

Genótipo e Época de Colheita na Incidência de Fumonisinas em Milho

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

⁽¹⁾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, ⁽²⁾ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, valeria@cnpmc.embrapa.br, veras@cnpmc.embrapa.br, lauro@cnpmc.embrapa.br, ⁽³⁾Doutora em Melhoramento Genético/ Embrapa milho e sorgo, flvmendes2001@yahoo.com.br, ⁽⁴⁾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 leucoencefalomalácea 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 consequente 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 °C até análise.

Para determinação do teor de fumonisinas nos grãos, estes foram previamente secos em estufa a 65 °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 x 7 x 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 teores médios de fumonisinas foram diferentes entre as safras de avaliação ($p < 0,01$), com valores de $3,90 \text{ mg g}^{-1}$ e $1,67 \text{ mg g}^{-1}$ 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^{-1} para o primeiro ano e de 0,28; 2,09 e 2,63 mg g^{-1} 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>. 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.cnpa.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
Maturação fisiológica	5,43	0,40	4,72	3,52
15 DAM¹	4,35	0,49	5,60	3,48
30 DAM	7,52	0,32	5,97	4,60
45 DAM	5,62	0,11	6,57	4,10
60 DAM	4,22	0,52	3,57	2,77
75 DAM	6,30	0,37	7,18	4,62
90 DAM	6,33	0,42	5,98	4,25
Média dos genótipos²	5,68 a	0,37 b	5,65 a	3,90

¹DAM: dias após a maturação

²Valores 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)

ÉPOCA DE COLHEITA	BRS 1035	DKB 390	Attack	Média
Maturação fisiológica	1,20	0,32	1,77	1,09
15 DAM¹	3,27	0,14	2,65	2,02
30 DAM	1,85	0,39	3,42	1,88
45 DAM	1,72	0,09	2,82	1,54
60 DAM	2,08	0,29	3,00	1,79
75 DAM	2,43	0,55	1,82	1,60
90 DAM	2,10	0,18	2,92	1,73
Média dos genótipos²	2,09 a	0,28 b	2,63 a	1,67

¹DAM: dias após a maturação

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