

Atraso na Colheita e Incidência de Grãos Ardidos e Fumonisinias Totais em Grãos de Milho



ISSN 1679-0154

Dezembro, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 57

Atraso na Colheita e Incidência de Grãos Ardidos e Fumonisinias Totais em Grãos de Milho

Rodrigo Vêras da Costa
Valéria Aparecida Vieira Queiroz
Luciano Viana Cota
Dagma Dionísia da Silva
Fabrício Eustáquio Lanza
Simone Martins Mendes
Lauro José Moreira Guimarães

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
Home page: www.cnpms.embrapa.br
E-mail: sac@cnpms.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau
Membros: Flávia Cristina dos Santos Flávio Dessaune Tardin, Eliane Aparecida Gomes, Paulo Afonso Viana, Guilherme Ferreira Viana e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro
Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa
Foto(s) da capa: Banco de Imagens da Embrapa Milho e Sorgo

1ª edição

1ª impressão (2012): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo**

Atraso na colheita e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em grãos de milho /Rodrigo Vêras da Costa ... [et al.]. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2012. 31 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 57).

1. Doença de planta. 2. Fungo. 3. *Zea mays*. Costa, Rodrigo Vêras da. II. Série.

CDD 632.4 (21. ed.)

© Embrapa 2012

Sumário

Introdução	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	11
Conclusões	26
Agradecimentos	26
Referências	26

Atraso na Colheita e Incidência de Grãos Ardidos e Fumonisinas Totais em Grãos de Milho

*Rodrigo Véras da Costa*¹

*Valéria Aparecida Vieira Queiroz*²

*Luciano Viana Cota*³

*Dagma Dionísia da Silva*⁴

*Fabício Eustáquio Lanza*⁵

*Simone Martins Mendes*⁶

*Lauro José Moreira Guimarães*⁷

Introdução

No milho, a maturação fisiológica dos grãos ocorre cerca de 50 a 60 dias após a polinização, quando o teor de umidade encontra-se entre 30 e 38% dependendo da cultivar, o que corresponde ao ponto de máxima produção. Nesta fase, após a obstrução dos vasos, os grãos tornam-se independentes da planta mãe (MAGALHÃES; DURÃES, 2011). Quando a planta atinge a maturidade fisiológica, ocorre a redução da umidade dos grãos e a perda de massa seca no campo devido ao processo de respiração (BROOKER et al., 1992). No entanto, o elevado teor de umidade dos grãos nesta fase inviabiliza a colheita mecanizada, devido a dificuldades na debulha,

¹Eng.-Agr.,Doutor, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, veras@cnpmc.embrapa.br

²Nutricionista, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, valeria@cnpmc.embrapa.br

³Eng.-Agr., Doutor em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, lvcota@cnpmc.embrapa.br

⁴Eng.-Agr., Doutora em Fitopatologia. Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, dagma@cnpmc.embrapa.br

⁵Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa, MG, Brasil

⁶Eng.-Agr., Doutora, Entomologia. Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. simone@cnpmc.embrapa.br

⁷Eng.-Agr., Doutor. Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, lauro@cnpmc.embrapa.br

decorrentes do excesso de partes verdes e úmidas das plantas, o que pode levar a severas injúrias por amassamento dos grãos (MARQUES et al., 2009; ALVES et al., 2001).

Em levantamentos visando a caracterização dos sistemas de produção para elevadas produtividades de milho no Brasil, Cruz et al. (2009) constataram que na região Sul o período médio do plantio até a colheita foi de 172 dias, chegando a 195 dias nos plantios realizados em julho. Nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, as médias do período do plantio até a colheita foi de 165 dias, chegando a mais de 190 dias nos plantios realizados em julho, na região Centro-Oeste. De uma maneira geral, o atraso na colheita do milho no Brasil tem variado, em média, de 2 a 10 semanas, dependendo de alguns fatores como a cultivar semeada, condições climáticas predominantes, tamanho da área plantada, colheitadeiras, capacidade de armazenamento, disponibilidade de recurso para secagem artificial e nível tecnológico do produtor (informação pessoal).

O atraso na colheita tem sido uma prática considerada de elevado risco, visto ficar a lavoura sujeita à ocorrência de uma série de fatores, como o acamamento das plantas devido a fortes ventos e chuvas, a germinação dos grãos nas espigas em condições de umidade elevada e o ataque de insetos. Além destes riscos, a secagem no campo tem sido relatada como favorável à infecção por fungos toxigênicos, pelo acúmulo de micotoxinas e pela perda na qualidade dos grãos (LAUREN et al., 2007; KAAYA et al., 2005; SANTIN et al., 2004; BRUNS; ABBAS, 2004). O atraso na colheita dos grãos na cultura do milho tem sido relacionado com o aumento da incidência de grãos ardidos e dos teores de aflatoxinas (KAAYA et al., 2005; MARQUES et al., 2009), das micotoxinas nivalenol e deoxynivalenol (LAUREN et al., 2007) e de fungos do

gênero *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Cephalosporium spp.*, e de algumas espécies do gênero *Fusarium spp.* (SANTIN et al., 2004). As perdas devido aos fatores acima relacionados têm sido estimadas entre 7 a 15%, podendo ser superiores a 50%, em situações de condições extremas (KAAYA et al., 2005).

A infecção dos grãos por fungos toxigênicos pode ocorrer tanto no campo quanto no armazenamento. Assim, as práticas culturais adotadas pelos produtores têm efeito direto, ou indireto, favorecendo, ou não, a infecção dos grãos por fungos toxigênicos e o acúmulo de micotoxinas (MARQUES et al., 2009; PALACIN et al., 2006).

O milho é um dos cereais mais predispostos à contaminação por fungos toxigênicos e ao acúmulo de micotoxinas nos grãos (HERMANNNS et al., 2006). As micotoxinas são metabólitos tóxicos resultantes do metabolismo secundários de uma variedade de fungos, especialmente os pertencentes aos gêneros *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.*. Esta contaminação pode tornar os grãos impróprios para o consumo, resultando em grandes perdas econômicas e elevados riscos à saúde (HERMANNNS et al., 2006; PASTER; BULLERMAN, 1988).

As principais micotoxinas relatadas em milho são as fumonisinas, as aflatoxinas, a zearalenona, a esterigmatocistina, o deoxinivalenol, o nivalenol, as ocratoxinas e a toxina T-2 (SCUSSEL, 1998; QUEIROZ et al., 2012). As fumonisinas, produzidas por fungos do gênero *Fusarium spp.* (principalmente *F. verticillioides* e *F. proliferatum*), constituem um grupo de micotoxinas com maior incidência e importância em grãos de milho, pois são altamente frequentes e a sua ingestão está relacionada a vários problemas de saúde em humanos e animais (BLANDINO et al., 2008; BUSH et al., 2004).

Estudos têm demonstrado uma forte correlação entre o consumo de alimentos contaminados com fumonisinas e anormalidades no tubo neural e câncer de esôfago em humanos (HERMANNNS et al., 2006; PLACINTA, et al., 1999; STACK, 1998). Em animais, essa micotoxina é relacionada à ocorrência de leucoencefalomalácea em equinos e à síndrome de edema pulmonar em suínos (HERMANNNS et al., 2006).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do atraso na colheita sobre a incidência de grãos ardidos e no acúmulo de fumonisinas totais em grãos de milho.

Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – MG, nas safras agrícolas 2009/2010 e 2010/2011. As semeaduras foram realizadas em dezembro de 2009 e em novembro de 2010. Foram utilizadas as cultivares Attack (Syngenta), BRS1035 (Embrapa) e DKB390YG (Dekalb). Os tratamentos consistiram de diferentes épocas de colheita, as quais foram realizadas aos 135, 150, 165, 180, 210 e 225 dias após a emergência (DAE). Em ambos os experimentos, foram utilizadas as mesmas cultivares e as mesmas épocas de colheita.

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, com os tratamentos dispostos em arranjo fatorial 3 x 6 (cultivares x épocas de colheita), e três repetições. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de cinco metros, espaçadas de 0,8 m entre linhas e média de cinco plantas por metro, após o desbaste. A adubação de plantio consistiu da aplicação de 350 kg.ha⁻¹ da fórmula 8-28-16 + Zn (NPK). Aos 30 e 45 DAE foram realizadas as

adubações nitrogenadas em cobertura utilizando-se 150 kg.ha⁻¹ de ureia.

Em cada época de colheita, as espigas das duas linhas centrais de cada parcela foram colhidas, identificadas e debulhadas separadamente. O teor de umidade de cada massa de grãos foi determinado utilizando um medidor de umidade de grãos portátil modelo Mini Gac Plus, com resolução de umidade de 0,1%. A massa de grãos de cada parcela foi homogeneizada e duas amostras de 500 g foram retiradas para a realização das análises de patologia dos grãos e determinação dos teores de fumonisinias totais, respectivamente.

Em ambos os anos, as variáveis meteorológica temperatura (°C) máxima e mínima, umidade relativa (%) e precipitação (mm) foram coletadas na estação climatológica, localizada na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo.

Determinação da incidência de grãos ardidos e fungos associados aos grãos

A quantificação da incidência de grãos ardidos, em cada amostra, foi realizada através do exame visual e da separação dos grãos sadios daqueles que apresentavam sintomas de podridão (ardidos). Os grãos ardidos foram pesados e os resultados foram expressos em percentagem em relação ao peso total da amostra.

A partir dos grãos considerados ardidos foram realizados os testes de patologia para a identificação dos patógenos associados aos grãos. Para a realização deste procedimento, os grãos foram desinfetados superficialmente, através da imersão em hipoclorito de sódio a 2%, por cinco minutos. Em seguida, foram lavados duas vezes em água destilada esterilizada e, posteriormente,

plaqueados em caixas tipo gerbox contendo papel de filtro umedecido com Ágar-Água a 5%. As caixas gerbox foram mantidas em temperatura ambiente para estimular a germinação dos grãos e, após 24 horas, foram transferidas para um freezer a uma temperatura de -5 °C, onde permaneceram por um período de 24 horas. Após esse período, as caixas foram levadas à câmara de incubação com temperatura de 24 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após 15 dias, procedeu-se à identificação e à quantificação dos patógenos presentes nos grãos, com o auxílio de um microscópio estereoscópico e de um microscópio binocular.

Determinação dos teores de fumonisinias totais nos grãos

O preparo das amostras para análise dos teores de fumonisinias totais foi iniciado com a homogeneização do teor de água em estufa a 65 °C, até se obter peso constante. Após o resfriamento, os grãos foram moídos em moinho tipo Willey com peneira de 20 mesh. As fumonisinias totais foram extraídas em solução de metanol:água (80:20) e purificadas em colunas de imunoafinidade FumoniTest (VICAM Inc. USA), de acordo com a metodologia recomendada pelo fabricante no manual, com modificações validadas no laboratório para o peso de 10 g de amostra e os demais reagentes seguindo a proporção adequada para esse peso. Os extratos foram utilizados para as análises logo após a extração e a purificação. As fumonisinias foram quantificadas em fluorímetro VICAN, série 4. Todas as análises foram realizadas em duplicatas e, para cada bateria de análise, uma amostra referência com teor conhecido de fumonisinias totais (3,63 ppm +/- 1,290 ppm, Romer Labs, código BRM 003017, lote M10203B) foi adicionada como forma de garantir a qualidade.

Análises estatísticas

Os dados de incidência de grãos ardidos (%), dos teores de fumonisinias totais (ppm), teores de umidade e de incidência de fungos nos grãos (%) foram submetidos à análise de variância (teste F). Para o fator cultivar, as médias de grãos ardidos, dos teores de umidade e de micotoxinas e da incidência de fungos nos grãos, quando significativas pelo teste F, foram comparadas entre si através do teste de Tukey a 5% de significância ($P < 0,05$). Para o fator época de colheita, as referidas médias, quando significativas pelo teste F, foram submetidas à análise de regressão linear ($P < 0,05$). As variáveis estudadas foram analisadas utilizando-se o programa de análises estatísticas Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010).

Resultados e Discussão

As variáveis incidência de grãos ardidos, teor de fumonisinias totais (fumonisinias), incidência de *Fusarium* spp. e de *Stenocarpella* spp. e teor de umidade nos grãos, foram significativas ($P \leq 0,05$) para os fatores cultivar, épocas de colheita e ano. A interação cultivar x ano foi significativa para as variáveis incidência de grãos ardidos e teor de fumonisinias totais ($P \leq 0,05$). As demais interações não foram significativas. Portanto, os fatores época de colheita e ano foram analisados separadamente. O fator cultivar foi analisado na interação com o fator ano.

Para a variável teor de fumonisinias, as amostras referência apresentaram teores médios de 3,1 e 3,3 ppm para as análises realizadas nas safras 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente, portanto, dentro do limite aceitável (3,63 +/- 1,29 ppm). Esses resultados garantem a qualidade das análises nas amostras

de milho de ambos experimentos, as quais foram realizadas simultaneamente.

Na safra 2009/2010, o menor valor de incidência de grãos ardidos foi observado na cultivar Attack, seguido das cultivares BRS1035 e DKB390YG, respectivamente, os quais diferiram entre si (Figura 1). No entanto, uma tendência inversa foi observada para os teores de fumonisinias. Nesse caso, a cultivar DKB390YG apresentou o menor valor de fumonisinias nos grãos, seguido das cultivares BRS1035 e Attack, respectivamente, que também diferiram estatisticamente entre si. Na safra 2010/2011, foi verificada a mesma tendência observada no experimento anterior, embora as cultivares BRS1035 e DKB390YG, que apresentaram os maiores valores de grãos ardidos, e as cultivares Attack e BRS1035, que apresentaram os maiores valores de fumonisinias, não tenham diferido, estatisticamente, entre si.

A análise de regressão linear entre o fator época de colheita e a variável dependente do teor de umidade dos grãos, para a média dos dois anos, apresentou valor de R^2 de 0,95 (Figura 2). O valor do parâmetro b_1 da equação de regressão linear foi negativo, indicando a redução do teor de umidade dos grãos com o atraso da colheita. Os valores médios de umidade variaram entre 17,1 e 11,82%, para as colheitas realizadas aos 135 e 225 DAE, respectivamente. O valor de R^2 da análise de regressão linear para a variável teor de fumonisinias totais em função da época de colheita foi de 0,93, na média dos dois anos. Nesse caso, o valor de b_1 da equação de regressão foi positivo, indicando uma tendência de aumento dos teores de fumonisinias nos grãos com o atraso da colheita (Figura 2). Os valores médios de fumonisinias variaram entre 1,95 e 3,44 ppm, nas colheitas realizadas aos 135 e 225 DAE, respectivamente.

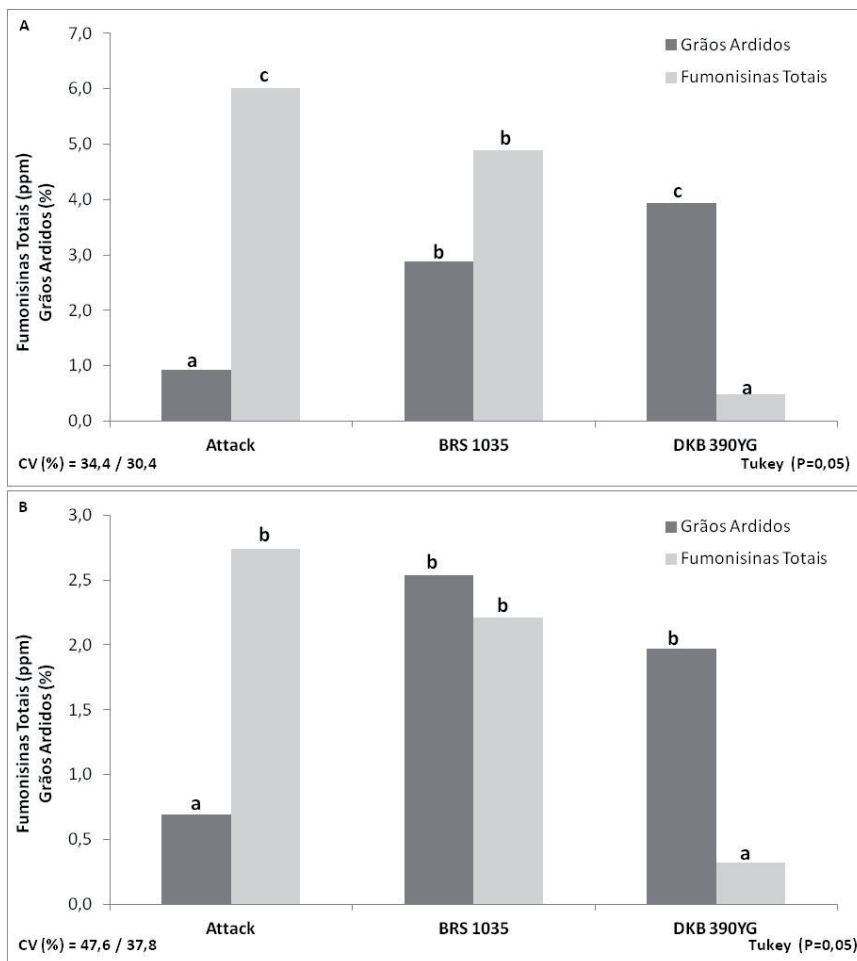


Figura 1. Incidência média de grãos ardidos e teor de fumonisinias totais em grãos de três cultivares de milho, nos experimentos conduzidos nas safras 2009/2010 (A) e 2010/2011 (B).

Para a variável incidência de grãos ardidos, foi verificada a mesma tendência observada para os teores de fumonisinias nos grãos. O valor de R^2 foi de 0,96 e o parâmetro b_1 da equação de regressão foi positivo, o que indica, também, uma tendência de aumento da incidência de grãos ardidos com o atraso da colheita (Figura 2). Os valores médios variaram entre 1,5 e 3,0%, nas colheitas realizadas aos 135 e 225 DAE, respectivamente.

Nos dois anos, a menor incidência de *Fusarium spp.* foi detectada na cultivar DKB390YG (Figura 3). As cultivares Attack e BRS1035 apresentaram os maiores valores de incidência de *Fusarium spp.* e não diferiram entre si, nos dois experimentos realizados. Para a incidência de *Stenocarpella spp.*, as cultivares apresentaram resposta inversa ao verificado para as espécies de *Fusarium spp.* Nesse caso, no primeiro experimento, as cultivares Attack e BRS1035 apresentaram valores de incidência de *Stenocarpella spp.* significativamente inferiores aos verificados na cultivar DKB390YG, não diferindo estaticamente entre si. No segundo experimento, todas as cultivares diferiram entre si. A cultivar Attack apresentou o menor valor de incidência de *Stenocarpella spp.*, seguido das cultivares BRS1035 e DKB390YG, respectivamente (Figura 3).

Em todas as épocas de colheita, a incidência de *Fusarium spp.* foi elevada na cultivar Attack, variando entre 77,9 e 100% (Figura 4). Na cultivar BRS1035, a incidência de *Fusarium spp.* variou entre 72,3 e 82,8%. A menor incidência desse gênero de fungos foi detectada na cultivar DKB390YG, a qual variou entre 30,7 e 79,3%.

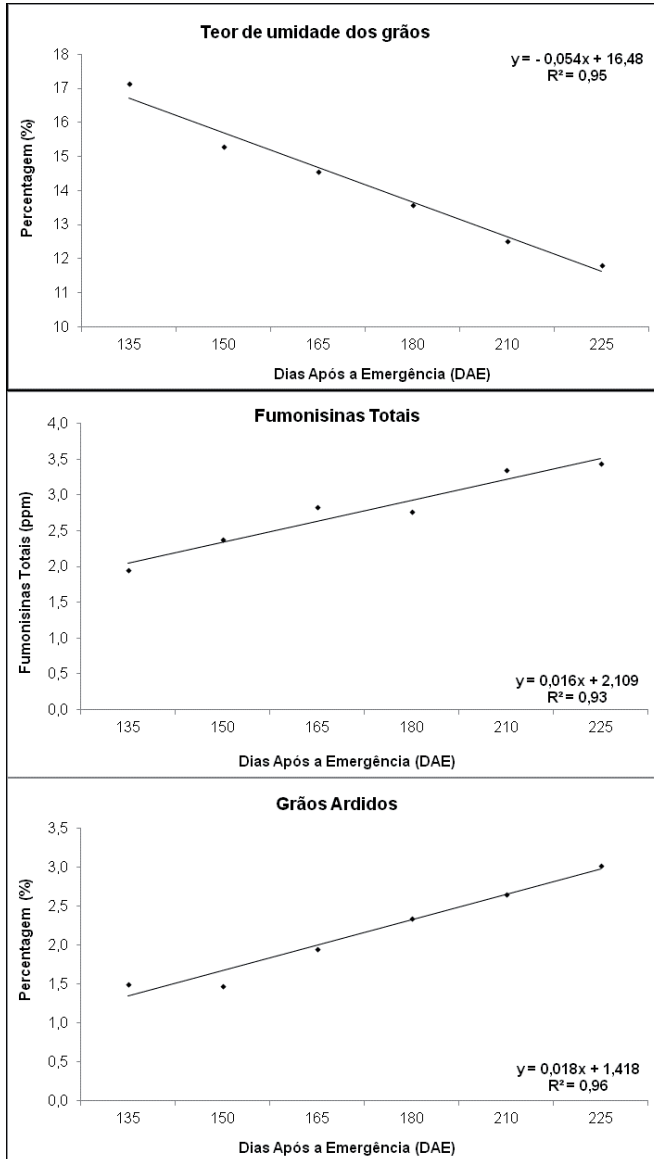


Figura 2. Umidade, teor de fumonisinas totais e incidência de grãos ardidos em milho, em função de diferentes épocas de colheita nas safras 2009/2010 e 2010/2011.

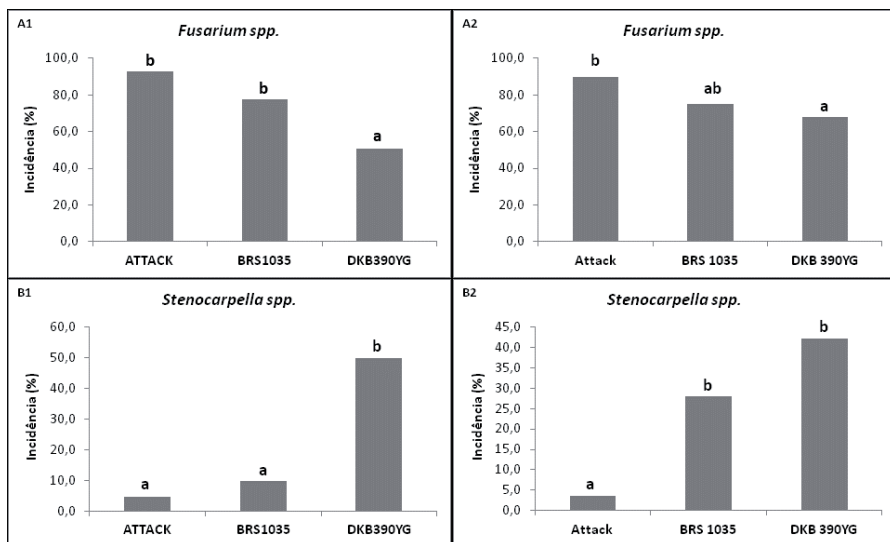


Figura 3. Incidências médias de *Fusarium spp.* (A) e *Stenocarpella spp.* (B) em três cultivares de milho. Os números 1 e 2 representam as safras 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente. Médias seguidas pela mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

No segundo experimento, foi realizada a comparação da incidência de fungos entre os grãos considerados ardidos e os grãos visualmente assintomáticos (aparentemente saudáveis). Em todas as cultivares, a incidência de *Fusarium spp.* foi elevada tanto nos grãos ardidos quanto nos grãos assintomáticos (Figura 5). No entanto, a incidência de *Stenocarpella spp.* foi predominantemente mais elevada nos grãos ardidos. Na cultivar BRS1035, não foi detectada incidência de *Stenocarpella spp.* em grãos assintomáticos, estando esse gênero de fungos, na maioria dos casos, restrito aos grãos apodrecidos.

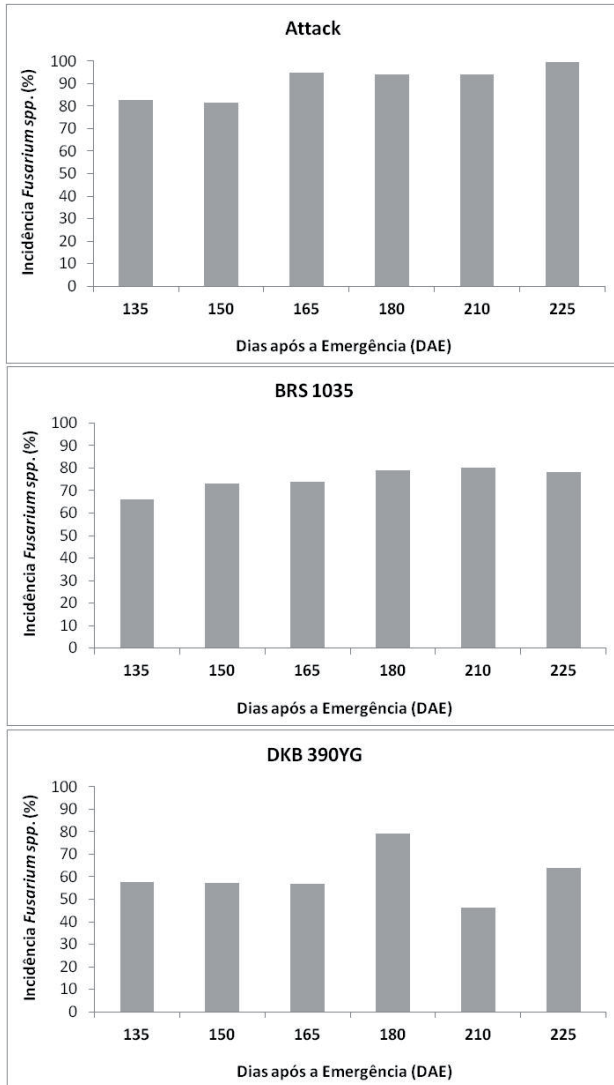


Figura 4. Incidência média de *Fusarium* spp. em grãos de milho em diferentes épocas de colheita. Os valores representam as médias das três cultivares e dos dois anos de estudo.

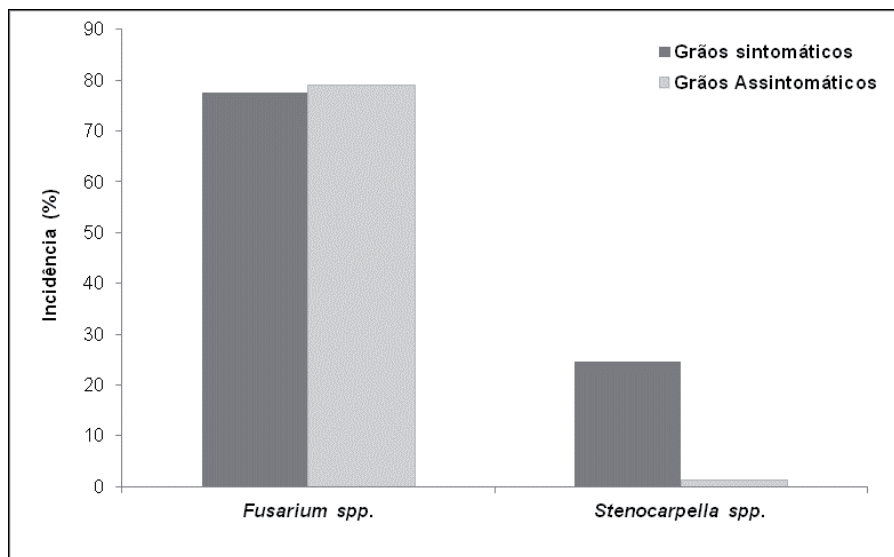


Figura 5. Incidências médias de *Fusarium spp.* e *Stenocarpella spp.* em grãos sintomáticos (ardidos) e assintomáticos (visualmente sadios) de milho. Os valores representam as médias para as três cultivares no experimento conduzido na safra 2010/2011.

Embora tenham sido detectadas diferenças entre as cultivares e as épocas de colheita, os percentuais de incidência de grãos ardidos detectados nos dois anos desse estudo foram considerados baixos, não ultrapassando o limite de 6% estabelecido como valor máximo para a presença de grãos ardidos em lotes ou cargas de grãos de milho no Brasil. No entanto, para os teores de fumonisinias totais, foram detectados valores acima do limite máximo de 5 ppm estabelecido recentemente pelo Ministério da Saúde, para milho em grão não processado, que entrará em vigor a partir de 2014.

No presente trabalho não foi detectada, entre as cultivares, correlação entre a incidência de grãos ardidos e o acúmulo de fumonisinias nos grãos. O híbrido DKB390YG apresentou as

maiores incidência de grãos ardidos nos dois anos de estudo, no entanto, os teores de fumonisinias totais nessa cultivar foram estatisticamente menores que as detectadas nas demais cultivares, nos dois anos (Figura 1). Esse fato pode ser explicado devido à menor incidência de fungos do gênero *Fusarium spp.*, responsáveis pela produção de fumonisinias, na cultivar DKB390YG. Por outro lado, a elevada incidência de grãos ardidos nessa cultivar pode ser justificada pela incidência significativamente maior de *Stenocarpella spp.* em comparação às demais (Figura 3). A elevada suscetibilidade da cultivar DKB390YG aos fungos do gênero *Stenocarpella spp.* tem sido relatada em outros trabalhos. Mendes et al. (2011), avaliando a viabilidade de inoculações de fungos causadores de podridões de espigas, em condição de campo, relatam a elevada suscetibilidade da cultivar DKB390 às espécies *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora*. Resultados semelhantes foram obtidos por Mendes et al. (2012).

No milho, o ponto de máximo acúmulo de matéria seca nos grãos ocorre na fase de maturação fisiológica, quando estes se encontram com teor de água um pouco acima de 30% (MAGALHÃES; DURÃES, 2011). No entanto, a elevada umidade dos grãos nesta fase inviabiliza a colheita mecanizada, podendo levar a severos danos por amassamento dos grãos (MARQUES et al., 2009; ALVES et al., 2001). Segundo Mantovani (1989), o período ideal para a colheita do milho corresponde ao de teor de água nos grãos entre 18 e 26%. No presente trabalho, a primeira colheita foi realizada aos 135 DAE, quando os grãos apresentavam cerca de 17% de umidade. A partir desse momento, foi detectada uma redução gradativa do teor de água dos grãos, chegando a 12,3 e 11,3%, nas colheitas realizadas aos 225 DAE, nos dois anos, respectivamente.

A permanência das espigas no campo para permitir a secagem dos grãos favorece a incidência de fungos toxigênicos e o acúmulo de micotoxinas em milho (LAUREN et al., 2007; KAYA et al., 2005; BRUNS; ABBAS, 2004; SANTIN et al., 2004). No entanto, Santin et al. (2004) verificaram que o atraso na colheita não influenciou no aumento da incidência de grãos ardidos, embora tenha resultado no aumento da incidência de *Fusarium graminearum* e das espécies dos gêneros *Aspergillus spp.*, *Cephalosporium spp.* e *Penicillium spp.* Segundo esses autores, o atraso na colheita resultou, ainda, na redução da incidência de *F. verticillioides*. No presente trabalho, o atraso na colheita resultou em um aumento gradativo da incidência de grãos ardidos e dos teores de fumonisinias totais nos grãos, nos dois anos de estudo. Segundo Marin et al. (1998), as espécies do gênero *Fusarium spp.* infectam e colonizam, preferencialmente, substratos com teores de umidade maiores, ao contrário do que ocorre com os gêneros *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* Essa tendência não foi observada no presente trabalho, uma vez que a incidência de fungos do gênero *Fusarium spp.* foi elevada em todas as épocas de colheita (Figura 5) e, considerando o aumento gradativo dos teores de fumonisinias observado nos grãos, é provável que a espécie *F. verticillioides* tenha sido predominante entre as desse gênero, por ser esta uma das principais produtoras dessa micotoxina em grãos de milho. Lauren et al. (2007) verificaram uma tendência de aumento das micotoxinas nivalenol e Deoxivalenol, produzidas por espécies do gênero *Fusarium spp.*, com a permanência das espigas no campo. Segundo os mesmos autores, a incidência de espécies do gênero *Fusarium spp.*, em híbridos suscetíveis, continuou aumentando mesmo com a redução do teor de água dos grãos. Esse fato também foi verificado no presente trabalho, visto que, nas cultivares mais suscetíveis à *Fusarium spp.*, a incidência das espécies desse gênero foi elevada mesmo com a redução da umidade dos grãos

observada nas últimas colheitas. É provável, portanto, que a reação (resistência ou suscetibilidade) das cultivares tenha um efeito mais pronunciado na incidência desse gênero de fungos que a umidade dos grãos em si.

Os resultados dos teores de fumonisinias nos grãos em função do atraso da colheita, obtidos nesse trabalho, estão de acordo com os relatados em outros trabalhos na literatura. Segundo Kaaya et al. (2005), a contaminação com aflatoxinas em grãos de milho teve início na fase de maturação fisiológica dos grãos e aumentou cerca de 4 vezes com um atraso de 3 semanas e mais que 7 vezes quando a colheita foi retardada por 4 semanas. Bush et al. (2004), estudando a infecção e a produção de fumonisinias em diferentes fases de desenvolvimento de grãos de milho na Carolina do Norte, verificaram que a infecção dos grãos por *F. verticillioides* e o acúmulo de fumonisinias foram detectados nos grãos próximos da fase de maturação fisiológica e aumentaram até a data média de colheita do milho. Segundo os autores, a realização da colheita dos grãos mais cedo, em torno de 25% de umidade, pode auxiliar na redução do nível de contaminação com essa micotoxina nos grãos.

No segundo experimento desse trabalho, foi realizada a análise de patologia tanto dos grãos sintomáticos (ardidos) quanto dos grãos assintomáticos. Essa análise revelou que fungos do gênero *Fusarium spp.* estavam presentes, em elevado nível de incidência, tanto nos grãos sintomáticos quanto naqueles assintomáticos (Figura 5). Contrariamente, fungos do gênero *Stenocarpella spp.* foram detectados quase que exclusivamente em grãos sintomáticos. Esses resultados podem explicar, pelo menos em parte, os elevados teores de fumonisinias detectados nos grãos, mesmo com a baixa incidência de grãos ardidos detectada nos dois anos de estudo. Bush et al. (2004) verificaram baixa incidência de

grãos apodrecidos, mofados ou com descolorações nos dois anos de estudo. No entanto, os autores afirmam que apesar da baixa ocorrência de grãos ardidos, foram detectadas concentrações de fumonisinias nos grãos superiores aos limites estabelecidos para essa micotoxina em grãos in natura. Existe um grande número de modos pelos quais as espécies de *Fusarium spp.* podem infectar grãos de milho, resultando em grãos apodrecidos ou em infecções assintomáticas (BACON et al., 1992; HEADRICK; PATAKY, 1991; MUNKVOLD et al., 1997; THOMAS; BUDDENHAGEN, 1980). Segundo os mesmos autores, a incidência de grãos assintomáticos é, geralmente, maior que a incidência de infecções com presença de sintomas de podridão dos grãos.

Na comparação entre os dois anos, verificou-se, em média, teores de fumonisinias totais e incidência de grãos ardidos significativamente maiores ($P \leq 0,05$) no ano safra 2009/2010 (Figura 6). Os teores de fumonisinias totais foram de 3,8 e 1,76 ppm, nos anos safra 2009/2010 e 2010/2011, respectivamente. Quanto à incidência de grãos ardidos, os valores médios foram, na mesma ordem anterior, 2,59 e 1,73%, respectivamente. A comparação dos registros das variáveis climáticas, no período de condução dos experimentos, revela que as temperaturas (máxima e mínima) e a umidade relativa do ar se comportaram de modo semelhante nos dois anos (Figura 7). No entanto, uma diferença marcante entre os anos foi verificada para a variável precipitação. No ano 2009/2010, o total acumulado de chuva, no período de dezembro a julho, foi de 934,7 mm. No mesmo período do ano 2010/2011, o total acumulado de chuva foi de 260,9 mm, totalizando uma diferença de 673,8 mm. O estresse hídrico tem sido considerado um dos principais fatores determinantes da ocorrência de podridões de espigas e produção de fumonisinias por *F. verticillioides* em milho (MAIORANO et al., 2009; BATTILANI et al., 2008; DE LA CAMPANA et al., 2005;

MILLER, 2001). Os resultados obtidos no presente trabalho não reforçam essa informação. Uma elevada incidência de espécies do gênero *Fusarium spp.* foi detectada nos dois anos, tanto em grãos sintomáticos quanto assintomáticos. Os teores de fumonisinias totais foram significativamente mais elevados no ano 2009/2010, quando ocorreu um maior volume de chuva no período de condução do experimento. Parsons e Munkvold (2010) avaliaram o efeito da data de plantio, do estresse hídrico e ataque de insetos na incidência de podridões de espigas e no acúmulo de fumonisinias produzidas por *Fusarium spp.* Segundo os autores, dentre os fatores avaliados, o estresse hídrico foi o de menor efeito na ocorrência de podridões de espiga e fumonisinias nos grãos. Embora exista a correlação entre o estresse hídrico e o aumento da incidência de podridões de espiga por espécies do gênero *Fusarium spp.* e da concentração de fumonisinias, o fator causal dessa maior severidade, sobre condições secas, pode incluir outros estresses que estão correlacionados com a insuficiente umidade do solo, como elevadas temperaturas e ocorrência de algumas espécies de insetos. Temperaturas mais elevadas estão correlacionadas com o maior crescimento de *F. verticillioides* (SAMAPUNDO et al., 2005; REID et al., 2009) e são frequentemente associadas com condições de estresse hídrico, o que permite um crescimento mais rápido do fungo, resultando em maior severidade da doença e maior teores de fumonisinias nos grãos.

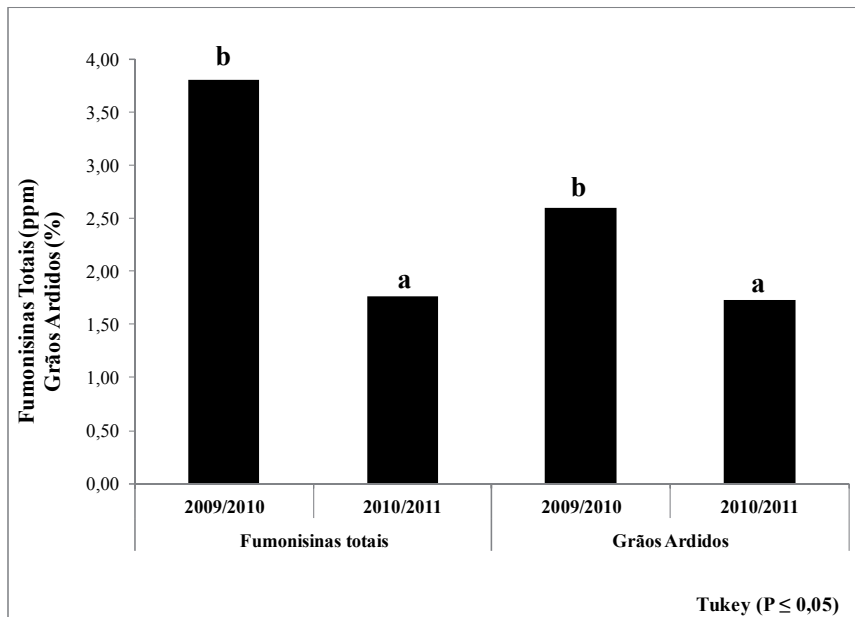


Figura 6. Valores médios de fumonisinias totais (ppm) e de grãos ardidos (%) nos anos safra 2009/2010 e 2010/2011. Os valores, em cada ano, representam as médias das três cultivares nas seis épocas de colheita. Médias seguidas por letras distintas, dentro de cada ano, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

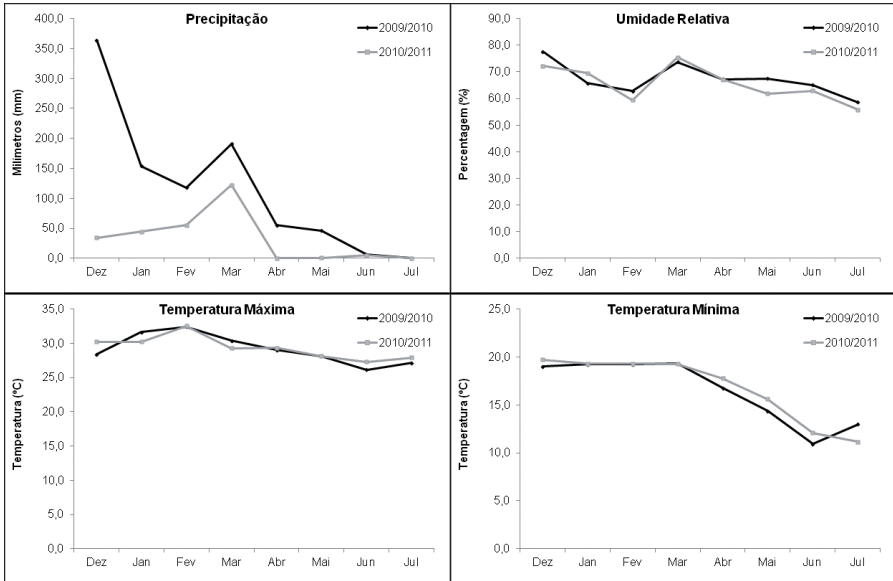


Figura 7. Precipitação (mm), umidade relativa (%) e temperaturas (°C) máxima e mínima, no período de dezembro/2009 a julho/2010 e dezembro/2010 a julho/2011, obtidas na estação climatológica da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas - MG.

Conclusões

O atraso na realização da colheita, nas condições do presente trabalho, resultou no aumento gradativo da incidência de grãos ardidos e dos teores de fumonisinias totais nos grãos de todas as cultivares avaliadas. Portanto, evitar a permanência dos grãos no campo por longos períodos de tempo, após a maturação fisiológica, pode ser uma estratégia para contribuir com a redução da contaminação dos grãos com fungos toxigênicos e fumonisinias.

As espécies do gênero *Fusarium spp.* foram capazes de colonizar e de produzir elevados teores de fumonisinias mesmo com baixo teor de umidade nos grãos.

Fungos do gênero *Fusarium spp.* podem estar presentes tanto nos grãos com sintomas de podridão quanto em grãos assintomáticos.

Agradecimentos

À Embrapa Milho e Sorgo e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências

ALVES, W. M.; FARONI, L. R. A.; CORRÊA, P. C.; QUEIROZ, D. M.; TEIXEIRA, M. M. Influência dos teores de umidade de colheita na qualidade do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 26, n. 2, p. 40-45, 2001.

BACON, C. W.; BENNETT, R. M.; HINTON, D. M.; VOSS, K. A. Scanning electron microscopy of *Fusarium moniliforme* within asymptomatic corn kernels and kernels associated with equine

leukoencephalomalacia. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, p.144-148, 1992.

BATTILANI, P.; PIETRI, A.; BARBANO, C.; SCANDOLARA, A.; BERTUZZI, T.; MAROCCO, A. Logistic regression modeling of cropping systems to predict fumonisin contamination in maize. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, p. 10433-10438, 2008.

BLANDINO M.; REYNERI A.; VANARA F. Effect of plant density on toxigenic fungal infection and mycotoxin contamination of maize kernels. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 106, p. 234-241, 2008.

BROOKER, D. B.; BAKKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.

BRUNS, H. A.; ABBAS, H. K. Effects of harvest date on maize in the humid sub-tropical mid-south USA. **Maydica**, Bergamo, v. 49, n. 1, p. 1-7, 2004.

BUSH, B. J.; CARSON, M. L.; CUBETA, M. A.; HAGLER, W. M.; PAYNE, G. A. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, n. 1, p. 88-93, 2004.

CRUZ, J. C.; GARCIA, J. C.; FILHO, I. A. P.; LUCIANO, B. B. P.; LUCIANO, R. Q. **Caracterização dos sistemas de produção de milho para altas produtividades**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 124).

Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/660102/1/Circ124.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2012.

DE LA CAMPA, R.; HOOKER, D. C.; MILLER, J. D.; SCHAAFSSMA, A. W.; HAMMOND, B. G. Modeling effects of environment, insect damage, and Bt genotypes on fumonisin accumulation in maize in Argentina and the Philippines. **Mycopathologia**, v. 159, p. 539-552, 2005.

FERREIRA, D. F. **Sisvar versão 5.3 (Biud 75)**: sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2010.

HEADRICK, J. M.; PATAKY, J. K. Maternal influence on the resistance of sweet corn lines to kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 268-274, 1991.

HERMANNNS, G.; PINTO, F. T.; KITAZAWA, S. E. Fungos e fumonisinás no período pré-colheita do milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 7-10, 2006.

KAAYA, A. N.; WARREN, H. L.; KYAMANYWA, S.; KYAMUHANGIRE, W. The effect of delayed harvest on moisture content, insect damage, moulds and aflatoxin contamination of maize in Mayuge district of Uganda. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v. 85, p. 2595-2599, 2005.

LAUREN, D. R.; SMITH, W. A.; DI MENNA, M. E. Influence of harvest date and hybrid on the mycotoxin content of maize (*Zea mays*) grain grown in New Zealand. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Wellington, v. 35, p. 331-340, 2007.

MAIORANO, A.; REYNERI, A.; SACCO, D.; MAGNI, A.; RAMPONI, C. A dynamic risk assessment model (FUMAGrain) of fumonisin synthesis by *Fusarium verticillioides* in maize grain in Italy. **Crop Protection**, Surrey, v. 28, p. 243-256, 2009.

MAGALHÃES, P. C.; DURAES, F. O. M. Ecofisiologia. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho**. 7. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de produção, 1). Disponível em: <www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/ecofisiologia.htm>. Acesso em: 23 ago. 2012.

MANTOVANI, E. C. **Colheita mecânica, secagem e armazenamento do milho**. São Paulo: Fundação Cargill, 1989. cap. 1, p. 1-24.

MARIN, S.; SANCHIS, V.; SAENZ, R.; RAMOS, A. J.; VINAS, I.; MAGAN, N. Environmental-factors, in-vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. **Mycological Research**, Cambridge, v. 102, n. 7, p. 831-837, 1998.

MARQUES, O. J.; VIDIGAL FILHO, P. S.; DALPASQUALE, V. A.; SCAPIM, C. A.; PRICINOTTO, L. F.; MACHINSKI JÚNIOR, M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum-Agronomy**, Maringá, v. 31, p. 667-675, 2009.

MENDES, M. C.; VON PINHO, R. G.; MACHADO, J. da C.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; FALQUETE, J. C. F. Qualidade sanitária de grãos de milho com e sem inoculação a campo dos fungos causadores de podridões de espigas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 931-939, 2011.

MENDES, M.; VON PINHO, R.; VON PINHO, E.; FARIA, M. Comportamento de híbridos de milho inoculados com os fungos causadores do complexo grãos ardidos e associação com parâmetros químicos e bioquímicos. **Ambiência**, Guarapuava, v. 8, n. 2, p. 275-292, 2012.

MILLER, J. D. Factors that affect the occurrence of fumonisin. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, p. 321-324, 2001.

MUNKVOLD, G. P.; McGEE, D. C.; CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 209-217, 1997.

PALACIN, J. J. F.; LACERDA FILHO, A. F.; CECON, P. R.; MONTES, E. J. M. Determinação das isotermas de equilíbrio higroscópico de milho (*Zea mays* L.) nas espigas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 31, p. 197-205, 2006.

PASTER, N.; BULLERMAN, L. B. Mould spoilage and mycotoxins formation in grains as controlled by physical means. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 257-265, 1988.

PARSONS, M. W.; MUNKVOLD, G. P. Associations of planting date, drought stress, and insects with *Fusarium* ear rot and fumonisin B1 contamination in California maize. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 27, p. 591-607, 2010.

PLACINTA, C. M.; D'MELLO, J. P. F.; MacDONALD, A. M. C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 78, p. 21-37, 1999.

QUEIROZ, V. A. V.; ALVES, G. L. de O.; CONCEIÇÃO, R. R. P.; GUIMARÃES, L. J.; MENDES, S. M.; RIBEIRO, P. E. A.; COSTA, R. V. Occurrence of fumonisins and zearalenone in maize stored in family farm in Minas Gerais, Brazil. **Food Control**, Oxford, v. 28, p. 83-86, 2012.

REID, L. M.; NICOL, R. W.; OUELLET, T.; SAVARD, M.; MILLER, J. D.; YOUNG, J. C.; STEWART, D. W.; SCHAAFSMA, A. W. Interaction of *Fusarium graminearum* and *F. moniliforme* in maize ears: disease progress, fungal biomass, and mycotoxin accumulation. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 1028-1037, 2009.

SAMAPUNDO, S.; DEVLIEHGERE, F.; MEULENAER, B. de; DEBEVERE, J. Effect of water activity and temperature on growth and the relationship between fumonisin production and the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on corn. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 68, p. 1054-1059, 2005.

SANTIN, J. A.; REIS, E. M.; MATSUMURA, A. T. S.; MORAES, M. G. Efeito do retardamento da colheita de milho na incidência de grãos ardidos e de fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, p.182-192, 2004.

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

STACK, M. E. Analysis of fumonisin B1 and its hydrolysis product in tortillas. **Journal of AOAC International, Arlington**, v. 81, p. 737-740, 1998.

THOMAS, M. D.; BUDDENHAGEN, I. W. Incidence and persistence of *Fusarium moniliforme* in symptomless maize kernels and seedlings in Nigeria. **Mycologia**, New York, v. 72, p. 882-887, 1980.

Embrapa

Milho e Sorgo



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA