

## **Comparação de Métodos de Inoculação com *Fusarium graminearum* na Intensidade de Giberela em Espigas de Milho e Grãos Ardidos**

Francine Regianini Nerbass<sup>1</sup>, Ricardo Trezzi Casa<sup>2</sup>, Evandro Georg<sup>4</sup>, Paulo Roberto da Silva<sup>4</sup>, Daiana Bampi<sup>3</sup>, Cristiano Sachs<sup>4</sup>, Giovanni Piletti<sup>4</sup>, Rosiane Petry<sup>4</sup>, Lenita Agostinetto<sup>1</sup>, Leila Alves Netto<sup>3</sup>, Maquiel Diego Fingstag<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutoranda(s) do Curso de Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina CAV/UEDESC, Lages, SC, [fnerbass@bol.com.br](mailto:fnerbass@bol.com.br), [daianabampi@yahoo.com.br](mailto:daianabampi@yahoo.com.br), [leagostinetto@yahoo.com.br](mailto:leagostinetto@yahoo.com.br), <sup>2</sup> Professor do Departamento de Agronomia do CAV/UEDESC, Lages, SC, [a2rtc@cav.udesc.com](mailto:a2rtc@cav.udesc.com), <sup>3</sup> Engenheiros Agrônomos da DuPont do Brasil-Subdivisão Pioneer Sementes, <sup>4</sup> Mestrandos do Curso de Produção Vegetal CAV/UEDESC, Lages, SC, [crsachs@hotmail.com](mailto:crsachs@hotmail.com), [giovani-piletti@hotmail.com](mailto:giovani-piletti@hotmail.com), [rosipetry@yahoo.com.br](mailto:rosipetry@yahoo.com.br), <sup>5</sup> Acadêmicos do Curso de Agronomia CAV/UEDESC, [leilaranchi@hotmail.com](mailto:leilaranchi@hotmail.com), [maiquiel\\_diego@hotmail.com](mailto:maiquiel_diego@hotmail.com).

**RESUMO** - Na região Sul o fungo *Fusarium graminearum* tem destaque pelos danos causados na quantidade e qualidade de grãos colhidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes métodos de inoculação com *F. graminearum* na intensidade de espigas com giberela e qualidade de grãos. O ensaio foi conduzido no município de Cruz Alta, RS, na safra agrícola de 2011/2012. Utilizou-se o híbrido P30R50H, cinco métodos de inoculação (infecção natural, injeção no canal do estilo-estigma, aspersão no estilo-estigma, fermento dos grãos no centro da espiga e deposição de inóculo na bainha foliar) e um isolado do fungo com concentração de inóculo de  $10^7 \times 10^3$  esporos mL<sup>-1</sup>. Foram inoculadas 15 espigas/tratamento em um delineamento em blocos casualizados com 4 repetições, durante as fases de polinização e formação do grão. Após a colheita, procederam-se as avaliações de severidade e incidência de espigas com giberelas e incidência de grãos ardidos. Os métodos de inoculação utilizando fermento dos grãos no centro da espiga na fase de formação dos grãos e injeção do inóculo no canal do estilo-estigma na fase de polinização propiciaram as maiores intensidades da doença e grãos ardidos.

**Palavras-chave:** *Gibberella zeae*, podridão de espiga, qualidade de grãos, *Zea mays*.

### **Introdução**

O milho é uma cultura de grande importância econômica, em virtude da sua utilização na cadeia alimentar de humanos e animais, de suas características agrônômicas, além da sua utilização para fabricação de diversos produtos. Representa mais de 30% da produção do total de grãos produzidos (INDICAÇÕES, 2011).

O potencial de rendimento do milho pode ser comprometido pela fertilidade do solo, disponibilidade hídrica, população de plantas, época de semeadura, potencial produtivo do híbrido, e competição com agentes nocivos, como plantas daninhas, pragas e doenças (SANDINE e FANCELLI, 2000; FANCELLI e DOURADO-NETO, 2004).

As doenças do milho ocorrem em todos os locais onde o cereal é cultivado. Merecendo destaque, as doenças de espiga, por afetarem a produtividade e a qualidade de grãos (REIS et al., 2004).

O agente etiológico da podridão de giberela nas espigas é o fungo ascomiceto

*Gibberella zea* (Schwein.) Petch., forma assexual *Fusarium graminearum* Schwabe (SUTTON, 1982). A doença manifesta-se pela presença de um mofo rosado em milho, iniciando geralmente na ponta da espiga e progredindo em direção à base. Quando a infecção ocorre no início do ciclo reprodutivo, a podridão pode tomar conta de toda a espiga. A infecção também pode acontecer pela base da espiga, quando ocorre acúmulo de água entre a bainha foliar e a espiga (REIS et al., 2004). A podridão de espiga de giberela pode também estar associada a injúrias por pássaros e insetos (CHUNGU et al., 1996).

A podridão de giberela envolve o ataque direto do fungo aos grãos, os quais podem exibir sintomas da colonização com grãos arroxeados e/ou rosados, perdendo a coloração característica, sendo um dos responsáveis pela denominação de grãos ardidos (CASA et al., 2010). As espigas infectadas reduzem o rendimento e a qualidade dos grãos. O retorno financeiro também é afetado, devido à desvalorização do produto, que sofre descontos de acordo com a incidência de grãos ardidos.

O fungo *F. graminearum* em determinadas condições pode produzir micotoxinas, que são substâncias tóxicas, podendo desenvolver-se nos grãos ainda no campo ou pós-colheita. Os grãos quando infectados ocasionam muitas vezes danos à saúde humana e animal (SCUSSEL, 2008).

O desenvolvimento de híbridos de milho com resistência genética a giberela é uma das estratégias de controle. No entanto, no Brasil não estão disponíveis pelas empresas de milho informações seguras de resistência especificamente para o *F. graminearum*. O que existem no mercado são informações e de forma subjetiva para complexo de doenças da espiga e qualidade de grãos. Este fungo ocorre de forma esporádica, depende do ano e das condições ambientais. Para a realização de estudos das vias de infecção e intensidade da doença em espigas de milho, normalmente há necessidade de utilizar inoculações artificiais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de métodos de inoculação com *F. graminearum* em espigas de milho sobre a intensidade de giberela e qualidade de grãos, por meio da análise de ardidos.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi desenvolvido na safra agrícola de 2011/2012, em Cruz Alta - RS (área da DuPont do Brasil - Subdivisão Pioneer Sementes). Foi utilizado o híbrido P30R50H e cinco métodos de inoculação (infecção natural – T1, injeção de inóculo no canal do estilo-estigma na fase de polinização – T2, aspensão do inóculo no estilo-estigma na fase de polinização – T3, ferimentos dos grãos no centro da espiga na formação do grão – T4, e deposição do inóculo

na bainha foliar na fase de polinização – T5).

As inoculações no canal do estilo-estigma e bainha foliar foram realizadas com o auxílio de seringas dosadoras com alimentação automática. Para a técnica de inoculação que envolveu fermento da palha e grãos foi utilizada a metodologia proposta por Reid e Hamilton (1996a).

As unidades experimentais constituíram-se de uma linha de 5,0 m de comprimento com espaçamento entre linhas de 0,60 m, e população de 80.000 plantas/ha recomendadas para o material. Durante o ciclo da cultura os tratos culturais realizados foram três aplicações de 150 kg/ha de uréia nos estádios fenológicos V3, V5 e V7, duas aplicações de herbicidas (uma de atrazina e outra de Primestra Gold), quatro aplicações de inseticidas (uma de Lannate, duas de Engeo Pleno, e uma de Tracer), e uma aplicação do fungicida Piori Xtra em pré-pendoamento. Irrigações via pivô foram feitas quando necessário de acordo com as exigências hídricas da cultura.

Utilizou-se um isolado de *F. graminearum*, obtido de espigas naturalmente infectadas. As suspensões macroconidiais foram produzidas em meio nutritivo sintético agarizado (SNA), e de acordo com metodologia proposta por Reid et al. (1996b). As inoculações do fungo ocorreram durante as fases de polinização (seis dias após a emissão do estigma) e formação do grão (início do estágio de grão leitoso – 10 dias após a emissão do estigma) (REID et al. 1996a). As inoculações foram realizadas em 15 espigas/tratamento em um delineamento em blocos inteiramente casualizados com 4 repetições.

Nos métodos de inoculação artificial no canal do estilo-estigma, no estilo-estigma e bainha foliar foram utilizados 2 mL de suspensão, com concentração de  $10^7 \times 10^3$  esporos mL<sup>-1</sup>. No método com fermento na palha e nos grãos, os pinos de aço do inoculador, foram mergulhados antes dos fermentos na suspensão de macroconídios com a mesma concentração utilizada nos métodos anteriores. Após as inoculações, foram realizadas irrigações de 15 mm de água a cada 48 horas (durante o período da noite).

No momento da colheita todas as espigas foram colhidas manualmente, sendo despalhadas para identificação e quantificação da incidência e severidade de espigas gibereladas. A incidência foi calculada através da percentagem de espigas inoculadas apresentando sintomas de podridão rosada da espiga. A severidade foi avaliada com uma escala proposta por Reid et al. (1996b). A escala apresenta 7 notas de severidade, onde: 1 = Não apresenta sintomas; 2 = 1 a 3%; 3 = 4 a 10%; 4 = 11 a 25%; 5 = 26 a 50%, 6 = 51 a 75%; 7 = 76 a 100% de sintomas. A incidência dos grãos ardidos foi determinada conforme critério

estabelecido na portaria nº11, de 12/04/96 (BRASIL, 1996), separando manualmente os grãos visualmente sintomáticos (ardidos = descoloração de mais de um quarto da superfície total do grão) dos grãos sadios (não ardidos), em uma amostra de 250g de grãos (TRENTO et al., 2002).

O delineamento foi em blocos casualizados e os dados foram avaliados estatisticamente através da técnica de análise de variância. As médias de cada tratamento foram comparadas entre si utilizando-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

### **Resultados e Discussão**

Não houve diferenças estatísticas significativas para a variável severidade em função dos métodos de inoculação (Figura 1 A). Porém, os métodos de injeção de inóculo no canal do estilo-estigma e de ferimento nos grãos do centro da espiga, propiciaram as maiores notas de severidade, fato que corrobora com trabalhos realizados por Chungu et al. (1996) e Reid et al. (1996b). No trabalho realizado por Chungu et al. (1996) os autores relatam que o método do ferimento nos grãos produziu elevada severidade da doença em todos os quatro ambientes testados. E a área do sintoma de podridão dependeu somente da resistência do grão a giberela.

Dentre os métodos de inoculação o que ofereceu maior eficiência e facilidade de manuseio na inoculação na espiga foi o do ferimento nos grãos. O método de injeção no canal do estilo-estigma necessita que se trabalhe com híbridos que possuam um canal maior, para que todo o inóculo possa ser inserido e armazenado em seu interior. A utilização de métodos que sejam rápidos e precisos em inoculações artificiais se traduz em ferramentas de grande importância em programas de fitomelhoramento.

Quanto à incidência de giberela em espigas de milho, foi observado que houve diferença estatística significativa ( $P < 0,008$ ). Os valores de incidência foram de 41,67 % a 96,67 % (Figura 1 B). O menor valor de incidência foi no método de infecção natural, onde não foi realizado inoculações. A incidência de 41,67 % neste método pode ser atribuída a disponibilidade de ascospores devido ao acúmulo de restos culturais infectados de trigo que antecederam a cultura do milho. De acordo com Sutton (1982) as principais fontes de inóculo de *F. graminearum* são restos culturais de milho, principalmente colmos e espigas infectadas e restos culturais de trigo. Schaafsma et al. (1997) também aponta que a manutenção dos resíduos culturais no solo contribui para manutenção do inóculo de *F. graminearum* entre as estações de cultivo. De qualquer forma a maior incidência foi observada com o método do ferimento (96,67), seguido pela injeção de inóculo no canal do estilo-estigma (76,67), e

aspersão de inóculo no estilo-estigma (71,67).

Nas avaliações de grãos ardidos, observou-se que houve diferença estatística significativa entre os métodos de inoculação ( $P < 0,001$ ). Os valores de incidência de grãos ardidos variaram de 2,21% a 11,92% (Figura 1 C). O método do ferimento nos grãos propiciou a maior incidência de grão ardido e consequente perda de qualidade.

### Conclusões

Os métodos de inoculação com *F. graminearum* utilizando ferimento nos grãos no centro da espiga e injeção de inóculo no canal do estilo-estigma propiciaram maiores intensidades de podridão de giberela e percentagem de grãos ardidos;

### Literatura Citada

BRASIL. Portaria nº 11 de 12 de abril de 1996. Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 72, 1996.

CASA, R.T., REIS, E.M., JUNIOR, P.R.K., HOFFMANN L.L. **Doenças do milho: guia de campo para identificação e controle**. Lages: Graphel, 2010. 82p.

CHUNGU, C., MATHER, D.E., REID, L.M., HAMILTON, R.I. Comparison of techniques for inoculating maize silk, kernel, and cob tissues with *Fusarium graminearum*. **Plant Disease**. 80:81-84.1996.

FANCELLI, A.L. & DOURADO-NETO, D. **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba. ESALQ/USP. 2003. 208p.

**Indicações técnicas para o cultivo do milho e do sorgo no Rio Grande do Sul: Safras 2011/2012 e 2012/2013**. Organizado por Lia Rosane Rodrigues e Paulo Regis Ferreira da Silva. Porto Alegre: Fepagro, 2011.

REID, L.M. & HAMILTON, R.I. Effect of inoculation position, timing, macroconidial concentration and irrigation on resistance of maize to *Fusarium graminearum* infection through kernels. **Canadian Journal of Plant Pathology** 1996a.

REID, L.M., HAMILTON, R.I. & MATHER, D.E. **Screening maize for resistance to gibberella ear rot**. Agriculture and Agri-Food Canada. Ottawa, Ont. Technical Bulletin 1996 b -5E. 40p.

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

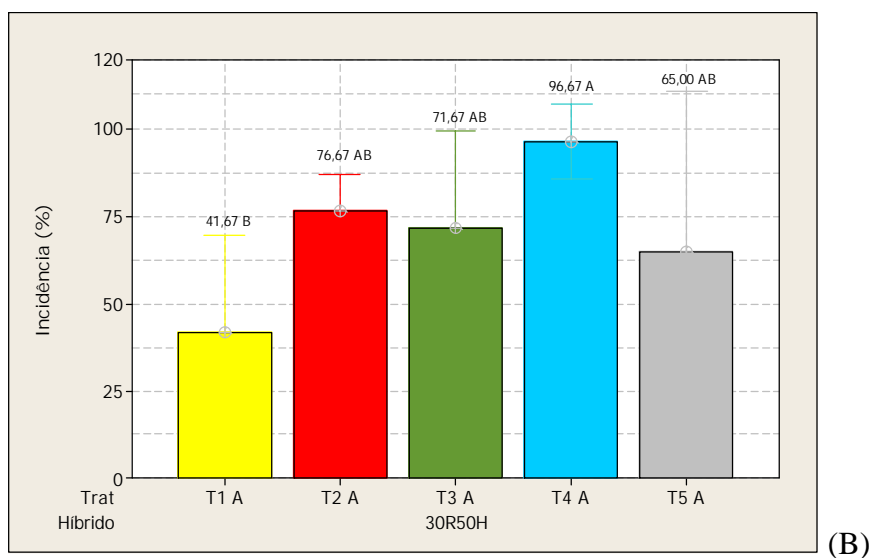
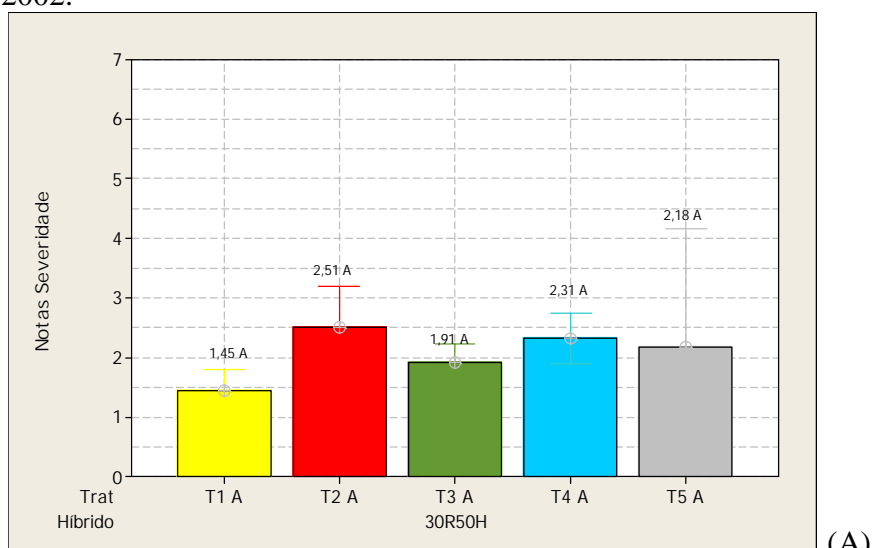
SANDINI, I.E. & FANCELLI, A.L. **Milho: estratégias de manejo para a região sul**. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária. 2000. 209 p.

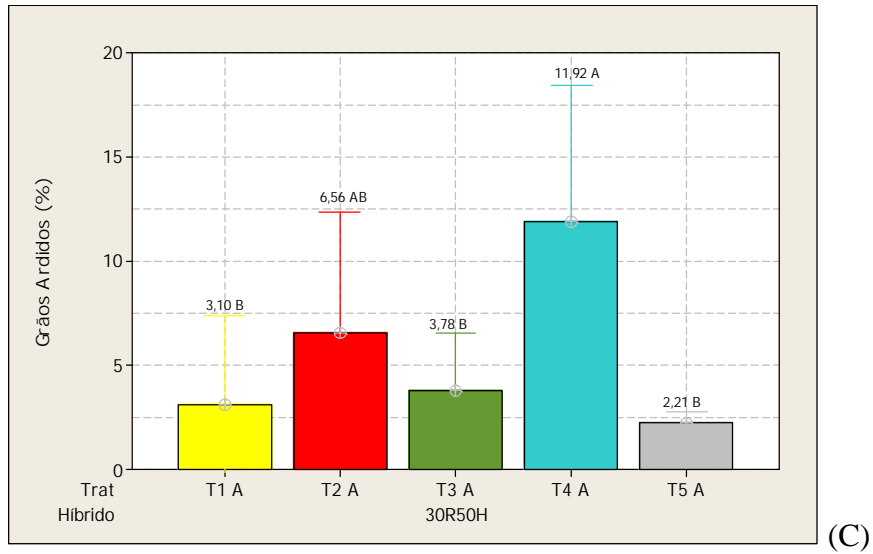
SCHAAFSMA, A.W., NICOL, R.W., REID, L.M. Evaluating commercial maize hybrids for resistance to gibberella ear rot. **European Journal of Plant Pathology** 103: 737-746. 1997.

SCUSSEL, V.M. **Atualidades em micotoxinas e armazenagem qualitativa de grãos II** Organizado e editado por Vildes Maria Scussel. Florianópolis: Ed. ABMAG, 2008. 589p.:il.

SUTTON, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. **Canadian Journal of Plant Pathology** 4:195-209. 1982.

TRENTO, S.M., IRGANG, H.H. & REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira** 27:609-613. 2002.





**Figura 1.** Notas de severidade da podridão de giberela (A), incidência de epigas gibereladas (B) e percentual de grãos ardidos (C) em função dos métodos de inoculação (natural – T1, injeção no canal do estilo-estigma – T2, aspersão no estilo-estigma – T3, ferimentos no centro dos grãos da espiga – T4, e deposição na bainha foliar – T5). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.