



AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PRODUÇÃO DE INÓCULO DE *FUSARIUM GRAMINEARUM* 'IN VITRO'

Lucas Capelari Soares (PIBIC/CNPq-UEM), Guilherme Pesserini Bavia, Lorrant Cavanha Gabriel, Dauri José Tessmann (Orientador), e-mail: djtessmann@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Agronomia

Fitossanidade/Fitopatologia

Palavras-chave: Doenças, esporulação, patogenicidade

Resumo

O fungo *Fusarium graminearum* é o principal agente causal de giberela, uma das doenças mais importantes do trigo (*Triticum aestivum*) no Brasil. O objetivo do estudo foi avaliar métodos de produção de macroconídios de *F. graminearum in vitro* para serem utilizados em ensaios que requerem inoculação do patógeno. Os métodos avaliados foram: i) meio de cultura líquido de feijão mungo sob agitação constante; ii) meio de cultura líquido de feijão mungo com apenas uma agitação diária de duração de um minuto; iii) meio de cultura de feijão mungo líquido mantido sem agitação; iv) meio de cultura de feijão mungo sólido (com a adição de ágar); v) meio SNA (sólido); e vi) meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro. O experimento foi conduzido com 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.

Introdução

A cultura do trigo (*Triticum aestivum*) tem grande importância econômica e social para o Brasil. Na safra 2013-2014, o cultivo de trigo ocupou cerca de 2,2 milhões de hectares com a produção de 5,5 milhões de toneladas, o que corresponde a aproximadamente 50% do consumo interno desse cereal (CONAB, 2015). Entre os fatores que limitam a produção nacional de trigo,





as doenças tem grande relevância, e entre as doenças, 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 pelas 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 em meio líquido, em meio de feijão mungo em meio sólido (com adição de agar) e meio *synthetic nutrient deficient agar* (SNA) (LESLIE e SUMMERELL, 2006). Assim, o objetivo do estudo foi avaliar métodos de produção de macroconídios de *F. graminearum in vitro*.

Materiais e Métodos

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Fitopatologia da UEM. O experimento foi conduzido com delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos comparados foram os seguintes: 1) meio de feijão mungo líquido sob agitação constante; 2) meio de feijão mungo líquido com apenas uma agitação diária de duração de um minuto; 3) meio de feijão mungo líquido mantido sem agitação; 4) meio de feijão mungo sólido (com a adição de agar); 5) meio SNA (sólido); e 6) meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro (sólido). 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 foram 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 5×10^4 esporos por mL, distribuída homogeneamente na superfície do meio de cultura. Os frascos contendo os meios de cultura foram mantidos na temperatura de $22 \pm 30^\circ\text{C}$, 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 foi adicionado 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.

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 as 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 (Tabela 1).

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

Tratamentos	Média (\pm desvio padrão)
1) Meio de feijão mungo líquido sob agitação constante	46550 (\pm 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 (\pm 118)
4) Meio de feijão mungo-ágar	250 (\pm 204)
5) Meio SNA	417 (\pm 312)
6) Meio SNA suplementado com pedaços de papel filtro	3550 (\pm 4601)





Conclusões

O meio de feijão mungo líquido sob agitação constante foi o método mais eficaz para a produção de macroconídios de *F. graminearum*.

Agradecimentos

Agradeço ao Programa PIBIC CNPq/UEM pela bolsa de iniciação científica.

Referências

CONAB. Central de Informações Agropecuárias. Extraído de www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=131, em 26/julho/2015.

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.

