

Eficiência de detecção e controle de *Fusarium verticillioides* em sementes e plântulas de milho.

Evandro Zacca Ferreira⁽¹⁾; Ricardo Trezzi Casa⁽²⁾; Flavio Chupel Martins⁽³⁾; Daniel de Souza Ribeiro⁽³⁾; Guilherme Peletti Bueno⁽³⁾; Amanda de Lima⁽⁴⁾

(1) Acadêmico do curso de Doutorado em Produção Vegetal do CAV-UDESC; (2) Professor/pesquisador do CAV-UDESC; (3) Acadêmicos do curso de Agronomia do CAV-UDESC; (4) Acadêmico do curso de Mestrado em Produção Vegetal do CAV-UDESC.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas na eficiência de detecção de *Fusarium verticillioides* em teste de sanidade de sementes e de plântulas em função do tempo de avaliação. Sementes do híbrido Status TG TL infectadas com *F. verticillioides* tratadas com fungicida metalaxil-m + fludioxonil e sem tratamento foram semeadas em meio de cultura batata-dextrose-ágar para obtenção de plântulas sintomáticas (PS) e assintomáticas (PA). As plântulas foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio de ágar-água e mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h, onde permaneceram até completarem 20 dias. Obtiveram-se os tratamentos: T1 - PA sem fungicida; T2 - PS sem fungicida; T3 - PA com fungicida; T4 - PS com fungicida. Foi quantificado incidência do fungo no mesocótilo, coroa e semente remanescente das plântulas e mensurado comprimento e peso seco da parte aérea e raiz. A incidência de *F. verticillioides* em sementes remanescentes foi de 96% para T1 e T3, e 100% para T2 e T4, não diferindo os tratamentos entre si. Foi observada incidência de *F. verticillioides* de 88 e 93% para mesocótilo, e 88 e 95% para coroa em plântulas provenientes de T1 e T3, respectivamente. O tratamento de sementes com metalaxil-m + fludioxonil não foi eficiente no controle de *F. verticillioides*. A detecção de *F. verticillioides* em meio BDA aos sete dias de incubação não representou a real incidência do fungo, pois o patógeno foi recuperado de plântulas até então assintomáticas.

Termos de indexação: *Zea mays*. Fusariose. Sanidade de sementes. Fungicidas.

INTRODUÇÃO

Em milho muitos patógenos utilizam as sementes como abrigo para sobrevivência e disseminação (McGEE, 1988). Entre os patógenos que podem estar associados às sementes, os fungos são considerados os microrganismos de maior importância, podendo serem transmitidos da semente para o sistema radicular e órgãos aéreos e/ou serem levados a longas distâncias e introduzidos em áreas nunca cultivadas ou em lavouras de rotação de cultura. As sementes infectadas provocam problemas de germinação de sementes, emergência das plântulas, podridões radiculares e da base do colmo (NERBASS; CASA; ANGELO; 2008).

O fungo *F. verticillioides* é o patógeno encontrado com maior frequência associado a sementes de milho no Brasil (NERBASS et al., 2008). Este fungo pode colonizar o embrião e o endosperma, podendo causar podridão de semente e lesões nas raízes (WHITE, 1999, NERBASS et al., 2008). Outro problema causado pelo patógeno quando encontra-se infectando sementes de milho é a ocorrência da transmissão da semente para os demais órgãos da planta causando podridões da base do colmo e da espiga em plantas de milho (SARTORI; REIS; CASA, 2004).

As sementes de milho comercializadas no Brasil não trazem informações sobre a sanidade, supondo que estas sementes possuem boa qualidade sanitária. No entanto, o tratamento comercial de sementes de milho não tem sido satisfatório, considerando-se como alvo do controle

a erradicação dos principais fungos da cultura (CASA; REIS; MOREIRA, 2005, NERBASS; CASA; ANGELO, 2008).

Verifica-se a necessidade de mais estudos sobre a eficiência de detecção de *F. verticillioides* no teste de sanidade de sementes e eficiência de fungicidas no tratamento de sementes no controle do fungo e desenvolvimento inicial de plântulas.

Os objetivos deste trabalho foram: 1) avaliar a eficiência de detecção de *F. verticillioides* em sementes e plântulas de milho em função do tempo em teste de sanidade em meio agarizado; e 2) determinar se o tratamento de sementes com fungicida fludioxonil + metalaxil-m interfere no controle de *F. verticillioides* e no desenvolvimento inicial de plântulas de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de milho do híbrido Status TG TL com incidência de 56% do fungo *F. verticillioides* foram fracionadas em duas amostras, sendo a primeira tratada com metalaxil + fludioxonil (1,5 + 3,75 g i.a./100kg de sementes) e a segunda mantida sem o tratamento de sementes.

Foram cultivadas 900 sementes por tratamento, sendo colocadas nove sementes por caixa de acrílico tipo gerbox contendo meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA). Os recipientes com as sementes foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. Em lupa estereoscópica foram identificadas as plântulas com presença do fungo *F. verticillioides*. Foi considerada infectada a semente na qual foram detectadas colônias e/ou esporos do patógeno.

Posteriormente foram separadas as plântulas infectadas (sintomáticas) e sadias (assintomáticas), obtendo-se os seguintes tratamentos: T1 - plântulas assintomáticas sem tratamento; T2 - plântulas sintomáticas sem tratamento; T3 - plântulas assintomáticas com tratamento; T4 - plântulas sintomáticas com tratamento. As plântulas isoladas foram transferidas para tubos de ensaio de vidro neutro com medida de 24 mm x 250 mm contendo meio de cultura ágar-água (AA), mantendo os tubos em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h, durante 13 dias.

Os tratamentos constituíram um arranjo fatorial entre tratamento de sementes (TS) e plântulas sadias e infectadas por *F. verticillioides*. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com oito repetições, sendo cada unidade experimental constituída por 10 tubos de ensaio contendo uma plântula por tubo.

Retiraram-se as plântulas cuidadosamente de cada tubo de ensaio com auxílio de pinça de modo

a não danificar seus tecidos. Foi mensurado o comprimento da parte aérea e do sistema radicular, e posteriormente retirado mesocótilo, coroa e semente remanescente de cada plântula para plaqueamento.

A parte aérea e o sistema radicular das plantas foram cortados e colocados para secar em estufa de circulação de ar forçado à temperatura de 60°C, durante 48 h, com posterior pesagem para determinação da matéria seca.

A incidência do fungo foi quantificada no mesocótilo, coroa e semente remanescente de cada plântula. Estes órgãos foram removidos com auxílio de pinça e bisturi esterilizado em chama de álcool. Após procedeu-se a assepsia em hipoclorito de sódio (1%) por cinco minutos e retirado do excesso com água estéril. Os tecidos foram cultivados em caixas de acrílico tipo gerbox contendo meio de BDA. O material foi incubado durante cinco dias em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Foi considerado infectado o órgão sobre o qual foi possível identificar a colônia e/ou estruturas do fungo *F. verticillioides*.

Os dados de incidência do fungo *F. verticillioides* em cada órgão foram transformados em $\arcsen\sqrt{(x + 1)}$, e submetidos à análise de variância com as médias comparadas segundo o teste de Tukey a 5% de probabilidade. O comprimento e peso de raiz e parte aérea foram analisados com o mesmo teste estatístico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência de *F. verticillioides* em sementes remanescentes de plântulas cultivadas 'in vitro' aos 20 dias após a incubação (7 em meio de BDA e 13 em tubo com AA) não foi significativa, demonstrando não haver efeito do tratamento de sementes (TS) com o fungicida metalaxil-m + fludioxonil no controle do fungo (Figura 1). Diversos autores também têm relatado que o tratamento de sementes de milho não tem sido satisfatório, considerando-se como objetivo do TS a erradicação dos principais fungos associados a sementes de milho (CASA; REIS; MOREIRA, 2005, NERBASS; CASA; ANGELO, 2008).

No Brasil as sementes de milho são comercializadas já tratadas com fungicida, entretanto, em relação à erradicação de *F. verticillioides* o tratamento industrial de sementes tem sido ineficaz, resultados de acordo com os obtidos neste estudo (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 1998; NERBASS, 2008; NERBASS, 2011). Também para Moraes et al. (1998; 2003) o fungicida

metalaxil-m + fludioxonil não tem obtido eficiência satisfatória no controle desse patógeno em testes de sanidade de sementes.

A não significância da incidência do fungo em sementes remanescentes de plântulas mantidas incubadas por 20 dias, demonstra que sementes sintomáticas e assintomáticas aos sete dias não diferem entre si quanto a incidência de *F. verticillioides*. Estes dados demonstram que a detecção de *F. verticillioides* no teste de sanidade de sementes de milho quando avaliado aos sete dias esta subestimada.

Plântulas oriundas de sementes com a presença de colônias do fungo aos sete dias (T2 e T4) diferiram estatisticamente de plântulas provenientes de sementes assintomáticas (T1 e T3), sendo detectada menor incidência do fungo no mesocótilo e coroa de plântulas provenientes de sementes assintomáticas. Ainda assim foi observada incidência de *F. verticillioides* de 88% e 93% para mesocótilo, e 88 e 95% para coroa nessas plântulas com e sem TS, respectivamente. Estes valores demonstram que fungicidas avaliados *in vitro*, podem ter sua eficiência superestimada.

A incidência do fungo no mesocótilo e coroa de plântulas de milho cultivadas ‘in vitro’ aos 20 dias, não diferiu estatisticamente em sementes assintomáticas (T1 x T3) e sintomáticas (T2 x T4) com e sem fungicida, demonstrando não haver efeito do fungicida metalaxil-m + fludioxonil no controle da transmissão de *F. verticillioides* (Figura1). Avaliando diferentes fungicidas para o tratamento de sementes de milho, entre eles metalaxil-m + fludioxonil, Sachs (2013) obteve redução de aproximadamente 90, 55 e 45% na taxa de transmissão do fungo da semente para mesocótilo, coleótilo e coroa, respectivamente. Também avaliando o controle do fungo, Nerbass (2008) detectou taxa de transmissão de *F. verticillioides* (24° C) de sementes tratadas com fungicida para mesocótilo e coroa, de 17 e 60% para mesocótilo e 20 e 27% para coroa, respectivamente para os fungicidas tolyfluanida + carbendazim e carbendazim + thiram. Estes resultados apresentam controles superiores aos resultados encontrados neste trabalho, onde o fungicida não obteve controle na transmissão para mesocótilo e coroa em plantas oriundas de sementes assintomáticas e sintomáticas aos 20 dias.

O efeito da sanidade de sementes aos sete dias foi significativo para as variáveis comprimento de raiz (CR), peso de raiz (PR), comprimento de parte aérea (CPA) e peso de parte aérea (PPA), isso demonstra que em média plantas

desenvolvidas apartir de sementes sintomáticas apresentam menor CR, CPA, PR, PPA quando comparadas a plantulas formadas apartir sementes assintomáticas.

As plantulas oriundas de sementes tratadas com fungicida apresentaram também maior CR, CPA, PR e PPA, em relação a plantulas desenvolvidas apartir de sementes não tratadas.

Houve interação estatística entre a sanidade de sementes aos 7 dias (sintomáticas e assintomáticas) e tratamento de sementes (com e sem TS), para CR, PR. Portanto na análise destas variáveis os dados serão comparados dentro das sementes sadias (T1 x T3), sementes infectadas (T2xT4), sementes com TS (T3xT4) e sementes sem TS (T1xT2).

Figura 1- Incidência (%) de *Fusarium verticillioides* em sementes remanescentes, mesocótilo e coroa de plântulas de milho cultivadas ‘in vitro’, durante 20 dias.

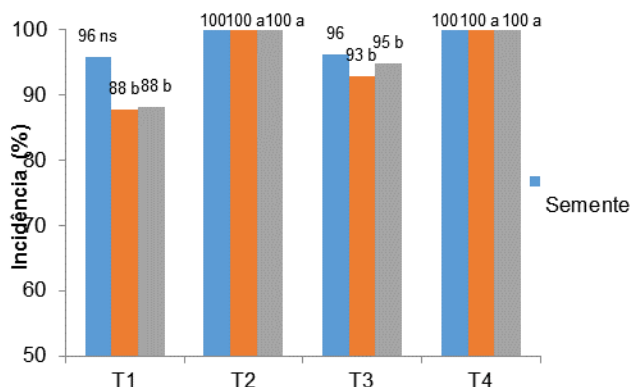
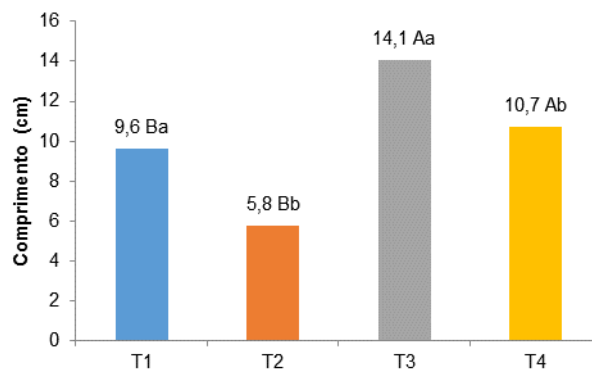
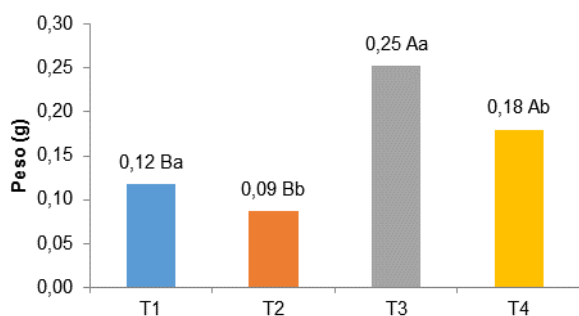


Figura 2 - Comprimento de raiz de plântulas de milho cultivadas in vitro durante 20 dias.



** Letras maiúsculas referem-se as comparações T1 x T3 e T2 x T4, e letras minúsculas referem-se a T1 x T2 e T3 x T4.

Figura 3. Peso de raiz de dez plântulas de milho cultivadas *in vitro* durante 20 dias.



** Letras maiúsculas referem-se as comparações T1 x T3 e T2 x T4, e letras minúsculas referem-se a T1 x T2 e T3 x T4.

Em média sementes sintomáticas aos sete dias desenvolveram plântulas com menor CPA, quando comparadas a a plântulas oriundas de sementes assintomáticas. Sementes tratadas com o fungicida metalaxil-m + fludioxonil desenvolveram em média plântulas com maior CPA, apresentando significância o efeito da utilização do tratamento de sementes.

O T2 (0,12 g) apresentou o menor PPA, diferindo de T3 (0,20 g) e T4 (0,17 g). O T1 (0,16 g) não apresentou diferença estatística do T2, T3 e T4 quanto ao peso de parte aérea. Isto demonstra que o tratamento de sementes com metalaxil-m + fludioxonil não apresenta efeito sobre o PPA em plantulas oriundas de sementes assintomáticas. Porém plantulas oriundas de sementes sintomáticas apresentaram maior PPA quando tratadas com fungicida.

Plantas provenientes de sementes sintomáticas não diferiram de plantas oriundas de sementes assintomáticas quanto ao PPA.

CONCLUSÕES

A detecção de *F. verticillioides* em meio BDA aos sete dias de incubação não representou a real incidência do fungo, pois o patógeno foi recuperado de plântulas até então assintomáticas quando essas foram reavaliadas aos 20 dias.

O tratamento de sementes de milho com o fungicida metalaxil-m + fludioxonil não apresentou

controle sob *F. verticillioides* em sementes e plântulas aos 20 dias.

Os valores de eficiência de fungicidas no controle de *F. verticillioides in vitro*, avaliados aos 7 dias podem estar sendo superestimados.

O tratamento de sementes com o fungicida metalaxil-m + fludioxonil proporcionou maior CR, CPA, PR e PPA em plântulas de milho aos vinte dias.

Plântulas provenientes de sementes com a presença de colônias de *F. verticillioides* aos sete dias apresentam menor CR, PR e CPA quando comparadas a plântulas oriundas de sementes assintomáticas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Fundo de Apoio a Manutenção da Educação Superior (FUMDES) pela concessão de bolsa permitindo a realização deste trabalho de pesquisa.

REFERÊNCIAS

CASA, R.T.; REIS, E. M; MOREIRA, E.N. Transmissão de fungos em sementes de cereais de inverno e milho: implicações epidemiológicas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Sementes: Qualidade Fitossanitária**. Viçosa: UFV, DFP, 2005. p. 55-71.

McGEE, D.C. Maize disease: a reference source for seed technologists. St. Paul: **The American Phytopathological Society**, 1988. 165 p.

MORAES, M. H. D. et al. Avaliação do desempenho de sementes de milho tratadas com fungicidas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 24, p. 79, 1998.

MORAES, M. H. D. et al. Controle químico de *F. miniliforme* em sementes de milho: metodologia de avaliação e efeitos sobre a qualidade fisiológica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 626 – 632, 2003.

NERBASS, F. R.; CASA, R. T.; ANGELO, H. R. Qualidade do tratamento comercial de sementes de milho com fungicidas na safra de 2006/07. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 7, n.1, p. 30 - 36, 2008.

NERBASS, F.R. et al. Qualidade do tratamento industrial de sementes de milho comercializadas em Santa Catarina na safra 2010/2011. In: **Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão** 8, 2011, Chapecó. Anais...,v. 1. p.1-5.



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

WHITE, D.G. **Compendium of corn diseases**.
3.ed. Saint Paul: APS press, 1999. 78p.