

Incidência de *Fusariumverticillioides* em Sementes de Milho e Transmissão para o Sistema Radicular e Parte Aérea da Planta

Cristiano Sachs¹, Ricardo T. Casa², Giovanni J. Piletti³, Leila Alves Netto⁴, Maiquiel Fingstag⁵, Francine Nerbass⁶, Juan C. Stoltz⁷, Romulo Zancan⁸, Daiana Bampi⁹ e Lenita Agostinetto¹⁰

Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UEDESC, Lages, SC. crsachs@hotmail.com¹, a2rtc@cav.udesc.br², givani_piletti@hotmail.com³, leilaronchi@hotmail.com⁴, maiquiel_diego@hotmail.com⁵, fnerbass@bol.com.br⁶, juan_cs@terra.com.br⁷, romulo.zancan@hotmail.com⁸, daianabampi@hotmail.com⁹, leagostinetto@hotmail.com¹⁰.

RESUMO—Dentre os fatores que limitam o aumento da produtividade do milho, encontram-se as doenças causadas por fungos, como *Fusariumverticillioides* que causa podridão de semente, raízes, base do colmo e espiga. O objetivo deste trabalho foi quantificar a taxa de transmissão de *F. verticillioides* da semente para o sistema radicular e parte aérea da planta. Foram conduzidos experimentos no laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação do Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV/UEDESC. Utilizaram-se sementes de híbrido simples (Syn 7205), divididas em duas amostras: A- não tratada; e B- tratada com carbendazin + tiram (40 mL p.c. 60 mil sementes) e fludioxonil + metalaxil (30 mL p.c. 60 mil sementes). Realizou-se o teste de sanidade de sementes em meio de cultura Batata Dextrose Ágar. A taxa de transmissão do fungo foi quantificada por meio de doplaqueamento da raiz, mesocótilo, coleótilo, coroa e base da folha da planta aos 28 dias após a semeadura em solo isento do fungo. As maiores taxas de transmissão foram constatadas no coleótilo e as menores na base da folha das plantas. Tanto nas sementes tratadas como não tratadas o fungo foi recuperado nos tecidos da planta, porém com menor taxa nas sementes tratadas.

Palavras-chave: Fusariose, patologia de sementes, taxa de transmissão, *Zeamays*.

Introdução

O milho (*Zeamays* L.) é um dos produtos agrícolas mais importantes do mundo, tendo como principais usos a alimentação animal e humana e produção de biocombustíveis. A maior parte do milho produzido no Brasil é destinada a alimentação animal, de maneira que historicamente a produção de milho acompanha a produção de aves e suínos (CALDARELLI et al., 2010).

No Brasil a produtividade média é considerada baixa quando comparada com outros países da América como Argentina e EUA que tem obtido rendimento de 6.000 e 9.000 kg ha⁻¹, respectivamente (SILVA et al., 2006). Porém, rendimentos próximos a 16 toneladas foram relatados por Sangoi et al. (2010), no planalto sul de Santa Catarina, demonstrando grande diferença entre a produtividade média brasileira e a obtida em condições experimentais. Segundo o mesmo autor, as principais causas dessa diferença são o uso de cultivares com potencial produtivo limitado, o cultivo em solos com deficiência de água e nutrientes, época de semeadura e densidade inadequadas e ineficiência no controle de pragas, doenças e ervas daninhas.

Dentre os fatores que limitam o aumento da produtividade se encontram as doenças, principalmente aquelas causadas por fungos (WHITE, 1999). Segundo Wordeletal.(2010) a cultura está sujeita a ocorrência de doenças capazes de afetar a produção, qualidade, palatabilidade e o valor nutritivo dos grãos.Os principais danoscausados são a redução da emergência de plântulas, área foliar e as podridões de colmo e espiga(CASA et al., 2000; SARTORI, 2003; WORDEL et al., 2010).

Muitos autores têm associado a presença de *Fusariumverticillioides* (Sacc.) nas sementes com a redução da germinação e da emergência das plântulas de milho, principalmente em condições adversas (CASA et al., 1995). Este é o principal fungo associado às sementes de milho no Brasil (REIS et al., 2004; NERBASS et al., 2008). O fungo coloniza o embrião e o endosperma, podendo causar podridão de semente, de raízes, da base do colmo e da espiga de plantas de milho (WHITE, 1999).

Os fungos associados à semente podem causar a sua deterioração, ou ser transmitidos para a plântula, colonizando órgãos radiculares e aéreos (McGEE, 1988; CASA et al., 2006).Segundo Agarwal& Sinclair (1997), a transmissão de um patógeno pela semente pode ser influenciada por uma série de fatores, como espécie cultivada, condições ambientais, práticas culturais, sobrevivência do inóculo, vigor da semente, e microflora do solo e da semente entre outros.

No caso do milho, os fungos *F. graminearum*(Schwabe), *F. verticillioides* e *Stenocarpellamaydis* (Berck.) são exemplos de fungos associados à semente e que podem ser transmitidos a plântula (McGEE, 1988). Destes, *F. verticillioides* é o patógeno mais estudado em relação à transmissão para a plântula (SARTORI et al., 2004) e planta (MUNKVOLD et al., 1997).Segundo Booth (1971), o fungo *F.verticillioides* não forma clamidósporos. O fungo pode sobreviver no solo saprofiticamente em fragmento de tecidos do milho (MUNKVOLD et al., 1997). Em áreas de rotação adensidade de inóculo pode ser considerada baixa, uma vez que o fungo apresenta baixa gama de hospedeiros e o vento não contribui eficientemente para disseminação a longas distâncias, sendo a semente infectada a principal fonte de inóculo primário para a podridão de fusariose (REIS et al., 2004).

O tratamento das sementes com fungicida tem como propósito reduzir e/ou erradicar o inóculo dos patógenos presentes na semente e protegê-las durante a germinação, garantindo assim a emergência das plântulas em condições adversas de semeadura, além de evitar a transmissão do fungo da semente para a plântula (PINTO, 1998; CASA et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi quantificar a taxa de transmissão de *F. verticillioides* da

semente para o sistema radicular e parte aérea da planta de milho, comparando sementes não tratadas e tratadas com fungicida.

Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação do Centro de Ciências Agroveterinárias, CAV/UEDESC, nos meses de novembro e dezembro de 2011. Foram utilizadas sementes do híbrido simples Syngenta 7205, selecionadas devido à alta incidência de sementes infectadas naturalmente com *F. verticillioides*. Essas foram pesadas, colocadas em sacos plásticos com a calda fungicida (fungicida+água=0,5% do peso das sementes), onde posteriormente foram homogeneizadas até o completo recobrimento das sementes pelos produtos. O tratamento utilizado foi carbendazim+ tiram (Derosal plus) em mistura com fludioxonil + metalaxil (Maxim XL) na dose (40 + 30 mL p.c. 60 mil sementes), constituindo duas amostras, sendo uma tratada e uma não tratada.

Foram plaqueadas 400 sementes por tratamento, divididas em oito repetições, em meio de cultura BSA (200 g de batata, 20 g de sacarose e 15 g de ágar para 1.000 mL de meio de cultura). As sementes foram distribuídas em caixas plásticas tipo gerbox, contendo meio de cultura. O material foi acondicionado em câmara de crescimento, sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após sete dias de incubação, os fungos foram identificados através das características das colônias desenvolvidas, com auxílio de lupabinocular com aumento de 40x e quando necessário foi realizada montagem de lâmina de microscopia ótica. Os resultados foram expressos em incidência (%) de *F. verticillioides* nas sementes de milho.

A taxa de transmissão de *F. verticillioides* das sementes para o sistema radicular e parte aérea, foi realizada em casa de vegetação através do teste de transmissão, seguindo metodologia descrita por Sartori et al. (2004). Depois de tratadas, as sementes foram semeadas em bandejas de plástico, contendo substrato isento do fungo, constituído pela mistura de solo de horizonte "B", e areia grossa desinfestada, na proporção 2:1. Foram semeadas 100 sementes divididas em 10 repetições cada tratamento, à profundidade de 5 cm. Aos 28 dias após a semeadura, as plantas foram cuidadosamente arrancadas, lavadas em água corrente para retirada do excesso de solo aderido ao sistema radicular e levadas ao laboratório. De cada planta foi destacado: raiz primária, mesocótilo (entrenó sub-coronal), coroa, coleótilo e base da primeira folha. Após assepsia do material em hipoclorito de sódio (1%) por 3 minutos, seguido de lavagem com água esterilizada, os tecidos foram plaqueados em caixas tipo gerbox, contendo meio de cultura BSA, acrescido de antibiótico (sulfato de estreptomicina

0,02 g em 500 mL de meio de cultura). O material foi incubado durante sete dias em câmara de crescimento a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h. Foi considerado sintomático o fragmento sobre o qual cresceram estruturas do fungo. Com base na incidência de *F. verticillioides* na semente e na incidência de órgãos doentes foi calculada a taxa de transmissão do fungo para cada órgão da planta. Para o cálculo, utilizou-se a fórmula descrita por Teixeira & Machado (2003), sendo $T.T(\%) = [T.I(\%) \times 100] / I.S(\%)$, onde TT= taxa de transmissão, T.I = taxa de infecção em plantas e I.S = incidência de *F. verticillioides*, em sementes.

Os dados foram transformados visando à homogeneização da variância utilizando-se a função Arcoseno $(X/100)^{1/2}$. Em seguida foram submetidos ao teste F e quando constatada diferença significativa, foram comparados através do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se programa estatístico SAS System.

Resultados e Discussão

O fungo *F. verticillioides* foi detectado com incidência de 43,5% na amostra não tratada e não foi detectado na amostra que recebeu o tratamento com fungicida (Tabela 1). Segundo Reis & Casa, (1998) a erradicação é uma tarefa difícil, uma vez que o fungicida deve ser capaz de eliminar a infecção internada semente sem injuriar os tecidos e afetar a germinação. Moraes et al. (2003) verificaram 70% de controle de *F. verticillioides* em sementes de milho tratadas com fludioxonil + metalaxil (2,5 g + 3,8g.i.a/100 kg de sementes). Neste caso, sem a presença de um fungicida do grupo dos benzimidazóis, considerado eficaz no controle de *Fusarium* sp. (Nerbasset al., 2008). Pinto (2003) verificou redução de 74,9 para 2,7% na incidência de *F. subglutinans* quando tratou as sementes com carbendazim + tiram (30 + 70 g.i.a/100 kg de sementes). Sendo provável que a erradicação não tenha sido alcançada em função da alta incidência inicial do fungo na semente.

Por outro lado, observou-se a transmissão do fungo das sementes para os demais órgãos da planta, mesmo nas sementes tratadas (Tabela 1 e 2). Isso prova que a semente pode ser fonte de inóculo para as podridões de raiz e da base do colmo, uma vez que o patógeno é relatado causando esse tipo de doença (Reis & Casa, 1996).

Na amostra sem tratamento verificou-se a diminuição da recuperação de *F. verticillioides* no coleóptilo da planta em relação à detecção na semente (Tabela 1). Na amostra tratada, houve um aumento na recuperação do fungo no coleóptilo da planta, sugerindo que a erradicação do fungo da semente constatada no teste de sanidade 'in vitro',

não se manteve em nível de teste de transmissão na planta 'in vivo'.

Na amostras em tratamento com fungicidas, os maiores valores de taxa de transmissão foram verificados na raiz, mesocótilo, coleótilo e coroa. Quando as sementes foram tratadas, foram observados os maiores valores no coleótilo e coroa, seguidos de raiz e mesocótilo (Tabela 2). O que pode ser explicado pelo fato do fungicida ser absorvido pela raiz, atingir o mesocótilo e possivelmente depois chegar à coroa e ao coleótilo. Ao contrário de Sartori et al. (2004), que ao avaliar a taxa de transmissão de *F. verticillioides*, verificou as menores taxas de transmissão no coleótilo, sendo 46,1%, 34,9%, 23,6%, 7,2%, e 14,6% respectivamente no tegumento da semente, raiz primária, entrenó sub-coronal, coleótilo e base da folha. A menor taxa de transmissão foi constatada na base das folhas (Tabela 2). O que sugere que foi curto o período de tempo decorrido entre a semeadura e avaliação, uma vez que Sartori et al. (2004) verificaram taxas ascendentes de transmissão de 3,1%, 16,9% e 23,8% avaliando respectivamente aos 15, 30 e 45 dias após a semeadura, mostrando que a medida que aumenta o tempo entre a semeadura e avaliação aumenta a infecção da base da folha. No entanto nas sementes tratadas o fungo não foi recuperado na base das folhas.

Conclusões

Foi demonstrado que a transmissão de *F. verticillioides* da semente para o sistema radicular e parte aérea da planta ocorre mesmo em sementes tratadas, pois há diferença entre a incidência do fungo constatado no teste de sanidade de sementes em relação a recuperação deste nos tecidos do sistema radicular e parte aérea da planta. Este fato sugere que o teste de sanidade de sementes pode não ser o mais indicado para avaliar a eficácia de fungicidas em tratamento de sementes, necessitando de outros testes complementares, aumento no tamanho das amostras e/ou tempo de avaliação.

Literatura Citada

AGARWAL, V.K & SINCLAIR, J.B. Principles of seed pathology. 2 ed. CRC Press. Lewis Publishers. Boca Raton. Florida. 1997.

BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Kew Commonwealth Mycological Institute. 1971. 237 p.

CALDARELLI, C.E., BACCHI, M.R.P., Fatores de influencia do preço do milho no Brasil. Brasília, DF. Embrapa informação técnica, 2010. 174p., (ISSN 1677-5473 ; 39).

CASA, R.T., REIS, E.M., NERBASS, F.R. Implicações epidemiológicas da transmissão de fungos em sementes de milho. In: Manejo de doenças de grandes culturas: feijão, batata, milho e sorgo. Lavras: UFLA, 2006. p. 202-212.

CASA, R.T., REIS, E.M., SEVERO, R., DENTI, E.A., TRENTO, S.M. & BLUM, M.M.C. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: SANDINI, I.E. & FANCELLI, A.L.

- Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária. 2000. p.131-146.
- CASA, R.T., REIS, E.M., ZAMBOLIM, L. Fungos associados a sementes de milho produzidas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 23: 370-373. 1998.
- CASA, R.T.; REIS, E.M.; MEDEIROS, C.A. & MOURA, F.B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas, na proteção de fungos do solo, no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 20: 633-638. 1995.
- McGEE, D.C. Maize disease: a reference source for seed technologists. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1988. 150p.
- MUNKVOLD, G.P., McGEE, D.C., CARLTON, W.M., Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*, *Phytopathology*, Iowa, 87:209-217. 1997.
- NERBASSS, 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
- PINTO, N.F.J. de A. Patologia de sementes de milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1998. 44p. (Embrapa-CNPMS, Circular Técnica, 29).
- PINTO, N.F.J. de A. Viabilidade de sementes de milho tratadas com fungicidas e armazenadas em condições ambientais. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 26: 47-52. 2000.
- REIS, E.M., CASA, R.T. & BRESOLIN, A.C.R. Manual de diagnose e controle de doenças do milho. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144p.
- REIS, E.M.; CASA, R.T. Manual de identificação e controle de doenças do milho. Passo fundo: Aldeia Norte, 1996. 80p.
- REIS, E.M.; DENTI, E.; TRENTO, S.M.; CASA, R.T. & SEVERO, R. Método para quantificar os danos no rendimento de grãos causados pelas podridões da base do colmo do milho. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 23: 300. 1998.
- SANGOI, L.; SILVA, P.R.F. Arranjo de plantas e desempenho agrônomo do milho. In. WORDELL FILHO et al., A cultura do milho em Santa Catarina, Florianópolis: Epagri, 2010. 480p.
- SARTORI, A.F. Sementes de milho e restos culturais de aveia como fonte de inóculo para as podridões da base do colmo. 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, Passo Fundo, 2003.
- 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.
- SILVA, P.R.F.; SANGOI, L.; ARGENTA, G. & STRIEDER, M.L. Arranjo de plantas e sua importância na definição da produtividade em milho. Porto Alegre. Evangraf. 2006. 63p.
- TEIXEIRA, H.; MACHADO, J.C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. *Ciências Agrotecnologia*, v.27, n.5; p.1045-1052, 2003.

WHITE, D.G. Compendium of corn diseases. Third Edition, The American Phytopathological Society, APS press. 1999. 78p.

WORDELL, F.J.; CASA, R.T. Doenças na cultura do milho. In. WORDELL FILHO et al., A cultura do milho em Santa Catarina. Florianópolis: Epagri, 207-273, 2010.

Tabela 1. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicida sobre a incidência de *Fusarium verticillioides* quantificado no teste de sanidade de sementes e na transmissão do fungo de sementes para plantas de milho, Lages, SC, 2012.

Tratamento	Incidência de <i>Fusarium verticillioides</i> (%)		
	Sementes	Coleótilo	Média
Sem Fungicida	43,5 A a	32,0 ¹ B a	37,4
Com Fungicida ¹	0Ab	15,2B b	7,6
Médias	21,8	23,6	

*Médias seguidas da mesma letra maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não diferem estatisticamente quando comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de significância.

¹Sementes tratadas com carbendazim + tiram e fludioxonil + metalaxil na dose (40 + 30 mL p.c.60 mil sementes).

Tabela 2. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas sobre a taxa de transmissão de *Fusarium verticillioides* da semente para os órgãos da planta de milho, Lages, SC, 2012.

Tratamento	Taxa de transmissão do fungo (%)					Média
	Raíz	Mesocótilo	Coleótilo	Coroa	Base da folha	
Sem Fungicida	68,9 A a	66,7 A a	73,6 A a	64,4 A a	6,9 A b	56,1
Com Fungicida ¹	11,5 B b	6,9 B b	34,8 A a	32,2 B a	0 A c	17,1
Médias	40,3	36,8	54,1	48,3	3,5	

*Médias seguidas da mesma letra maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente quando comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de significância.

¹Sementes tratadas com carbendazim + tiram e fludioxonil + metalaxil na dose (40 + 30 mL p.c. 60 mil sementes).