

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

REGIS CALLEGARO BORIN

**FUNGICIDAS ASSOCIADOS À FOSFITOS E COMPLEXOS
NUTRICIONAIS INTERFEREM NA QUALIDADE DE SEMENTES DE
MILHO**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2017

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

REGIS CALLEGARO BORIN

**FUNGICIDAS ASSOCIADOS À FOSFITOS E COMPLEXOS
NUTRICIONAIS INTERFEREM NA QUALIDADE DE SEMENTES DE
MILHO**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2017

REGIS CALLEGARO BORIN

**FUNGICIDAS ASSOCIADOS À FOSFITOS E COMPLEXOS
NUTRICIONAIS INTERFEREM NA QUALIDADE DE SEMENTES
DE MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti

DOIS VIZINHOS

2017

B726f

Borin, Regis Callegaro
Fungicidas associados à fosfitos e complexos nutricionais interferem na qualidade de sementes de milho/ Regis Callegaro Borin - Dois Vizinhos, 2017
79 f. : il.

Orientador: Dr. Jean Carlo Possenti
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Dois Vizinhos, 2016.

Inclui bibliografia

1. Milho – Doenças e Pragas 2. Sementes – Doenças e Pragas 3. Sementes – Qualidade I. Possenti, Jean Carlo, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. III Título

CDD: 633.159

Ficha Catalográfica elaborada por Rosana da Silva CRB: 9/1745
Biblioteca da UTFPR - Dois Vizinhos



Ministério da Educação
**Universidade Tecnológica Federal do
Paraná**
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 155

DESEMPENHO DE SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM FERTILIZANTES A BASE DE FOSFITOS EM ASSOCIAÇÃO COM FUNGICIDAS

por

REGIS CALLEGARO BORIN

Dissertação apresentada às 13:30 horas do dia 11 de abril de 2017 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho

Banca examinadora:

Prof. Dr. Jean Carlo Possenti
Orientador UTFPR/Dois Vizinhos

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro
UTFPR/Dois Vizinhos

Prof. Dr. Ivan Francisco Dressler
UFSM/Santa Maria

Prof. Dr. Carlos Bahry
UTFPR/Dois Vizinhos

**“A folha de Aprovação assinada
encontra-se na Coordenação do
Programa”**

Prof. Dr. Moeses Andriago Danner
Coordenador do PPGAG/UTFPR

À minha esposa Maristela

Ao meu filho Bento

Com todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao apoio fundamental da minha esposa Maristela Rey Borin, que incansavelmente tem me dado suporte durante estes 17 anos de companheirismo e amor.

Ao Professor Jean Carlo Possenti por aceitar o desafio em me orientar nesta grande etapa de minha vida profissional e pela amizade formada durante este período.

Ao Professor Sergio Mazaro, pela amizade e pelo grande incentivo à minha inscrição no programa e apoio durante a realização do curso.

Às bolsistas do Laboratório de Sementes, Pamela e Adriana.

Ao doutorando Edson Bertoldo pelo grande apoio no Laboratório de Bioquímica.

Agradeço ao Professor Carlos Andre Bahry (UTFPR) e ao Professor Ivan Francisco Dressler da Costa (UFSC) pelo aceite e participação na banca.

Especial agradecimento a Caliandra Bernardi, bolsista do Laboratório de Fitossanidade pelo grande auxílio em diversas etapas deste trabalho.

Agradeço à UTFPR e ao PPGAG, por me proporcionar este período de aprendizagem e crescimento profissional.

RESUMO

BORIN, Regis Callegaro. Fungicidas associados à fosfitos e complexos nutricionais interferem na qualidade de sementes de milho. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos - PR, 2017.

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados no mundo e apresenta papel importante na economia mundial. Com a expansão do plantio da cultura, reduziu-se o convívio harmônico entre a cultura e as doenças, aumentando com isso, os danos causados, principalmente por fungos fitopatogênicos. Sabendo-se destas necessidades, foram realizados dois estudos que envolveram o uso de fosfitos isolados e, associados com fungicidas comerciais recomendados para o tratamento de sementes. Objetivou-se avaliar o potencial dos fosfitos sobre *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum* em condições *in vitro* e em *in vivo* sobre a sanidade e qualidade fisiológica das sementes e uma possível ativação do metabolismo de defesa das plantulas. Para o primeiro estudo, foi realizado um experimento *in vitro*, objetivando avaliar o efeito dos fosfitos, nas doses correspondentes à 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; e 1 mL/1,0 Kg de sementes. Os fosfitos foram depositados em meio de cultura vertidos em meio BDA, ajustando-se o pH para 5,6. Em placas de Petri, foram dispostos discos de micélio de 7 mm dos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*. As placas foram incubadas em temperatura de 24 + ou – 1°C com fotoperíodo de 12 horas luz/escuro. Então, avaliou-se o crescimento micelial em resposta aos tratamentos. Ainda, nesse estudo avaliou-se a sanidade de sementes de milho, tratadas com misturas de fosfitos e fungicidas comerciais. Para o tratamento das sementes, usou-se os fungicidas carbendazim + thiram, fludioxonil + metalaxyl-m em associação com fertilizantes a base de fosfito de potássio, de cobre, complexo nutricional e complexo potencializador, nas doses de 1,5; 3,0; 1; 1; 2 e 3 mL/1 Kg de sementes respectivamente. Para o segundo estudo, os fertilizantes a base de fosfitos de potássio e de cobre foram associados aos fungicidas comerciais carbendazim + thiram, fludioxonil + metalaxyl-m, para avaliar os seus efeitos sobre o desempenho fisiológico das sementes e identificar as possíveis rotas metabólicas envolvidas no processo de defesa vegetal. Foram quantificadas a viabilidade, por meio do teste de germinação e o vigor, submetendo-se as sementes aos testes de envelhecimento acelerado, teste de frio, comprimento e matéria seca de plântulas e emergência em campo, calculando-se o índice de velocidade de emergência, velocidade de emergência e coeficiente de velocidade de emergência. O material vegetal, foi coletado e realizadas as análises bioquímicas de proteínas totais, e atividade das enzimas fenilalanina amoníasiase, quitinase e β 1,3 glucanase. O crescimento micelial *in vitro* dos dois fungos foi afetado pelos tratamentos à base de fosfitos. Ocorreu maior supressão micelial com o fosfito de potássio e fosfito de manganês. Verificou-se que o melhor estado sanitário das sementes foi obtido quando utilizou-se a mistura de carbendazim + thiram e fosfito de potássio. O efeito dos fosfitos de potássio e cobre no tratamento de sementes de milho, associados a fungicidas incrementaram o seu potencial fisiológico. Os tratamentos não interferiram na ativação da rota dos fenilpropanóides e na síntese das enzimas

quitinase e β 1,3 glucanase, quando utilizados para o tratamento de sementes de milho.

Palavras-chave: *Zea mays*. Elicitores. Sementes. Análise bioquímica. Patologia de sementes.

ABSTRACT

BORIN, Regis Callegaro. Fungicides associated with phosphites and nutritional complex affect the quality of maize seed. 83 p. Dissertação (Master's degree in Agronomy) – Post Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Vegetal Production), Federal University of Technology - Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

Corn (*Zea mays* L.) is one of the most cultivated cereals in the world and plays an important role in the world economy. With the expansion of planting of the culture, the harmonic convivality between the cutlura and the diseases was reduced, increasing with this, the damages caused, mainly by phytopathogenic fungi. Knowing these needs, two studies were carried out that involved the use of isolated phosphites and, associated with commercial fungicides recommended for the treatment of seeds. The objective of this study was to evaluate the potential of phosphites on *Fusarium verticilliodes* and *Fusarium graminearum* in in vitro and in vivo conditions on the physiological quality and health of the seeds and a possible activation of the seedling defense metabolism. For the first study, an in vitro experiment was carried out to evaluate the effect of the phosphites at the doses corresponding to 0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; And 1mL / 1.0 Kg of seeds. The phosphites were deposited in culture medium poured into BDA medium, adjusting the pH to 5.6. In Petri dishes, 7 mm mycelium discs of the fungi *F. verticilliodes* and *F. graminearum* were arranged. The plates were incubated at a temperature of 24 ± 1 ° C in a 12-hour light / dark photoperiod. Then, the mycelial growth in response to the treatments was evaluated. Also, in this study, the sanity of maize seeds, treated with mixtures of commercial phosphites and fungicides, was evaluated. For the treatment of the seeds, the fungicides carbendazim + thiram, fludioxonil + metalaxyl-m were used in association with fertilizers based on potassium phosphite, copper, nutritional complex and potentiating complex, at doses of 1,5; 3.0; 1; 1; 2 and 3 mL / 1 Kg of seeds respectively. For the second study, fertilizers based on potassium and copper phosphites were associated with the commercial fungicides carbendazim + thiram, fludioxonil + metalaxyl-m, to evaluate their effects on the physiological performance of the seeds and to identify the possible metabolic routes involved in the Process of plant defense. The viability, through the germination test and the vigor, were quantified by subjecting the seeds to the tests of accelerated aging, cold test, seedling length and dry matter and field emergence, calculating the rate of emergency, emergency speed and emergency speed coefficient. Plant material, was collected and performed the biochemical analyzes of total proteins, and activity of the enzymes phenylalanine ammonia lyase, chitinase and β -1,3 glucanase. In vitro mycelial growth of the two fungi was affected by the phosphite treatments. Mycelial suppression occurred with potassium phosphite and manganese phosphite. It was found that the best sanitary condition of the seeds was obtained when the mixture of carbendazim + thiram and potassium phosphite was used. The effect of potassium and copper phosphites on corn seed treatment associated with fungicides increased their physiological potential. The treatments did not interfere in the activation of the phenylpropanoic route and in the synthesis of the enzymes chitinase and β -1,3 glucanase when used for the treatment of corn seeds.

Keywords: *Zea mays*. Elicitors. Seed. Biochemical analysis. Seed Pathology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Crescimento micelial dos fungos *F. verticilliodes* (A) e *F. graminearum* (B) utilizando os fosfitos de manganês, potássio e cobre, nas doses 0, 0,2, 0,4, 0,6,0,8 e 1,0 mL/1,0 Kg de sementes. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017. 42
- Figura 2 - Crescimento micelial dos fungos *F. verticilliodes* (A) e *F. graminearum* (B) utilizando os fosfitos de manganês, potássio e cobre, nas doses 0, 0,2, 0,4, 0,6,0,8 e 1,0 mL/1,0 Kg e sementes. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2017. 43
- Figura 3 - Crescimento micelial do fungo *F. verticilliodes*, sob efeito dos fosfitos de cobre, de potássio e manganês, nas doses de 0;0,2;0,4;0,6;0,8 e 1mL/1,0Kg de semente. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017. 44
- Figura 4 - Crescimento micelial do fungo *F. graminearum*, sob efeito dos fosfitos de cobre, de potássio e manganês, nas doses de 0;0,2;0,4;0,6;0,8 e 1mL/1,0Kg de semente. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017. 44

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Doses dos produtos utilizados para a avaliação do crescimento micelial dos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*. Dois Vizinhos, 2017. 37
- Tabela 2 - Doses dos produtos isolados ou em misturas utilizados para o tratamento das sementes no teste de sanidade das sementes de milho. UTFPR, Dois Vizinhos, 2017. 39
- Tabela 3 – Incidência de fungos em sementes de milho tratadas com fertilizantes a base de fosfitos em associação com fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos, PR. 2017..... 49
- Tabela 4 - Doses dos produtos isolados ou em misturas, utilizados no ensaio de sementes tratadas com fosfitos em associação com fungicidas utilizados para o experimento. UTFPR, Dois Vizinhos, 2017. 59
- Tabela 5 - Caracterização inicial do lote de sementes utilizado no ensaio de sementes tratadas com fosfitos em associação com fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017..... 60
- Tabela 6 - Dados Médios em % de primeira contagem de germinação (PCG), germinação final (GF) e de plântulas anormais (PA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas e fosfitos. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017..... 66
- Tabela 7 – Dados médios dos testes de vigor, porcentagem de germinação do teste de frio (PG Frio) e porcentagem de germinação do teste de envelhecimento acelerado (EA), do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas e fosfitos. UTFPR. Dois Vizinhos, PR. 2017. 68
- Tabela 8 - Dados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz primária (CRaíz), em mm e matéria seca de plântulas (MS) (mg.plantula⁻¹) do ensaio com sementes de Milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos - PR, 2017 69
- Tabela 9 - Dados Médios dos testes de Emergência a Campo (EC) em %, Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Velocidade de Emergência (VE) em dias do ensaio com sementes de Milho tratadas com Fosfitos

associados a fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2017.....	72
Tabela 10 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para a variável primeira contagem de germinação (PG4d) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	81
Tabela 11 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter porcentagem de germinação (PG 7d) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	81
Tabela 12 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter porcentagem de germinação a frio (PGFrio) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR,.....	81
Tabela 13 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter envelhecimento acelerado (EA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	81
Tabela 14 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter comprimento de raiz (Craíz) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos de potássio associadas a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	82
Tabela 15 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter comprimento de parte aérea (CPA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	82
Tabela 16 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter matéria seca (Mat. Seca) do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos de potássio associados a fungicidas. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.....	82

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

AOSA	Association of Official Seed Analysts
BOD	Biological Oxygen Demand
Coasul	Cooperativa Agropecuária Sudoeste Ltda
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
PR	Unidade da federação - Paraná
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE ABREVIATURAS

L	Litro
AIA	Ácido indol acético
ASM	Acibenzolar-S-metílico
BDA	Batata Dextrose Ágar
BSA	Bovine Serum Albumin - Soro de Albumina Bovina
Cm	Centímetro
CPA	Comprimento de plântula
CRaiz	Comprimento de raiz primária
CV	Coefficiente de variação
EA	Envelhecimento acelerado
EC	Emergência em campo
ESP	Esporulação
f.sp.	Forma specialis
FAL	Fenilalanina amônia-liase
FV	Fatores de Variação
G	Gramma
GE	Germinação de esporos
GL	Graus de liberdade
há	Hectare
HCl	Ácido clorídrico
i.a.	Ingrediente ativo
IVE	Índice de velocidade de emergência
IVG	Índice de velocidade de germinação
Kg	Quilograma
L	Litro
M	Metro
M	Molar - massa molar
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MSP	Massa seca de plântula
n.	Número
NE	Número de escleródios
nm	Nanômetro
p.	Página
P ₂ O ₅	Pentóxido de fósforo
PCG	Primeira contagem de germinação
PG	Porcentagem de germinação
pH	Potencial hidrogeniônico
PMS	Peso de mil sementes
Prof.	Professor
Prof ^a	Professora
prot.	Proteína
QM	Quadrado médio
RAS	Regras para análise de sementes
rpm	Rotação por minuto
RSA	Resistência sistêmica adquirida
sp.	Espécie
spp.	Subespécie
TCM	Taxa de crescimento micelial
UAbs	Unidade de absorvância
UR	Umidade relativa
v.	Volume

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
™	Trade mark – marca registrada
%	Porcentagem
°	Grau
√	Raiz quadrada
μ	Micro

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1. A CULTURA DO MILHO	21
2.1.1 Importância Econômica da cultura do Milho	21
2.1.2 Rendimento da cultura	22
2.1.3 Doenças na cultura do milho	23
2.1.4 Fungos associados as sementes de milho	24
2.1.5 Fosfitos como indutores de resistência	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
3 ESTUDO 1 - POTENCIAL DE FERTILIZANTES À BASE DE FOSFITOS SOBRE FITOPATÓGENOS E A ASSOCIAÇÃO COM FUNGICIDAS SOBRE A SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO	33
3.1 RESUMO.....	33
3.2 POTENTIAL OF PHOSPHITE FERTILIZERS ON FUNGUS AND THE ASSOCIATION WITH FUNGICIDES ON THE SANITATION OF CORN SEEDS	34
3.2.1 ABSTRACT	34
3.3 INTRODUÇÃO	34
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.6 CONCLUSÃO.....	49
3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
4 ESTUDO 2 - DESEMPENHO FISIOLÓGICO E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM FUNGICIDAS ASSOCIADOS A FERTILIZANTES A BASE DE FOSFITOS	55
4.1 RESUMO.....	55
4.2 STUDY 2 - PHYSIOLOGICAL PERFORMANCE AND INDUCTION OF RESISTANCE IN CORN SEEDS TREATED WITH PHOSPHITE FERTILIZERS WITH FUNGICIDES ASSOCIATION.	55
4.2.1 ABSTRACT	55
4.3 INTRODUÇÃO	56
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.4.1 Preparo do material experimental	59
4.4.2 Variáveis a serem determinadas	61
4.4.2.1 Porcentagem de germinação	61
4.4.2.2 Envelhecimento acelerado	61
4.4.2.3 Comprimento de parte aérea.....	62
4.4.2.4 Massa de seca de plântulas	62
4.4.2.5 Teste de frio	62
4.4.2.6 Porcentagem de emergência em campo	63
4.4.2.7 Índice de Velocidade de Emergência	63
4.5 METODOLOGIA DAS ANÁLISES BIOQUÍMICAS	64
4.5.1 Proteínas Totais	64
4.5.2 Atividade de Quitinase e Glucanase.....	64
4.5.3 Atividade da Fenilalanina-amônia-liase	65
4.6 Análise dos dados.....	65
4.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.7.1 Desempenho fisiológico de sementes.....	66

	18
4.7.2 Análises bioquímicas	73
4.8 CONCLUSÕES	75
4.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
6 ANEXOS.....	81

1 INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional vem demandando um incremento na produção de alimentos. Neste sentido, existe uma busca constante por novas tecnologias, considerando os gargalos do setor produtivo e a busca por aumento de produtividade.

O milho (*Zea mays* L.), é um dos cereais mais cultivados no mundo e apresenta papel importante na economia mundial. No Brasil, a área cultivada com essa cultura é extensa e sua época de plantio vem sofrendo expansão, bem como a quantidade de materiais utilizados, visando maior produtividade. Dentre os fatores que podem causar decréscimo na produção, estão as doenças foliares e as que atacam a espiga (JULIATTI et al. 2010) muitas destas transmitidas pelas sementes.

As doenças que afetam a cultura, vêm causando perdas expressivas de produção com o passar dos anos. Segundo Pinto et al. (2007), a queda da produção devido ao ataque de doenças tem sido atribuída ao plantio sobre a palhada, devido aos microrganismos a utilizarem como substrato. Outro fator que deve ser levado em consideração é a falta de rotação de cultivos, proporcionando aos patógenos vários ciclos de desenvolvimento sobre o hospedeiro.

Os fitopatógenos podem causar danos tanto no campo, reduzindo produção e produtividade, como podem estar na semente, serem transmitidos para as plântulas e também causar danos como a redução de stand, diminuição da germinação das sementes e principalmente, contaminação de áreas, até então livres de determinados patógenos. A forma mais utilizada de controle das doenças na atualidade é o uso de controle químico, tendo este o objetivo de reduzir com mais rapidez os danos causados pelas doenças (JULIATTI et al. 2010). Porém, seu uso irracional tornam-se um risco para a saúde humana e ambiental.

Além da questão ambiental, o uso do controle químico vem apresentando problemas no manejo de doenças, sendo o de maior importância a resistência de vários fungos às moléculas dos principais fungicidas. Este fato torna

vulnerável o controle químico como principal ferramenta no controle de fitopatógenos.

Nesse contexto, novas tecnologias vêm sendo empregadas no manejo de doenças e entre elas, está a indução de resistência. Tal mecanismo, consiste na ativação, por agentes bióticos ou abióticos, de defesas presentes na planta, lhe conferindo proteção a um amplo espectro de microrganismos (DURRANTE et al., 2014).

O uso de fertilizantes foliares vem sendo amplamente estudado, com ação de nutrição das plantas e também por induzirem a proteção contra patógenos (DIANESE & BLUM et al., 2010). Tais fertilizantes, já vem sendo usados em aplicações foliares. No entanto, trabalhos recentes têm demonstrado resultados potenciais quando são aplicados determinados nutrientes no tratamento de sementes de soja, ativando respostas de defesa vegetal (MULLER, 2015). Tal ação pode estar relacionada a composição por fosfitos, conterem aminoácidos e micronutrientes, que possuem ação de indução ou são co-fatores de rotas metabólicas relacionadas a defesa vegetal.

Diante do exposto, pode-se considerar o potencial desses produtos, bem como a carência de informações ao seu respeito, no tratamento de sementes de milho, considerando seu uso associado a fungicidas. Fato que se comprovado cientificamente, poderá permitir além de uma ação direta sobre os patógenos, a capacidade de ativação de mecanismos de defesa vegetal.

É imprescindível o estudo sobre produtos que possam induzir a resistência da cultura a fitopatógenos, controlar o desenvolvimento, reprodução e sobrevivência destes, porém, reduzindo o impacto negativo ao ambiente.

Visto isso, o objetivo deste estudo foi verificar o desempenho de fosfitos, na atividade antifúngica, sanidade de sementes, qualidade de sementes e indução de resistência na cultura do milho.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A cultura do milho

2.1.1 Importância Econômica da cultura do Milho

Nos últimos, o Brasil cresceu em importância no cenário econômico, com avanço forte nas exportações e auxiliando fortemente para que o país uma economia estabilizada e favorável a novos investimentos (BRANDALIZZE, 2003). A cultura do milho (*Zea mays* L.) está entre as três mais cultivadas no mundo, sendo superada pelo arroz e trigo.

Cultivam-se no mundo aproximadamente 160 milhões de Ha, com uma produção total de 969 milhões de toneladas (USDA, 2016). A cultura do milho tem grande importância econômica e social em nosso país (KUHLEN et al., 2004). A área cultivada com milho Primeira Safra 2015/16, foi de 6,05 milhões de hectares. Para o milho Segunda Safra (safrinha) a área estimada é de 9,51 milhões de ha.

Já, a área total cultivada, em todo o país para a safra 2016/17, nas duas safras, deve ficar em 16,51 milhões de hectares, com uma produção estimada de 87,4 milhões de toneladas, representando um crescimento de 3,7% em área se comparada à safra anterior (CONAB, 2017).

Cultura relevante na alimentação humana e animal e como matéria prima na indústria de alimentos, o milho em grãos e seus derivados ocupam um papel de grande importância no mercado econômico brasileiro (MACHADO & CASSETARI NETO, 2007).

A importância da cultura do milho no cenário agrícola vem aumentando nos últimos anos, devido à sua viabilidade econômica e por ser uma opção viável no sistema de rotação de culturas nas extensas áreas do cerrado do Centro-Oeste do Brasil (MACHADO & CASSETARI NETO, 2007).

Para a safra 2016/17 segundo estimativa da CONAB (2017), o Mato Grosso deve liderar a produção nacional, com 23,19 milhões de toneladas,

51,9% a mais que na safra 2015/16, que finalizou em 15,27 milhões de toneladas. O Paraná, segundo maior produtor, deverá produzir 16,55 milhões de toneladas, contra 14,484 milhões do ano anterior (CONAB, 2017).

2.1.2 Rendimento da cultura

O Brasil possui uma característica que o diferencia dos demais países produtores de milho: a possibilidade de plantio de duas safras, no mesmo ano agrícola, sem a necessidade de irrigação. A primeira e principal, é a de verão e a segunda é a de inverno, também chamada de safrinha. A safra de verão é semeada ao iniciar as chuvas, a partir de setembro, até novembro, de acordo com a região do país (COSTA et al., 2008).

A produção de milho no Brasil cresce significativamente a cada ano. Esse aumento é devido ao lançamento no mercado de materiais mais produtivos e à adoção de um manejo cultural adequado. Acompanhando o crescimento da produção, ocorreu grande aumento na incidência e severidade de doenças na cultura do milho (MENEGETTI & HOFFMANN, 2007). Na safra 2015/16 cultivou-se cerca de 15,92 milhões de ha com a cultura, nas duas safras (CONAB, 2017), perdendo apenas para a cultura da soja.

Na safra 2015/16, a produtividade de milho (1ª e 2ª Safras) chegou a 4.178 Kg.ha⁻¹, e uma produção de 66,53 milhões de toneladas (CONAB,2017). As regiões Sudeste e Sul representaram as maiores participações na produção nacional. O estado do Mato Grosso ainda se mostra como o maior produtor nacional, seguido do estado do Paraná (CONAB, 2017).

O milho apresenta potencial genético para altas produtividades em regiões tropicais, principalmente pelas condições climáticas (luz, temperatura e precipitação). Da mesma forma, possui elevado potencial produtivo e uma forte interação ambiental. Por essa razão, necessita ser rigorosamente planejado e manejado, objetivando manifestar a sua máxima capacidade produtiva (VITTI & ALVES FILHO, 2004).

Como afirma FANCELLI & DOURADO-NETO (2003), o rendimento do milho pode ser influenciado por fatores como a disponibilidade hídrica, fertilidade do solo, população de plantas, sistema de cultivo, potencial produtivo do híbrido

e manejo de plantas daninhas, pragas e também doenças.

2.1.3 Doenças na cultura do milho

Atualmente, os danos provocados pelas doenças têm sido observados com maior frequência e intensidade. As principais doenças que acometem esta cultura são: a mancha branca (etiologia indefinida); as ferrugens causadas por *Puccinia sorghi* (ferrugem comum), *Puccinia polysora* (ferrugem polissora) e *Phyzopella zea* (ferrugem branca ou tropical); a queima de Turcicum (*Exserohilum turcicum*); a cercosporiose (*Cercospora zea maydis* e *Cercospora sorghi* f. sp. *maydis*); a mancha foliar por *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*); a antracnose foliar (*Colletotrichum graminicola*); o enfezamento pálido (*Spiroplasma kunkelii*); o enfezamento vermelho (Fitoplasma) e ainda a mancha de *Phaeosphaeria* (*Phaeosphaeria maydis*) (KIMATI et al., 2005).

Segundo Costa et al. (2008), dentre as doenças que acometem o milho, as ferrugens merecem destaque, pois são observadas na maioria das regiões produtoras. Os danos são diretos à planta, por redução da área fotossintetizadora, reduzindo a produção e/ou produtividade, uma vez que o milho apresenta uma alta correlação entre o índice de área foliar e produtividade (SILVA et al., 2007).

Recentemente, a ocorrência de fungos fitopatogênicos tem se apresentado como mais um fator limitante na obtenção de altos índices de produtividade (OLIVEIRA et al., 2011).

As doenças fúngicas, em função da sua incidência, severidade e modo de ataque (folhas, colmos, raízes e espigas), têm acarretado uma redução expressiva na produção, variando de acordo com as condições edafoclimáticas de cada região. Plantios sucessivos, cultivos irrigados e uso de cultivares suscetíveis são alguns dos principais fatores que podem estar ligados ao aumento da incidência e severidade das doenças foliares do milho (MACHADO & CASSETARI NETO, 2007).

O risco de prejuízo devido às doenças, é muito variável entre regiões, anos e lavouras. Para ocorrer uma doença, é necessário que estejam presentes, ao mesmo tempo, três condições: presença do patógeno (virulento) que causa a

doença, plantas suscetíveis ao patógeno e ambiente favorável ao desenvolvimento da doença (FANTIN & DUARTE, 2008).

Segundo Costa et al. (2008), o conhecimento da epidemiologia de uma dada doença serve como base para que se apliquem os princípios de controle, haja vista, esses atuarem diretamente no ciclo das relações patógeno hospedeiro, impedindo ou retardando o desenvolvimento dos eventos deste ciclo.

Para se estimar o impacto da doença é necessário o conhecimento do seu potencial de danos, a compreensão do crescimento da planta e do desenvolvimento da epidemia (GODOY et al., 2009).

A identificação dos patógenos que afetam a cultura do milho, causando prejuízos, assim como sua sintomatologia, são importantes para mantê-los abaixo do nível de dano econômico, proporcionando produção e produtividade ao agricultor (COSTA, 2007).

O correto manejo de doenças foliares, responsáveis por perdas de produtividade e pela queda na qualidade dos grãos, ainda se mostra desafiador para pesquisadores e produtores de milho (RAMOS et al., 2014).

Para obter sucesso no controle é necessário estar atento a aspectos como a escolha de sementes certificadas, época de semeadura, nutrição adequada e o uso racional de fungicidas (VEIGA, 2007). Todavia, é muito importante que a avaliação da resposta de materiais genéticos às doenças, seja feita regionalmente quando se tem a finalidade de recomendá-las para o plantio, uma vez que, os materiais podem mudar sua reação (resistentes ou suscetíveis) dependendo da região (KUHNEN et al., 2004).

2.1.4 Fungos associados as sementes de milho

Os fungos são os mais numerosos e importantes grupos de fitopatógenos associados às sementes. Segundo Neegaard (1977), as sementes são um dos meios mais eficientes de disseminação de patógenos, pois por meio delas podem ser transportados a longas distâncias e introduzidos em áreas novas. Segundo WHITE (1999), a utilização de populações elevadas de plantas, aliada ao desequilíbrio nutricional e à suscetibilidade dos genótipos, contribui para o

aumento da incidência das podridões de espigas e de grãos ardidos. Além desses fatores, a intensidade das podridões da espiga aumenta quando se pratica a monocultura (REIS et al, 2004).

No Brasil, os principais fungos patogênicos veiculados pelas sementes de milho são *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc. e *F. graminearum* Schwabe (TANAKA & BALMER, 1980; GOMES et al., 1981; LUZ, 1997). Dentre os patógenos associados às sementes, o *F. moniliforme* [sin. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] é o mais comumente encontrado (REIS et al., 1995; REIS & CASA, 1996).

Deve-se ressaltar que os fungos *F. moniliforme*, *F. graminearum*, *Diplodia maydis* e *D. macrospora* Earle, causam podridões da base do colmo (PBC) e podridões de espiga (WHITE, 1999).

São poucos os dados que quantificam a taxa de transmissão, por exemplo, de *F. moniliforme*, mesmo com as sementes apresentando altas incidências deste fungo. Em trabalho realizado por SARTORI et al. (2004), avaliando todas as partes das plântulas e em três épocas de cultivo, os autores detectaram o fungo em todos os órgãos da plântula, mostrando percentuais médios de 46,1; 34,9; 23,6; 7,2 e 14,6%, respectivamente, para o tegumento remanescente da semente, raiz primária, entrenó subcoronal, coleóptilo e base das folhas. Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* têm sido menos detectados (CASA et al., 2004).

Por outro lado, Casa et. al. (2003), no sul do Brasil, conclui que o fungo *F. graminearum* ocorre com mais frequência, devido ao fato de que os cereais de inverno são hospedeiros alternativos. Em condições de armazenamento, Goulart (2005) e Pinto (1997) observaram que os principais fungos que infectam as sementes de milho em condições de armazenamento são *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

2.1.5 Fosfitos como indutores de resistência

Os indutores de resistência são produtos que atuam, através de elicitores, no aumento da resistência de plantas a patógenos. Estes podem ser utilizados em aplicação diretamente nas plantas, pela parte aérea ou através do

tratamento de sementes.

A resistência induzida envolve a ativação de mecanismos de resistência latentes nas plantas em resposta ao tratamento prévio com agentes bióticos ou abióticos. E a proteção das plantas através da indução de resistência pode ocorrer tanto em condições de casa-de-vegetação como em campo (CARVALHO, 2012).

O ácido fosforoso (H_3PO_3) é um composto cristalino, com características de higroscopia, solúvel em água e extremamente fitotóxico. Porém, quando em contato com uma base (hidróxido de potássio, hidróxido de sódio ou hidróxido de amônio) resulta num sal denominado de fosfito (BONETTI et al, 2011).

Os fosfitos começaram a serem usados na agricultura como fertilizantes na década de 70. Desde então, o seu uso tem aumentado, em várias atividades agrícolas no Brasil (DIAS, 2000).

Dentre as vantagens do seu uso, estão o baixo custo e a ótima absorção pelas plantas (MENEGUETTI, 2009). Segundo Guest & Grant (1991), o termo fosfito é empregado para os sais do ácido fosforoso, estes possuem rápida absorção pelas plantas, além de translocação via xilema e floema. E, atualmente, fertilizantes à base de fósforo e silício estão entre os produtos citados na literatura como indutores de resistência (DATNOFF et al., 2001) principalmente contra Oomycotas (SANTOS et al., 2011).

Fosfitos foram testados para controle do míldio da videira e também nas podridões pós colheita em maçãs (BRACKMANN et al., 2004). Segundo o autor, frutos de maçã tratados com fosfito de potássio + $CaCl_2$ (2%), apresentaram menor incidência de podridões e menor diâmetro de lesões.

A eficiência dos fosfitos na indução de resistência em determinados patossistemas, deve-se ao aumento da assimilação na presença do fósforo e potássio, ativando mecanismos de defesa e produzindo fitoalexinas (NOJOSA et al., 2009).

São estudados para a indução de resistência, os fosfitos de potássio (ARAUJO et al., 2013, RIBEIRO JUNIOR et al., 2006), fosfitos de cobre e manganês, os últimos ainda pouco utilizados devido a sua toxidez às plantas.

Vários trabalhos já exibem o potencial dos fosfitos como indutores de resistência em várias culturas. Muller, (2015), estudando a ação de fosfitos de

potássio em soja, elucidada que os mesmos ativaram a glucanase e fitoalexinas, agiram na ativação das quitinases, porém não apresentaram ação sobre os teores de proteínas totais, peroxidases e fenilalanina amônia-liase (FAL).

Entretanto, Silva (2013), estudando a indução de resistência de feijão ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* por meio de fosfitos, que este atuou de forma positiva na atividade da FAL.

Camochena et al. (2014), com o objetivo de determinar a ação de fosfitos na atividade da enzima peroxidase em plantas de soja à *Sclerotinia sclerotiorum*, observaram que ocorreu um aumento na atividade da peroxidase em plantas de soja tratadas com diferentes formulações de fosfito. Porém, Ribeiro Junior et al, (2006) usando de aplicação do fosfito de potássio (1,25 mL.L⁻¹ de água) em cacacueiro, não verificaram aumento na atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas em relação à testemunha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRACKMANN, A.; GIEHL, R.F.H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C.A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs Fuji durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4. p. 1039-1042 Santa Maria, 2004.

BONETI, J.IS.; KATSURAYAMA, Y. Uso dos fosfitos e compostos naturais no controle das doenças da macieira. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 12., 2011, Fraiburgo, SC, **Anais...Caçador: Epagri**, vol I (Resumos), 2011. p:54-66.

BRANDALIZZE, V. Salvador da pátria. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas. n.47,p.10 11. 2003.

CAMOCHENA, R.C.; SANTOS, I.; LEITE, C.D.; SEBIM, D.E.; OLIVEIRA, M.C. Ação de diferentes formulações comerciais de fosfito de potássio na atividade de peroxidase em plantas de soja inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **VII**

Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos.

Anais... Maringá, 2014.

CARVALHO, B.O. Fungicida e ativador de defesa no controle da ferrugem asiática, na produção e na qualidade das sementes de soja. **Dissertação de Mestrado**. 46p. Lavras: UFLA, 2012.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Decomposição dos restos culturais do milho e sobrevivência saprofítica de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza v. 28, p. 355-361, 2003.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Dispersão vertical e horizontal de conídios de *Stenocarpella macrospora* e *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia brasileira**. vol.29 no.2 Brasília. 2004.

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira, Safra 2016/17. Sexto levantamento V. 4 N. 6. 2017.

COSTA, F. M.; BARRETO, M.; KOSHIKUMO, E.S.M.; ALMEIDA, F.A. Progresso da ferrugem tropical do milho (*Zea mays* L), sob diferentes tratamentos fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.3, p.248-252, 2008.

DATNOFF, L.E.; SEEBOLD, K.W.; CORREA-V, F.J. The use of silicon for integrated disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In: Silicon in agriculture. **Elsevier Science**. p.171-184. The Netherlands, 2001.

DIANESE, A. C.; BLUM, L. E. B. O uso de fosfitos no manejo de doenças fúngicas em fruteiras e soja. EMBRAPA Cerrados. Planaltina, DF. 2010.

DURRANT, W.E.; DONG. X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, n.1, p.185-209, 2004.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Milho**: estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba. ESALQ/USP. 2003. 208p.

FANTIN, G. M.; DUARTE, A. P.; DUDIENAS, C.; GALLO, P. B.; RAMOS JUNIOR, E. U.; CRUZ, F. A.; RAMOS, V. R.; FREITAS, R. S.; DENUCCI, S.; TICELLI, M. Efeito da mancha de cercospora na produtividade do milho safrinha, no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.7, n.3, p. 231-250, 2008.

FREDDO, A. R.; MAZARO, S. M.; BRUN, E. J.; WAGNER, A. J. Efeito da quitosana na emergência, desenvolvimento inicial e caracterização bioquímica de plântulas de *Acacia mearnsii*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.36, n.6, p.1039-1045, 2012.

GODOY, C. V., FLAUSINO, A. M., SANTOS, L. C.M. & DEL PONTE, E. M. Eficiência do controle da ferrugem asiática da soja em função do momento de aplicação sob condições de epidemia em Londrina, PR. **Tropical Plant Pathology**, vol. 34, 1, 056-061, 2009.

GOULART, A. C. P. Doenças iniciais do algodoeiro – identificação e controle. n: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 2005. p. 425-449.

GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**. v.66, n.1, p. 159-187, 1991.

JULIATTI, F.C.; NASCIMENTO, C.; REZENDE, A. A. Avaliação de diferentes pontas e volumes de pulverização na aplicação de fungicida na cultura do milho. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.3, p.216-221, 2010.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4, ed. Sao Paulo: Agronomica Ceres, 2005. 580p.

KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B.; ALVES, A. C.; MARASCHIN, M. Mancha crescente. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas. n.68, p.16-19. 2005.

LUZ, W.C. da. Tratamento de sementes de milho com fungicidas. **Circular Técnica nº 7**. 2ª edição. Embrapa Trigo. 24p. 1997.

MACHADO, A.Q.; CASSETARI NETO, D. Mais produtividade. **Revista Cultivar – Grandes Culturas**. Caderno Técnico. n.100, p.05-07. 2007.

MAIA, A.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FARIA, C.M.D.R.; OLIVEIRA, J.S.B.; JARDINETTI, V.A.; BATISTA, B.N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.5, p.330-339, 2014.

MAZARO, S.M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S.S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**. v.38, n.7. Santa Maria, 2008.

MENEGHETTI, R. C.; HOFFMANN, L. L. Pústulas do prejuízo. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas. v.9, n.101, p.08-09. 2007.

MENEGHETTI, R.C. Avaliação do fosfito de potássio sobre o progresso de *Phakopsora pachyrhizi* em soja. 2009. 65p. **Tese**. UFSM, Santa Maria, 2009.

MÜLLER, I. Indução de resistência e tratamento de sementes de soja com Fosfitos de potássio. 2015. 117f. il. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The MacMillan Press, 1977.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica** v.35, n.1, p.60-62. Botucatu, jan-fev, 2009.

PINTO, N.F.J.A. Eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de milho visando o controle de *Fusarium moniliforme* e *Pythium* sp. **Pesq Agropec Bras.** 1997;32:797–801.

PINTO, N. F. J. A.; OLIVEIRA, E.; FERNANDES, F. T. **Manejo das principais doenças do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 16 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 92).

RAMOS, D. P., BARBOSA, R. M., LICURSI, B. G. T. V., PANIZZI, R. DE C. VIEIRA, R. D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, jan./mar. 2014.

REIS, E.M. & CASA, R.T. **Manual de identificação e controle de doenças de milho.** Passo Fundo. Aldeia Norte Editora, 1996.

RESENDE, M.D.V. de & DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.37, p.182-194, 2007.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb. em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**. v.30. n.1. p.629-636, 2006.

SANTOS, H. A. A. DOS, DALLA PRIA, M., SILVA, O. C. DA; MAY DE MIO, L. L. Controle de doenças do trigo com Fosfito s e acibenzolar-s-metil isoladamente ou associados a piraclostrobina + epoxiconazole. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 433-442, abr/jun. 2011.

SARTORI, A.F., REIS, E.M. & CASA, R.T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, n. 29, p.456-458. 2004.

SILVA, J.L. Óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*, *Vernonia polyanthes* e fosfito de potássio no controle da antracnose do feijoeiro. Dissertação (mestrado). 76p, Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2013.

TANAKA, M.A.S. e BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados do tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Fitopatologia Brasileira**, v.5, p. 87-93.1980.

USDA - United States Department of Agriculture. **Crop Production report**. National Agricultural Statistics Service (NASS), Agricultural Statistics Board. Disponível em: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/CropProd>. 2017

WHITE, D.G. **Compendium of corn diseases**. 3rd Edition. 78 pp. St Paul, Minnesota, USA. American Phytopathological Society Press, 1999.

3 ESTUDO 1 - POTENCIAL DE FERTILIZANTES À BASE DE FOSFITOS SOBRE FITOPATÓGENOS E A ASSOCIAÇÃO COM FUNGICIDAS SOBRE A SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO

3.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de fertilizantes a base de Fosfitos, sobre fitopatógenos *in vitro* e a associação com Fungicidas sobre a sanidade de sementes de milho. O estudo foi realizado em duas fases distintas. A primeira fez-se a avaliação do potencial dos fertilizantes à base de Fosfito s de cobre, potássio e manganês, no crescimento micelial dos isolados de *Fusarium verticilliodes* e *Fusarium graminearum*, nas doses de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1% em meio BDA. Na segunda fase do trabalho, foi verificada a incidência de fungos em sementes tratadas com carbendazim + thiram, metalaxyl-m em associação com fertilizantes a base de fosfito de potássio, fosfito de cobre complexo nutricional e complexo potencializador, nas concentrações de 1,5; 3,0; 1,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mL/1,0 Kg de sementes, respectivamente. O tratamento das sementes foi realizado de forma manual, misturando-as com a calda e homogeneizando-as em saco plástico. Os resultados indicaram que, na avaliação do crescimento micelial verificou-se que, para o fungo *F. verticilliodes*, o tratamento que melhor controlou o crescimento radial do patógeno aos nove dias de avaliação foram os tratamentos usando-se fosfito de potássio nas doses de 0,4; 0,6 e 1mL, e fosfito de manganês na dose 1mL. Já, para *F. graminearum*, as doses e produtos que mais reduziram o crescimento do fungo foram fosfito de potássio e manganês, nas concentrações de 0,2 a 1mL/1,0Kg de sementes. Com relação ao teste de sanidade de sementes, realizado após a verificação da dose ideal dos fosfitos, verificou-se que os fungos que incidiram no teste foram *F. verticilliodes*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus niger*, e *Cercospora* sp. Os resultados evidenciaram que os Fosfitos em associação com os fungicidas estudados, demonstram um efeito positivo na sanidade de sementes de milho, anulando a incidência dos fungos.

Palavras-chave: Fungos, adubos foliares; sanidade de sementes.

3.2 POTENTIAL OF PHOSPHITE FERTILIZERS ON FUNGUS AND THE ASSOCIATION WITH FUNGICIDES ON THE SANITATION OF CORN SEEDS

3.2.1 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the association of phosphites with fungicides and foliar fertilizers for the control of corn seed fungal diseases. The first is the evaluation of the potential of the copper, potassium and manganese phosphites at the mycelial growth of the isolates of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum*, used doses was 0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1 L / 100 Kg of seeds dissolved in BDA medium. The second phase of the study, the incidence of fungi was verified in seeds treated with carbendazim + thiram, fludioxonil + metalaxyl-m, potassium phosphite, cooper phosphite, nutritional complex and Enhancer complex at doses of 1.5; 3.0; 1.0; 1.0; 2.0 and 3.0 mL⁻¹ 1.0 Kg of seeds, respectively. Seed treatment was done manually using a graduated pipette and a 500 ml Becker, mixing them and homogenizing in a plastic bag. The results indicated that, the evaluation of mycelial growth, it was verified that for the fungus *F. verticillioides*, the best treatment controlled the radial growth of the pathogen at the nine days of evaluation, were the treatments using potassium phosphite at doses of 0, 4; 0.6 and 1mL, and Mn phosphite at the 1.0mL dosis. For *F. graminearum*, the doses and products that reduced the growth of the fungus were phosphite of potassium and manganese, in the concentrations of 0.2 to 1mL⁻¹ 1.0Kg of seeds. The fungi involved in the test were *F. verticillioides*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.*, *Aspergillus sp. Nigger*, and *Cercospora sp.* the results showed that the phosphites in association with fungicides, demonstrate a positive effect on the health of corn seeds, nullifying the incidence of this fungus.

Key words: Fungus, leaf fertilizers, seed health

3.3 INTRODUÇÃO

Os fungos são os mais numerosos e importantes grupos de fitopatógenos associados às sementes. Segundo Neegard (1977), as sementes são um dos meios mais eficientes de disseminação de patógenos, pois por meio delas podem ser transportados a longas distâncias e introduzidos em áreas novas. Estes podem associar-se às sementes da cultura desde a etapa de produção de sementes até o armazenamento.

A semente é o principal insumo agrícola transportador para o campo de todo o potencial genético da espécie. Assim, para que se expresse, é necessário, dentre outros fatores, que a semente possua elevado potencial fisiológico e sanitário (RAMOS et al., 2014).

No Brasil, os principais fungos fitopatogênicos veiculados pelas sementes de milho são *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc. e *F. graminearum* Schwabe (TANAKA & BALMER, 1980). Dentre os patógenos associados às sementes, o *Fusarium moniliforme* [sin. *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] é o mais comumente encontrado (SARTORI et al., 2004). Deve-se ressaltar que os fungos *F. moniliforme*, *F. graminearum*, *Diplodia maydis* e *D. macrospora* Earle causam podridões da base do colmo (PBC) e podridões de espiga. As PBC são consideradas as doenças mais importantes à cultura do milho em razão dos danos que causam (CASA et al., 2007). Para seu controle, dever-se-ia procurar eliminar ou reduzir o inóculo nas suas principais fontes, ou seja, em sementes e restos culturais.

São poucos os dados que quantificam a taxa de transmissão para a semente plântulas de *F. moniliforme* e *F. verticillioides*, mesmo com as sementes geralmente, apresentando alta incidência, destes fungos em sementes de milho. Sartori et al. (2004) afirma que o fungo *F. verticillioides* foi detectado nas sementes e em todos os órgãos da plântula, isolados. Sendo o percentual médio de transmissão semente plântula de 15 a 46%. Sobre o controle, Julliatti et al. (2010), denota que estes fungos são comumente controlados com fungicidas no tratamento de sementes e aplicação em parte aérea.

Segundo Casa et. al. (2003), no sul do Brasil o fungo *F. graminearum* ocorre com mais frequência nas sementes, devido aos cereais de inverno serem hospedeiros alternativos.

Henning et al. (2011), observaram que as sementes de milho apresentaram elevada incidência dos fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.* e *Fusarium moniliforme*. Segundo os autores, a incidência destes microrganismos diminui à medida que as sementes atingem o ponto de maturidade fisiológica.

Atualmente, os tratamentos utilizados para o controle dos fungos em sementes de milho são o biológico, o físico e o químico (COUTINHO, et. al. 2007). Porém, já são usados produtos alternativos, como por exemplo, os fertilizantes foliares, mais comumente denominados de fosfitos (TOFOLI et al., 2012). Estes além, de mostrarem um forte potencial como indutores de resistência, já mostram resultados positivos, como controladores de fungos (SILVA et al., 2013).

Fertilizantes à base de fósforo e silício são citados na literatura como indutores de resistência (SCOTT et al, 2015). Segundo Nojosa et al. (2005), isso deve-se ao aumento da assimilação na presença do fósforo e potássio, ativando mecanismos de defesa e produzindo fitoalexinas. Porém, poucos são os resultados encontrados sobre o uso de fosfitos no controle de doenças e sanidade de sementes. Visto isso, o objetivo deste estudo foi verificar a eficiência dos produtos à base de fosfitos no controle de doenças e sanidade de sementes de milho.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade, situado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Para realização do experimento foram utilizados produtos à base de fosfitos e fungicidas, descritos na Tabela 1. Primeiramente, foi realizado um experimento de crescimento micelial, com o objetivo de verificar o potencial do controle dos fosfitos sobre o desenvolvimento vegetativo dos fungos *Fusarium verticillioides* (Sacc.) e *Fusarium graminearum* Schwabe, além de ajustar a dose de trabalho dos produtos. Estes, isolados potencialmente patogênicos ao milho, encontravam-se preservados sob água destilada e esterilizada, na micoteca do próprio laboratório. Para isso foi realizada a multiplicação do inóculo por repicagem de fragmentos de micélio e cinco dias após, discos de meio de cultura de aproximadamente 1,0 cm de

diâmetro, contendo o patógeno foram dispostos no centro de uma placa de Petri contendo meio BDA (Batata-dextrose-ágar). Para a avaliação do crescimento micelial foram utilizados os fosfitos de cobre, potássio e manganês em cinco concentrações (Tabela 1), sendo estes aplicadas no meio de cultura com temperatura de 25°C, após a esterilização com auxílio de uma pipeta de 1000 µL. Para manutenção do pH do meio de cultura foi utilizado NaOH, fixando-se este em 5,9. A avaliação do crescimento das colônias iniciou-se 48 horas após a repicagem dos fungos nas placas, sendo realizadas as medições a cada 24 horas, até o fechamento da placa com o crescimento do fungo. O diâmetro das colônias foi medido utilizando-se um paquímetro digital. Para o cálculo de redução do crescimento micelial foi utilizada a fórmula adaptada de MARQUES et al (2014), onde:

$$\text{Inibição} = (Dc - Dt) / Dc \times 100$$

Dc = Diâmetro da colônia no tratamento controle.

Dt = Diâmetro da colônia em determinada concentração.

Tabela 1 - Doses dos produtos utilizados para a avaliação do crescimento micelial dos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*. UTFPR. Dois Vizinhos - PR, 2017.

	Tratamento/Produtos	Dose (L) por 100 Kg/sementes
1	Testemunha	0,0
		0,2
2	Fosfito de Cobre	0,4
		0,6
		0,8
		1,0
		0,2
3	Fosfito de Potássio	0,4
		0,6
		0,8
		1,0
		0,2
4	Fosfito de Manganês	0,4
		0,6
		0,8
		0,8

Para o teste de sanidade, foram avaliadas 400 sementes sendo 16 sub-amostras de 25 sementes (BRASIL, 2009) dispostas em recipientes de polipropileno transparente com tampa, e de dimensões 11 x 11 x 3 cm, do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel mata borrão com água destilada. O papel mata borrão foi pesado e o peso das folhas, multiplicado por 2,5 (vezes) em mL para mensurar a quantidade de água a ser utilizada no umedecimento destas.

As sementes foram colocadas em câmara de incubação, à temperatura de 23°C + ou - 2°C, em regime de luz alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro), por um período de sete dias, conforme descrito por Neegaard (1979).

A análise das sementes, para identificação dos fungos, foi realizada com a utilização de microscópio estereoscópico e, quando necessário, confecção de lâminas para identificação das estruturas dos patógenos em microscópio ótico.

Para a avaliação do potencial dos fosfitos no controle e proteção das sementes (teste de sanidade de sementes), foram utilizados 21 tratamentos, evidenciados na Tabela 2. Para isso, além dos fosfitos, foram empregados fungicidas usados para tratamento de sementes e complexos nutricional e potencializador.

No momento da montagem dos testes, as amostras das sementes foram retiradas da câmara fria sendo então homogeneizadas, e deste volume foram separadas amostras de trabalho, seguindo-se a metodologia prescrita nas RAS (BRASIL, 2009). Em seguida, as sementes foram tratadas com os fosfitos e as suas doses, utilizando-se um volume de calda equivalente à 500 mL para cada 100 Kg de semente. A calda foi composta pela respectiva dose do fosfito e/ou fungicida e complexo, e água destilada. O tratamento das sementes foi realizado de forma manual, misturando-as com a calda, estando a solução com as sementes, em um saco plástico transparente, isso para cada tratamento.

Nos ensaios, foram adotados o delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

Para a avaliação do crescimento micelial, os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão, já para o teste de sanidade, os dados foram

submetidos ao teste de comparação de médias Sott Knott ($\alpha \leq 0,05$), com auxílio do software SASM AGRI (CANTERI et al., 2001).

Tabela 2 - Doses dos produtos isolados ou em misturas utilizados para o tratamento das sementes no teste de sanidade das sementes de milho. UTFPR, Dois Vizinhos, 2017.

Tratamentos		Dose do produto mL por 1,0 Kg de semente
T1	Testemunha S/TS (água destilada)	
T2	Metalaxil-m	1,5 mL
T3	Carbendazim + thiram	3,0 mL
T4	Metalaxil-m + fosfito de cobre	1,5 + 1,0 mL
T5	Metalaxil-m + fosfito de potássio	1,5 + 1,0 mL
T6	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	3,0 + 1,0 mL
T7	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	3,0 + 1,0 mL
T8	Metalaxil-m + complexo nutricional	1,5 + 2,0 mL
T9	Metalaxil-m + complexo potencializador	1,5 + 3,0 mL
T10	Carbendazim + thiram + complexo nutricional	3,0 + 2,0 mL
T11	Carbendazim + thiram + complexo potencializador	3,0 + 3,0 mL
T12	Metalaxil-m + fosfito de cobre + complexo nutricional	1,5 + 1,0 + 2,0 mL
T13	Metalaxil-m + fosfito de potássio + complexo nutricional	1,5 + 1,0 + 2,0 mL
T14	Metalaxil-m + fosfito de cobre + complexo potencializador	1,5 + 1,0 + 3,0 mL
T15	Metalaxil-m + fosfito de potássio + complexo potencializador	1,5 + 1,0 + 3,0 mL
T16	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	3,0 + 1,0 + 2,0 mL
T17	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo nutricional	3,0 + 1,0 + 2,0 mL
T18	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	3,0 + 1,0 + 3,0 mL
T19	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	3,0 + 1,0 + 3,0 mL
T20	Complexo nutricional *	2,0 mL
T21	Complexo potencializador**	3,0 mL

* Complexo nutricional que reúne cobre, nitrogênio, fósforo, enxofre e aminoácidos. ** Macro e micronutrientes, aminoácidos e enraizador.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 3 e 4, ilustram as retas, equações e coeficientes de determinação (R^2) para a variável crescimento micelial dos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*. Os coeficientes de variação demonstram que, apenas 13,84% e 35,10%, da variância da regressão, respectivamente, para os fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*, não dependem da variável estudada.

Também foi verificado uma tendência decrescente para o crescimento micelial de ambos os patógenos com relação ao aumento das doses de fosfitos.

Com relação a avaliação do crescimento micelial, conforme as Figuras 1 e 2, os resultados mostram que os fosfitos obtiveram efeito significativo sobre o crescimento vegetativo dos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*. Verificou-se que, para o fungo *F. verticillioides*, o tratamento que melhor controlou o crescimento radial do patógeno aos nove dias de avaliação, foram os tratamentos usando-se fosfito de potássio nas doses de 0,4; 0,6 e 1mL, e fosfito de manganês na dose 0,8 mL. Demonstrando uma redução de 100% do crescimento com relação à testemunha. Estes tratamentos mostraram-se com crescimento nulo, mesmo no último dia de avaliação e, não diferiram estatisticamente entre si, porém mostraram diferença estatística dos outros tratamentos e da testemunha (Figura 3).

Com relação a *F. graminearum*, os tratamentos que melhor controlaram o fungo foram fosfito de potássio e fosfito de manganês, nas concentrações de 0,2 a 1mL/1,0Kg de sementes. Nestas doses o fungo mostrou crescimento nulo, não havendo diferença estatística entre eles, e diferenciando-se significativamente do tratamento sem fosfito (Figura 4). Observa-se que, para os dois isolados de Fusarium existiu uma mudança de cor das colônias do fungo tratadas com os fosfitos com relação à testemunha (Figuras 1 e 2). Isso provavelmente, devido a um efeito fungitóxico dos fosfitos com relação aos fungos.

Os fosfitos são resultado de uma reação entre a redução do ácido fosforoso e uma base. Após a oxidação do fosfito, ocorre a formação do fosfato (REUVENI, 1997). O ácido fosforoso age como indutor de resistência em plantas (WINLEY, 1988 apud SANTOS, 2008) e pode reduzir a esporulação dos fitopatógenos. Esse fato pode explicar o efeito dos fosfitos na redução do crescimento dos fungos.

Os resultados obtidos concordam com os de Ogoshi et al. (2013) em que os autores testando as doses de 5mL e 10 mL, observaram uma redução no crescimento micelial, do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Já, Nojosa et al. (2009), em trabalho quando usado o fungo *Phoma costarricensis*, observou uma redução de 62% no crescimento radial do fungo utilizando fosfito de potássio na

dose de 10 mL, dose esta, dez vezes superior que a maior dose utilizada neste estudo.

O isolado que mais sofreu redução de crescimento em diferentes doses e tipos de fosfito foi o *F. graminearum*, já que todas as doses onde utilizou-se fosfito de manganês e potássio, não permitiram que o fungo se desenvolvesse vegetativamente até o último dia de avaliação, não ocorrendo diferenças estatísticas no crescimento nas diferentes doses utilizadas. Permite-se dizer que este isolado foi o que mais sofreu a ação dos fosfitos no seu crescimento micelial. Autores como Caixeta et al. (2012) e Alexandre et al. (2014), obtiveram respostas semelhantes utilizando isolados de *Fusarium vasinfectum* f.sp. phaseoli e *Colletotrichum tamarilloi*, respectivamente.

No presente estudo foi verificado um efeito fungistático dos fosfitos com relação aos fungos *F. verticillioides* e *F. graminearum*, já que foi cessado o desenvolvimento dos fungos com relação as testemunhas. Porém, não se pode afirmar que o efeito foi fungicida, já que não foi comprovada a retomada do crescimento dos fungos em meio BDA puro. Utilizando-se de diluições de fosfito de potássio de 0, 1, 10, 50, 100, 250, 500, 750 e 1000 ppm do produto em BDA, Sobrinho et al. (2016), concluiu que os fosfitos têm efeito fungistático sobre o fungo *Fusarium solani* a partir de 50 ppm do produto.

Com relação a mudança de cor das colônias dos fungos, pode-se dizer que os fosfitos causam um efeito fungitóxico sobre os mesmos, exibido essa alteração. O ácido fosforoso, que em contato com uma base resulta nos fosfitos, é um produto extremamente tóxico, e daí surge a hipótese da mudança de coloração das colônias. Comportamento semelhante foi relatado por Venturoso et al. (2011) e Franzener et al. (2003), na qual observaram alterações de cor de colônias dos fungos *Fusarium solani* e *Bipolaris sorokiniana*, utilizando óleos essenciais incorporados ao meio de cultura. Motoyama et al., 2003, estudando o efeito de extratos cítricos sobre *Fusarium semitectum*, sugerem um efeito fungitóxico do produto na germinação dos conídios do fungo.

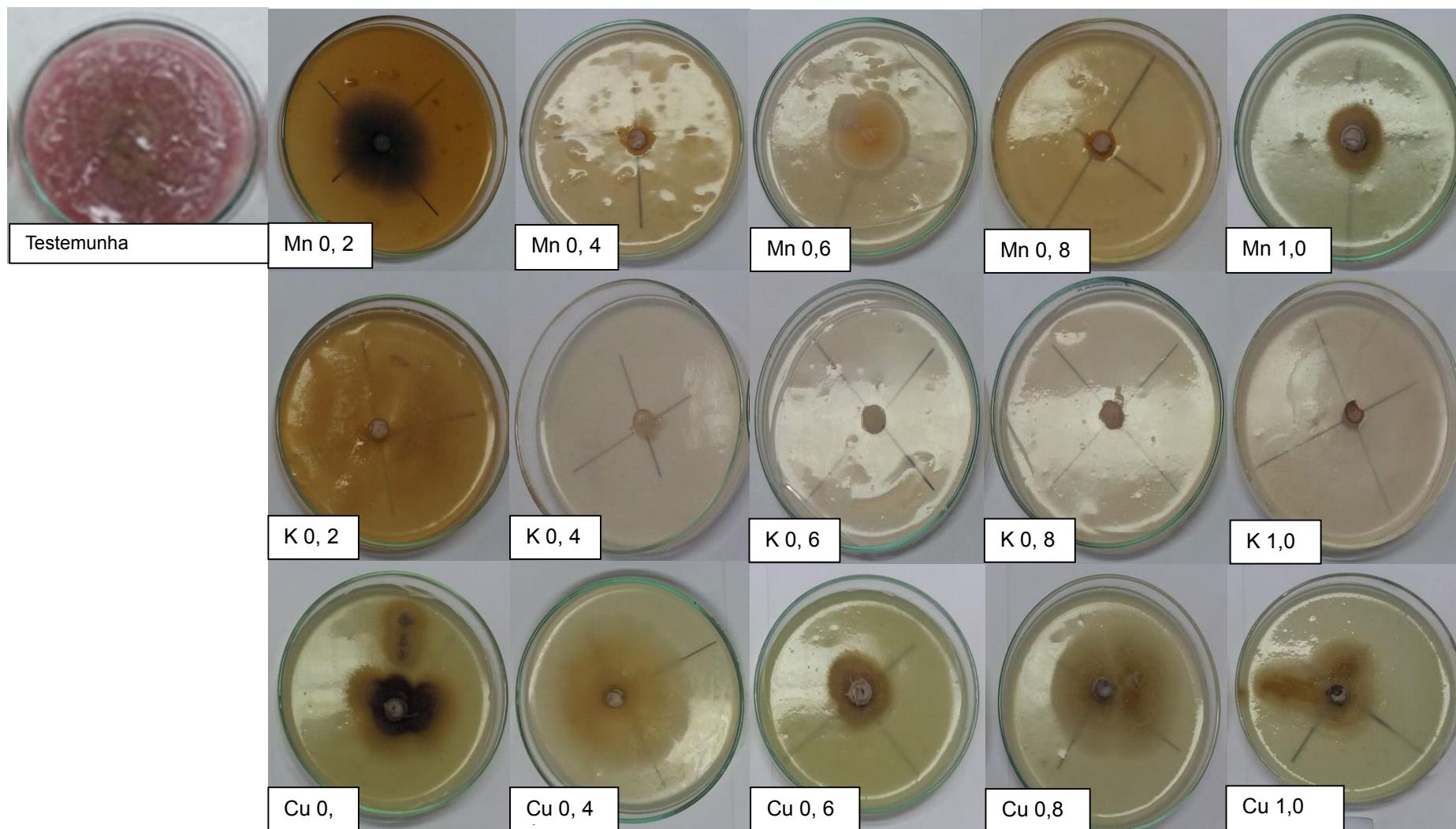


Figura 1 - Crescimento micelial dos fungos *F. verticillioides* (A) e *F. graminearum* (B) utilizando os fosfitos de manganês, potássio e cobre, nas doses 0, 0,2, 0,4, 0,6,0,8 e 1,0 mL/1,0 Kg de sementes. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017.

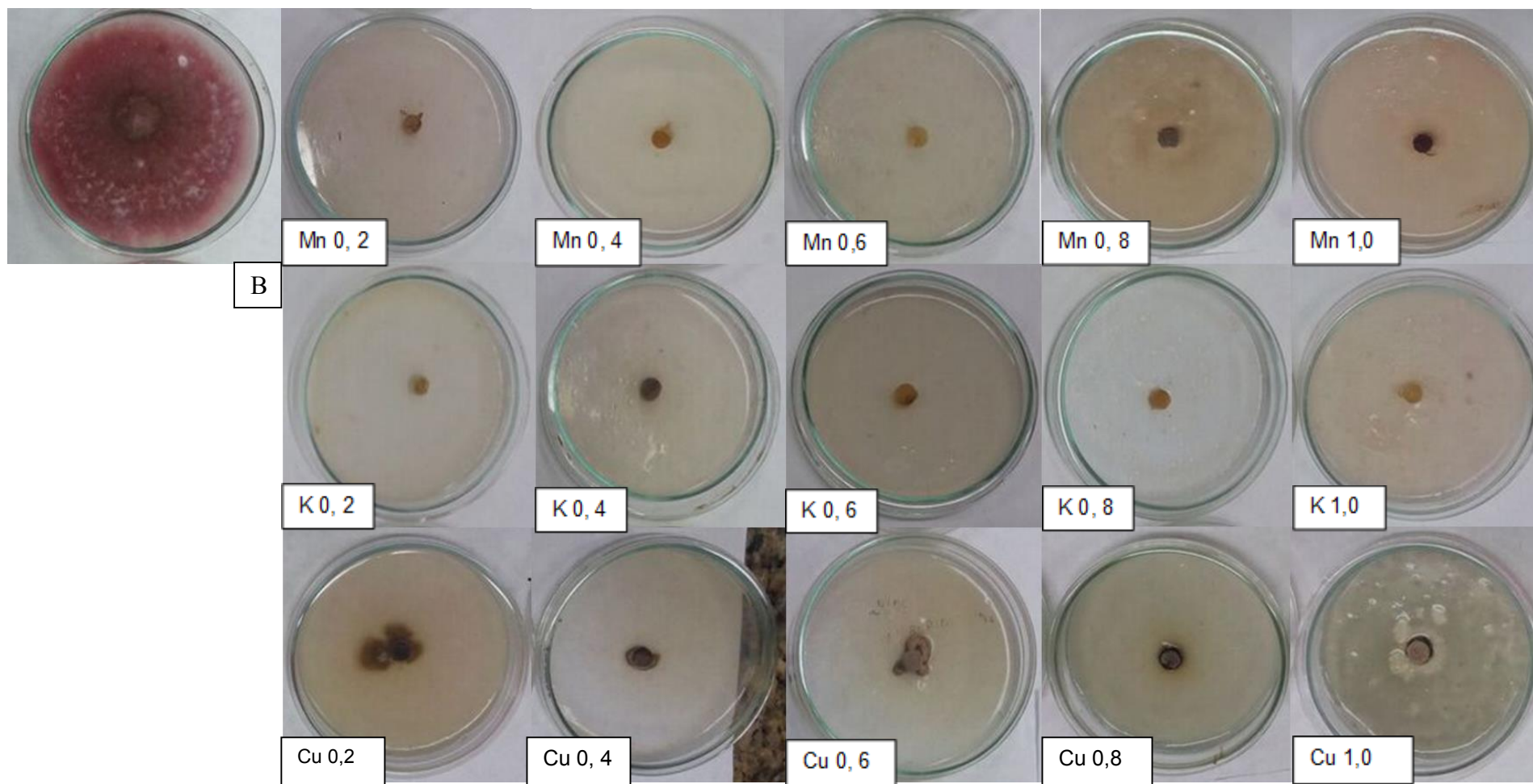


Figura 2 - Crescimento micelial dos fungos *F. verticilloides* (A) e *F. graminearum* (B) utilizando os fosfitos de manganês, potássio e cobre, nas doses 0, 0,2, 0,4, 0,6,0,8 e 1,0 mL/1,0 Kg e sementes. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2017.

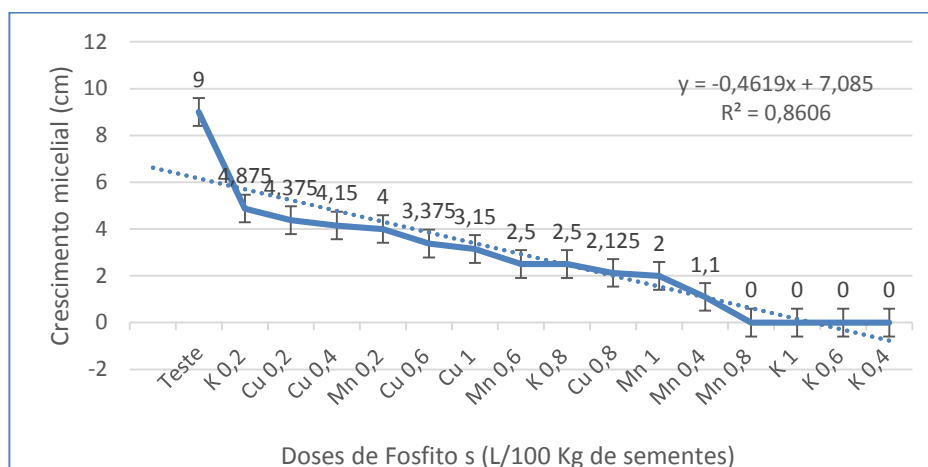


Figura 3 - Crescimento micelial do fungo *F. verticillioides*, sob efeito dos fosfitos de cobre, de potássio e manganês, nas doses de 0;0,2;0,4;0,6;0,8 e 1mL/1,0Kg de semente. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017.

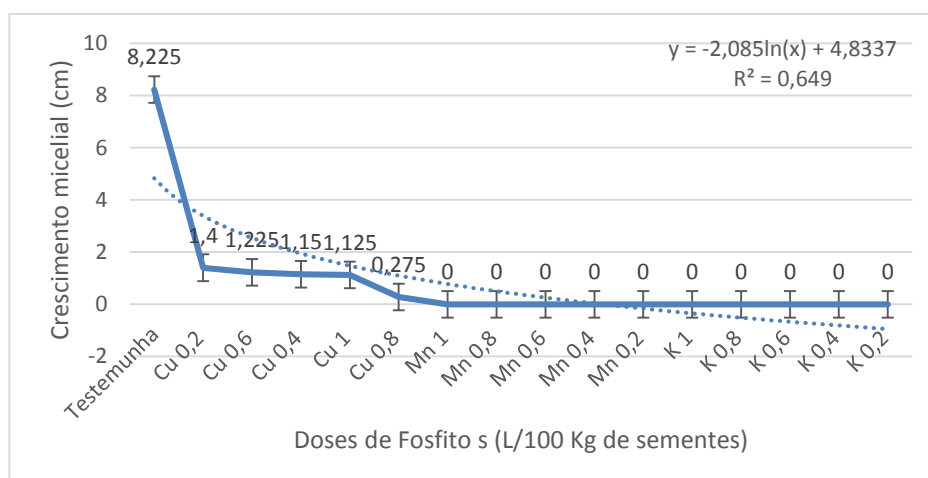


Figura 4 - Crescimento micelial do fungo *F. graminearum*, sob efeito dos fosfitos de cobre, de potássio e manganês, nas doses de 0;0,2;0,4;0,6;0,8 e 1mL/1,0Kg de semente. UTFPR. Dois Vizinhos, PR, 2017.

Rezende (2014), em estudo com o objetivo de verificar o efeito do Fosfito de Potássio no desenvolvimento micelial de *Phytophthora nicotianae* e *Phytophthora plurivora*, verificou que o produto além de reduzir o crescimento micelial dos fungos, agia na morfologia das hifas e síntese da parede celular do micélio dos fitopatógenos.

Neste estudo, em determinadas doses de fosfito, os dois isolados obtiveram crescimento nulo, isto é, não houve desenvolvimento do fungo em meio BDA adicionado do fosfito. Este resultado contradiz o que foi relatado por Daniel & Guest (2006), onde estes autores afirmam que os fosfitos têm efeito de contenção de crescimento dos fungos, e não paralisante.

Todos os fosfitos e doses utilizadas tiveram algum efeito de redução no crescimento dos isolados de *Fusarium*. Este efeito pode ser considerado como fungistático, já que paralisa o efeito do fungo.

O fosfito de cobre, mesmo não obtendo os melhores resultados de redução de crescimento micelial, evidenciou um efeito positivo na redução deste crescimento, demonstrando médias de redução que variaram de 52% a 76% para o fungo *F. verticillioides* e de 82% a 96% para *F. graminearum*. Pesquisas recentes como a de Moura et al. (2014), Simon et al., (2016), Schurt et al. (2013) e Silva et al (2014), também relatam a ação dos fosfitos no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos e bactérias.

A maioria dos dados sobre a ação dos fosfitos sobre controle de fungos fitopatogênicos, diz respeito a Oomycetos (TOFOLI et al., 2012). Os fosfitos têm ação direta sobre o patógeno e sabe-se que o ácido fosforoso e seus derivados atuam na inibição do processo da fosforilação oxidativa neste filo de fungos. Também afirmam que em fungos de outros grupos, pouco se tem relatado, porém, o seu potencial fungicida deve-se, provavelmente, a toxidez dos fosfitos em partes essenciais dos fungos como hifas, micélios e esporos.

Com relação a avaliação da sanidade de sementes, tratadas com misturas com fosfitos e/ou fungicidas (Tabela 3), e complexos, os dados demonstram que ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos e a testemunha, e dentro dos tratamentos. Sendo que os fungos que incidiram no teste foram *Fusarium verticillioides*, *Cercospora* sp, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e *Aspergillus nigger*. Sendo apenas os dois primeiros considerados fitopatogênicos em sementes e plantas.

Observando-se cada um dos tratamentos, individualmente, as maiores médias de incidência foram para o fungo *F. verticillioides*, este de importância fitopatogênica em milho. No tratamento testemunha, este fungo mostrou uma

média de incidência de 24,7%, diferenciando-se estatisticamente dos outros fungos detectados no teste.

Segundo Marcos-Filho (2015), fungos dos gêneros *Fusarium* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp e., reduzem a qualidade fisiológica da semente e afetam o poder germinativo, levando a morte do embrião.

Fungos como *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum* são frequentemente associados as sementes de milho e outras partes da planta (RAMOS et al., 2014), causando danos e perdas na produtividade. O teste de sanidade, antes da semeadura, uso de sementes certificadas e sadias, bem como o tratamento químico de sementes, são medidas que auxiliam no controle das doenças causadas por estes agentes etiológicos. Outros autores denotam que *F. verticillioides*, não causa danos em mudas e plantas de milho inoculadas com o fungo, e que seu crescimento varia de acordo com o tipo, idade e condições dos tecidos vegetais do hospedeiro (YATES et al. 2005).

Os presentes resultados mostram que as menores médias de incidência de fungos no teste de sanidade foram observadas nos tratamentos onde utilizou-se carbendazim + thiram, e associações deste com fosfito de potássio, complexo nutricional e complexo potencializador. Também, metalaxyl-m associado com fosfito de cobre, fosfito de potássio, complexo nutricional e complexo potencializador. Nesses tratamentos, obteve-se incidência nula. Entretanto, as maiores médias foram obtidas no tratamento, onde utilizou-se o complexo nutricional, tendo este uma média equivalente à testemunha. Neste observou-se também, uma maior incidência para *F. verticillioides*, implicando em uma diferença estatística entre o fungo e os demais microrganismos presentes no tratamento.

Este aumento na incidência dos fungos no tratamento, pode ser explicado pela formulação do complexo nutricional. Este fator pode ter favorecido o crescimento dos fungos, pois fontes de C, N, P, vitaminas e micronutrientes na composição do meio de cultura ou substrato, são fatores decisivos para o crescimento e esporulação dos fungos (SILVA & MELO, 1999) sendo estes heterotróficos.

De maneira geral, as misturas onde utilizou-se fungicida, somado a um fosfito, propiciou as menores médias de incidência. Esse dado corrobora os de Santos et al. (2011), na qual comparando fosfitos isolados, não obteve controle de manchas foliares, ferrugem e oídio do trigo. Sendo que, o mesmo cita a eficiência do produto somente em mistura. Porém, Espindola (2015), utilizando Fosfito de Manganês e Enxofre em tratamento de sementes reduziu a incidência de *Colletotrichum truncatum* e *Sclerotinia sclerotiorum* em plântulas de soja.

As respostas dos fosfitos com relação a sanidade de sementes, têm relação com o seu efeito direto no controle e crescimento dos fungos. Segundo Caixeta et al., (2012), o ácido fosforoso atua na esporulação e crescimento fúngico, mas também age como indutor de resistência em plantas, possibilitando com isso a redução de incidência e severidade de doenças.

O efeito dos fosfitos aliados aos fungicidas, gera uma alta proteção das sementes aos fungos. Além do fungicida formar uma barreira de proteção contra fitopatógenos, para autores como Bécot et al., (2000), atribuem um alto nível de proteção de tecidos tratados com fosfitos, mostrando com isso uma ação local e não sistêmica destes produtos.

A incidência de outros fungos como *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp. também foi reduzida sob ação dos fosfitos em misturas com fungicidas e complexos. Porém, apenas a incidência do fungo *Rhizopus* sp, foi aumentada com a aplicação do complexo nutricional. Este aumento, deve-se a velocidade de crescimento do fungo ser superior aos demais, impedindo o desenvolvimento dos outros microrganismos no tratamento. Segundo, Torres & Bringel (2005), o fungo *Rhizopus* sp. dificulta a detecção de outros patógenos, devido ao seu rápido crescimento promovendo o encobrimento das sementes.

Além dos danos no armazenamento e na germinação das sementes em pré e pós emergência, a incidência de fungos como *Aspergillus* sp., podem causar danos como a ocorrência de toxinas no seu substrato (JONES et al., 1980). As toxinas podem causar danos sérios na saúde animal e humana. Contudo neste estudo, a utilização dos fosfitos aliados aos fungicidas, reduziu a zero a ocorrência deste fungo.

Por outro lado, foi evidente a ação do fungicida carbendazim + thiram, no controle da incidência de *F. verticillioides* e dos outros fungos presentes. Este resultado concorda com Ferreira et al. (2016), tratando sementes de soja com o fungicida, onde o autor evidencia o aumento da qualidade sanitária no armazenamento de sementes. Nesta mesma linha, Danieli et al. (2011), denota o efeito positivo na incidência de fungos em sementes de soja tratadas com carbendazim + thiram somado a aplicação de fungicidas na parte aérea.

Entretanto, quando foi utilizado o fungicida metalaxyl-m, isolado e em misturas com os fosfitos, observou-se que o mesmo não obteve controle sobre os fungos de armazenamento, fitopatogênicos e contaminantes, encontrados nas sementes. Na literatura, vários são os trabalhos elucidando o efeito do Metalaxyl-m em sementes de várias culturas (MELO et al., 2010; MARCHI et al., 2006 e LASCA et al., 2005).

Nota-se que, existe um efeito positivo geral no uso dos fosfitos na redução da incidência dos fungos nas sementes de milho. Tal resultado foi evidenciado por Muller (2015), na qual a autora constatou uma redução na incidência de *Chaetomium* spp., *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium semitectum*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., e *Nigrospora* spp em sementes de soja, utilizando tratamento com fosfitos. Porém, Meneghetti et al. (2010), relata o efeito negativo dos fosfitos na indução de resistência em soja contra *Phakopsora pachyrhizii*.

Alguns autores denotam que a ação dos fosfitos pode ser indireta quando age na indução de fitoalexinas nas plantas, como diretamente, quando atua no patógeno, e que a ação vai depender da relação patógeno/hospedeiro e da concentração do produto. Jacson et al. (2000), afirmam que além disso, se a concentração do fosfito for baixa no interior dos tecidos da planta, este vai agir na indução de resistência. Porém, se for alta, o produto agirá diretamente no fitopatógeno, antes que este estabeleça alguma relação deletéria com o hospedeiro.

Tabela 3 – Incidência de fungos em sementes de milho tratadas com fertilizantes a base de fosfitos em associação com fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos, PR. 2017.

Fungos	<i>Aspergillus</i>						
	<i>F. verticillioides</i>	<i>Penicillium</i> sp	<i>Rhizopus</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Trichoderma</i> sp	<i>nigger</i>	<i>Cercospora</i> sp
Testemunha S/TS	24,7 A*	4,5 B	2,6 B	0,8 C	0,5 C	0,1 C	0,1 C
Metalaxyl-m	1,9 A	0,1 B	0,1 B	0,1 B	0,1 B	0,1 B	0,1 B
Carbendazim + thiram	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de cobre	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de potássio	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	0,0 A	0,0 A	0,1 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + complexo nutricional	0,25 A	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B
Metalaxyl-m + complexo potencializador	0,25 A	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B
Carbendazim + thiram + complexo nutricional	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + complexo potencializador	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de cobre + complexo nutricional	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de potássio + complexo nutricional	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de cobre + complexo potencializador	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Metalaxyl-m + fosfito de potássio + complexo potencializador	0,24 A	0,1 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + Complexo nutricional	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	0,0 A	0,0 A	0,12 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Complexo nutricional *	21,6 A	0,2 C	8,5 B	0,3 C	0,2 C	0,0 C	0,0 C
Complexo potencializador**	3,7 A	0,9 B	3,1 A	0,0 B	0,0 B	0,0 B	0,0 B

* Complexo nutricional que reúne Cobre, Nitrogênio, Fósforo, Enxofre e Aminoácidos ** Macro e micronutrientes, aminoácido e enraizador.

*Médias diferem entre si na linha pelo teste de Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No presente trabalho verificou-se uma alta incidência de *F. verticillioides* nas sementes de milho. Com isso, faz-se necessário o uso de produtos no tratamento de sementes antes do uso destas, tanto para fins de produção de sementes ou grãos. Diante destes resultados, é visto que, necessita-se com urgência de um estudo mais aprofundado com relação a origem concreta destas contaminações pelo fungo.

3.6 CONCLUSÃO

Com relação ao crescimento micelial dos dois fungos, conclui-se que os fosfito de potássio e manganês apresentam potencial de controle de *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum* em condições *in vitro*.

A mistura de carbendazim + thiram e fosfito de potássio, apresenta os melhores resultados no teste de sanidade.

Quando se utilizou-se os produtos isolados, os melhores resultados no TS foram obtidos com o fungicida Carbendazim + thiram.

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, E. R.; HERCULANO, L. M., SILVA, J. M. DA; OLIVEIRA, S. M. A. de. **Pesq. Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.49, n.12, p.930-938, dez. 2014.

BÉCOT, S., PAJOT, E., LE CORRE, D., MONOT, C., SILUÉ, D. Phytogard (K3HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Guildford, v.19, n.6, p.417-425, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Regras para análises de sementes. MAPA/ACS, 2009. 399 p.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A.,

GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CAIXETA, A.O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do Fosfito de Potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, Patos de Minas, v. 2178, p.7662, 2012.

CASA, R.T.; MOREIRA, E.N.; BOGO, A.; SANGOI, L. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbridos de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.4, p.353-357, 2007.

COUTINHO, W.M., SILVA-MANN, R., VIEIRA, M.G.G.C., MACHADO, C.F. & MACHADO, J.C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 458 - 464. 2007.

DANELLI, A. L., GARCÉS FIALLOS, F. R., TONIN, R. B., FORCELINI, C. A. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja em função do tratamento químico de sementes e foliar no campo. **Ciencia y Tecnología**.. v.4, n. 2, p. 29-37. 2011.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 67, n. 3/5, p. 194-201, 2006.

ESPINDOLA, D. L. P. Tratamento de sementes com Fosfito de manganês e enxofre: efeitos na soja e no desenvolvimento de fitopatógenos. 2015. 50f., il. **Dissertação** (Mestrado em Agrônoma) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015

FERREIRA, T. F., OLIVEIRA, J. A., CARVALHO, R. A., RESENDE, L. S., LOPES, C. G. M., FERREIRA, V. Quality of soybean seeds treated with fungicides and insecticides before and after storage. **Journal of Seed Science**, v.38, n.4, p.278-286, 2016.

HENNIN, F. A., JACOB JUNIOR, E. A., MERTZ, L. M., PESKE, S. T. Qualidade sanitária de sementes de milho em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2 p. 316 - 321, 2011.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. St. J. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v.49, p.147-154, 2000.

JONES, H.C.; CHANCEY, I.C.; MORTON, W.A.; DASHEK, W.V.; LLEWELLYN, G.C. Toxic responses of germinating pollen and soybeans to aflatoxins. **Mycopathologia**, v.72, p.67-73, 1980.

JULIATTI, F.C.; NASCIMENTO, C.; REZENDE, A. A. Avaliação de diferentes pontas e volumes de pulverização na aplicação de fungicida na cultura do milho. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.3, p.216-221, 2010.

LASCA, C.C., VECHIATO, M.H., FANTIN, G.M., KOHARA, E.Y. Efeito do tratamento químico de sementes de milho sobre a emergência e a produção. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v.72, n.4, p.461-468, out./dez., 2005.

MARCHI, J. L. DE, MENTEN, J. O. M., MORAES, M. H. D. e CICERO, S. M. Relação entre danos mecânicos, tratamento Fungicida e incidência de patógenos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.3, p.351-358, 2006.

MARQUES, H. I. P., SILVA, M. B DA , MARQUES, M. D. P. , RODRIGUES, R. C. RIBEIRO, P. R. C. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.18; p. 2014.

MELO, L. F., FAGIOLI, M., SUSSTRUNK, T. F. Tratamento de sementes de milho com fipronil e thiamethoxam e sua influência fisiológica nas sementes. **Agropecuária Técnica**, v. 31, n. 2, 2010.

MENEGHETTI, R. C.; et al. Avaliação da ativação de defesa em soja contra *Phakopsora pachyrhizi* em condições controladas. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 823-829, 2010.

MOTOYAMA, M.M. et al. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v. 25, p. 491-496, 2003.

MÜLLER, I. Indução de resistência e tratamento de sementes de soja com Fosfitos de potássio. 2015. 117f. il. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2015.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica** v.35, n.1, p.60-62. Botucatu, jan-fev, 2009

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de Fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Ed). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. v.1, n.1, p. 139-153. Piracicaba, 2005.

OGOSHI, C.; ABREU, M.S. de; SILVA, B.M. da; SANTOS NETO, H.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V. de. Potassium phosphite: a promising product in the management of diseases caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee plants. **Bioscience Journal**, v.29, p.1558-1565, 2013.

RAMOS, P. D., BARBOSA, R. M., VIEIRA, B. G. T. L., PANIZZI, R. DE C. 3, VIEIRA, R.D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesq. Agropec. Trop., Goiânia**, v. 44, n. 1, p. 24-31, jan./mar. 2014.

REZENDE, C. R. Fosfito de Potássio no controle *Phytophthora* spp em citros e faia e seu modo de ação. **Tese** (Doutorado). 108f. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2014.

ROCHA SOBRINHO, G.G.; RODRIGUES, G.B.; SANTOS, A.; JESUS JUNIOR, W.C.; NOVAES, Q.S. Efeito de Fosfito de Potássio no crescimento e na densidade micelial do *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.2, p.180-182, 2016.

SANTOS, H.A.A. Efeito de fosfito no controle de doenças foliares do trigo in vitro e in situ. **Dissertação**, Mestrado em Agronomia. Curso de pós-graduação em

Concentração em agricultura. Universidade Estadual de Ponta Grossa. 148 p. 2008.

SANTOS, H. A. A. DOS, DALLA PRIA, M., SILVA, O. C. DA; MAY DE MIO, L. L. Controle de doenças do trigo com Fosfito s e acibenzolar-s-metil isoladamente ou associados a piraclostrobina + epoxiconazole. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 433-442, 2011.

SARTORI, A. F.; REIS, E. M.; CASA, R. T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 4, p. 456-458, 2004.

SCHURT, D. A., RODRIGUES, F. A., SOUZA, N. F. A., REIS, R. D. Eficiência de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani* in vitro. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n.2, p. 221-225, 2013.

SCOTT P. M., BARBER P. A. E G. E. HARDY, ST. J. Novel phosphite and nutrient application to control *Phytophthora cinnamomi* disease. **Australasian Plant Pathol.** v. 44, p. 431–436, 2015.

SILVA, C.M.M. DE S. e MELO, I.S. DE. Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria alternata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.3, p.499-503, mar. 1999.

SILVA, O. C., SANTOS, H. A.A., DESCHAMPS, C., DALLA PRIA, M. e MAY DE MIO, L. L. Fontes de Fosfito e acibenzolar-S-metílico associados a Fungicidas para o controle de doenças. **Tropical Plant Pathology**, n.38, v. 1, Janeiro, 2013.

SILVA, M. S. E, CARVALHO, F. C. Q., SILVA, J. R. DA, LINS, S. R. DE O. E OLIVEIRA, S. M. A. DE. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 45, n. 4, p. 718-725, out-dez, 2014.

SIMON; J.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; JARDINETTI, V.A.; OLIVA, L.S.C.; SILVA, J.B.; SCARABELI, I.G.R. Atividade fungitóxicas de extratos vegetais e produtos comerciais contra *Diplocarpon rosae*. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.4, p.351-356, 2016.

TANAKA, M.A.S.; BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados do tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Fitopatologia Brasileira**, v.5, p. 87-93.1980.

TORRES, S. B.; BRINGEL, J. M. M. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão macassar. **Caatinga**. v. 18, n. 2, p. 88-92. Mossoró, 2005.

TÖFOLI, J.G., MELLO, S.C. , R.J. DOMINGUES,. Efeito do Fosfito de Potássio isolado e em mistura com Fungicidas no controle da requeima do tomateiro. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.2, p.201-208, abr./jun., 2012.

YATES, I. E. et al. Field performance of maize grown from *Fusarium verticillioides* inoculated seed. **Mycopathologia**, Berlin, v. 159, n. 1, p. 65-73, 2005.

4 ESTUDO 2 - DESEMPENHO FISIOLÓGICO E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE SEMENTES DE MILHO TRATADAS COM FUNGICIDAS ASSOCIADOS A FERTILIZANTES A BASE DE FOSFITOS

4.1 RESUMO

A produção de milho no Brasil cresce significativamente a cada ano. Esse aumento é devido à introdução de híbridos mais produtivos e à adoção de um manejo cultural adequado. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de fertilizantes a base de fosfitos associados a fungicidas comerciais no tratamento de sementes de milho, considerando os parâmetros fisiológicos relacionados a germinação e vigor e a ativação de mecanismos de defesa vegetal. Para este estudo, os fertilizantes a base de fosfitos de potássio e de cobre foram associados a dois fungicidas para tratamento de sementes (carbendazim + thiram, metalaxyl-m) e dois complexos fertilizantes, as quais foram submetidas aos testes de germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, comprimento e matéria seca de plântulas e emergência a campo, com cálculos do índice de velocidade de emergência e da velocidade de emergência. Das plântulas obtidas no teste de germinação, foram realizadas, análises bioquímicas para identificar possíveis enzimas e rotas metabólicas ativadas. O efeito dos fosfitos de potássio e cobre associados a fungicidas, no tratamento das sementes incrementaram o potencial fisiológico das sementes. O nível de proteínas permaneceu de 0,43 a 1,26 mg./g.tecido vegetal. A atividade da FAL teve baixa expressão, sendo que os valores permaneceram entre 0,01 e 0,02 U.E/mg.proteínas. No mesmo sentido a atividade da β -1,3 glucanase ficou de 0,002 e 0,005 U.E/mg.proteína. Já a atividade da quitinase não foi detectada nas análises realizadas. Não houve interferência na ativação da rota dos fenilpropanóides e na síntese das enzimas quitinase e β -1,3 glucanase, em função dos tratamentos utilizados.

Palavras chave: Germinação e vigor de sementes, tratamento de sementes, indutores, rotas metabólicas.

4.2 STUDY 2 - PHYSIOLOGICAL PERFORMANCE AND INDUCTION OF RESISTANCE IN CORN SEEDS TREATED WITH PHOSPHITE FERTILIZERS WITH FUNGICIDES ASSOCIATION.

4.2.1 ABSTRACT

Corn production in Brazil grows significantly each year. This increase is due to the introduction of more productive hybrids and the adoption of appropriate cultural management. The objective of this work was to evaluate the potential of phosphite fertilizers associated to commercial fungicides in the treatment of corn seeds, considering the physiological parameters related to germination and vigor and the activation of plant defense mechanisms. For this study, fertilizers based on potassium and copper phosphites were associated with two seed treatment fungicides (Carbendazim + thiram, Metalaxyl-m), which were submitted to germination, accelerated aging, Cold, length and dry matter of seedlings and emergence to field, with calculations of the rate of emergence and the emergency speed. From the seedlings obtained in the germination test, biochemical analyzes were performed to identify possible enzymes and activated metabolic pathways. The effects of potassium and copper phosphites associated with fungicides on seed treatment increased the physiological potential of the seeds. The protein level remained from 0.43 to 1.26 mg / g / vegetable. The FAL activity had low expression, and the values remained between 0.01 and 0.02 U.E / mg.proteins. In the same sense, β -1,3 glucanase activity was 0.002 and 0.005 U.E / mg.protein. Chitinase activity was not detected in this analysis. There was no interference in the activation of the phenylpropanoic route and in the synthesis of the enzymes chitinase and β -,3 glucanase, depending on the treatments used.

Key Words: Seed germination and vigor, seed treatment, inducers, metabolic pathways.

4.3 INTRODUÇÃO

A produção de milho no Brasil cresce significativamente a cada ano. Esse aumento é devido à introdução de híbridos mais produtivos e à adoção de um manejo cultural adequado. Segundo Marcos Filho (2015), os fatores fisiológicos, físicos e sanitários são determinantes na qualidade de um lote de sementes.

A qualidade de sementes também é influenciada pelas seguintes características: caracteres genéticos, condições ambientais, método de colheita, secagem, processamento, tratamento com produtos, armazenamento e embalagem (OLIVEIRA et al., 2009).

Um dos aspectos a serem observados na colheita das sementes é a

incidência de patógenos, sendo que a presença de microrganismos pode determinar prejuízos à qualidade fisiológica e desenvolvimento da cultura no campo (CICERO e SILVA, 2003). Os principais fungos fitopatogênicos veiculados pelas sementes de milho são *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc. e *F. graminearum* Schwabe (TANAKA & BALMER, 1980; GOMES et al., 1981; LUZ, 1997).

Dentre os patógenos associados às sementes, o *F. moniliforme* [sin. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] é o mais comumente encontrado (REIS et al., 1995; REIS & CASA, 1996). Segundo Shurtleff (1986) e Lucca-Filho (1987), além destes, *Helminthosporium maydis*, *Colletotrichum graminicola*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. (armazenamento) são associados ao apodrecimento de sementes de milho e a morte de plântulas em pré ou pós-emergência.

A presença de patógenos em sementes de milho mostra-se como um fator limitante para uma boa produção (RAMOS et al., 2014). O tratamento de sementes é um dos principais mecanismos utilizados no manejo de doenças. Ainda segundo os autores, os produtos mais utilizados no tratamento de sementes são os fungicidas dos grupos químicos dos Benzimidazóis, Ditiocarbamatos, Acilalalinato e Fenilpirrol, com objetivo de proteção durante a germinação e na fase inicial de desenvolvimento plântula.

Vale considerar que, naturalmente as plantas possuem seus mecanismos de defesa a patógenos, que quando ativados de forma eficiente podem ser um importante instrumento no manejo de doenças (MAZARO et al., 2008).

A indução de resistência em plantas contra patógenos, através do uso de elicitores, é caracterizada como um mecanismo de defesa induzida por agentes bióticos ou abióticos conferindo proteção à planta um amplo espectro de microrganismos (DURRANTE et al., 2014). Entre os indutores de resistência que vêm sendo avaliados na agricultura pode-se citar a quitosana (MATHUR & NARANG, 1990), ácido salicílico (BERTONCELI et al., 2015), acibenzolar-S-metil (ASM) (SALGADO et al., 2006) e fosfitos (MENEGUETTI et al., 2009).

O termo fosfito é o nome genérico empregado para os sais do ácido fosforoso (H_3PO_3) que apresentam elevada solubilidade, rápida absorção pelas plantas, seletividade e translocação via xilema e floema (GUEST et al., 1991). Estes, adentraram na agricultura como fertilizantes na década de 70. Desde então, o seu uso tem aumentado, em várias atividades agrícolas no Brasil (DIAS,

2000). Entre as vantagens do seu uso, estão o baixo custo, e a ótima absorção pelas plantas (MENEGUETTI, 2009).

Além da indução de resistência, os fosfitos foram testados para controle de doenças como o míldio da videira e também nas podridões pós colheita em maçãs (BRACKMANN et al., 2004), doenças do Maracujá (SOBRINHO et al., 2016), doenças da roseira (SIMON et al., 2016) e soja (MENEGUETTI Et al., 2009).

No tratamento de sementes de soja os fosfitos demonstraram ativar rotas de defesa vegetal, como a quitinase e β 1,3 glucanase (MULLER, 2015). Já para milho não existe relatos na literatura de sua atualização no tratamento de sementes, seja de forma isolada ou em associação com fungicidas.

Neste sentido, é de suma importância estudos que considerem a importância do tratamento de sementes de milho, bem como a possibilidade de potencializar esse tratamento com o emprego de produtos que possam ativar mecanismos de defesa vegetal. Assim, consequentemente, garantir plantas com melhor sanidade na fase inicial de desenvolvimento.

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de fertilizantes à base de fosfitos associados a fungicidas no tratamento de sementes de milho, considerando os parâmetros fisiológicos relacionados a germinação e vigor e a ativação de mecanismos de defesa vegetal.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Sementes e no Laboratório de Bioquímica do Campus da UTFPR de Dois Vizinhos.

Como material experimental foram utilizadas sementes certificadas do híbrido de milho P3456H, doadas pela Du Pont Pioneer do Brasil, produzidas mediante o uso de irrigação, na safra 2014/15 e colhidas em junho de 2015 no estado de Goiás. As sementes foram amostradas de um lote, seguindo-se a metodologia prevista nas Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009), para a obtenção de amostras representativas.

O momento da amostragem do material experimental na unidade de beneficiamento de sementes foi logo após estas terem sido submetidas à todas as etapas do beneficiamento, excetuando-se o tratamento químico.

Após chegarem no laboratório, as amostras médias foram mantidas em câmara fria e seca (10 °C e 20% de umidade relativa do ar), até o momento da retirada das amostras de trabalho e implantação dos ensaios, com as respectivas conduções dos testes.

Para a obtenção das amostras de trabalho, também foram seguidas as metodologias previstas nas RAS (BRASIL, 2009), com a finalidade de serem obtidas amostras representativas.

Foram testados dois fertilizantes foliares que contém nas suas formulações fosfitos de cobre e de potássio. Tais fertilizantes foram associados com dois fungicidas recomendados para tratamento de sementes de amplo uso comercial (carbendazim + thiram e metalaxil-M), conforme, descritos na Tabela 4.

4.4.1 Preparo do material experimental

No momento da montagem dos testes, as amostras das sementes foram retiradas da câmara fria, sendo então homogeneizadas para a retirada das amostras de trabalho, seguindo-se a metodologia prescrita nas RAS (BRASIL, 2009).

Tabela 4 - Doses dos produtos isolados ou em misturas, utilizados no ensaio de sementes tratadas com fosfitos em associação com fungicidas utilizados para o experimento. UTFPR, Dois Vizinhos, 2017.

	Tratamentos	Dose do produto por 100 Kg/ de semente
T1	Testemunha S/TS (água destilada)	
T2	Metalaxil-M	150 mL
T3	Carbendazim + thiram	300 mL
T4	Metalaxil-M + fosfito de cobre	150 + 100 mL
T5	Metalaxil-M + fosfito de potássio	150 + 100 mL
T6	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	300 + 100 mL
T7	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	300 + 100 mL
T8	Metalaxil-M + Complexo nutricional	150 + 200 mL

T9	Metalaxil-M + Complexo potencializador	150 + 300 mL
T10	Carbendazim + thiram + complexo nutricional	300 + 200 mL
T11	Carbendazim + thiram + complexo potencializador	300 + 300 mL
T12	Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo nutricional	150 + 100 + 200 mL
T13	Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo nutricional	150 + 10 + 200 mL
T14	Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador	150 + 100 + 300 mL
T15	Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	150 + 100 + 300 mL
T16	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + Complexo nutricional	300 + 100 + 200 mL
T17	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + Complexo nutricional	300 + 100 + 200 mL
T18	Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + Complexo potencializador	300 + 100 + 300 mL
T19	Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + Complexo potencializador	300 + 100 + 300 mL
T20	Complexo nutricional *	200 mL
T21	Complexo potencializador**	300 mL

*Complexo nutricional que reúne cobre, nitrogênio, fósforo, enxofre e aminoácidos

**Macro e micronutrientes, aminoácido e enraizador.

Após este procedimento, foi realizada uma caracterização inicial do lote de sementes utilizado (Tabela 5), determinando-se seu peso de mil sementes (PMS), porcentagem de umidade (U) e porcentagem de germinação (PG).

Em seguida, as sementes passaram pelo tratamento com os fungicidas e com os fosfitos de acordo com as suas respectivas doses apresentadas na Tabela 4, utilizando-se um volume de calda equivalente à 500 ml para cada 100 Kg de semente. O volume de calda foi completado com água destilada e três gotas de corante específico para tratamento de sementes.

O tratamento foi realizado de forma manual, utilizando-se pipeta graduada e um Becker de 500 ml, misturando-se as sementes com a calda, em um saco plástico e realizando uma homogeneização até que a cobertura do tratamento sobre o tegumento das sementes estivesse colorido de forma uniforme.

Tabela 5 - Caracterização inicial do lote de sementes utilizado no ensaio de sementes tratadas com fosfitos em associação com fungicidas. UTFPR, Dois

Vizinhos – PR, 2017.

Híbrido	PMS (gramas)	Teor de água	PG
P3456H	228,0	13,3	98

4.4.2 Variáveis a serem determinadas

Foram aplicados testes para avaliar a percentagem de germinação (PG); envelhecimento acelerado (EA); comprimento de parte aérea (CPA); comprimento de raiz (CR); matéria seca de plântulas (MSP), vigor pelo teste de frio (TF) e percentagem de emergência em campo (EC), calculando-se o índice de velocidade de emergência (IVE) e a velocidade de emergência (VE).

4.4.2.1 Porcentagem de germinação

Para a percentagem de germinação foram utilizadas 8 repetições de 50 sementes para cada tratamento. O substrato utilizado foram três folhas de papel GERMITEST® umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes a sua massa. Foram confeccionados rolos posteriormente envoltos em filme plástico para evitar perda de umidade, que foram levados para uma câmara germinadora modelo Mangelsdorf, previamente regulada a 25°C sem fotoperíodo. Foram realizadas avaliações do número de plântulas normais aos quatro e sete dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais, segundo as RAS (BRASIL, 2009).

4.4.2.2 Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido em caixas de polipropileno transparente do tipo gerbox com dimensões de 11,0 x 11,0 x 3,0 cm) contendo 40,0 mL de água destilada, sendo as sementes distribuídas em camada uniforme e única, sobre a tela que isola as mesmas do contato com a água. Fechadas as caixas, foram acondicionadas em câmara BOD (Biological Oxygen Demand), à 41°C por 48 horas (MARCOS FILHO, 1992). Após este

período, foi instalado o teste de germinação, utilizando-se oito repetições de 50 sementes, conforme os procedimentos descritos nas RAS (BRASIL, 2009). Após sete dias, foi realizada a contagem do número de plântulas normais e o resultado expresso em percentagem de vigor.

4.4.2.3 Comprimento de parte aérea

Para a avaliação do comprimento de plântulas foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes de milho dispostas em uma linha no terço superior do papel de germinação, em seu sentido longitudinal. Os papéis foram umedecidos previamente com água destilada equivalente a 3 vezes a massa seca do papel. As sementes de milho foram posicionadas de forma que a micrópila estivesse voltada com a parte inferior para o papel. Os rolos foram envoltos em papel filme e posicionados verticalmente no germinador do tipo Mangelsdorf por sete dias em temperatura constante de 25°C. Ao final deste período, foram efetuadas a aferição da parte aérea e raiz primária das plântulas normais emergidas utilizando-se uma folha de papel milimetrado. Os resultados médios por plântulas foram expressos em centímetros.

4.4.2.4 Massa de seca de plântulas

A determinação da massa de matéria seca foi obtida descartando-se o residual do endosperma das partes aéreas das plântulas. Após as medições de comprimento de plântulas, o material de cada repetição foi acondicionado em sacos de papel Kraft, previamente identificados e levados para uma estufa mantida à temperatura de 80°C, por 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após esfriar, em dessecador, cada repetição teve a sua massa determinada. Os resultados médios obtidos foram expressos em miligrama por plântula.

4.4.2.5 Teste de frio

O teste foi conduzido de acordo com a metodologia proposta por CÍCERO & VIEIRA (1994), com quatro repetições de 50 sementes, em rolos com

três folhas de papel GERMITEST® umedecido com 2,5 vezes o seu peso de água destilada. Após a semeadura, os rolos foram acondicionados no interior de sacos de filme plástico, vedados com ligas de borracha e mantidos em BOD regulada a 10°C, por sete dias. Após este período, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para uma câmara germinadora Mangelsdorf, onde foram mantidos à temperatura de 25°C e após mais 7 dias para então ser realizada a contagem de plântulas normais. O resultados foram expressos em porcentagem de vigor.

4.4.2.6 Porcentagem de emergência em campo

A emergência das plântulas em campo (EC) foi realizada com 4 subamostras de 100 sementes para cada tratamento, distribuídas em sulcos com 100 cm de comprimento. A profundidade de semeadura foi de 3,0 cm e o espaçamento entre linhas de 50 cm. Contaram-se as plântulas emergidas aos 21 dias após a semeadura e o resultado foi expresso em porcentagem.

4.4.2.7 Índice de Velocidade de Emergência

Teste conduzido juntamente com a EC. Para sua determinação, foram realizadas contagens diárias do número de plântulas emergidas com o coleóptilo visível acima do nível do solo, até a estabilização da emergência. O número de plântulas emergidas referentes a cada contagem, foi obtido subtraindo-se do valor lido, o valor referente à leitura do dia anterior.

O IVE foi calculado empregando-se a fórmula, proposta por MAGUIRE (1962):

$$IVE = E1/N1 + E2/N2 + \dots + En/Nn, \text{ em que:}$$

IVE = índice de velocidade de emergência; E = número de plântulas emergidas observadas em cada contagem; N = número de dias da semeadura a cada contagem.

Utilizou-se ainda destes valores para calcular a VE, por meio do somatório diário dos percentuais de plântulas que emergiram.

$$VE = \frac{(N1G1) + (N2G2) + \dots + (NnGn)}{G1 + G2 + \dots + Gn}$$

4.5 Metodologia das análises bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas no laboratório de bioquímica da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos.

As amostras retiradas de plantulas provenientes do teste de germinação, constituíram 0,5 g, mesclada entre todas as partes do vegetal (parte aérea e raízes), as quais foram imediatamente após a coleta, foram congeladas e armazenadas em freezer na temperatura de -15° C, até a realização das análises.

4.5.1 Proteínas Totais

Para quantificação das proteínas totais, após a maceração das amostras de tecido foliar em almofariz com 5mL de solução tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5), o material foi centrifugado (14.000g / 10 min a 4° C) e o sobrenadante coletado. Utilizou-se o teste de Bradford (1976) para quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 595nm, com soro albumina bovina como padrão.

Os resultados foram expressos em mg.g⁻¹ de tecido.

4.5.2 Atividade de Quitinase e Glucanase

Para dosagem das atividades de quitinases e β -1,3 glucanase, seguiu-se os procedimentos descritos por Wirth e Wolf (1992), com adequações, onde as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4° C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas.

A quitinase foi avaliada por meio da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante

violeta 5R -RBV (Sigma Aldrich®). Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos utilizou-se como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - 4 mg.ml⁻¹).

Os resultados foram expressos em Unidade Enzimática.mg⁻¹ de proteína.

4.5.3 Atividade da Fenilalanina-amônia-liase

Nas análises bioquímicas, a determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi de acordo com a metodologia descrita por Kuhn (2007), por meio da quantificação colorimétrica do ácido trans-ciânico liberado do substrato fenilalanina. Utilizou-se 0,5g da amostra, macerado com tampão TRIS – HCl pH 8,0 acondicionados em tubos ependorfe e centrifugado por 10 min a 4°C a 6000rpm para obter o extrato enzimático, acrescentou-se o substrato fenilalanina. Os tubos foram incubados em banho-maria por 45 min a 40°C, ao retirar, colocados em banho-maria de gelo por 5 min para interromper a reação e assim realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 290nm.

Os resultados foram expressos em UAbs.mg⁻¹ de proteína.

4.6 Análise dos dados

Após a compilação, o conjunto de dados foi submetido ao teste de Lilliefors para a verificação da homogeneidade da variância. Cumprido os pressupostos do modelo, procedeu-se a ANOVA, para a verificação do efeito dos tratamentos. Em seguida, procedeu-se o teste de médias de Scott Knot $p > 0,5$, para a discriminação entre as médias dos tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SASM-AGRI (Canteri et al. 2001) e as informações de Fontes de Variação (FV), Graus de Liberdade (GL), Quadrado Médio (QM), os quais estão apresentados nos anexos.

4.7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.7.1 Desempenho fisiológico de sementes

Os resultados obtidos no teste de germinação realizado, apresentados na Tabela 6, pode-se notar uma diferenciação no percentual de plantulas na primeira contagem, onde destacaram-se os tratamentos T17, T3 e T16, que atingiram aos 4 dias, após a instalação do teste 97, 94 e 93%, de germinação, respectivamente. Valores superiores ao da testemunha sem nenhum tratamento. Porém, evidencia-se que outros três tratamentos T14, T18, obtiveram um percentual de germinação na primeira contagem acima de 87,0%.

Segundo KRZYZANOWSKI et. al. (1999) a primeira contagem de germinação tem por objetivo determinar o vigor relativo do lote, avaliando a porcentagem de plântulas normais.

Esta alta porcentagem de plantulas normais dos tratamentos, deve-se ao efeito protetor do fungicida, somado ao suporte dado ao embrião das sementes pelos fosfitos e pelo potencializador nutricional.

Além disso, a germinação inicial tem relação com a absorção de água e nutrientes pela semente (Taiz & Zeiger, 2004); os fosfitos são produtos com alta solubilidade em água e podem potencializar a disponibilidade de nutrientes para a semente.

Segundo Tancredi e Sedyama (2013), o aumento da disponibilidade de nutrientes no tratamento de sementes, permite que uma maior quantidade de nutrientes esteja disponível para a plântula, já em seu desenvolvimento inicial.

Além, do efeito protetor dos produtos a base de fosfitos, este arranque inicial das sementes tratadas, pode estar ligado a uma proteção contra patógenos que se encontram sob forma de micélio dormente no interior das

Tabela 6 - Dados Médios em % de primeira contagem de germinação (PCG), germinação final (GF) e de plântulas anormais (PA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas e fosfitos. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Tratamentos	PCG	GF	PA
-------------	-----	----	----

T1 - Testemunha sem TS	32 e	98 a	1 b
T2 - Metalaxil-M	79 c	99 a	1 b
T3 - Carbendazim + thiram	94 a	100 a	0 b
T4 - Metalaxil-M + fosfito de cobre	17 g	98 a	1 b
T5 - Metalaxil-M + fosfito de potássio	18 g	100 a	0 b
T6 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	90 b	99 a	1 b
T7 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	23 e	99 a	1 b
T8 - Metalaxil-M + complexo nutricional	25 e	99 a	1 b
T9 - Metalaxil-M + complexo potencializador	22 e	100 a	0 b
T10 - Carbendazim + thiram + complexo nutricional	33 e	99 a	1 b
T11 - Carbendazim + thiram + complexo potencializador	80 c	96 b	3 a
T12 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo nutricional	21 g	98 a	1 b
T13 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo nutricional	77 c	99 a	0 b
T14 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador	89 b	99 a	0 b
T15 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	79 c	99 a	0 b
T16 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	75 c	95 b	0 b
T17 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo nutricional	97 a	99 a	0 b
T18 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	93 a	98 a	0 b
T19 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	40 d	87 c	0 b
T20 - Complexo nutricional	26 e	96 b	3 a
T21 - Complexo potencializador	87 b	99 a	1 b
CV%	10,5	2,49	163,7

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,5$).

sementes (DALIO et. al. 2012).

Com relação a contagem final aos 7 dias após a instalação do teste de germinação, todos os tratamentos obtiveram níveis de germinação superiores ao mínimo estabelecido pela Instrução Normativa 45/2013 para a comercialização de sementes de milho (MAPA, 2017), incluindo a testemunha, o que demonstra a alta qualidade fisiológica do lote utilizado no ensaio (Tabela 6).

Uma exceção foi o tratamento (T19), o qual apresentou o percentual de germinação de 87 %, diferindo significativamente de todos os demais tratamentos, inclusive indicando um possível efeito fitotóxico desta associação.

Por outro lado, os tratamentos (T3), (T5) e (T9), atingiram 100% de germinação das sementes. Estes dados vão de encontro aos resultados de Muller, (2015), na qual a autora utilizando fosfitos a base de fósforo e potássio, manteve a alta germinação em sementes de soja nas duas contagens.

Concordam também com Fernandes et. al. (2010), utilizando o mesmo produto, que verificaram uma alta porcentagem de germinação e vigor em híbridos de milho.

Entretanto, Possenti e Villela (2010) estudando a germinação de sementes de soja tratadas com molibdênio, não verificaram efeito positivo deste nutriente sobre a qualidade fisiológica das mesmas. E, Peter et al., (2014), também não obtiveram resultados significativos utilizando óxido de potássio em sementes de soja.

Segundo Deuner et al., (2015), várias pesquisas vêm sendo realizadas analisando a aplicação de nutrientes via tratamento de sementes e via foliar em algumas culturas. Porém, as mesmas têm apresentado resultados controversos no que tange aos componentes do rendimento, produtividade e qualidade fisiológica das sementes produzidas, em distintas culturas e sob diferentes condições nutricionais.

A Tabela 7 apresenta os dados referentes aos testes de vigor de sementes. Sendo que, a maioria dos tratamentos apresentou alto percentual de germinação, com exceção do tratamento (T5), Metalaxil-M + fosfito de potássio que apresentou 86% de percentual de germinação e o tratamento (T19) Carbendazim + thiram + fosfito de potássio e complexo potencializador, apresentando 87%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Contudo verificou-se na Tabela 7, que o T19 apresentou resultados diferentes com relação aos testes de PGfrio e EA, sendo que obteve-se um baixo valor para o primeiro (87%), porém, o tratamento não resultou em desempenho similar ao teste de EA. Isto pode ser explicado às diferenças existentes entre os dois testes.

Tabela 7 – Dados médios dos testes de vigor, porcentagem de germinação do teste de frio (PG Frio) e porcentagem de germinação do teste de envelhecimento acelerado (EA), do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas e fosfitos. UTFPR. Dois Vizinhos, PR. 2017.

Tratamentos	PG	
	Frio%	EA%
T1 - Testemunha sem TS	99 a	99 a
T2 - Metalaxil-M	99 a	97 a
T3 - Carbendazim + thiram	99 a	99 a
T4 - Metalaxil-M + fosfito de cobre	99 a	86 a
T5 - Metalaxil-M + fosfito de potássio	86 b	97 a

T6 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	99 a	97 a
T7 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	99 a	99 a
T8 - Metalaxil-M + complexo nutricional	98 a	97 a
T9 - Metalaxil-M + complexo potencializador	99 a	100 a
T10 - Carbendazim + thiram + complexo nutricional	99 a	99 a
T11 - Carbendazim + thiram + complexo potencializador	98 a	98 a
T12 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo nutricional	98 a	97 a
T13 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo nutricional	99 a	97 a
T14 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador	98 a	96 a
T15 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	99 a	95 a
T16 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	99 a	99 a
T17 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + cComplexo nutricional	99 a	97 a
T18 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	98 a	96 a
T19 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	87 b	96 a
T20 - Complexo nutricional	65 c	85 a
T21 - Complexo potencializador	97 a	99 a
CV%	9,89	11,27

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,5$).

De acordo com Nakagawa (1994), os testes são muito específicos, para determinadas situações. Por sua vez, o autor afirma que o teste de EA, possui mais correlação com o potencial de armazenamento das sementes, enquanto o teste de frio, relaciona-se mais a remobilização de reservas e desempenho de semente, em condições sub-ótimas de germinação destas.

A maioria dos tratamentos de sementes utilizados neste teste, elucidaram valores acima de 90% de germinação. Os dados de Envelhecimento Acelerado mostram que, estatisticamente não houve diferença entre os tratamentos. Neste ponto, Muller (2015), verificou que fosfito de potássio aplicado em sementes de soja, demonstrou um EA de 27%, baixa em comparação com os resultados deste estudo.

Tabela 8 - Dados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz primária (CRaiz), em mm e matéria seca de plântulas (MS) (mg.plântula⁻¹) do ensaio com sementes de Milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos - PR, 2017

Tratamentos	CRaiz	CPA	MS
1 - Testemunha sem TS	171,84 c*	134,89 c	141,34 c
2 - Metalaxil-M	195,50 a	113,29 d	155,98 c

3 - Carbendazim + thiram	197,31 a	152,45 a	165,60 c
4 - Metalaxil-M + fosfito de cobre	204,09 a	127,77 c	171,56 c
5 - Metalaxil-M + fosfito de potássio	191,19 a	137,22 c	180,78 b
6 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	193,47 a	145,30 b	182,22 b
7 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	209,03 a	113,23 d	154,30 c
8 - Metalaxil-M + complexo potencializador	199,33 a	140,08 c	149,11 c
9 - Metalaxil-M + complexo potencializador	213,03 a	133,09 c	144,53 c
10 - Carbendazim + thiram + complexo potencializador	201,26 a	161,28 a	160,18 c
11 - Carbendazim + thiram + complexo potencializador	202,88 a	147,03 b	165,24 c
12 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador	206,27 a	126,73 c	151,53 c
13 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	193,58 a	126,08 c	236,84 a
14 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador	172,16 c	132,27 c	192,22 b
15 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	201,85 a	117,01 d	167,26 c
16 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	192,02 a	159,80 a	151,02 c
17 - carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	202,16 a	158,51 a	152,92 c
18 - Carbendazim + Thiram + fosfito de cobre + complexo potencializador	186,88 b	136,56 c	161,16 c
19 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	198,51 a	142,71 b	139,55 c
20 - Complexo potencializador	184,34 b	145,99 b	142,63 c
21 - Complexo potencializador	194,95 a	129,31 c	162,52 c
CV %	5,63	5,81	14,89

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0,5$).

A Tabela 8, apresenta os parâmetros morfológicos como o comprimento de raízes e parte aérea, informações que complementam os testes de vigor. Segundo Nakagawa (1999), a determinação do comprimento médio das plântulas normais é realizada, visto que, as amostras que expressam os maiores valores são consideradas mais vigorosas. Isso ocorre devido ao fato das sementes mais vigorosas darem origem a plântulas com maior taxa de crescimento, devido a maior translocação das reservas dos tecidos de armazenamento para o crescimento do eixo embrionário (DAN et al. 1987). O teste de comprimento de plântulas tem por objetivo complementar os demais testes na avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes (GUEDES, et al. 2013).

Neste estudo, verifica-se uma variação significativa em relação a testemunha para a maioria dos tratamentos. Porém, o T 14 (Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo potencializador) não diferiu estatisticamente da testemunha, para a variável comprimento de raízes. De acordo com Vanzolini et al. (2007), avaliando parte das plântulas normais emergidas de soja, verificaram que o comprimento de raízes, torna-se a variável mais sensível para diferenciar lotes com alto vigor.

Por outro lado, maiores diferenças ocorreram quando avaliou-se o comprimento de parte aérea (CPA), na qual destacaram-se os tratamentos T3, T11, T16, T19, os quais demonstraram maior tamanho da parte aérea. Dias et al. (2010) em estudo avaliando lotes de sementes de milho com diferentes níveis de vigor, concluiu que o vigor das sementes exerce efeitos diretos no crescimento inicial de plantas, refletindo na habilidade competitiva da cultura. Moterle et al. (2006), realizaram um estudo sobre a influência estresse salino por meio de KCl em sementes de milho, concluíram que o comprimento de plântulas, de raiz e a massa seca, apresentam redução linear sob ação do produto.

A influência dos tratamentos testados frente a avaliação do vigor, foi mais evidente nas variáveis comprimento de parte aérea e comprimento das raízes do que para o acúmulo de matéria seca das plântulas.

De acordo com Marcos-Filho (2015), os testes de vigor são específicos para determinadas características. Assim, é provável que diferentes testes, não apontem resultados semelhantes quando se trata de avaliar vigor. Porém, é necessário ressaltar que os tratamentos testados, não interferiram no acúmulo de matéria seca pelas plântulas. Balardin et al. (2011), observaram que a misturas de fipronil + tiofanatometílico + piraclostrobina proporcionaram incremento positivo na massa seca de soja. Entretanto, Cunha et al., (2015), concluíram que a mistura de ingredientes ativos inseticidas e fungicidas, não prejudicou a massa seca de plântulas de soja.

Entretanto, na avaliação do acúmulo de matéria seca das plântulas, tem-se um destaque para o tratamento (T15) Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador. Este tratamento proporcionou plântulas com 236,84 mg contra 141 mg da testemunha.

Considerando-se que todas as sementes eram originárias do mesmo lote e foram submetidas às mesmas condições, pode-se inferir que tal tratamento

favoreceu uma melhor capacidade do embrião destinar parte da energia contida nos tecidos de reserva, pode ter havido maior remobilização de reservas em favor do crescimento radicular, neste caso, superando fatores ambientais e bióticos que pudessem ser contrários ao seu desenvolvimento.

A Tabela 9 apresenta os resultados de emergência a campo, índice de velocidade de emergência a velocidade de emergência, que de acordo com Ludwig et al, (2009), são importantes avaliações para a determinação da qualidade fisiológica das sementes. Munizzi et al. (2010), dissertam que sementes com qualidade fisiológica possuem maior velocidade nos processos metabólicos, propiciando germinações rápidas e uniformes de plântulas.

No teste de emergência a campo (EC) observa-se que todos os tratamentos obtiveram valores superiores a 94% de plântulas normais demonstrando o bom desempenho dos tratamentos, inclusive a testemunha, nesta avaliação.

Segundo Guedes et. al. (2013) definem que a uniformidade e a rapidez de emergência de plantulas são componentes importantes dentro do conceito de vigor, mesmo sendo as diferenças de vigor facilmente perceptíveis .

Observando-se dados do IVE, verifica-se como destaque o tratamento (T2) , diferenciando-se significativamente dos demais, destacando-se também na variável velocidade de emergência. Entretanto, Vazquez et. al. (2016) encontraram resultados inferiores para a variável VE, quando trataram sementes de milho com produtos a base de zinco, os quais atribuíram a toxicidade de alguns micronutrientes quando utilizados em doses alteradas, com relação a recomendação do fabricante.

Tabela 9 - Dados Médios dos testes de Emergência a Campo (EC) em %, Índice de Velocidade de Emergencia (IVE), Velocidade de Emergência (VE) em dias do ensaio com sementes de milho tratadas com fosfitos associados a fungicidas. UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2017.

Tratamentos	EC	IVE	VE
T1 - Testemunha S/TS	95 b	12,17 c	7,73 b
T2 - Metalaxil-M	100 a	15,28 a	4,80 d
T3 - Carbendazim + thiram	96 b	12,57 c	7,55 b

T4 - Metalaxil-M + fosfito de cobre	98 a	12,79 c	7,46 b
T5 - Metalaxil-M + fosfito de potássio	98 a	12,44 c	7,94 b
T6 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre	96 b	12,66 c	7,32 b
T7 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio	96 b	11,87 d	8,33 a
T8 - Metalaxil-M + complexo nutricional	99 a	12,45 c	8,08 a
T9 - Metalaxil-M + complexo potencializador	96 b	11,61 d	8,49 a
T10 - Carbendazim + thiram + complexo nutricional	96 b	12,29 c	8,03 a
T11 - Carbendazim + thiram + complexo potencializador	98 a	11,97 d	8,44 a
T12 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo nutricional	95 b	11,29 d	8,63 a
T13 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	98 a	12,47 c	8,06 a
T14 - Metalaxil-M + fosfito de cobre + complexo nutricional	99 a	12,00 d	8,52 a
T15 - Metalaxil-M + fosfito de potássio + complexo potencializador	96 b	11,83 d	8,38 a
T16 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	97 a	12,19 c	8,21 a
T17 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	98 a	13,57 b	6,69 c
T18 - Carbendazim + thiram + fosfito de cobre + complexo nutricional	97 a	12,56 c	7,86 b
T19 - Carbendazim + thiram + fosfito de potássio + complexo potencializador	98 a	12,61 c	7,86 b
T20 - Complexo nutricional	96 b	11,94 d	8,29 a
T21 - Complexo potencializador	94 b	11,51 d	8,43 a
CV%	1,79	4,94	6,67

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (p<0,5)

Verificou-se que o tratamento destaque para a VE também foi o Metalaxil-M (T2), tendo como resultado a emergência mais rápida, com média de 4,8 dias. Segundo Almeida et al. (2003), uma maior rapidez no crescimento inicial pode incrementar o aproveitamento da radiação solar disponível no início do ciclo da cultura, intensificando o posterior crescimento vegetativo, confirmando a observação de Sá et. al. (2011), onde de acordo com o menor o valor do VE, maior será a velocidade, e conseqüentemente maior será o vigor.

4.7.2 Análises bioquímicas

Em relação às análises bioquímicas observou-se que os tratamentos não interferiram nos parâmetros avaliados.

O nível de proteínas permaneceu de 0,43 a 1,26 mg./g/tecido vegetal. A atividade da FAL, teve baixa expressão, sendo que os valores permaneceram entre 0,01 e 0,02 U.E/mg.proteínas. No mesmo sentido a atividade da β 1,3 glucanase ficou de 0,002 e 0,005 U.E/mg.proteína. Já a atividade da quitinase não foi detectada nas análises realizadas.

Tal fato nos permite afirmar que nas condições do experimento, considerando condições de laboratório, os produtos não apresentaram ação sobre os mecanismos de defesa vegetal. Possivelmente, isso pode estar relacionado a uma baixa expressão pela falta de um patógeno desafiador, haja visto que não houve inoculação de patógenos ou algum outro tipo de dano biótico. Conforme Kuhn (2007), os mecanismos de defesa, como as PR-proteínas quitinase e β -1,3-glucanase, podem ser acionados de forma mais expressiva quando desafiadas com algum patógeno.

Segundo Castro & Hilhorst (2004), a biossíntese de metabólitos secundários é realizada por rotas metabólicas específicas, ocorrendo estreita relação entre essas rotas e aquelas responsáveis pela síntese dos metabólitos primários. O que segundo os autores, o metabolismo secundário deve ser considerado como um todo, na produção de metabólitos primários e secundários.

Segundo Muller (2015), em soja, os fosfitos de potássio avaliados, são capazes de induzir à resistência através do tratamento de sementes, elevando a atividade de β -1,3-glucanase, e Dalacosta et al. (2014) ao tratarem sementes de beterraba com fosfito de potássio observaram que na concentração de 4% houve aumento significativo da atividade de FAL.

Contudo a rota enzimática da quitinase não foi ativada e consequentemente não sofrendo influência dos tratamentos, o que indica que neste caso, a rota de defesa através da ativação das quitinases pode não ser uma rota preferencial.

Segundo (GUZZO, 2004), a atividade da enzima FAL, está relacionada à via biossintética dos fenilpropanóides, o aumento da FAL leva a aumento da síntese de fenilalanina que pode levar a aumento da concentração de outros metabólitos importantes na defesa vegetal, como o coumarato, por exemplo (LABANCA, 2002). Bertoncilli et al. (2014) ao tratarem sementes de soja com

acibenzolar-S-metil, observaram que na concentração máxima utilizada (20,0 g.i.a./100 L) houve aumento da atividade da FAL, não havendo resultados igualmente positivos para quitinases e β -1,3 glucanase.

Enfim, a não ativação das rotas metabólicas de defesa vegetal não descarta o potencial dos fosfitos na ativação da defesa em milho, e sim, sugere novos trabalhos, considerando a inoculação de patógenos como desafiadores, e com isso desencadearem mecanismos de defesa vegetal, além disso avaliar a atividade enzimática no decorrer do tempo, e não somente no final do experimento.

4.8 CONCLUSÕES

O efeito dos fungicidas aliados a fosfitos de potássio e de cobre, e os complexos nutricionais, mantiveram o potencial fisiológico das sementes de milho.

Os tratamentos não interferiram na ativação da rota dos fenilpropanóides e na síntese das enzimas quitinase e β -1,3 glucanase, quando utilizados em tratamento de sementes de milho.

4.9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALARDIN, R.S. et al. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v.41, n.7, p.1120-1126, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011000700002>>. Acesso em: 20 jan. 2014. doi: 10.1590/ S0103-84782011000700002.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. 399p.

CAIXETA, A.O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**. v.3, n.1, p. 35-43. Patos de Minas: UNIPAM, 2012.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

CUNHA, R. P. DA, CORRÊA, M. F., SCHUCH, L. O. B., OLIVEIRAI, R. C. DE, ABREU JUNIOR, J. DE S. ALMEIDA, T. L. de. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 2, p. 1-7, 2015.

DALACOSTA, N.L.; ROCHA, R.C.D.S.; BERTONCELLI, D.J.; MAZARO, S.M.; LEWANDOWSKI, A.; ZORZZI, I.C.; BORSATTI, F.C.; PADILHA, M.L. Fosfito de potássio na indução de resistência em plântulas de beterraba e sobre *Fusarium* sp. *in vitro*. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos. **Anais...** Maringá, 2014a.

DALACOSTA, N.L.; MAZARO, S.M.; ROCHA, R.C.D.S.; BERTONCELLI, D.J.; LEWANDOWSKI, A.; ZORZZI, I.C.; CRUZ, M.P. Fosfito de potássio na indução de resistência em plântulas de tomate e sobre *Rhizoctonia solani in vitro*. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos. **Anais...** Maringá, 2014b.

DALIO, R. J. D. et al. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 20, n. 1, p. 206-243, 2012.

DANN, E.K.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX. J.P.; DEVERALL, B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean. *Phaseolus vulgaris* L. **Physiologica and Molecular Plant Pathology**. v.49, n.1, p. 307-319. London, 1996.

DAN, E. L.; MELLO, V. D. C.; WETZEL, C. T.; POPINIGIS, F.; ZONTA, E. P. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 45-55, 1987.

DELOUCHE, J.C. Deterioração de sementes. **Seed News**. v. 6, n. 6, p. 24-31. Pelotas, 2002.

DEUNER, C. ; ALMEIDA A. S.; BORGES. C. T.; JAUER, A.; MENEGUELO, G. Efeito da mistura de produtos químicos aplicados via tratamento de sementes em soja. In. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.21; p. 868, 2015.

DURRANT, W.E.; DONG. X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, n.1, p.185-209, 2004.

FERNANDES, N.C.; SANTOS, D.C.R.; COSTA, H.T.; TERAMOTO, A.;

XIMENES, P.A. Efeito do tratamento de sementes com nutrientes sobre o desenvolvimento de plântulas de milho (*Zea mays*). **Anais XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. 72 p. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, v.144, n.9/10, p.449-454, 1996.

GUZZO, S.D. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix*. **Tese** (Doutorado) 236p. Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, 2004.

KOLCHINSKI, E.M.; SCHUCH, L.O.B.; PESKE, S.T. Crescimento inicial de soja em função do vigor das sementes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.2, p.163-166, 2006.

KUHN, O.J. Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*; aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção. **Teste** (Doutorado). 140p. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

LABANCA, E.R.G. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). **Dissertação** (mestrado). Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.

LUDWIG, M. P.; SCHUCH, L. O. B.; LUCCA FILHO, O. A.; AVELAR, S. A. G.; MIELERZRSKI, F.; OLIVEIRA, S.; CRIZEL, R. L. Desempenho de sementes e plantas de milho híbrido originadas de lotes de sementes com alta e baixa qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 8 n. 1, p. 83-92, 2009.

MACHADO. J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras, 2000. 138p.

MACHADO, A. Q.; CASSETARI NETO, D. Mais produtividade. **Caderno Técnico Cultivar: Cultura do Milho**. Goiânia. n.100, p.05-07. 2007.

MACHADO NETO, N. B., CUSTÓDIO, C. C., COSTA, P. R., DONÁ, F. L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, nº 1, p.142-148, 2006.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**. v.2, n.1, p.176-177. Madison, 1962.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA; R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Cap. 3, p. 1-24. Londrina: ABRATES, 1999.

MAUCH, F.; STAEHELIN, L.A. Functional implications of the subcellular localization of ethylene-induced chitinase and β -1.3-glucanase in bean leaves. **Plant Cell**. v.1, n.1, p. 447-457. Baltimore, 1989.

MARCONDES, J.A.P. E CAIRES, E.F. Aplicação de molibdênio e cobalto na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 687- 694, 2005.

McDONALD JUNIOR, M.B. Vigor test subcommittee report. **News Letter Association**. Proceeding of Association of Official Seed Analysts. v.54, n.1, p.37-40. Washington, 1980.

MAPA. Instrução Normativa Nº25 de 16 de dezembro de 2005. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=abreLegislacaoFederal&chave=50674&tipoLegis=A>. 2017.

MAZARO, S.M. Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores. **Tese** (Doutorado). 87p. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2007.

MAZARO, S. M., CITADIN, I., GOUVÊA, A. DE, LUCKMANN, D. S. S. G. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p. 1824 – 1829. out, 2008.

MAZARO, S.M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS. I.; CITADIN, I.; POSSENTI, J.C.; GOUVÊA, A. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.44, n.11, p.1424-1430. Brasília, 2009.

MUNIZZI, A.; BRACCINI, A. L.; RANGEL, M. A. S.; SCAPIM, C. A.; ALBRECHT, L. P. Qualidade de sementes de quatro cultivares de soja, colhidas em dois locais no estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 176-185, 2010.

MOTERLE, L. M.; LOPES, P. C.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de cultivares de milho-pipoca submetidas ao estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 169-176, 2006.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Cap. 2, p. 1-21. Londrina: ABRATES, 1999.

PESSOA, A. C. S., LUCHESE, E. B. & LUCHESE, A. V. Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de milho, em resposta ao tratamento de sementes com boro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 24, p.939-945, 2000.

PETTER, A. , ALVES, A. U. ; SILVA, J. A. DA ; CARDOSO, E. DE A ; Productivity and quality of soybean seeds as a function of potassium application. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 89-100, 2014.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. 2.ed.. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p

POSSENTI, J.C.; VILLELA, F.A. Efeito do molibdênio aplicado via foliar e via sementes sobre o potencial fisiológico e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**. v.32, n.4, p. 143-150. Londrina, 2010.

SÁ, M. E.; OLIVEIRA, S. A.; BERTOLIN, D. C.:Roteiro prático da disciplina de produção e tecnologia de sementes: análise da qualidade de São Paulo: **Cultura Acadêmica**: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 2011. 112p.

SALGADO, S.M.L.; RESENDE, M.L.V.; CAMPOS, V.P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**. v.31, n.4, p.1007-1013 . Lavras, 2007.

TANCREDI, F.D.; SEDIYAMA, T. Nutrição mineral e qualidade de sementes. In: SEDIYAMA, T. Tecnologia de Produção de Sementes de Soja. p.11-14. Londrina: Mecenas, 2013.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.T.M.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p.90-96, 2007.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com relação ao crescimento micelial dos dois fungos, conclui-se que os melhores resultados foram obtidos com o fosfito de potássio e manganês.

No teste de sanidade, os melhores resultados foram obtidos quando utilizou-se os produtos em mistura com carbendazim + thiram e fosfito de potássio.

Quando se utilizou-se os produtos isolados, os melhores resultados foram obtidos com o fungicida carbendazim + thiram, o que atualmente a indústria sementeira vem oferecendo ao produtor como tratamento de sementes adicional, sendo importante devido a incidência de patógenos nas sementes .

Os efeitos dos fosfitos de potássio e cobre em tratamento de sementes associados a fungicidas mantiveram o potencial fisiológico das sementes, neste ponto deve-se investir em estudos mais aprofundados, incluindo testes a campo.

Os tratamentos não interferiram na ativação da rota dos fenilpropanóides e na síntese das enzimas quitinase e β -1,3 glucanase, quando utilizados em tratamento de sementes de milho e nas condições deste estudo, abrindo-se uma oportunidade futura para novas observações.

6 ANEXOS

Tabela 10 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para a variável primeira contagem de germinação (PG4d) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	7859,981
Resíduo	147	35,86395
Total	167	
C.V.	10,50%	

Tabela 11 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter porcentagem de germinação (PG) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	59,83095
Resíduo	147	5,952381
Total	167	
C.V.	2,49%	

Tabela 12 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter porcentagem de germinação a frio (PGFrio) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR,

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	510,8286
Resíduo	147	90,35034
Total	167	
C.V.	9,89%	

Tabela 13 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter envelhecimento acelerado (EA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	114,531
Resíduo	147	118,8469
Total	167	
C.V.	11,27%	

Tabela 14 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter comprimento de raiz (Craíz) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	554,98
Resíduo	84	121,3358
Total	104	
C.V.	5,63%	

Tabela 15 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter comprimento de parte aérea (CPA) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	1010,132
Resíduo	84	63,43026
Total	104	
C.V.	5,81%	

Tabela 16 - Fontes de variação (FV), graus de liberdade (GL), quadrado médio (QM) para o carácter matéria seca (Mat. Seca) do ensaio com sementes de milho tratadas com fungicidas associados a fosfitos e complexos nutricionais. UTFPR, Dois Vizinhos - PR, 2017.

Causa da variação	G.L.	Q.M.
Tratamentos	20	1914,826949
Resíduo	63	591,3067651
Total	83	
C.V.	14,89%	