

### **Genótipo e Época de Colheita na Incidência de Fumonisinas em Milho**

Jéssica Ferreira das Neves<sup>(1)</sup>, Valéria Aparecida Vieira Queiroz<sup>(2)</sup>, Rodrigo Vêras da Costa<sup>(2)</sup>, Lauro José Moreira Guimarães<sup>(2)</sup>, Flávia Ferreira Mendes<sup>(3)</sup>, Rafael de Araújo Miguel<sup>(4)</sup>, Mariana de Campos Guimarães<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Graduanda em Engenharia de Alimentos da UFSJ-CSL/Bolsista CNPQ-PIBIC/Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, jessicaneves\_ufsj@hotmail.com, mari.campos91@gmail.com, <sup>(2)</sup>Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, valeria@cnpmc.embrapa.br, veras@cnpmc.embrapa.br, lauro@cnpmc.embrapa.br, <sup>(3)</sup>Doutora em Melhoramento Genético/ Embrapa milho e sorgo, flvmendes2001@yahoo.com.br, <sup>(4)</sup>Químico/ Embrapa Milho e Sorgo, rafael@cnpmc.embrapa.br

**RESUMO** - As fumonisinas são micotoxinas produzidas, principalmente, por *Fusarium verticillioides*, capazes de causar danos à saúde de animais e humanos. Além de fatores genéticos, condições ambientais podem influenciar a incidência de fungos e a produção de micotoxinas. Objetivou-se avaliar o efeito do genótipo e da época de colheita sobre a incidência de fumonisinas em milho. O delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 anos x 7 épocas de colheita x 3 genótipos. Utilizaram-se colunas FumoniTest e detecção dos teores de fumonisinas por fluorimetria. Os genótipos analisados foram DKB 390YG ; BRS 1035, e Attack. Houve diferença significativa entre genótipos, anos e para a interação entre ambos. As safras 2009/10 e 2010/11 apresentaram teores médios de fumonisina de 3,90 e 1,67  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Observou-se diferença entre a cultivar DKB 390YG e as demais nos dois anos, com médias, respectivamente, de 0,37; 5,68, e 5,65  $\mu\text{g g}^{-1}$  para a safra 2009/10 e de 0,28; 2,09 e 2,63  $\mu\text{g g}^{-1}$  para a safra 2010/11. O híbrido *Bt* DKB 390YG apresentou maior resistência à produção de fumonisinas (redução de mais de 80%) que os genótipos BRS 1035 e Attack. A época de colheita não influenciou nos teores dessa micotoxina nos dois anos de avaliação.

**Palavra-chave:** micotoxinas, *Fusarium verticillioides*, *Zea mays* L., fungos de campo

### **Introdução**

O Brasil é o terceiro produtor mundial de milho logo após os Estados Unidos e a China. A produção nacional do cereal na safra 2010/2011 foi de 58,9 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2011).

O milho está entre os cereais de maior importância social e econômica para a humanidade, pelo seu uso na alimentação humana e animal. A sua crescente demanda exige atenção destacada dos centros de pesquisa no que tange às práticas culturais, aos sistemas de armazenamento e conservação de grãos, bem como ao melhoramento da cultura em relação ao rendimento, à tolerância às doenças e às qualidades nutritivas (SANTIN, 2001).

A cultura do milho é muito vulnerável às pragas e doenças que causam danos na plantação, tanto nos grãos recém-colhidos, quanto nos armazenados. Geralmente, o

processo de infecção pelos fungos nas sementes e nos grãos inicia no campo, durante a fase de maturação dos grãos, e prossegue nas etapas seguintes: colheita, secagem, armazenamento, transporte e processamento. Os efeitos do crescimento fúngico incluem diminuição do poder de germinação, descoloração, odor desagradável, perda de matéria seca, aquecimento, mudanças químicas e nutricionais, perda de qualidade e produção de compostos tóxicos, as micotoxinas (HERMANNNS et al., 2006).

As micotoxinas são metabólitos fúngicos secundários, as quais são produzidas, principalmente, por espécies dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicilium*. Os relatos da presença de fungos toxigênicos em milho no Brasil apontam a predominância de *Fusarium*, seguido de *Penicilium* e *Aspergillus* (KAWASHIMA; SOARES, 2006).

As fumonisinas são micotoxinas produzidas principalmente por *Fusarium verticillioides*, capazes de causar danos à saúde de animais e humanos, Estão envolvidas na doença da leucoencefalomalácia equina e associadas à síndrome de edema pulmonar em suínos e câncer de esôfago em humanos (HERMANNNS et al., 2006).

Existe variabilidade em milho para a resistência a fungos causadores de podridões de espigas, entretanto, além dos fatores genéticos, os fatores ambientais condicionados por épocas de plantio e de colheita, região, sistemas de cultivo e práticas culturais influenciam a ocorrência e o nível de incidência de grãos ardidos e micotoxinas (RIBEIRO et al., 2002; PINTO, 2007; JULIATTI et al. 2007). De acordo com Lima e Souza (2005) a colheita tardia, com o objetivo de reduzir a umidade do grão, pode trazer como consequência o aumento do ataque de insetos nos grãos e também a possibilidade de maior contaminação com fungos e produção de micotoxinas.

Por outro lado, Dowd (2000) relatou que a utilização de variedades geneticamente modificadas com o gene *Bt* e a aplicação de inseticidas podem reduzir o teor de micotoxinas nos grãos. Segundo esse autor, a utilização de variedades de milho *Bt* reduz a infestação de lepidópteros-praga na espiga, que pode levar à conseqüente redução de micotoxinas nos grãos.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de genótipos e de épocas de colheita sobre a incidência de fumonisinas em milho.

## **Material e Métodos**

Foram avaliados grãos dos híbridos de milho BRS 1035, Bt DKB 390YG e Attack em dois anos (safras 2009/2010 e 2010/2011) de produção e em sete épocas de colheita (maturação e 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a maturação dos grãos).

Os experimentos foram plantados em parcelas de 4 linhas de cinco metros, com espaçamento de 0,8 m entre linhas. Entre cada parcela, foi deixada uma linha sem plantar. A adubação de plantio foi de 300 kg/ha, da formulação NPK 08-28-16+Zn.

Foram colhidas todas as espigas e após debulhadas, uma amostra de cerca de 5 kg de grãos de cada uma das parcelas foi coletada aleatoriamente. As amostras foram homogeneizadas e, em seguida, subamostras de cerca de 1 kg de cada parcela foram encaminhadas ao Laboratório de Micotoxinas da Embrapa Milho e Sorgo para armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até análise.

Para determinação do teor de fumonisinas nos grãos, estes foram previamente secos em estufa a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 96 horas com a finalidade de homogeneizar o teor de água das amostras. Em seguida, os grãos foram moídos em moinho marca Trapp - modelo TRF 90, e a farinha obtida foi homogeneizada em quarteador tipo Y. O teor de fumonisinas totais foi determinado em 10g de amostra, em duplicada, em fluorímetro marca VICAN de acordo com os procedimentos descritos nos manuais VICAN, utilizando colunas de imunoafinidade FumoniTest®.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental de blocos casualizados e esquema fatorial  $2 \times 7 \times 3$  (ano x época de colheita x genótipo), em três repetições de campo. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando necessário as médias foram comparadas utilizando teste de Tukey a 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas em Programa Estatístico GENES (CRUZ, 2001).

## **Resultados e Discussão**

Os resultados da ANOVA mostraram que houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) apenas para os fatores genótipo, ano e para a interação entre esses dois fatores (Tabela 1).

Assim, foi realizada ANOVA dentro de cada ano (Tabelas 2 e 3) e as médias dos genótipos foram comparadas por teste de Tukey ( $p < 0,01$ ).

Os resultados dos teores de fumonisinas encontram-se nas Tabelas 4 e 5. Não foi verificado, nesse trabalho, efeito da época de colheita sobre a incidência de fumonisinas em milho. Santin (2001) encontrou resultados diferentes ao avaliar, além de outras variáveis, o efeito do retardamento da colheita na ocorrência de fungos patogênicos e de grãos ardidos e a possível contaminação por micotoxinas na lavoura e durante o armazenamento de milho. O autor observou que o retardamento da colheita gerou condições favoráveis para a elevação da incidência dos fungos *Aspergillus* spp., *Cephalosporium* spp., *Fusarium graminearum* e *Penicillium* spp. e influenciou na ocorrência de micotoxinas na lavoura. Essas diferenças entre os dois trabalhos podem ser devidas a outras variáveis envolvidas na síntese de micotoxinas em grãos, como umidade, genótipo, temperatura entre outras (SCUSSEL, 1998).

Os tores médios de fumonisinas foram diferentes entre as safras de avaliação ( $p < 0,01$ ), com valores de 3,90 mg g<sup>-1</sup> e 1,67 mg g<sup>-1</sup> para as safras de 2009/10 e 2010/11, respectivamente. Nas duas safras observou-se diferença significativa nos teores de fumonisinas entre o milho geneticamente modificado DKB 390 YG e os genótipos BRS 1035 e Attack, com concentrações médias, respectivamente, de 0,37; 5,68 e 5,65 mg g<sup>-1</sup> para o primeiro ano e de 0,28; 2,09 e 2,63 mg g<sup>-1</sup> para o segundo ano (Tabelas 4 e 5). O híbrido DKB 390 YG apresentou valores mais de 90% inferiores na safra 2009/10 e mais de 80% inferiores na safra 2010/11 em relação aos demais. As diferenças observadas nos teores de fumonisinas entre as cultivares analisadas podem ser devidas a fatores genéticos intrínsecos a esses materiais, bem como pelo fato do DKB YG 390 ser um híbrido de milho geneticamente modificado, que expressa a proteína Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), que confere resistência a insetos. Folcher et al. (2010) relataram resultados semelhantes em pesquisas realizadas no sudoeste da França, onde observaram redução de 90% nos níveis de fumonisinas em híbridos de milho *Bt* MON 810 em relação ao seu isogênico não *Bt*. Para Frizzas (2003), as plantas geneticamente modificadas podem reduzir a incidência de patógenos devido à redução no dano causado pelos insetos-praga, essa redução implicaria em menores níveis de micotoxinas, que são bastantes prejudiciais à saúde de humanos e

animais.

### Conclusão

O genótipo de milho DKB 390 YG mostrou maior resistência à síntese de fumonisinas em relação aos híbridos BRS 1035 e Attack nas safras 2009/2010 e 2010/2011.

A época de colheita não influenciou os níveis de fumonisinas em milho nas duas safras avaliadas.

### Agradecimentos

À FAPEMIG, pela concessão de apoio financeiro, à Embrapa pela oportunidade de estágio e ao CNPq pela bolsa de estudos.

### Literatura Citada

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento.** 2011. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11\\_08\\_09\\_11\\_44\\_03\\_boletim\\_agosto-2011..pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_08_09_11_44_03_boletim_agosto-2011..pdf)>. Acesso em: 20 maio 2012.

CRUZ, C. D. **Programa Genes:** versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 2001. 648 p.

DOWD, P. F. Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 93, n. 6, p. 1669 -1679, 2000.

FOLCHER, L.; DELOS, M.; MARENGUE, E.; JARRY, M.; WEISSENBERGER, A.; EYCHENNE, N.; REGNAULT-ROGER, C. Lower mycotoxin levels in Bt maize grain. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 30, p. 711-719, 2010.

FRIZZAS, M. R. **Efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre a comunidade de insetos.** 2003. 206 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Paulo.

HERMANN, G.; PINTO, F. T.; KITAZAMA, S. E.; NOLL, I. B. Fungos e fumonisinas no período pré-colheita do milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 7-10, 2006.

JULIATTI, F. C.; ZUZA, J. L. M. F.; SOUZA, P. P.; POLIZEL, A. C. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 34-41, 2007.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-521, 2006.

LIMA, G. M. M.; SOUZA, O. W. Importância da qualidade de grãos na produção de suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO, MERCADO E QUALIDADE DE CARNE DE SUÍNOS - AVESUI, 2002, Florianópolis, SC. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2002. p. 45-62. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/publicacao\\_b3o47o3m.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_b3o47o3m.pdf)>. Acesso em: 28 maio 2012.

PINTO, N. F. J. A. **Reação de cultivares com relação à produção de grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 144).

RIBEIRO, N. A.; CASA, R. T.; BOGO, A.; SANGOI, L.; MOREIRA, E. N.; WILLE, L. A. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1003-1009, 2005.

SANTIN, J. A. **Fungos de pré e pós colheita e a qualidade de grãos de milho**. 2001. 219 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Editora Insular, 1998.

**Tabela 1.** ANOVA dos teores de fumonisinas ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em função de três genótipos de milho, sete épocas de colheita e dois anos de cultivo

FV	GL	SQ	QM	F
(B/L)/A	28	84,977374	3,034906	
Genótipos (G)	2	381,939488	190,969744	98,026365 **
Anos (A)	1	157,747445	157,747445	51,9777 **
Épocas de colheita (E)	6	15,232866	2,538811	0,836537 ns
G x A	2	73,893391	36,946696	18,965047 **
G x E	12	10,868786	0,905732	0,46492 ns
A x E	6	14,584901	2,430817	0,800953 ns
G x A x E	12	24,793034	2,066086	1,060539 ns
Resíduo	56	109,096218	1,948147	

---

MÉDIA : 2,784586  $\mu\text{g g}^{-1}$

CV(%): 50,124522

---

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 2.** ANOVA dos teores de fumonisinas ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em função de três genótipos de milho e sete épocas de colheita na safra 2009/10 (ano 1)

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipos (G)	2	392,24073	196,12037	64,19 **
Épocas de colheita (E)	6	24,97737	4,1629	0,87 ns
GxE	12	25,67445	2,13954	0,70 ns
Resíduo	28	85,54447	3,05516	
Total	62	595,13852		

---

MÉDIA : 3,9  $\mu\text{g g}^{-1}$

CV(%): 44,78

---

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 3.** ANOVA dos teores de fumonisinas ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em função de três genótipos de milho e sete épocas de colheita na safra 2010/11 (ano 2)

FV	GL	SQ	QM	F
Genótipos (G)	2	63,59215	31,79607	37,80 **
Épocas de colheita (E)	6	4,84039	0,80673	0,61 ns
GxE	12	9,98737	0,83228	0,98 ns
Resíduo	28	23,55175	0,84113	
Total	62	120,24754		

---

MÉDIA: 1,67  $\mu\text{g g}^{-1}$

CV(%): 55,06

---

\*\* significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 4.** Teores médios de fumonisinas totais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em genótipos de milho, em sete épocas de colheita dos grãos, safra 2009/10 (ano 1)

ÉPOCA DE COLHEITA	BRS 1035	DKB 390	Attack	Média
<b>Maturação fisiológica</b>	5,43	0,40	4,72	3,52
<b>15 DAM<sup>1</sup></b>	4,35	0,49	5,60	3,48
<b>30 DAM</b>	7,52	0,32	5,97	4,60
<b>45 DAM</b>	5,62	0,11	6,57	4,10
<b>60 DAM</b>	4,22	0,52	3,57	2,77
<b>75 DAM</b>	6,30	0,37	7,18	4,62
<b>90 DAM</b>	6,33	0,42	5,98	4,25
<b>Média dos genótipos<sup>2</sup></b>	<b>5,68 a</b>	<b>0,37 b</b>	<b>5,65 a</b>	<b>3,90</b>

---

<sup>1</sup>DAM: dias após a maturação

<sup>2</sup>Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si em nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

**Tabela 5.** Teores médios de fumonisinas totais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em genótipos de milho, em sete épocas de colheita dos grãos, safra 2010/11 (ano 2)

<b>ÉPOCA DE COLHEITA</b>	<b>BRS 1035</b>	<b>DKB 390</b>	<b>Attack</b>	<b>Média</b>
<b>Maturação fisiológica</b>	1,20	0,32	1,77	1,09
<b>15 DAM<sup>1</sup></b>	3,27	0,14	2,65	2,02
<b>30 DAM</b>	1,85	0,39	3,42	1,88
<b>45 DAM</b>	1,72	0,09	2,82	1,54
<b>60 DAM</b>	2,08	0,29	3,00	1,79
<b>75 DAM</b>	2,43	0,55	1,82	1,60
<b>90 DAM</b>	2,10	0,18	2,92	1,73
<b>Média dos genótipos<sup>2</sup></b>	<b>2,09 a</b>	<b>0,28 b</b>	<b>2,63 a</b>	<b>1,67</b>

<sup>1</sup>DAM: dias após a maturação

<sup>2</sup>Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si em nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.