para o presente estudo, visto que se trata de uma análise estatística descritiva. Porém, os resultados encontrados são muito importantes, visto que auxiliam outros trabalhos na busca por melhores meios de cultura para a produção de esporos de *F. graminearum*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre todos os meios de cultura analisados neste trabalho, o meio de feijão mungo líquido sob agitação constante foi o método mais eficaz para a produção de macroconídios de *F. graminearum*.

REFERÊNCIAS

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos (Safra 2018-2019)**, v. 6, n. 4, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos>. Acessado em: 03/06/2019.

DEL PONTE, E.M., FERNANDES, J.M.C., PIEROBOM, C.R. & BERGSTROM, G.C. Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 587-605. 2004.

DEL PONTE, E.M., SPOLTI, P., WARD, T., GOMES, L.B., NICOLLI, C.P., KUHNEM, P.R., SILVA, C.N., TESSMANN, D.J. Regional and field-specific factors affect the composition of Fusarium head blight pathogens in subtropical no-till wheat agroecosystem of Brazil. **Phytopathology**, v. 105, p. 246-54, 2014.

LESLIE, J. F., SUMMERELL, B. A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Ames, Iowa: Blackwell Professional, 2006.

PANISSON, E., REIS, E.M., BOLLER, W. Quantificação de danos causados pela Giberela em cereais de inverno, na safra 2000, em Passo Fundo, RS. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 189-192, 2003.