

ESPÉCIES DE *FUSARIUM* CAUSANDO GIBERELA EM CEVADA NO RIO GRANDE DO SUL

EMANUELI BIZARRO FURTADO¹; DANIELLE RIBEIRO DE BARROS²;
EDUARDO GUATIMOSIM²; SABRINA DE OLIVEIRA MARTINS²; LEANDRO
JOSÉ DALLAGNOL³

¹Universidade Federal de Pelotas – emanelifurtado@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – danielle.barros@ufpel.edu.br; sabrina-martins11@hotmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande – e.guatimosim@furg.br

³Universidade Federal de Pelotas – leandro.dallagnol@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A cevada (*Hordeum vulgare*) é um cereal amplamente cultivado no mundo devido ao uso multifuncional dos seus grãos. No Brasil, seu principal destino é na produção do malte da indústria cervejeira, sendo o estado do Rio Grande do Sul (RS), o segundo maior produtor de cevada do país (CONAB, 2023). No entanto, diversos fatores podem comprometer a qualidade dos grãos de cevada, dentre os quais, destaca-se a ocorrência de doenças (OSBOURNE; STEIN, 2006).

A giberela da cevada é uma doença de etiologia fúngica que acomete a cultura durante a floração. Os sintomas apresentam-se como descoloração ou escurecimento de espiguetas infectadas e, quando há condições favoráveis para o desenvolvimento do patógeno, pode ocorrer produção de sinais do patógeno que variam entre tonalidades alaranjadas e avermelhadas (MCMULLEN et al., 2012). A doença pode resultar em danos na produtividade e redução na qualidade dos grãos, tanto pela perda de água e nutrientes durante o processo infeccioso quanto pelo acúmulo de micotoxinas produzidas pelo fungo nos grãos, as quais podem acarretar problemas na saúde de humanos e animais (FERRIGO et al., 2016).

Apesar de *F. graminearum* ser considerado o principal agente causal da doença, outras espécies já foram relatadas em campos de produção de cevada na região sul do Brasil (PEREIRA et al., 2020). As espécies de *Fusarium* podem apresentar exigências distintas em relação a temperatura e a umidade para seu desenvolvimento, além de diferenças em relação a agressividade durante o processo infeccioso. Tais especificidades podem comprometer a eficiência do manejo aplicado para controle da doença e resultar em grãos de qualidade reduzida e menor retorno econômico para o produtor (WEGULO et al. 2015).

De acordo com o exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento de espécies de *Fusarium* presentes nos campos de produção de cevada no Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Durante a safra de 2021, entre os meses de setembro e novembro, foram coletadas espigas de cevada com sintomas de giberela, em diferentes municípios do Rio Grande do Sul, a saber: Água Santa, Capão do Leão, Coxilha, Estação, Ipiranga do Sul, Lagoa Vermelha, Passo Fundo, Vacaria e Vila Lângaro. Posteriormente, as espigas foram levadas para o Laboratório de Interação Planta Patógeno (LIPP) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), identificadas, fotografadas e armazenadas a 4°C.

Isolamentos foram feitos a partir de tecidos afetados em espigas com variações de sintomas. O método de isolamento direto foi empregado para as espigas nas quais os sinais do patógeno eram visíveis, ao passo que as demais, foram colocadas em câmara úmida a fim de promover a exteriorização das estruturas do patógeno (ALFENAS; MAFIA, 2007). O cultivo foi realizado em placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA) e mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h.

Para extração de DNA, os isolados fúngicos foram cultivados em placas de Petri com meio BDA, as quais foram mantidas por 10 dias a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. A extração de DNA genômico foi realizada com o Kit Promega Wizard DNA Extraction, seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante.

Para cada isolado, foi realizado à amplificação por PCR das regiões: fator de alongamento de tradução 1-alfa (*tef1*) e a segunda maior subunidade da RNA polimerase II (*rpb2*) utilizando os pares de primers EF-1 e EF-2 (O'DONNELL et al, 1998), 5F2 (REEB et al., 2004) e 7cR (LIU et al., 1999), respectivamente. Os fragmentos de PCR foram sequenciados nas direções forward e reverse utilizando-se os mesmos primers usados na PCR, através do sequenciamento Sanger.

Sequências consenso e alinhamentos foram gerados no programa MEGA v. 7.0. Para o alinhamento, foram utilizadas sequências obtidas no presente trabalho e sequências do alinhamento de Crous et al. (2021), obtidas do GenBank. Análises no MrModeltest v. 2.3, demonstraram que o modelo de evolução genética GTR+I+G era o mais apropriado os genes *tef1* e *rpb2*. Após a seleção do modelo, uma inferência Bayesiana (utilizando os genes *tef1* e *rpb2*, de forma concatenada) foi realizada usando a plataforma CIPRES, a partir do programa MrBayes v. 3.2.1. *Atractium stilbaster* (isolado CBS 410.67) serviu como outgroup para a análise bayesiana.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados obtidos no estudo agruparam-se com sete espécies de *Fusarium* e uma espécie não identificada, a saber: *F. asiaticum*, *F. avenaceum*, *F. cortaderiae*, *F. gerlachii*, *F. graminearum*, *F. meridionale*, *F. poae*, e *Fusarium* sp (Figura 1).

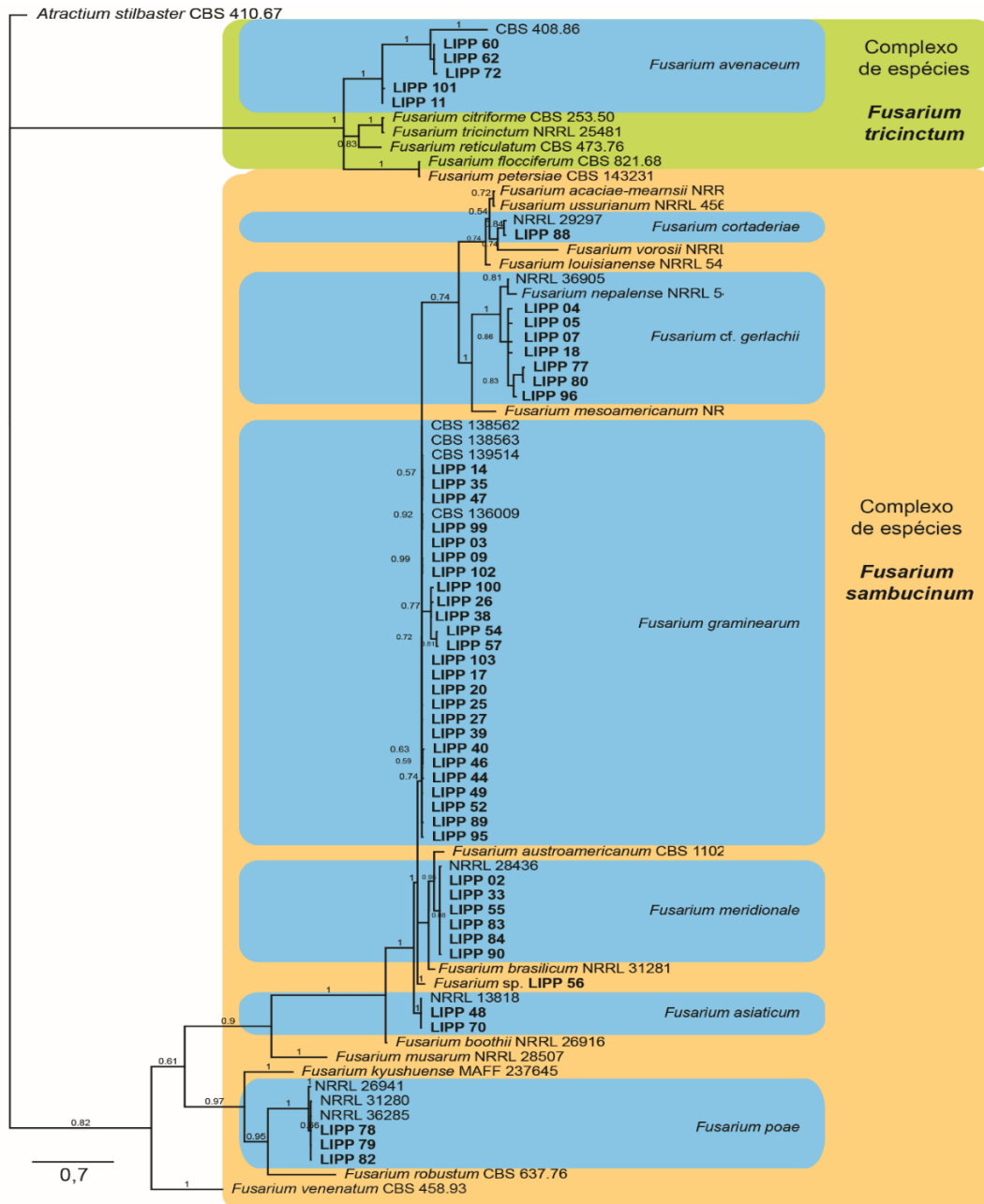


Figura 1. Filograma consenso de espécies de *Fusarium*, a partir da análise Bayesiana do alinhamento *rpb2-tef1*. Valores de probabilidade posterior (PP) estão indicados ao lado esquerdo de cada nó. Barra de escala indica 0,7 alterações esperadas por sítio. Isolados derivados do presente estudo estão indicados em negrito. A árvore está enraizada em *Atractium stilbaster* (isolado CBS 410.67).

A árvore resultante (Figura 1) mostra agrupamentos consistentes e cujas espécies se dividem em dois complexos de espécies (CROUS et al., 2021), a saber: *F. sambucinum* e *F. tricinctum*. No complexo *F. sambucinum*, vinte e cinco isolados se agruparam com a espécie *F. graminearum*, seis isolados *F. meridionale*, dois isolados *F. asiaticum*, um isolado com *F. cortaderiae* e sete isolados com *F. gerlachii*. Ainda dentro do complexo *F. sambucinum* três isolados se agruparam com *F. poae* e um isolado (LIPP 56) não agrupou com nenhuma espécie incluída na presente análise. No complexo *F. tricinctum*, cinco isolados agruparam-se com *F. avenaceum*.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, infere-se que há no mínimo sete espécies de *Fusarium* causando giberela em plantas de cevada no estado do Rio Grande do Sul. Estudos posteriores, envolvendo mais genes estão em andamento a fim de melhorar identificar as espécies encontradas, bem como, caracterizar as micotoxinas por elas produzidas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. 382p.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE GRÃOS**. v. 10, Safra 2022/23, n.5. Acessado em 20 ago. 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>.
- CROUS, P.W., et al., *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**. v. 98, p. 1-184, 2021.
- FERRIGO, D.; RAIOLA, A.; CAUSIN, R. *Fusarium* Toxins in Cereal: Occurrence, Legislation, Factors Promoting the Appearance and Their Management. **Molecules**. v. 21, n. 627, p. 1-35, 2016.
- MCMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; DILL-MACKY, R.; SHANER, G.; DE WOLF, E.; HERSHMAN, D.; VAN SANFORD, D. A unified effort to Fight an Enemy of Wheat and Barley: *Fusarium* Head Blight. **Plant Disease**. v. 96, n. 12, p. 1-17, 2012.
- OSBOURNE, L.E.; STEIN, J.M. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. **International Journal of Food Microbiology**. v. 199, p. 103-108, 2007.
- PEREIRA, C.; WARD, T.; DEL PONTE, E.; MOREIRA, G.; BUSMAN, M.; MCCORMIC, S.; FEKSA, H.; ALMEIDA, J.; TESSMANN, D. Five-year survey uncovers extensive diversity and temporal fluctuations among *Fusarium* head blight pathogens of wheat and barley in Brazil. **Plant Pathology**. v. 70, p. 426-435, 2020.
- WEGULO, S.N.; BAENZIIGER, P.S.; NOPSA, J.H.; BOCKUS, W.W.; HALLENADAMS, H. Management of *Fusarium* head blight of wheat and barley. **Crop Protection**. v. 73, p. 100-107, 2015.