

Incidência de *Fusarium* spp. e *Stenocarpella* spp. em grãos ardidos e grãos assintomáticos de milho¹

Jéssica Paulista dos Santos¹, Estefane Santana Santiago², Laís B. Prazeres Mendonça³, Luciano Viana Cota⁴, Lauro José Moreira Guimarães⁴, Dagma Dionísia da Silva⁴

¹ Trabalho financiado pela Embrapa, CNPq/Fapemig; ¹ Estudante do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Faculdade Santo, Bolsista PIBIC do Convênio Fapemig/CNPq/Embrapa/ FAPED; ² Estudante do Ensino Médio, Escola Estadual João Rodrigues da Silva, Bolsista BIC JR do Convênio Fapemig/CNPq/Embrapa/ FAPED; ³ Estudante de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Bolsista Fapemig; ⁴ Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo

Introdução

O milho é uma cultura estratégica em relação à segurança alimentar de diversos países, representando em conjunto com o arroz e o trigo 30% de todas as calorias ingeridas por 4,5 bilhões de pessoas no mundo (CIMMYT, 2014). Mesmo sendo utilizada em diversas finalidades dentro da indústria alimentícia, a maior parte da produção é destinada à indústria de ração (BRASIL, 2014). O Brasil é autossuficiente para o consumo interno, sendo o terceiro maior produtor com cerca de 84,7 milhões de toneladas de grãos produzidos em duas safras no ano agrícola 2014/15 e previsão de 83,8 para a safra atual 2016/2017 (CONAB, 2016). Com exceção do ano de 2016, quando as condições climáticas prejudicaram as lavouras de milho, reduzindo a produção para 66,6 milhões de toneladas, o Brasil tem se superado a cada safra, com recordes frequentes para a cultura.

Dentre os diversos fatores limitantes à qualidade dos grãos no campo ou em pós-colheita destaca-se a ocorrência de fungos (REIS et al., 2004), que podem infectar os grãos antes ou após a colheita, respectivamente denominados fungos de campo e fungos de armazenamento (PIMENTEL et al., 2011). Sua ocorrência implica não só perdas à qualidade fisiológica, mas também à contaminação por micotoxinas, dependendo obviamente da espécie fúngica associada ao grão. Por sua vez, micotoxinas quando ingeridas por humanos e animais podem representar sérios danos à saúde, dentre os quais, redução em taxas reprodutivas, abortos, câncer, etc. (FREIRE et al., 2007; PINTO, 2005).

Fusarium spp e *Stenocarpella* spp. são os fungos mais comumente associados a grãos de milho no Brasil (LUZ, 1997; REIS et al., 1995). Os grãos infectados por patógenos e que exibem sintomas são denominados grãos ardidos, entretanto mesmo em grãos onde não se visualizam sintomas pode haver presença de patógenos. Os grãos assintomáticos passam a falsa impressão de que estão saudáveis, porém alguns patógenos produtores de micotoxinas, como *Fusarium* e *Aspergillus*, podem comprometer todo o lote de grãos (PINTO, 2005; REIS et al., 2004).

Para se obter resultados mais completos da incidência de patógenos nos grãos, o Laboratório de Sanidade de Grãos da Embrapa Milho e Sorgo realiza testes de sanidade não só em grãos ardidos, mas também em grãos assintomáticos. Como no laboratório são recebidas amostras de todo o território brasileiro, as análises de sanidade de grãos associadas a análises de micotoxinas permitem conhecer o verdadeiro nível de qualidade dos grãos consumidos no país ou destinados à exportação. Além disso, pode-se observar as alterações na dinâmica de patógenos de grãos em relação à cultura. O objetivo deste trabalho foi quantificar a incidência de *Fusarium* spp. e *Stenocarpella* spp. em grãos assintomáticos e grãos ardidos de milho.

Material e Métodos

As amostras foram selecionadas de experimentos (Elite, Intermediário A e Intermediário B), conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG na safra 2014/15. Os experimentos foram delineados com parcelas de 4,2 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 0,7 m. No plantio foram aplicados 500 kg de 08-28-16 e em cobertura com 350 kg de 20-00-20. As parcelas foram constituídas por duas linhas.

Amostras de 500 g foram enviadas ao Laboratório de Sanidade de Grãos para determinação da umidade dos grãos; a incidência de grãos ardidos; incidência de fungos fitopatogênicos associados aos grãos e peso de 1.000 grãos (rendimento). As amostras foram identificadas e em seguida acondicionadas sacolas de papel protegidas por sacola plástica e armazenadas em freezer até o momento das análises.

No momento do preparo das amostras para as análises, foi determinado o rendimento de grãos por meio do peso de 1.000 grãos de cada parcela ou amostra, utilizando-se para isso a metodologia preconizada pela RAS- Regras para Análise de Sementes (REGRAS..., 2009) estabelecidas pelo Ministério da Agricultura (Mapa). A umidade e a massa total foram determinadas e, na sequência, obtidas oito repetições de

100 grãos (selecionados ao acaso, não havendo distinção entre grãos sadios e ardidos), cuja massa é obtida em gramas.

Os grãos assintomáticos e os ardidos foram separados visualmente, sendo considerados ardidos os grãos que apresentam descoloração em no mínimo 25% de sua superfície (o matiz pode variar de marrom claro a roxo, ou de vermelho-claro a vermelho-intenso).

Para quantificação de fungos foram avaliados 100 grãos assintomáticos (aparentemente sadios) e 100 grãos ardidos, compostos por quatro repetições de 25 grãos. A metodologia utilizada foi a incubação em papel de filtro com congelamento denominada “Blotter Test” (MACHADO, 1988). Os grãos foram desinfestados com hipoclorito de sódio a 2%, por 5 minutos e distribuídos em caixas tipo “gerbox” contendo duas folhas de papel de filtro estéril e embebido em ágar-ágar 5%. As caixas foram mantidas sob luz contínua e temperatura ambiente por 24h para estimular o início do processo germinativo e passado esse período, foram incubadas a 20 °C por 24h para cessar o processo de germinação e evitar a contaminação cruzada entre os grãos. Para o crescimento dos fungos, as amostras foram incubadas em câmaras de crescimento sob temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12h por 10 dias. Os grãos foram avaliados individualmente com auxílio de microscópio estereoscópio para identificação e quantificação de patógenos.

A incidência dos patógenos foi transformada para porcentagem em cada tipo de grão, assintomáticos ou ardidos. A média foi utilizada para cálculo de desvio padrão e intervalo de confiança, utilizando o programa Excel.

Resultados e Discussão

Houve diferença na prevalência de *Fusarium* spp. e *Stenocarpella* spp. quando comparados grãos ardidos e assintomáticos. Nos experimentos Intermediário A e Elite, a média de incidência de *Stenocarpella* foi maior em relação a *Fusarium* spp (Figuras 1 e 2). Apenas no experimento Intermediário B, a incidência de *Fusarium* spp. (52,6) nos grãos ardidos se assemelhou à de *Stenocarpella* (53,2) (Figura 1).

A incidência de *Stenocarpella* spp. foi maior nos grãos ardidos (média de 67,5%) em relação aos grãos assintomáticos (média de 3,5%) (Figura 2). Estes resultados estão de acordo com Lanza et al. (2014), que encontraram maior incidência de *Stenocarpella* em grãos ardidos. Os resultados para *Stenocarpella* spp. mostram que as análises de grãos ardidos podem ser uma metodologia segura na quantificação do fungo.

Fusarium spp. prevaleceu em níveis mais altos nos grãos assintomáticos (média de 70,1%) em comparação com os ardidos (média de 37,5) (Figura 2). A incidência de *Fusarium* spp. em milho, tanto em grãos ardidos como nos assintomáticos, deve ser melhor pesquisada visando a identificação das espécies e sua classificação como patógenos ou endófito, visto que várias espécies desse gênero são produtoras de micotoxinas, dentre as quais se destacam as fumonisinas e zealarenonas entre as mais importantes. Lanza et al. (2014) identificaram *F. verticillioides* como o principal patógeno associados a grãos de milho no país, com níveis acima de 90%. Os autores também observaram alta incidência em grãos ardidos e assintomáticos, com níveis variáveis em função da cultivar. Assim, diferentemente do que foi observado para *Stenocarpella*, para *Fusarium* spp. é necessário que as análises levem em consideração a contribuição dos grãos assintomáticos na incidência do fungo e produção de micotoxinas

Outro fator importante a ser considerado é que a incidência de espécies patogênicas de *Stenocarpella* e *Fusarium* em sementes e grãos também favorece a disseminação dos fungos para outras áreas, além de causar a infecção de plântulas, reduzir a população de plantas, rendimento de grãos e aumentar a incidência de podridão de raízes, de colmos e espigas (SARTORI et al., 2004; LUZ; PEREIRA, 1998; REIS; CASA, 1996).

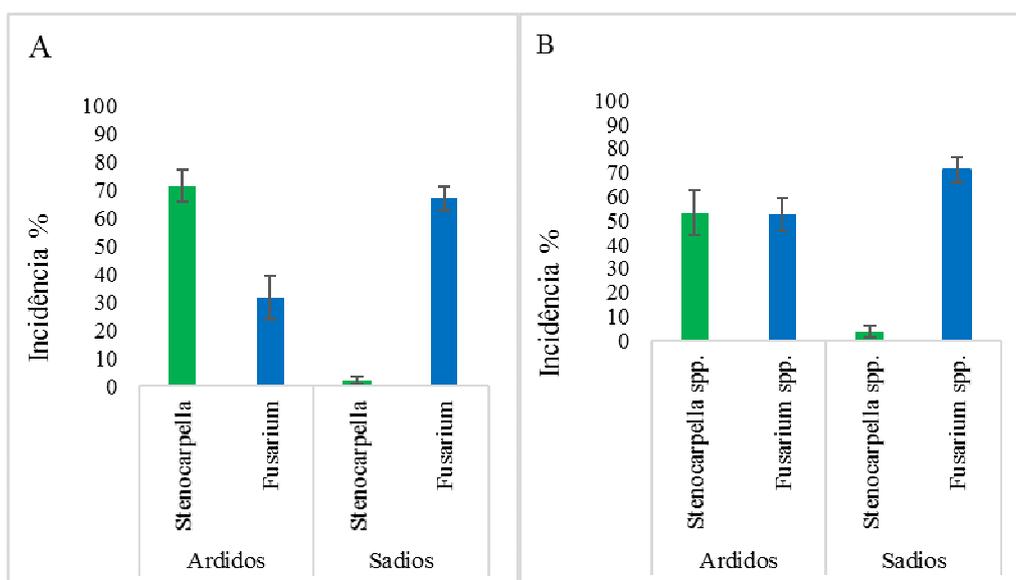


Figura 1. Incidência média de patógenos em grãos ardidos e assintomáticos de milho colhidos nos ensaios Intermediário A (A) e intermediário B (B)

conduzidos na safra 2014/15. Barras verticais representam o intervalo de confiança (P=0,05)

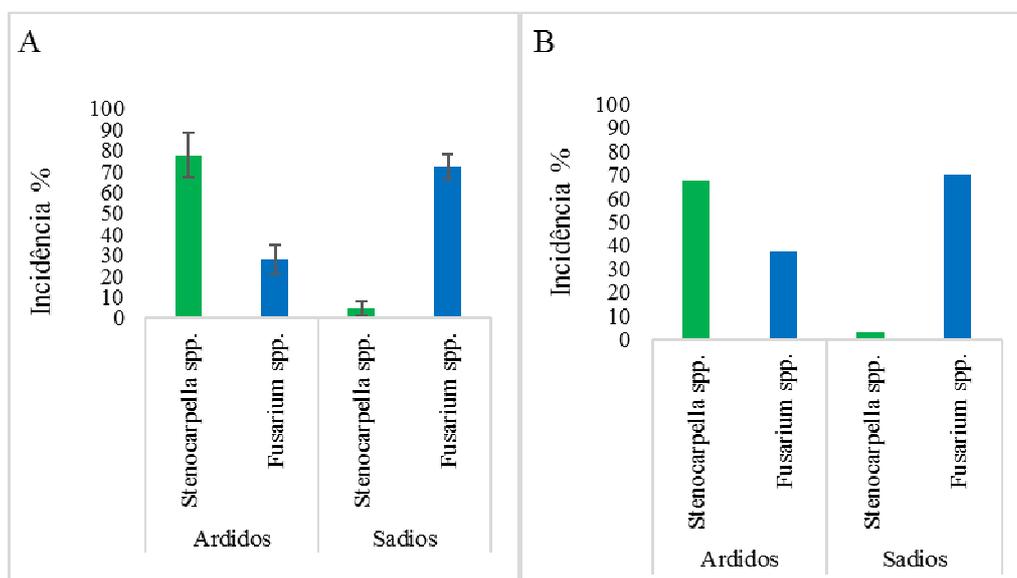


Figura 2. Incidência média de patógenos em grãos ardidos e assintomáticos de milho colhidos nos ensaios Elite Centro (A) e a média geral de incidência de *Fusarium* spp. e *Stenocarpella* spp. em grãos de milho de três experimentos (B) conduzidos na safra 2014/15. Barras verticais representam o intervalo de confiança (P=0,05).

Conclusão

Stenocarpella spp. prevaleceu em grãos ardidos, apresentando baixa incidência em grãos assintomáticos.

Fusarium spp. prevaleceu em grãos assintomáticos, porém com incidência considerável nos grãos ardidos.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Milho**. Brasília, DF, 2014. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho> +&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 28 jan. 2017.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos: safra 2016/17: terceiro levantamento. Brasília, DF, 2016. 156 p. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_12_22_12_08_27_boletim_graos_dezembro_2016.pdf. Acesso em: 5 fev. 2017.

CIMMYT. International Maize and Wheat Improvement Center. Disponível em: <<http://www.cimmyt.org>>. Acesso em: 12 dez. 2014.

FREIRE, F. das C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. P. **Micotoxinas**: importância na alimentação e na saúde humana e animal. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 48 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110).

LANZA, F. E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R. V.; QUEIROZ, V. A. V.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; SOUZA, A. C.; FIGUEIREDO, J. E. F. Prevalence of fumonisin-producing *Fusarium* species in Brazilian corn grains. **Crop Protection**, Guildford, v. 65, p. 232-237, 2014.

LUZ, W. C. da; PEREIRA, L. R. Tratamento de sementes com fungicidas relacionado com o controle de patógenos e rendimento de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 537-541, 1998.

LUZ, W. C. da. **Tratamento de sementes de milho com fungicidas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1997. 24 p. (Embrapa Trigo. Circular Técnica, 7).

MACHADO, J. da C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação: ESAL: FAEPE, 1988. 107 p.

PIMENTEL, M. A. G.; SANTOS, J. P. dos; LORINI, I. Colheita e pós-colheita. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho**. 7. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção, 1). Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/colpragas.htm>. Acesso em: 28 jan. 2017.

PINTO, N. F. J. A. **Grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2005. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 66).

REGRAS para análise de sementes. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 395 p.

REIS, M. E.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2 ed. Lages: Graphel, 2004. 144 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Manual de identificação e controle de doenças de milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996.

REIS, A. C.; REIS, E. M.; CASA, R. T.; FORCELINI, C. A. Erradicação de fungos patogênicos associados a sementes de milho e proteção contra *Pythium* spp. presente no solo pelo tratamento com fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, p. 585-590, 1995.

SARTORI, A. F.; REIS, E. M.; CASA, R. T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 456-458, 2004.