IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À SEMENTES DE LINHAÇA

Edilaine Mauricia GELINSKI GRABICOSKI[1], Ana Carolina da COSTA LARA FIOREZE[1]; Kauane Bianca VEINHAL FRAGNANI[1]; David de SOUZA JACCOUD-FILHO[2]

[1] Departamento de Ciências Agrárias
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Francisco Beltrão
Francisco Beltrão – Paraná – Brasil

[2] Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Ponta Grossa – Paraná - Brasil

E-mails: edilainem@utfpr.edu.br, anafioreze@utfpr.edu.br, kauanebianca@alunos.utfpr.edu.br, dj1002@uepg.br

Resumo: *A linhaça ou linho (Linum usitatissimum L.) é uma cultura de dupla aptidão com suas sementes oleaginosas com potencial funcional e seu caule fibroso de onde são extraídas as fibras para confecção principalmente de tecidos. Embora seu cultivo remonte ao início da agricultura, no Brasil há uma necessidade de estudos em diversas áreas da agricultura para compreender melhor a linhaça. A patologia de sementes é uma dessas áreas em que pouco se conhece da cultura da linhaça. Portanto, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento dos microorganismos presente nas sementes de linhaça. Para isso foram utilizadas amostras de três linhagens e duas varidades de linhaça. Ao analisar as sementes observou-se que três gêneros fúngicos se destacaram (Fusarium sp., Alternaria sp. e Colletotrichum sp.). Alguns microrganismos foram observados apenas em algumas amostras e em outras não, como é o caso do gênero Colletotrichum. Já outros, como Fusarium sp. e Alternaria sp. foi observado, mesmo que com incidências variando entre amostras, em todas as amostras avaliadas. Esses microrganismos são importantes fitopatógenos associados com sementes de diversas culturas e há poucas informações da cultura da linhaça.*

Palavras-chave: *Linum usitatissimum; Patologia de sementes; Blotter test; Controle de doenças.*

INTRODUÇÃO

A linhaça também conhecida como linho (*Linum usitatissimum* L.) é uma espécie que pertence à família Linaceae, gênero Linum. É considerada uma planta anual de inverno, herbácea e uma das primeiras espécies a ser domesticada (VAN ZEIST et al., 1975; GILL,

1987). Pode ser considerada uma cultura de dupla aptidão. As fibras extraídas do caule da planta podem ser utilizadas na confecção de tecidos, papéis e sacaria de estopa, e o óleo extraído das sementes é utilizado na indústria de tintas, vernizes e secantes (HALL, 2016). Além disso, o óleo vem sendo utilizado na indústria de alimentos, aumentando conservação dos mesmos. As sementes de linhaça possuem elevadas quantidades de ácido graxo como ômega 3 e 6, classificados como essenciais para a saúde humana (MORRIS; VAISEY GENSER et al., 2003).

No Brasil, a linhaça foi introduzida no estado do Rio Grande do Sul no ano de 1550, e o cultivo voltado para fibra teve grande impulso de empresas têxteis e da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (TOMASINI, 1982). Durante um período, houve redução da área de cultivo da linhaça no Brasil. Contudo, o crescente interesse por alimentos funcionais, opções de rotação de culturas e na área agrícola tem propiciado um aumento no interesse e na área de cultivo da linhaça na região Sul do Brasil. No entanto a cultura da linhaça apresenta inúmeros gargalos que devem ser resolvidos com as pesquisas agrícolas. Uma delas é os poucos estudos relacionados a doenças de plantas de linhaça cultivadas no Brasil.

Várias doenças, causadas por microrganismos já foram identificadas na cultura da linhaça (LAWRENCE et al., 2007; DHIRHI et al., 2017; PARTHASARATHY et al., 2020) e segundo Gruzdevienė et al. (2008), a maioria desses fitopatógenos são de solo e, ou de sementes. Patógenos associados às sementes podem causar diversos problemas como a redução do poder germinativo e vigor das sementes, tombamento e morte de plântulas, redução de estande, introdução de doenças nos estádios iniciais da cultura, aumento de inóculo na área, aumento de custos de produção e redução de produção e rendimentos (MENTEN, 1991).

Em virtude da ausência de conhecimento das doenças que ocorrem na cultura da linhaça, principalmente patógenos de sementes, e sua importância no manejo da cultura foi proposto o presente estudo, com o objetivo de realizar um levantamento de microrganismos associados a sementes de linhaça.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) é uma planta autógama, da família Linaceae, oleaginosa (LÚCIO et al., 2021). Apresenta grande versatilidade de uso, dos quais destaca-se a alimentação humana e animal na forma de semente inteira, farelo, farinha e óleo, além de aplicações na indústria têxtil, farmacêutica e química (POPOVIC et al., 2016; LÚCIO et al., 2021).

A área de produção mundial colhida de linhaça em 2021 foi de 4,14 milhões de hectares, em torno de 85% maior do que 10 anos atrás (2013), ocorrendo em mais de 50 países. Sua produção aumentou de 2,3 para 3,3 milhões de toneladas de 2013 para 2021 (FAO, 2023). Segundo estimativas, em torno de 45% da produção seria da Europa, 38% da Ásia, e 13% da América (Países: Canadá 78,6%, Estados Unidos 15,6%, Argentina 2,8% e Brasil e Uruguai 1,2% cada) (FAO, 2023).

No Brasil, quase a totalidade da linhaça é produzida no Rio Grande do Sul, em área de aproximadamente 16 mil hectares. A diversificação de cultivos nas áreas agrícolas do Brasil é essencial para melhorar os agroecossistemas, diminuir o uso de insumos agrícolas e agregar valor aos produtos. A introdução da linhaça nos atuais sistemas agrícolas é fundamental para a diversificação de produtos e alimentos, além disso, é uma forma de rotação de culturas para culturas de inverno, sendo de grande interesse agronômico. No entanto há poucos estudos com a cultura e destaca-se a necessidade de trabalhos científicos que forneçam suporte para a expansão do cultivo no Sul do Brasil (STANCK et al., 2017).

A linhaça é um alimento funcional, no qual pode trazer benefícios para o ser humano. Em virtude da sua composição nutricional, a linhaça é estudada como uma possível aliada na redução de risco de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (SALES et al., 2021; TBCA, 2023), inclusive com relatos anticancerígenos (SILVA; ALCORN, 2019).

Muitos fatores podem prejudicar a produção vegetal, tanto em questão de quantidade como de qualidade e entre esses fatores encontram-se as doenças (AGRIOS, 2005; AMORIN et al., 2018). Várias doenças, causadas por microrganismos já foram identificadas na cultura da linhaça (LAWRENCE et al., 2007; DHIRHI et al., 2017; PARTHASARATHY et al., 2020) e segundo Gruzdevienė et al. (2008), a maioria desses fitopatógenos são de solo e, ou de sementes.

Patógenos associados às sementes podem causar diversos problemas como a redução do poder germinativo e vigor das sementes, tombamento e morte de plântulas, redução de estande, introdução de doenças nos estádios iniciais da cultura, aumento de inóculo na área, aumento de custos de produção e redução de produção e rendimentos (MENTEN, 1991).

Apesar dos estudos apresentados, há poucos levantamentos de microrganismos associados às sementes de linhaça de forma geral, principalmente no Brasil. Em razão da importância da cultura para os sistemas de rotação de cultura para áreas agrícolas da regiões Sul do país, da importância de patógenos associados às sementes, do valor nutricional das sementes para alimentação humana e sua importância industrial, levantamentos de microrganismos associados à cultura, com destaque às sementes, tornam-se de grande importância. Além disso, para definir medidas de manejo e controle de qualquer doença, um correto diagnóstico da mesma é necessário (AGRIOS, 2005; AMORIN et al., 2018).

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Francisco Beltrão, em maio de 2023. Amostras de sementes de cinco genótipos de linhaça, sendo três linhagens (LinMP94, LinPG87, LinPG88) e duas variedades (Dourada comum e Marrom comum) foram utilizadas. As amostras foram obtidas pelo Programa de Melhoramento Genético da Linhaça da UTFPR-FB. As sementes foram colhidas no final do ano de 2021, e estavam armazenadas em sacos de papel, em câmara fria (em torno de 4 ° C).

Para as análises de patologia das sementes, utilizou-se o método de incubação em substrato de papel (*Blotter test*) de acordo com o Manual de Análise sanitária e das Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009ab). Para isso utilizou-se caixas de acrílico tipo gerbox 11x11x4 cm, previamente higienizadas com água e sabão, e desinfestadas com hipoclorito de sódio a 0,1% por 15 minutos e álcool 70%.

Em cada gerbox foram colocadas três folhas de papel germitest esterilizado (10x10 cm) e embebido em água destilada autoclavada. Após, as sementes foram distribuídas equidistantemente, mantendo-se em torno de 1 cm entre cada uma. As amostras foram então incubadas a 20 ºC no escuro por 7-8 dias em câmara de incubação tipo B.O.D.

Foram analisadas 400 sementes por amostras (ISTA, 2008), repartidas em quatro repetições de 100, sem desinfestação superficial.

Ao final do período de incubação, as sementes da amostra de cada genótipo, uma por uma, foram analisadas com auxílio de um estereomicroscópio (lupa), de 30 a 80X de aumento e, sempre que necessário, a confecção de lâminas, coletando-se as estruturas fúngicas presentes, para serem visualizadas em um microscópio óptico. Considerou-se características morfológicas como coloração, formato e número de células de hifas e esporos dos fungos filamentosos presentes, juntamente com o auxílio de chaves de identificação fúngica (BARNETT; HUNTER, 1972; BRASIL, 2009).

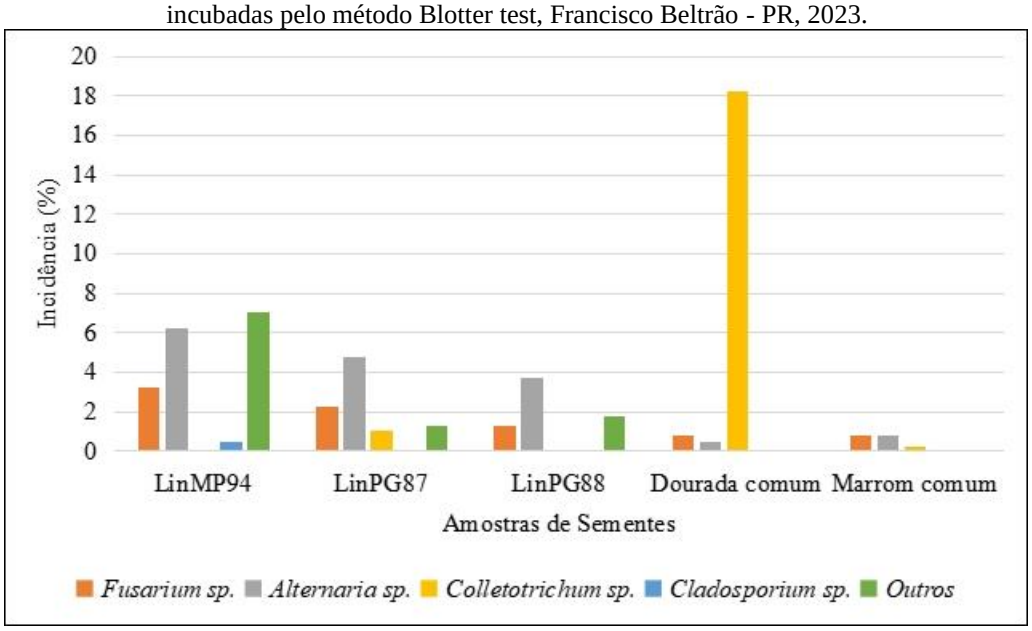
Os dados obtidos foram analisados com base na porcentagem de incidência de cada microrganismo em cada genótipo avaliado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar as sementes observou-se que três gêneros fúngicos se destacaram (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp. e *Colletotrichum* sp.) (Figura 1). Alguns microrganismos foram observados apenas em algumas amostras e em outras não, como é o caso do gênero *Colletotrichum*. Já outros, como *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp. foram observados, mesmo que com incidências variando entre amostras, em todas as amostras avaliadas.

A variação da incidência de microrganismos associados com amostras de genótipos de linhaça mostrou que houve variabilidade genética entre elas. O genótipo com maior incidência de *Colletotrichum* sp. é uma variedade crioula, assim como a Marrom comum, onde houve baixa incidência de todos os microrganismos. O genótipo marrom comum é uma variedade crioula de sementes marrons, considerada mais tolerante e resistência à patógenos de maneira geral. Já as linhagens douradas LinMP94, LinPG87 e LinPG88 são oriundas do programa de melhoramento genético, onde houve seleção para caracteres como maturação precoce e maior produtividade de grãos. Contudo, não houve seleção para à resistência à patógenos nas linhagens citadas. Nos diferentes programas de melhoramento genético da linhaça espalhados pelo mundo, a resistência à patógenos tem sido um dos grandes objetivos (HALL et al., 2016).

Figura 1 – Microrganismos associados com amostras de sementes de Linhaça (*Linum usitasinum* L.) incubadas pelo método Blotter test, Francisco Beltrão - PR, 2023.



Fonte: Autoria própria (2023)

Não encontrou-se muitas informações de patógenos associados com sementes de linhaça, demonstrando a importância de pesquisas nessa área. *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Alternaria* são importantes gêneros fúngicos que tem nas sementes de diversas culturas um importante meio de disseminação e sobrevivência (PATRICIO, 1991; AGRIOS, 2005; AMORIN et al., 2018). Em algumas culturas esses gêneros são citados como prejudiciais ao nível de germinação e vigor das sementes, como *Fusarium* sp. em soja (HENING, 2015). Além disso são importantes causadores de importantes grupos de doenças de campo, como *damping off*, podridões de colo e raiz, além de doenças foliares (AGRIOS, 2005; AMORIN et al., 2018).

Em trabalho similar, realizando o levantamento de fungos associados com sementes de linhaça, Halateno (2016), na região de Campo Mourão - PR, dos gêneros identificados no presente trabalho, apenas *Alternaria* e *Cladosporium* coincidiram nos dois trabalhos. Além desse gêneros, Halateno (2016) observou incidência de *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Mucor*, com maiores incidências para os dois primeiros. Esses quatro gêneros, não encontrados no presente trabalho, podem ser considerados contaminantes, saprófitas, fungos de armazenamento ou causadores de podridões de órgãos de reserva, dificilmente sendo

relatados causando danos a campo na maioria das culturas (AGRIOS, 2005; AMORIN et al., 2018).

Contudo, reforça-se a importância dos dados do presente trabalho e a carência de mais informações a respeito da patologia de sementes de linhaça e sua relação com doenças em lavouras da cultura, além de informações de variabilidade genética e resistência à doenças como estratégias de manejo e controle da cultura.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Colletotrichum, *Fusarium* e *Alternaria* foram os principais gêneros encontrados associados com as sementes das amostras de linhaça analisadas. Esses microrganismos podem ser importantes agentes fitopatogênicos para a cultura e há carência de informação sobre seus efeitos na cultura da linhaça, principalmente associados com as sementes da mesma. Mais estudos devem ser realizados.

A variabilidade na incidência de microrganismos existente entre as amostras de sementes dos diferentes genótipos de linhaça mostrou que essa deve ser uma característica que deve ser considerada na seleção de genótipos superiores, realizadas pelos programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. *Plant pathology*, 5 ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

AMORIM, L. et al. (Org.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. Volume I. 5 ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018.

ARRUDA, A.D.; BERETTA, A. L. R. Z. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. *RBAC*, v. 51, n. 4, p. 286-289, 2019.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3rd ed. Minneapolis: Burggess, 1972, 241p.

BECKER, D.; BOSCO, L. C. Crescimento e produtividade de linhaça. *Agrometeoros*, Passo Fundo, v.25, n.1, p.249-256, 2017.

BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. Controle de doenças: Princípios gerais de controle. In: AMORIM, L. et al. (Org.). Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. Volume I. 5 ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2018. p. 215-228.

BRASIL. *Manual De Análise Sanitária De Sementes*. MAPA – Brasília : Mapa/ACS, 2009, 113p.

BRASIL. Regras para análise de sementes. MAPA – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
DA SILVA, S. F.; ALCORN, J. Flaxseed lignans as important dietary polyphenols for cancer prevention and treatment: Chemistry, pharmacokinetics, and molecular targets. *Pharmaceuticals*,v. 12, n. 2, p.68, 2019.

DHIRHI N.; MEHTA, N.; SINGH, S. Screening of powdery mildew tolerance in linseed (*Linum usitatisimum* L.), *Journal of Plant Development Sciences*, v. 9, n. 2, p.153-156. 2017.

FAOSTAT. *Crops.* Disponível em:<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 03/2023.

GRUZDEVIENĖ, E.; BRAZAUSKIENĖ, I.; REPEČKIENĖ, J.; LUGAUSKAS, A. The occurrence of pathogenic fungi during flax growing season in central Lithuania. *Journal of plant protection research*, v.48, n. 2, p.255-265, 2008.

HALATENO, W. S. *Contaminação fúngica em sementes de linhaça comercializadas no município de Campo Mourão*. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campo Mourão, 2016, 38p.

HALL, L. M.; BOOKER, H.; SILOTO, R. M. P.; JHALA, A. J.; WESELAKE, R. J. Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Industrial Oil Crops*, v. 9, n. 1, p.157-194, 2016.

HENING, A. A. *Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja.* – Brasília, DF : Embrapa, 2015.

ISTA ─ International Seed Testing Association. Other seeds by number. In: *International rules for seed testing*. Bassersdorf, 2008. cap.4, p.4.4.

LÚCIO, A. D. C.; FOLLMANN, D. N.; EMANUELLI, T.; MARCHIORO, V. S.; VELHO, J. P. Histórico, usos e importância econômica da linhaça. In: VELHO, J. P.; LÚCIO, A. D. C. *Linhaça: Perspectiva de Produção e Usos na Alimentação Humana e Animal*. Ponta Grossa - PR: Atena, p1-9, 2021.

PARTHASARATHY, S.; THIRIBHUVANAMALA, G.; PRABAKAR, K. Diseases of Linseed / Flax - *Linum usitatissimum* L.. In: *Diseases of Field Crops and their Management*. CRC Press, 1st. Edition, 2020.

PATRICIO, F. R. A. Patógenos associados à sementes que reduzem a germinação e vigor. In: MENTEN, J.O.M. *Patógenos em Sementes: Detecção, Danos e Controle Químico*, Piracicaba, ESALQ:FEALQ, 1991. p.137-160.

LAWRENCE, J. G.; DODDS, P. N.; ELLIS, J. G.. Rust of flax and linseed caused by *Melampsora lini*. *Molecular Plant Pathology*, v. 8, n. 4, p.349–364, 2007.

MENTEN, J. O. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In.: MENTEN, J.O. *Patógenos em sementes, detecção, danos e controle químico.* Esalq:Fealq, Piracicaba, 115-136p. 1991.

MIOT, H. A. Análise de correlação em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*., Out.-Dez.; v. 17, n.4, p.275-279, 2018.

PINHEIRO; STEFANON. Presença de aflatoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em cereais matinais adquiridos no comércio do município de santa maria - RS1. *Disciplinarum Scientia*. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 14, n. 1, p.39-45, 2013.

POPOVIC V., SIKORA V., TATIĆ M., FILIPOVIĆ V., TERZIĆ D., JANJIĆ S., BRDAR JOKANOVIĆ M. Analysis of production of linseed (*Linum usitatissimum* L.) in the world. 20th International Eco-Conference®, *9th Internationational Eco-Conference*® on Safe Food. 119-127, 2016.

REZENDE, J.A.M.; MASSOLA JÚNIOR, N.S.; BEDENDO, I.P. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: AMORIM, L. et al. (Org.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres. v. 1, p. 27-43, 2018.

SALES, R. L.; PIMENTA, A. V.; COSTA, N. M. V. Linhaça: composição, compostos bioativos e efeitos fisiológicos na saúde humana. In: VELHO, J. P.; LÚCIO, A. D. C. *Linhaça: Perspectiva de Produção e Usos na Alimentação Humana e Animal.* Ponta Grossa - PR: Atena, p.38-62, 2021.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). *Food Research Center (FoRC)*. Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: http://www.fcf.usp.br/tbca. Acesso em: 16/04/2023.

VAN ZEIST, W.; BAKKER-HEERES, J. A. H. Evidence for Linseed Cultivation Before 6000 BC. *Journal of Archaeological Science*, Groningen, v. 2, p.215-219, 1975.

GILL KS 1987. Linseed. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research.

MORRIS, D.H.; VAISEY-GENSER, M. Flaxseed. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, v.10, n.2, p.2525- 2531, 2003.

TOMASINI, R. G. Linho: resultado de pesquisas. Passo Fundo: EMBRAPA