

Controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho por actinomicetos

Wellington Bressan¹
José Edson Fontes Figueiredo²

Fusarium moniliforme J. Sheldon (*Giberella fujikuroi*) (Sawada Wolen) é um dos principais patógenos do milho (*Zea mays* L.), causando redução na germinação da semente, morte de plântulas, podridão de raízes e de colmos e podridão dos grãos. O patógeno pode afetar a qualidade dos grãos pela produção de compostos tóxicos, como ácido fusárico, fusarinas e micotoxinas (B_1 e B_2).

Como um endofítico, *Fusarium moniliforme* pode permanecer durante o ciclo da cultura do milho como um parasita, sem causar sintoma visível na planta ou no grão. O fungo pode sobreviver em resíduos de culturas.

O controle, a prevenção e a detecção da infecção endofítica desse fungo são difíceis, especialmente porque os grãos não apresentam, muitas vezes, sintomas visíveis da presença do fungo. Os métodos mais comumente utilizados para o controle desse

patógeno são os fungicidas aplicados nas sementes e práticas culturais como a rotação de culturas. Embora o tratamento químico com fungicidas seja efetivo no controle do desenvolvimento fúngico nas sementes, ele pode afetar a conservação e o acesso à diversidade biológica do solo e acarretar contaminação ambiental, como a do subsolo. Com isso, o estudo e a utilização de microorganismos antagonistas a *Fusarium moniliforme*, como agentes de controle biológico, constituem uma das principais alternativas de controle na espermosfera e rizosfera.

Actinomicetos são bactérias filamentosas encontradas naturalmente nos solos, produtoras de substâncias que, quando testadas *in vitro*, podem apresentar atividade antagonista ao desenvolvimento de fungos.

¹ Eng. Agr., Dr. Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151 CEP 35 701-970 Sete Lagoas, MG.
E-mail: bressan@cnpmc.embrapa.br

² Biólogo, Embrapa Milho e Sorgo. E-mail: jeff@cnpmc.embrapa.br

Neste trabalho, foi estudada a utilização de Actinomicetos, do gênero *Streptomyces* sp., visando controlar o desenvolvimento de *F. moniliforme* *in vitro* e em sementes infectadas por esse patógeno.

Estudos preliminares foram conduzidos *in vitro*, para avaliar a efetividade do controle biológico do *Fusarium moniliforme*. Utilizou-se o isolado FM57 da coleção da Embrapa Milho e Sorgo e dez isolados de *Streptomyces* sp. pertencentes à coleção do Departamento de Antibiótico da Universidade Federal de Pernambuco DAUFPE (11470, 14632, 14885, 12343, 14985, 13505, 12473, 14423, 12343, 14954).

Nos testes em condições *in vitro*, foi utilizado o método de discos de agar contendo isolado do fungo ou de *Streptomyces* sp. Os isolados de *Fusarium moniliforme* foram inoculados em placas de Petri contendo o meio de cultivo extrato de malte- extrato de levedura – agar. Após a incubação e o crescimento, os isolados foram cortados em discos de 5mm de diâmetro e colocados no centro da placa de Petri. Quatro discos do mesmo diâmetro do isolado FM57 foram colocados na mesma placa, em posições opostas. As placas inoculadas foram incubadas a 28 °C, por dez dias, e a zona de inibição do crescimento do fungo, avaliada pelo diâmetro do halo formado, foi medida e tomada como referência da atividade antifúngica dos isolados de *Streptomyces* sp.

Os testes para avaliação da eficiência antifúngica, dos isolados DAUFPE 11470 e DAUFPE 14632, nas sementes de milho, foram conduzidos em caixas de plástico de germinação (10,5 x 10,5 x 3 cm). Sementes desinfestadas de milho, da cultivar BR 201, foram imersas em suspensão de esporos e micélios de *Fusarium moniliforme* por 24 horas, a 25 °C, sob agitação, sendo em seguida retiradas dos frascos e secadas à temperatura ambiente. A inoculação com isolados de *Streptomyces* sp. foi efetuada colocando as sementes inoculadas em frascos individuais contendo uma suspensão de cada

isolado. Os frascos foram agitados por 24 horas, a 28 °C. Sementes não inoculadas, utilizadas como controle, foram imersas em água destilada esterilizada. As operações de inoculação foram efetuadas em condições sépticas.

Vinte e cinco sementes inoculadas de cada tratamento foram colocadas em caixas de germinação contendo papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada e incubadas por oito dias a 22 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12/12 luz-escuro. As avaliações da porcentagem de sementes germinadas e da porcentagem de incidência de *Fusarium moniliforme* nas sementes foram efetuadas em microscópio estereoscópico com aumento de 50 X.

Os dados obtidos foram analisados pelo modelo linear geral do SAS (SAS Institute, 1990). Os dados sobre a porcentagem de germinação e porcentagem de sementes com *Fusarium moniliforme* foram transformados em arco-seno antes das análises. A comparação das médias foi efetuada pelo teste de Duncan.

Nos testes *in vitro*, os resultados obtidos mostraram que a efetividade antifúngica de *Streptomyces* sp. no controle de *Fusarium moniliforme* variou entre os isolados testados. Os halos de inibição variaram de 10 a 52 mm (Tabela 1). Embora todos os isolados tenham mostrado atividade antifúngica, os isolados DAUFPE 11470 e DAUFPE 14632 foram os mais eficientes (Figura 1).

Com base na germinação, os tratamentos das sementes inoculadas com os isolados de *Streptomyces* sp., em combinação com *Fusarium moniliforme*, não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. O tratamento das sementes apenas com *Fusarium moniliforme* também não diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) do tratamento das sementes desinfestadas e sem inoculação, indicando que não houve um efeito patogênico do fungo sobre a germinação das sementes. Apesar de esse fungo ter sido

detectado em todos os tratamentos e não ter sido observado seu efeito na germinação, ele pode se constituir em uma fonte para posterior infecção das plantas.

Quanto à incidência de *Fusarium moniliforme* nas sementes de milho, os isolados de *Streptomyces* sp., DAUFPE 11470 e DAUFPE 14632 reduziram significativamente ($p=0,05$) a presença de *Fusarium moniliforme* nas sementes germinadas. A maior redução na incidência desse fungo (96,8%) foi obtida com o isolado DAUFPE 11470, quando comparada com as sementes inoculadas somente com *Fusarium moniliforme*. A redução da incidência desse fungo pelo isolado DAUFPE 14632 foi de 95,9%. A ação antifúngica desses isolados confirmou os resultados obtidos em condições *in vitro*.

Entretanto, a incidência de *Fusarium moniliforme* não apresentou diferença significativa ($p=0,05$) entre as sementes inoculadas com os isolados de *Streptomyces* sp. e as sementes desinfestadas e não inoculadas (Figura 2), indicando uma ação antifúngica eficiente desses isolados. O efeito antifúngico dos isolados de *Streptomyces* sp. pode ter sido devido à produção de substâncias bioativas, como antibióticos e/ou enzimas líticas.

Os resultados obtidos indicam que a inoculação das sementes de milho com isolados de *Streptomyces* spp. reduz a incidência de *Fusarium moniliforme* nas sementes e mostram o potencial desses isolados como agentes de controle biológico.

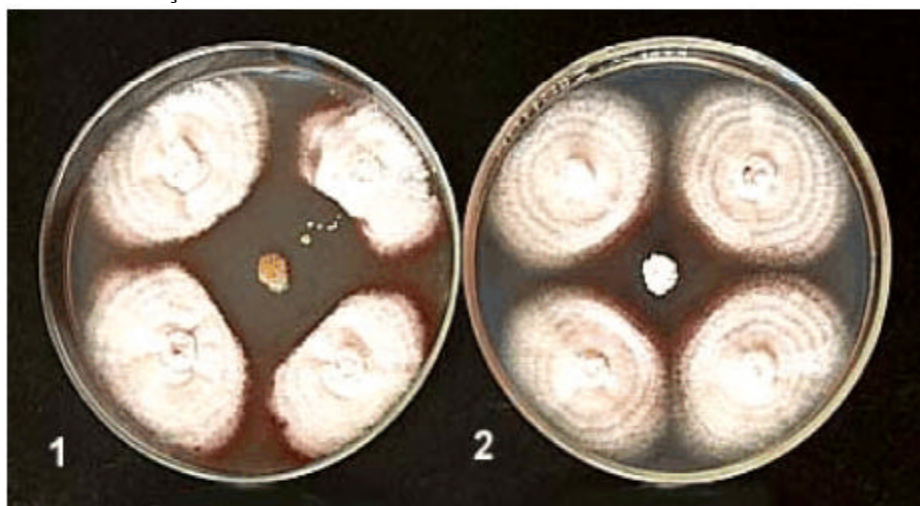


Figura 1. Controle *in vitro* de *Fusarium moniliforme* isolado FM 57 por isolados de *Streptomyces* spp. DAUFPE 11470 (1) e DAUFPE 14632 (2).

Tabela 1. Inibição *in vitro* de *Fusarium moniliforme*, isolado FM 57, por isolados de *Streptomyces* spp.

Isolados de <i>Streptomyces</i> spp.	Diâmetro da zona de inibição (mm).
DAUFPE 11470	52 ⁿ
14632	41 ^t
14885	26 ⁿ
12343	25 ^c
14985	25 ^c
13505	21 ⁿ
12473	20 ^c
14423	18 ⁿ
12343	14 ^e
14954	10 ^l

Médias dentro das colunas, seguidas de mesma letra, não apresentam diferenças significativas, ao nível de 5%.

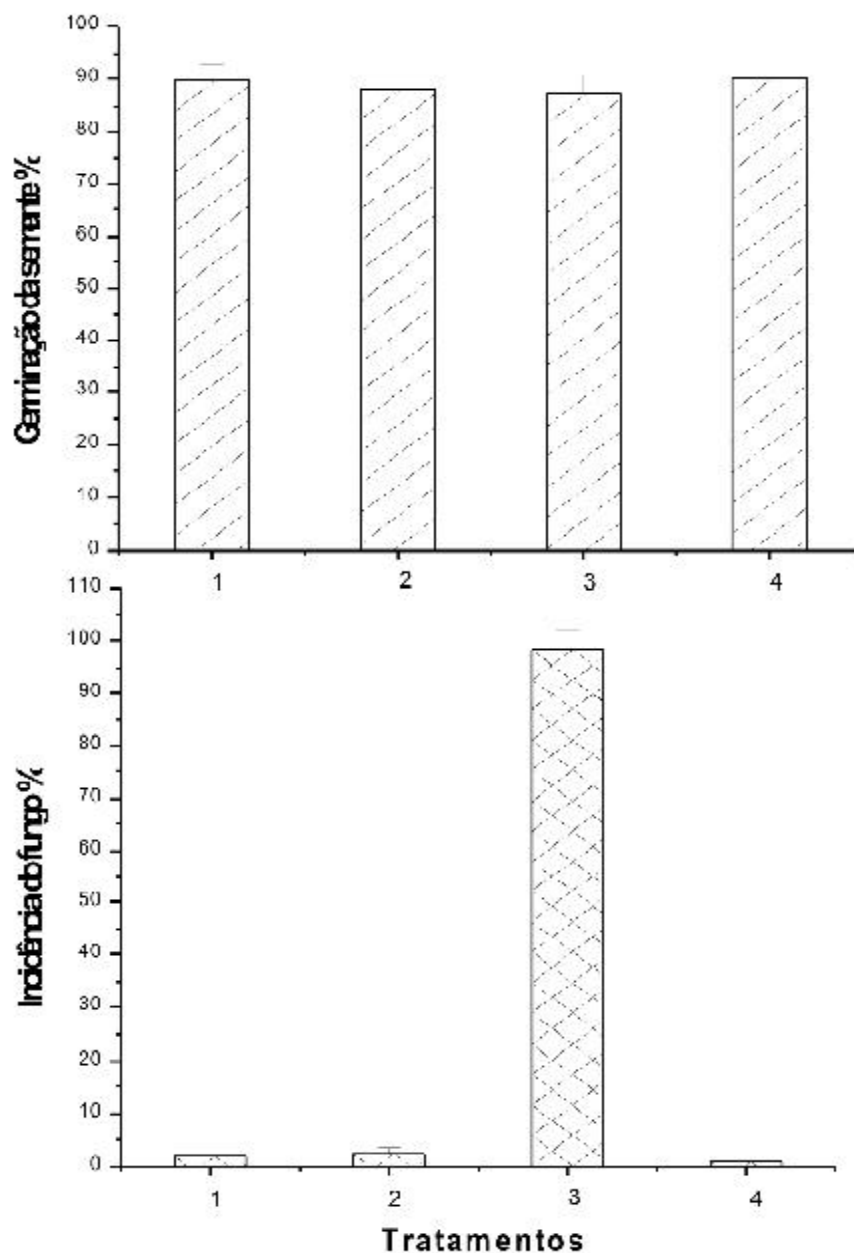


Figura 2. Germinação das sementes de milho e incidência de *Fusarium moniliforme* isolado FM57. (1) *Streptomyces* sp. isolado DAUFPE 11470 + *Fusarium moniliforme*; (2) *Streptomyces* sp. isolado DAUFPE 14632 + *Fusarium moniliforme*; (3) *Fusarium moniliforme*; (4) Sementes sem inoculação.

Comunicado Técnico, 65

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
 Caixa Postal 151 CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
 Fone: 0xx31 3779 1000
 Fax: 0xx31 3779 1088
 E-mail: sac@cnpmis.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Ivan Cruz
Secretário-Executivo: Frederico Ozanan Machado Durães
Membros: Antônio Carlos de Oliveira, Arnaldo Ferreira da Silva, Carlos Roberto Casela, Fernando Tavares Fernandes e Paulo Afonso Viana

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Expediente

Supervisor editorial: José Heitor Vasconcellos
Revisão de texto: Dilermando Lúcio de Oliveira
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

1ª edição
 1ª impressão (2003) Tiragem: 200