

Efeito de *Fusarium moniliforme* na qualidade de sementes de milho

Luciana Teresa Dias Cappelini¹, Rita de Cássia Panizzi², Roberval Daiton Vieira³, Juliana Altafin Galli⁴

¹ Unesp-FCAV, Departamento de Fitossanidade. Via de Acesso Prof. Paulo Donati Castellane, s/n. CEP 14884-900, Jaboticabal (SP), Brasil.

² Unesp-FCAV, Departamento de Fitossanidade. Autor para correspondência: rpanizzi@fcav.unesp.br

³ Unesp-FCAV, Departamento de Produção Vegetal.

⁴ Aluna de Doutorado em Produção Vegetal da Unesp-FCAV.

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de *Fusarium moniliforme* sobre a qualidade fisiológica de sementes do milho híbrido Zeneca Co 32, por meio da determinação do teor de água antes e após o teste de envelhecimento acelerado, dos testes de germinação e dos testes de vigor: envelhecimento acelerado, frio e condutividade elétrica. Avaliou-se também o efeito do tratamento das sementes (armazenadas durante 12 meses) com diferentes fungicidas. Observou-se alta incidência de *F. moniliforme* nas sementes sem e com desinfestação superficial com hipoclorito de sódio a 1% por três minutos (98 e 41%, respectivamente). Verificou-se que o patógeno não afetou a capacidade germinativa das sementes e que o tratamento com benomil foi o que apresentou melhor resultado. *Fusarium moniliforme* teve sua viabilidade reduzida após 12 meses de armazenamento das sementes em câmara fria.

Palavras-chave adicionais: sanidade; germinação; armazenamento; fungicidas.

Abstract

CAPPELINI, L. T. D.; PANIZZI, R. de C.; VIEIRA, R. D.; GALLI, J. A. Effect of *Fusarium moniliforme* on the quality of maize seeds. *Científica*, Jaboticabal, v.33, n.2, p. 185-191, 2005.

The present work had as objective to evaluate the sanitary quality of maize hybrid Zeneca Co 32 seeds in relation to *Fusarium moniliforme*. It was also evaluated the influence of this fungi on the physiologic quality of the seeds, through the determination of water content before and after the accelerated aging test, the germination test and the vigor tests: accelerated aging, cold and bulk conductivity. It was observed high incidence of *F. moniliforme* in seeds with and without surface sterilization with sodium hypochlorite 1% for three minutes (98 and 41%, respectively). In relation to germination, it was verified that the pathogen did not affect the germination capacity of the seeds. Different fungicides were tested for the seed treatment, and it was observed a better result in seeds treated with benomyl. *Fusarium moniliforme* has its ability affected during the storage of maize seeds, with tendency to decrease its incidence in seeds after 12 months of storage.

Additional keywords: seed pathology; germination; storage; fungicide.

Introdução

A semente é um dos principais insumos da agricultura; contém o potencial genético da espécie, o que permite a obtenção de alto rendimento. Para que ela possa expressar todo o seu potencial genético, é necessário, entre outros fatores, que seja de alta qualidade fisiológica e sanitária. As sementes de milho são suscetíveis a vários fungos, podendo estes causar prejuízos para o estabelecimento da planta, redução do estande e debilitação das plântulas (PINTO, 1998).

Vários microrganismos podem ser encontrados no solo e, entre eles, *Fusarium moniliforme* Sheld. está, geralmente, associado às sementes de milho no Brasil (REIS & CASA, 1996; PINTO, 1997) e em algumas regiões dos Estados Unidos (MUNKVOLD et al., 1997).

Muitos autores têm associado a presença de *F. moniliforme* nas sementes com a redução da germinação e da emergência das plântulas de milho, principalmente em condições adversas (LIMONARD, 1966; HEADRIK et al., 1990; CASA et al., 1995). Vários afirmam, porém, que esse fungo não afeta a qualidade fisiológica da semente de milho (BEDENDO & CARDOSO, 1987). Portanto, apesar de estar o patógeno, freqüentemente, associado a sementes de milho, os resultados de pesquisa e experiências práticas mostram que sua influência sobre a germinação é divergente: da mesma forma que o apodrecimento das sementes e conseqüentes falhas no estande são atribuídas a esse fungo, altas porcentagens de germinação e desenvolvimento de plântulas vigorosas são verificados a partir de sementes com alto nível de infecção (BECKERT et al., 2001). PEIXOTO et al. (1998), avaliando o grau de incidência de microrganismos e

seus reflexos na qualidade fisiológica de sementes de milho, produzidas na região do submédio São Francisco, verificaram incidências de 38% para *F. moniliforme*, 29% para *Aspergillus niger*, 24% para *Penicillium sp.* e 1% para *Macrophomina sp.*, sem a alteração do vigor das sementes de milho.

BECKERT et al. (2001), objetivando verificar a influência de *F. moniliforme* sobre a emergência e o desenvolvimento de plântulas de milho, em condições de solo úmido e frio e em solo seco, verificaram que a presença do fungo nas sementes não afetou a emergência das plântulas em substratos esterilizados, porém os patógenos de solo reduziram drasticamente a porcentagem de emergência das plântulas em solo úmido e frio. No solo, os patógenos encontram condições ideais para parasitar sementes de milho, sobretudo quando a semeadura for realizada em condições subótimas (solo frio e úmido), em que há o impedimento da germinação ou a redução da velocidade de emergência da plântula, expondo as sementes ao ataque de fungos (PINTO, 1993). Nessas condições, TANAKA & BALMER (1980) observaram que a ocorrência de tombamento de plântulas se tornou severa e que *F. moniliforme* foi o principal fungo envolvido. Já VON PINHO et al. (1995) verificaram que *F. moniliforme* não afetou a germinação e o vigor das sementes de milho, nem a emergência de plântulas.

O armazenamento de sementes constitui problema quanto à multiplicação de patógenos, pelo fato de que as mesmas condições de armazenamento que permitem a manutenção da viabilidade das sementes podem, também, favorecer a sobrevivência de muitos patógenos importantes para a cultura (TANAKA et al., 2001).

Com o objetivo de verificar a sobrevivência de fungos associados às sementes de milho, durante 12 meses de armazenamento, em câmara fria (14 °C, 40% UR) e em ambiente não controlado, TANAKA et al. (2001) encontraram, com frequência, os fungos de campo *Alternaria alternata*, *Bipolaris maydis*, *Cephalosporium acremonium*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus spp.* e *Trichoderma spp.*, cuja sobrevivência decresceu ao longo do armazenamento, principalmente em ambiente não controlado. Nessas condições, a sobrevivência de *F. moniliforme* foi gradativamente reduzida até o final dos 12 meses. Por outro lado, ao longo do período, houve aumento das incidências de *Aspergillus* e *Penicillium*, principalmente em ambiente natural. Entretanto, os autores ressaltaram que o armazenamento das sementes em ambiente não controlado, embora tenha provocado a redução do inóculo de *F. moniliforme* e outros fungos importantes, poderia acelerar o processo de deterioração dessas sementes.

O tratamento com fungicidas é uma das estratégias

para o controle dos fungos associados às sementes e ao solo (CASA et al., 1995). Esta prática é uma opção, pela eficiência e economia (GOULART & FIALHO, 2001).

PINTO (2000) testou a eficiência dos fungicidas captan, thiram, thiabendazole, thiram + thiabendazole e carboxin + thiram, para o tratamento de sementes de milho, cultivar BR 106, em relação à sanidade de sementes, à emergência de plântulas no campo, no teste de frio e em solos infectados separadamente com *F. moniliforme* var. *subglutinans*, *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*. Verificou que o fungicida thiabendazol foi ineficiente para quase todos os parâmetros estudados, e que a presença de *F. moniliforme* var. *subglutinans* nas sementes não afetou a germinação em solos frios e úmidos; os fungos *F. moniliforme* var. *subglutinans*, *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani* promoveram redução na germinação das sementes.

VON PINHO et al. (1995) observaram controle eficiente de *F. moniliforme* em sementes de milho, com os produtos HALT 50, captan, metalaxyl + thiabendazole e TCMTB. Verificaram, também, que os produtos metalaxyl e propamocarb foram os que proporcionaram menor controle. PINTO (1992) relatou que captan não reduziu a incidência do patógeno.

Dada a importância do assunto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a incidência de patógenos em sementes de milho, com destaque para *Fusarium moniliforme*, e a qualidade fisiológica das sementes.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório do Departamento de Fitossanidade e no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal da Unesp-FCAV, Jaboticabal (SP). Foram utilizadas as sementes de milho híbrido Zeneca Co 32, sem tratamento fungicida.

O teste de sanidade das sementes foi realizado pelo método de papel de filtro com congelamento (LIMONARD, 1966), usando 200 sementes por tratamento. As sementes foram colocadas de modo equidistante em placas de Petri (10 sementes/ placa), sobre três folhas de papel de filtro, previamente embebidas com água destilada, e levadas para câmara de incubação por 24 horas a 20 ± 2 °C, regime luminoso de 12 horas de luz branca e 12 horas de escuro. Após esse período, foram mantidas a -20 °C (freezer) por 24 horas e, a seguir, transferidas para câmara de incubação por mais cinco dias.

Os tratamentos testados foram sem e com desinfestação superficial das sementes (hipoclorito de sódio a 1% por três minutos). As sementes foram plaqueadas conforme foi descrito anteriormente.

Após o período de incubação, as sementes foram

examinadas, uma a uma, em microscópio estereoscópico, e a identificação dos fungos foi feita com base em características morfológicas de seu crescimento. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes com diferentes fungos.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Foram usadas duas subamostras de 20 sementes (acondicionadas em duas cápsulas de alumínio). As cápsulas, antes de receberem as sementes, foram secas em estufa a 105 °C por uma hora e resfriadas em dessecador contendo sílica gel, para, logo após, ser determinada a sua massa (tara). As sementes foram colocadas nas cápsulas e determinou-se a massa em base úmida (massa da cápsula + sementes). Em seguida, as cápsulas contendo as sementes foram levadas para a estufa a 105 °C ± 3 °C, por 24 horas. Decorrido esse tempo, as cápsulas foram retiradas da estufa, resfriadas em dessecador e pesadas, obtendo-se, assim, a massa de matéria seca das sementes. Os resultado foram expressos em porcentagem.

O teste de germinação foi efetuado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Foram usadas quatro repetições de 50 sementes, semeadas em caixas de plástico contendo areia, efetuando-se regas, quando necessário. As caixas permaneceram no laboratório a uma temperatura de, aproximadamente, 25 °C. A contagem final das plântulas normais foi efetuada no oitavo dia de instalação do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

Para se avaliar vigor, foram efetuados os testes de envelhecimento acelerado, de condutividade elétrica e de frio.

O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido com quatro subamostras de 50 sementes (HAMPTON & TEKRONY, 1995). As sementes foram envelhecidas em câmara de envelhecimento jaquetada de água (VWR Scientific – modelo 3015), em caixa de plástico (11 cm x 11 cm x 3 cm) contendo 40 mL de água destilada (aproximadamente 250 sementes em cada subamostra, colocadas em uma única camada), sobre uma tela, para evitar o contato das sementes com a água. Depois do período de envelhecimento de 72 horas, a 45 °C e umidade relativa próxima de 100%, foi determinado o teor de água das sementes e instalado o teste de germinação.

Para o teste de condutividade elétrica, quatro subamostras de 50 sementes foram pesadas com precisão de duas casas decimais. Em seguida, as sementes foram imersas em 75 mL de água destilada por 24 horas, à temperatura de 20 °C. No final desse período, na solução contendo os eletrólitos lixiviados das sementes, foram efetuadas as leituras em condutímetro, sendo

os resultados expressos em mmhos cm⁻¹ g⁻¹ de sementes (VIEIRA & KRZYŻANOWSKI, 1999).

O teste de frio foi instalado com quatro subamostras de 50 sementes, seguindo-se as recomendações de CÍCERO & VIEIRA (1994), em caixa de plástico contendo uma mistura de areia e solo (2:1). A adição de água foi feita até atingir 70% da capacidade de retenção do substrato. As caixas foram tampadas e colocadas em câmara fria, regulada à temperatura de 10 °C, durante sete dias; posteriormente, foram destampadas e mantidas à temperatura ambiente no laboratório (aproximadamente 25 °C), por sete dias, quando então foi feita a contagem de plântulas normais, e os resultados foram expressos em porcentagem.

Para o teor de água, os testes de germinação e os de vigor, utilizou-se do delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados de germinação e envelhecimento acelerado foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$ para a realização da análise estatística (BANZATTO & KRONKA, 1992).

Após 12 meses de armazenamento em câmara fria (10 °C, 50% UR do ar), as sementes de milho foram novamente avaliadas quanto à sanidade e aplicados os fungicidas. Amostras de 40 g de sementes foram acondicionadas em pequenos sacos de plástico e umedecidas com água (5 mL). Foram usados os seguintes fungicidas, nas doses recomendadas pelo fabricante: captan, tolylfluanid, pencycuron, thiram, benomyl, thiabendazole, thiram + thiabendazole e difenoconazole. Após o tratamento, as sementes foram submetidas ao teste de sanidade, pelo método do papel de filtro com congelamento, descrito anteriormente. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os resultados em porcentagem foram transformados em arco-seno para a realização da análise estatística.

Resultados e discussão

Dentre os fungos encontrados, destacou-se alta incidência de *Penicillium* sp. e *Fusarium moniliforme* (99% e 98%, respectivamente), para as sementes sem desinfestação superficial. As sementes com desinfestação superficial apresentaram diminuição nos índices de infecção por *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *F. moniliforme* (0%, 1% e 41%, respectivamente), indicando que a maior parte desses fungos estava sobre a superfície externa das sementes, com exceção de *F. moniliforme*, que, mesmo após a desinfestação superficial, apresentou alta incidência (41%), caracterizando a infecção interna (Tabela 1). O fungo *Cephalosporium* sp. apresentou maior incidência para

sementes desinfestadas superficialmente. Isso pode ter acontecido em decorrência da remoção dos fungos da superfície das sementes, como os de *F. moniliforme*, permitindo que os patógenos que estavam em seu interior (*Cephalosporium* sp.) se desenvolvessem.

Resultado semelhante foi encontrado por GOULART (1994), quando determinou a incidência

de fungos em 57 lotes de sementes de milho BR-201, produzidos na região de Dourados (MS), em que *F. moniliforme* se destacou como o principal fungo associado às sementes, seguido de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.

Para a germinação, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2), indicando que os fungos

Tabela 1 – Fungos associados às sementes de milho híbrido Zeneca Co 32 determinados pelo método do papel de filtro com congelamento, sem e com desinfestação superficial.

Table 1 – Fungi associated with maize hybrid Zeneca Co 32 seeds determined by the method of filter paper with freezing, without and with surface sterilization.

Tratamento / Treatment	Incidência (%) / Incidence (%)			
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium moliniforme</i>	<i>Cephalosporium</i> sp.
Sem desinfestação Without sterilization	6,0	99,0	98,0	14,0
Com desinfestação With sterilization	0,0	1,0	41,0	29,0

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

Tabela 2 – Teor de água antes e após o teste de envelhecimento acelerado, testes de germinação e de vigor – envelhecimento acelerado (EA), frio (TF) e condutividade elétrica (CE) – de sementes de milho híbrido Zeneca Co 32, sem e com desinfestação superficial.

Table 2 – Water content before and after the accelerated aging test, germination test and vigor tests – accelerated aging (EA), cold (TF), and bulk conductivity (CE) – of maize hybrid Zeneca Co 32 seeds without and with surface sterilization.

Tratamento / Treatment	Teor de água / Water content		Germinação / Germination (%)	Vigor / Vigor		CE (mmhos cm ⁻¹ g ⁻¹)
	Inicial / Inicial	Após EA / After EA		EA	TF	
Sem desinfestação Without sterilization	10,19 a ¹	22,60 a	74,01 a ²	35,12 a ²	0	30,43 a
Com desinfestação With sterilization	9,40 a	18,30 b	68,88 a	23,91 b	0	26,54 b
F	0,64 NS	124,06**	2,64 NS	6,31*	-	6,76*
DMS	4,29	1,51	7,72	11,07	-	3,66
LSD						
CV(%)	10,18	1,72	6,24	21,68	-	7,43

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

² Dados transformados em arco-seno .

* Significativo a 5% de probabilidade.

** Significativo a 1% de probabilidade.

NS Não-significativo.

¹ Means followed by the same letter within columns are not different by the Tukey test at 5% of probability level.

² Data transformed in arc sen .

* Significant at 5% of probability.

** Significant at 1% of probability.

NS Non-significant.

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

encontrados nas sementes, como *F. moniliforme*, não interferiram na capacidade germinativa, uma vez que as sementes não desinfestadas apresentavam alta porcentagem de infecção por fungos (Tabela 1). Estes resultados são semelhantes aos relatados por BEDENDO & CARDOSO (1987), PINTO (1992), VON PINHO et al. (1995) e GALLI et al. (2000), que não verificaram relação entre a presença de fungos e a redução da germinação das sementes de milho.

Quanto ao vigor das sementes no teste de envelhecimento acelerado (Tabela 2), houve diferença significativa entre os tratamentos sem e com desinfestação superficial, sendo as sementes sem desinfestação as que apresentaram a maior porcentagem de germinação.

Não houve diferença significativa quanto ao teor de água inicial das sementes (Tabela 2), mas este diferiu significativamente quando foi feita a avaliação após teste de envelhecimento acelerado, em que o maior valor foi encontrado para o tratamento sem desinfestação (22,60%). É de extrema importância que as amostras apresentem o mesmo grau de umidade antes do envelhecimento, pois, se estas apresentarem teores iniciais de água muito distintos, haverá variação acentuada da velocidade de umedecimento durante o envelhecimento e, conseqüentemente, diferenças na intensidade de deterioração. Já a determinação do teor de água das sementes ao final do teste é um dos principais indicativos da uniformidade das condições do

teste (MARCOS FILHO, 1999).

Em relação ao teste de frio, não houve germinação nem para sementes sem desinfestação nem para sementes com desinfestação. O teste de frio expõe as sementes a um estresse por frio em condições de alto teor de água no solo, reduzindo a velocidade do processo germinativo e deixando-as expostas aos patógenos de solo por mais tempo do que o normal. Neste caso, o que pode ter acontecido é que, por terem as sementes utilizadas no experimento apresentado alta infecção por *F. moniliforme* e terem encontrado condições que retardaram a germinação, o fungo tenha colonizado os tecidos do embrião das sementes até levá-las à morte.

O teste de condutividade elétrica também indicou diferença significativa entre os tratamentos sem e com desinfestação.

Os diferentes tratamentos sem e com desinfestação superficial (Tabela 2) não diferiram quanto à germinação, mostrando que os patógenos encontrados nas sementes, principalmente *F. moniliforme*, não interferiram na capacidade germinativa dessas sementes. Com relação ao vigor, não se pode afirmar que o patógeno exerceu influência, já que, para o teste de envelhecimento acelerado, o maior valor foi encontrado para sementes sem desinfestação, e para o teste de condutividade elétrica, as sementes de maior vigor foram as com desinfestação superficial.

O efeito dos fungicidas sobre *Fusarium*

Tabela 3 – Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho híbrido Zeneca Co 32 naturalmente infestadas.

Table 3 – Effect of fungicides on the control of *Fusarium moniliforme* in naturally infested maize hybrid Zeneca Co 32 seeds.

Tratamento / Treatment	Incidência (%) / Incidence (%)	Dados originais (%) / Original data (%)
thiram + thiabendazole	2,60 ef ^{1,2}	25
thiabendazole	1,93 f	13
tolyfluanid	2,52 ef	24
difenoconazole	3,39 cd	44
thiram	2,83 de	30
benomyl	0,71 g	0
captan	5,04 a	100
pencycuron	4,47 ab	78
Sem desinfestação	4,01 bc	63
Without sterilization		
CV (%)	9,25	-
DMS	0,68	-
LSD		

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

² Dados transformados em arco-seno .

¹ Means followed by the same letter are not different by the Tukey test at 5% of probability.

² Data transformed in arc sen .

The numbers after the comma are decimals. Example: 1,1 = one and one tenth.

moniliforme está representado na Tabela 3. Verifica-se que o melhor tratamento fungicida para este patógeno foi o benomyl, seguido por thiabendazole, tolylfluanid e thiram + thiabendazole, sendo que os três últimos não diferiram significativamente entre si. Os fungicidas tolylfluanid e thiram + thiabendazole não diferiram do fungicida thiram e das sementes que apenas sofreram desinfestação superficial, as quais, por sua vez, não diferiram das tratadas com difenoconazole, mostrando a eficácia da desinfestação com hipoclorito de sódio em relação aos demais tratamentos fungicidas.

O tratamento com fungicida pencycuron não diferiu das sementes sem tratamento, e o fungicida captan apresentou porcentagem de infecção significativamente maior do que as sementes sem tratamento, indicando, portanto, que ambos, pencyculon e captan, não controlaram *F. moniliforme* nas sementes de milho tratadas nestas condições (Tabela 3). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por PINTO (1992), em que captan não reduziu a incidência do patógeno.

O armazenamento por 12 meses, em condições de ambiente, reduziu a incidência de *F. moniliforme* de 98% para 63%, quando externamente, e de 41% para 34%, quando internamente (Tabelas 1 e 3). Resultados semelhantes foram obtidos por TANAKA et al. (2001), que observaram que a frequência dos fungos associados às sementes de milho durante 12 meses de armazenamento, em câmara fria e em ambiente não controlado, decresceu ao longo do armazenamento, de modo mais acentuado em condições de ambiente não controlado.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa, pode-se concluir que: *Fusarium moniliforme* não alterou a germinação das sementes do milho híbrido Zeneca Co 32; o melhor fungicida para o tratamento de sementes de milho visando a *F. moniliforme* foi o benomyl; *F. moniliforme* teve sua viabilidade afetada durante o armazenamento das sementes de milho, com tendência a diminuir sua incidência.

Referências

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 1992. 247p.
- BECKERT, O. P.; CASEIRO, R. F.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Emergência de sementes de milho em condições de solo úmido e frio e de solo seco. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.27, n.1, p.77-80, 2001.
- BEDENDO, I. P.; CARDOSO, C. O. N. Incidência de *Fusarium moniliforme* em sementes de diferentes cultivares de milho e seu efeito na germinação. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.13, n.3-4, p.210-221, 1987.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; MEDEIROS, C. A.; MOURA, F. B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicidas na proteção contra fungos do solo, no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.4, p.633-638, 1995.
- CÍCERO, S. M.; VIEIRA, R. D. Teste de frio. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep/Unesp, 1994. p.151-164.
- GALLI, J. A.; FESSEL, S. A.; SADER, R.; PANIZZI, R. C.; COSTA, P. R. R. Influência do tratamento químico na população de fungos, na germinação e no vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.245-249, 2000.
- GOULART, A. C. P. Qualidade sanitária de sementes de milho BR- 201 produzidas na região de Dourados, MS, no ano de 1993. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.4, n.3, p.53-55, 1994.
- GOULART, A. C. P.; FIALHO, W. F. B. Tratamento de sementes de milho com fungicidas para o controle de patógenos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.27, n.4, p.414-420, 2001.
- HAMPTON, J. P.; TEKRONY, D. M. **Handbook of vigor test methods**. Zurich: ISTA, 1995. 117p.
- HEADRICK, J. M.; PATAKY, J. K.; JUVIK, J. A. Relationships among carbohydrate content of kernels, condition of silks after pollination, and the response of sweet corn inbred lines to infection of kernels by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.80, n.5, p.487-494, 1990.
- LIMONARD, T. A modified blotter test for seed health. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.72, n.2, p. 319-321, 1966.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p.1-21.
- MUNKVOLD, G. P.; MCGEE, D. C.; CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.87, n.2, p.209-217, 1997.
- PEIXOTO, R. S.; TORRES, S. B.; KARASAWA, M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho produzidas no sub-médio São Francisco. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.12-15, 1998.
- PINTO, N. F. J. A. Patogenicidade de fungo de solo em sementes de milho. In: PINTO, N. F. J. A. **Relatório Técnico Anual 1998-1991**. Sete Lagoas: Embrapa/ CNPMS, 1992. p.121-122.

- PINTO, N. F. J. A. Tratamento de sementes com fungicidas. In: PINTO, N. F. J. A. **Tecnologia para produção de sementes de milho**. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS, 1993. p.43-47. (Circular Técnica, 19).
- PINTO, N. F. J. A. Eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de milho visando o controle de *Fusarium moniliforme* e *Pythium sp.* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.8, p.797-801, 1997.
- PINTO, N. F. J. A. **Patologia de sementes de milho**. Sete Lagoas: Embrapa- CNPMS, 1998. 44p. (Circular Técnica, 29).
- PINTO, N. F. J. A. Viabilidade de sementes de milho tratadas com fungicidas e armazenadas em diferentes condições ambientais. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.26, n.1, p.47-52, 2000.
- REIS, E. M.; CASA, R. T. **Manual de identificação e controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1996. 80p.
- TANAKA, M. A. S.; BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados ao tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays L.*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.87-93, 1980.
- TANAKA, M. A. S.; MAEDA, J. A.; ALMEIDA, I. H. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.3, p.501-508, 2001.
- VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p.4-26.
- VON PINHO, E. V. R.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays L.*). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.1, p.23-28, 1995.

Recebido em 13-9-2004.

Aceito para publicação em 15-7-2005.