

Foto: Paulo Kurtz



## Protocolo usado na Embrapa Trigo para produção de peritécios de *Gibberella zeae* em grãos de trigo

Maria Imaculada Pontes Moreira Lima<sup>1</sup>

### Introdução

A produção de peritécios de *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch; Sn. *G. Saubinettie*, forma assexuada *Fusarium graminearum* Schwabe (Parry et al., 1995) tem sido realizada em vários substratos. O uso de meio de cultura (Bowden & Leslie, 1999), de grãos de milho (Campbell & Lipps, 1998), de aveia (Jin & Zhang, 1998), de trigo (Bai et al., 1989; Wang et al., 1982, citados por Dill-Macky, 2003), mistura de grãos (Stack, citado por Dill-Macky, 2003) e colmos de milho (Casa & Reis, 2005) são relatados com maior frequência. Visando à caracterização de genótipos de trigo, cevada e triticale quanto à doença giberela, a Embrapa Trigo, baseando-se nas técnicas descritas para a produção de peritécios de *G. zeae*, selecionou e adequou procedimentos e produz a fase perfeita do fungo em grãos de trigo, que são usados, em campo para compor ambiente favorável à simulação de epidemia da doença.

O objetivo desse trabalho é divulgar o protocolo usado na Embrapa Trigo para a produção de peritécios de *G. zeae*.

### Material e Métodos

Para a produção de peritécios de *G. zeae* são necessários os seguintes materiais e/ou equipamentos:

- grãos de trigo de boa qualidade;
- água de torneira;
- água destilada e estéril;
- algodão;
- areião (areia grossa peneirada);
- autoclave
- caixas de madeira de aproximadamente 40 cm de largura, 42 cm de comprimento, 10 cm de altura e fundo falso;
- câmara asséptica;
- câmara de crescimento de microrganismos, regulada para  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas;
- erlenmayer de 500 ml de boca larga;
- luvas plásticas descartáveis;
- máscara de proteção descartável;

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Trigo, Caixa Postal 451, CEP 99001-970 Passo Fundo, RS. E-mail: imac@cnpt.embrapa.br.

- peneira plástica;
- proveta de 100 ml;
- pipeta de 10 ml;
- placas de Petri com cultura de *F. graminearum* em BDA com 5 - 10 dias de idade;
- regador ou mangueira para jardim;
- sombrite.

Os procedimentos para a produção de peritécios de *G. zeae* são: colocar em cada erlenmayer, 200 g de grãos de trigo (Fig. 1), completar o volume com água de torneira e deixar repousar à temperatura ambiente por 5 h (Fig. 2). Após, colocar uma peneira na boca do erlenmayer e escorrer o excesso de água (Fig. 3). Em seguida, tampar o frasco com algodão, autoclavar (esterilizar) por 30 min à pressão de 1,5 atm e deixar 24 h de repouso à temperatura ambiente (Fig. 4). Em câmara asséptica, lavar as placas com a cultura de *F. graminearum* (Fig. 5) com água destilada estéril até obter um volume aproximado de 200 ml por placa e, distribuir, com auxílio de micropipeta, 20 ml de suspensão de conídios em cada frasco contendo os grãos esterilizados. Após, agitar os frascos e colocá-los na câmara de crescimento por um período de 12 a 15 dias (Fig. 6). Os frascos devem ser agitados, vigorosamente, uma vez ao dia. Quando os grãos estiverem uniformemente colonizados (Fig. 7), proteger-se com máscara e luvas, e distribuí-los em bandejas (de alumínio ou plásticas) forradas com dupla camada de papel jornal até formar espessura de 1 cm (Fig. 8). Destorroar os grãos que permaneceram aglutinados em grandes grupos, deixando-os secar em casa de vegetação por aproximadamente oito dias, revolvendo-os diariamente. Após seco, distribuí-los em fina camada sobre a superfície de areia contida nas caixas (Fig. 9), protegendo-os com sombrite (Fig. 10). Se não chover, e estiver muito quente, molhar uma vez ao dia, ou a cada dois dias se a temperatura estiver amena. Se chover, deixar secar pelo menos quatro dias para proceder ao molhamento artificial. O excesso de molhamento pode provocar o

apodrecimento dos grãos.

## Resultados

Os primeiros peritécios podem ser observados a partir do quarto dia pela constatação a olho nu de pequenas pontuações escuras nos grãos (Fig. 11). De 15 a 20 dias, a maioria dos grãos está coberta por uma camada escura (Fig. 12), semelhante à borra de pó de café, apresentando peritécios maduros (com ascósporos). O processo para a produção de peritécios demora em torno de 37 a 45 dias.

## Referências Bibliográficas

- BOWDEN, R. L.; LESLIE, J. F. Sexual recombination in *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 182-188, 1999.
- CAMPBELL, K. A. G.; LIPPS, P. E. Allocation of resources: sources of variation in *Fusarium* head blight screening nurseries. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, p. 1078-1086, 1988.
- CASA, R. T.; REIS, E. M. Método para produção de inóculo e inoculação de *Gibberella zeae* em espigas de trigo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, n. 2, p. 204-206, 2005.
- DILL-MACKY, R. **Fusarium head blight of wheat and barley**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2003. Cap. 8, p. 184-210.
- JIN, Y.; ZHANG, X. Mass production of ascospores of *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, p. S44, 1998.
- PARRY, D. W.; JENKINSON, P.; McLEOD, L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. **Plant Pathology**, London, v. 44, p. 207-238, 1995.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 1.** Frasco contendo 200 g de grãos de trigo.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 2.** Frasco contendo grãos de trigo de molho em água.

Foto: Paulo Kurtz



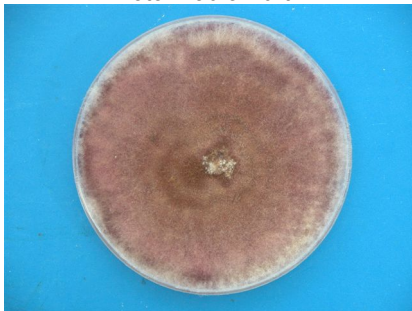
**Fig. 3.** Retirada do excesso de água do frasco.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 4.** Frasco contendo grãos de trigo autoclavados.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 5.** Colônia característica de *F. graminearum*.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 6.** Câmara de crescimento de microrganismo contendo frascos com grãos de trigo em fase de colonização por *F. graminearum*.

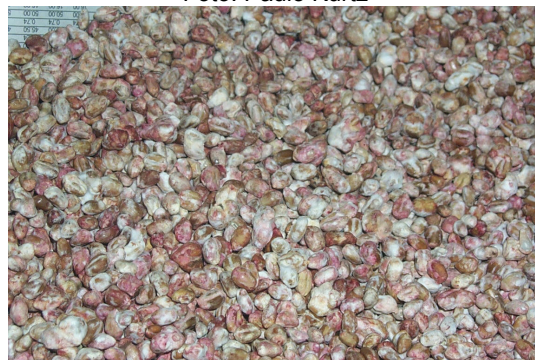


Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 7.** Grãos de trigo em fase final de colonização por *F. graminearum*.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 8.** Grãos de trigo colonizados por *F. graminearum* em fase inicial de secagem.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 9.** Caixa de madeira contendo areia e grãos de trigo secos colonizados por *F. graminearum*.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 10.** Caixas cobertas com sombrite.

Foto: Paulo Kurtz



**Fig. 11.** Grãos de trigo apresentando os primeiros peritécios (setas) de *G. zeae*.



Foto: Paulo Kurtz



Fig. 12. Peritécios de *G. zeae* formados em grãos de trigo.



**Comunicado  
Técnico Online, 218**

Embrapa Trigo  
Caixa Postal, 451. CEP 99001-970  
Passo Fundo, RS  
Fone: (54) 3316 5800  
Fax: (54) 3316 5802  
E-mail: sac@cnpt.embrapa.br

**Expediente**

**Comitê de Publicações**

Presidente: **Leandro Vargas**

Ana Lúcia V. Bonato, José A. Portella, Leila M. Costamilan, Márcia S. Chaves, Maria Imaculada P. M. Lima, Paulo Roberto V. da S. Pereira, Rita Maria A. de Moraes

**Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento**



Referências bibliográficas: Maria Regina Martins  
Editoração eletrônica: Márcia Barocas Moreira Pimentel

LIMA, M. I. P. M. **Protocolo usado na Embrapa Trigo para produção de peritécios de *Gibberella zeae* em grãos de trigo.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 16 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 218). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p\\_co218.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co218.htm)>.