Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

***Fusarium graminearum* em sementes de trigo
(*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle**

Daniel Garcia Júnior

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia.

Piracicaba
2006

Daniel Garcia Júnior
Engenheiro Agrônomo

***Fusarium graminearum* em sementes de trigo
(*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle**

Orientador:

Prof. Dr. JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia.

Piracicaba
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Garcia Júnior, Daniel

Fusarium graminearum em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle / Daniel Garcia Júnior. - Piracicaba, 2006.
78 p. : il.

Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Controle químico 2. Fitossanidade 3. Fungicida 4. Fusariose vegetal
5. Patologia de semente 6. Trigo I. Título

CDD 633.11

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

**À minha mãe, professora Carmen Rita Ruas Martins – uma grande mulher;
Às minhas irmãs Ana, Stela e Mari e ao meu irmão Rodrigo – pessoas ímpares na minha vida;
Ao professor, José Otávio Machado Menten – chefe, amigo, confidente, que acreditou na
minha capacidade e muito me ajudou.**

**Sem eles, não seria capaz de concluir esse trabalho e por isso,
dedico.**

AGRADECIMENTOS

Ao professor José Otávio Machado Menten, pela orientação, dedicação, confiança e amizade;

À Heloísa, grande amiga, pela sua ajuda incondicional e dedicação;

À Dra. Marta Helena Vechiato, pesquisadora do Instituto Biológico de São Paulo, pela orientação, paciência e amizade, a quem muito estimo;

À pesquisadora Maria Imaculada Pontes Moreira Lima, do Centro Nacional de Pesquisas de Trigo (CNPT) – EMBRAPA, pela ajuda e colaboração neste trabalho;

Ao pesquisador José Guilherme de Freitas, do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), pela ajuda e colaboração neste trabalho;

Ao professor Erlei Melo Reis, pela colaboração;

Ao professor Edson Furtado, pela amizade e pela ajuda;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), juntamente com o Setor de Fitopatologia, por permitirem a realização desse trabalho;

Ao Centro Nacional de Pesquisas do Trigo (CNPT) - EMBRAPA, Instituto Agronômico de Campinas e Instituto Biológico de São Paulo, pelas parcerias;

A CAPES, por ceder uma bolsa de estudo para a realização desse trabalho;

Ao professor Nelson Massola Júnior, pela amizade;

Ao professor Hiroshi Kimati, pela amizade e colaboração;

A Cleci – grande amiga, que nunca deixou de acreditar na minha capacidade;

À Vanessa, pela colaboração, carinho e amizade;

A todos os colegas do Laboratório de Patologia de Sementes da ESALQ;

À Sílvia, pela força, amizade e dedicação;

A todos os meus amigos e amigas, pela ajuda e companheirismo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão Bibliográfica	15
2.1.1 O cultivo do trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	15
2.1.2 Doenças bióticas do trigo	15
2.1.3 Giberela (fusariose).....	16
2.1.4 Detecção de patógenos nas sementes.....	19
2.1.5 Transmissão de patógenos	22
2.1.6 Efeito do nitrogênio na quantidade de doença	25
2.1.7 Controle químico de <i>Fusarium graminearum</i>.....	27
2.1.8 Resistência do trigo à <i>Fusarium graminearum</i>	29
2.2 Material e Métodos	31
2.2.1 Comparação de métodos no teste de sanidade de sementes para a detecção de <i>Fusarium graminearum</i> em sementes de trigo.....	31
2.2.2 Avaliação do efeito de <i>Fusarium graminearum</i> na germinação e emergência de sementes de trigo e estudo da transmissão do patógeno da semente para a plântula ..	33
2.2.3 Avaliação do efeito da interação entre cultivares, doses de nitrogênio e aplicação de fungicidas na incidência de <i>Fusarium graminearum</i> em sementes de trigo	35
2.2.4 Efeito do tratamento químico de sementes de trigo na incidência de <i>Fusarium graminearum</i>.....	36

2.3 Resultados e Discussão.....	39
2.3.1 Comparação de métodos para a detecção de <i>Fusarium graminearum</i> em sementes de trigo.....	39
2.3.2 Influência de <i>Fusarium graminearum</i> na germinação de sementes de trigo	45
2.3.3 Efeito causado por <i>Fusarium graminearum</i> na emergência de plântulas de trigo e transmissão do patógeno da semente para a plântula	50
2.3.4 Avaliação do efeito da interação entre locais, cultivares, doses de nitrogênio e aplicação de fungicidas na incidência de <i>Fusarium graminearum</i> em sementes de trigo	54
2.3.5 Efeito do tratamento químico de sementes de trigo no controle de <i>Fusarium graminearum</i>.....	58
3 CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS.....	66

RESUMO

***Fusarium graminearum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle**

Foram realizados experimentos em laboratório, casa-de-vegetação e campo visando os seguintes objetivos: (i) avaliar a eficiência de diferentes métodos de detecção do fungo *Fusarium graminearum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.); (ii) estudar o efeito do patógeno na germinação das sementes, bem como na emergência de plântulas e verificar a sua transmissão da semente para a plântula; (iii) avaliar o efeito de diferentes doses de nitrogênio (0, 30, 60, 90, 120 e 180 kg.ha⁻¹), cultivares (IAC – 24, IAC – 350 e IAC – 370), aplicação de mistura de fungicidas (triticlazole + tebuconazole: três aplicações de 0,75 L.ha⁻¹) na parte aérea das plantas na incidência de *F. graminearum*; (iv) avaliar o efeito do tratamento de sementes de trigo na incidência do patógeno empregando, individualmente, os seguintes fungicidas com as respectivas dosagens (g i.a.100 kg⁻¹ de sementes): captana (150,0), tiofanato metílico (75,0), triflumizole (45,0), triticonazole (45,0), triadimenol (13,5), tolyfluanida (75,0), tebuconazole (5,0), fludioxonil (5,0), difeconazole (30,0) e thiabendazole (30,0). Na detecção de *F. graminearum* em sementes de trigo da cultivar BR 23 foram utilizados os seguintes métodos: meio semi-seletivo (MSS); MSS + 2,4-D (0,02%); MSS + KCl (-0,8MPa); papel de filtro (PF) com e sem o congelamento das sementes; PF + 2,4 – D (0,02%); restritores hídricos (KCl, NaCl, manitol e sacarose) nos potenciais osmóticos de -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa. A maior incidência do patógeno foi observada com a utilização de MSS + 2,4 – D e a menor percentagem de sementes germinadas foi observada com o uso de PF com congelamento. A germinação de 30 diferentes genótipos de trigo foi significativamente influenciada pela quantidade de sementes mortas com a presença de *F. graminearum*, contudo não foi encontrada correlação entre a incidência do patógeno e a germinação das sementes. Também foi constatado que o fungo não afeta a emergência das plântulas, contudo verificou-se que a sua taxa de transmissão para diferentes partes da plântula (raiz, colo e haste) é variável de acordo com a com o genótipo infectado. O inóculo da semente pode contribuir para o desenvolvimento de epidemias no campo. Verificou-se que maiores doses de N promovem o aumento da incidência do patógeno nas sementes, enquanto que a aplicação da mistura de fungicidas promove a redução. Não houve diferenças significativas entre as cultivares IAC – 250, IAC – 350 e IAC – 370 na incidência do patógeno. No tratamento químico de sementes de trigo da cultivar BR 18 Terena, as menores incidências do fungo foram observadas empregando-se os fungicidas tiofanato metílico e tebuconazole. Não houve influência dos fungicidas tanto na germinação quanto na emergência e velocidade de emergência de plântulas. Por outro lado, fungicidas como o captana, triticonazole, tebuconazole e triadimenol afetaram negativamente a altura de plântulas, interferindo no desempenho das mesmas.

Palavras-chave: Patologia de sementes; *Fusarium graminearum*; métodos de detecção; fungicidas

ABSTRACT

***Fusarium graminearum* in wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds: detection, effects and control**

Experiments were carried out in laboratory, green house and field aiming at the following objectives: (i) to evaluate the efficiency of different methods of detection of *Fusarium graminearum*; (ii) to study the effect of the pathogen in the germination of wheat seeds, as well as in the emergence of seedlings and to verify the transmission of the seed to the seedling; (iii) to evaluate the effect of different dosages of nitrogen (0, 30, 60, 90, 120 and 180 kg.ha⁻¹), in the incidence of cultivars (IAC - 24, IAC - 350 and IAC - 370) and the application of a mixture of fungicides (tricyclazole + tebuconazole: three applications of 0,75 L.ha⁻¹) in the aerial part of the plants in the incidence of *F. graminearum*; (iv) to evaluate the effect of the treatment of wheat seeds in the incidence of the pathogen employed individually, the following fungicides, with the respective dosages (g i.a.100 kg⁻¹ of seeds): captana (150,0), methylic tiophanate (75,0), triflumizole (45,0), triticonazole (45,0), triadimenol (13,5), tolyfluanida (75,0), tebuconazole (5,0), fludioxonil (5,0), difeconazole (30,0) and thiabendazole (30,0). In the detection of *F. graminearum* in wheat seeds of the cultivar BR 23 the following methods were used: semi-selective media (MSS); MSS + 2,4-D (0,02%); MSS + KCl (-0,8MPa); blotter (PF) with and without the freezing of the seeds; 2,4 PF + - D (0,02%); hidric restrictors (KCl, NaCl, manitol and sacarose) in the osmotic potentials of -0,4, -0,6, -0,8 and -1,0 MPa. The highest incidence of the pathogen was observed with the use of MSS + 2,4 - D and the lowest percentage of germinated seeds was observed with the use deep freezing blotter method of PF with freezing. The germination of 30 different wheat genotypes was significantly influenced by the quantity of dead seeds with the presence of *F. graminearum*. However, correlation between the incidence of the pathogen and the germination of the seeds was not found. It was found that the fungus does not affect the emergence of seedlings, however it was verified that its rate of transmission for different parts of seedling is variable in accordance with the infected genotype. It was also verified that higher doses of N promote the increase of the incidence of the pathogen in the seeds, and that the application of the mixture of fungicides promotes the reduction. There was no effect of cultivars IAC - 250, IAC - 350 e IAC - 370 on the incidence of pathogen. Regarding the chemical treatment of wheat seeds of cultivar BR 18 Terena, the lowest incidences of the fungus were observed using the fungicides methylic tiophanate and tebuconazole. There was no effect of fungicides both on the germination and on the seedlings emergence and emergence velocity. On the other hand, fungicides such as the captan, triticonazole, tebuconazole and triadimenol affected the height of plântulas negatively, interfering with their performance.

Key-words: pathology of seeds; *Fusarium graminearum*; detection methods; fungicides

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidades de manitol, sacarose, cloreto de potássio (KCl) e cloreto de sódio (NaCl) utilizadas para ajustar a solução em diferentes níveis de potencial osmótico (MPa)	32
Tabela 2 - Fungicidas utilizados para o tratamento de sementes de trigo cultivar BR 18 Terena visando controle de <i>F. graminearum</i>.....	37
Tabela 3 - Incidência de fungos (%) e de sementes germinadas (%) encontradas em diferentes métodos de detecção utilizados no teste de sanidade de sementes de trigo.....	43
Tabela 4 - Avaliação visual de sementes “gibereladas”, incidência de <i>F. graminearum</i>, germinação de sementes e quantidade de sementes mortas com <i>F. graminearum</i> em 30 genótipos de trigo	48
Tabela 5 - Emergência de plântulas (%) e <i>F. graminearum</i> (%) encontrados em diferentes estruturas de plântulas de trigo provenientes de 30 genótipos.....	52
Tabela 6 - Taxa de transmissão de <i>F. graminearum</i> em diferentes órgãos de plântulas de trigo em 30 genótipos	54
Tabela 7 - Incidência de <i>F. graminearum</i> em sementes provenientes de diferentes cultivares de trigo, colhidas no município de Itararé - SP, safra 2003, com e sem tratamento fungicida da parte aérea e adubadas com quatro doses de nitrogênio	55
Tabela 8 - Efeito de cultivares, doses de nitrogênio (N) e a aplicação de fungicidas na incidência de <i>F. graminearum</i> em sementes de trigo colhidas nos municípios de Itararé - SP e Manduri - SP, no ano de 2004	58
Tabela 9 - Incidência (%) de fungos encontrados em sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com fungicidas	61
Tabela 10 - Teste de germinação (porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas) de sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com diferentes fungicidas.....	62

Tabela 11 - Altura de plântulas, emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) provenientes de sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com diferentes fungicidas.....	63
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

atm - Atmosfera

BDA – Batata-dextrose-ágar

C.V. – Coeficiente de variação

DAS – Dias após a semeadura

i.a. – ingrediente ativo

ISTA – International Seed Testing Association

IVE – Índice de velocidade de emergência

KCl – Cloreto de potássio

MPa – Mega Pascal

MSS – Meio semi-seletivo para *F. graminearum*

N – Nitrogênio

n.s. – não significativo

NaCl – Cloreto de sódio

NH₃ – Uréia

p.c. – Produto comercial

PF – Papel de filtro

SMF – Sementes mortas com *Fusarium graminearum*

1 INTRODUÇÃO

Componente básico na alimentação dos mais variados povos, cultivado desde 5.000 a.C., o trigo (*Triticum aestivum* L.) é responsável por grande parte da dieta calórica da população mundial. Países como o Brasil, nos quais a produção deste cereal é incapaz de acompanhar a crescente demanda, necessitam de variedades que apresentem alto rendimento para compensar o déficit na produção e alcançar a auto-suficiência. Atualmente, as pesquisas estão conseguindo atender parcialmente a essa necessidade, disponibilizando variedades com potencial produtivo de quatro a seis mil quilos por hectare, superando aquelas sementes oferecidas nos anos anteriores, com potencial limitado na casa dos dois mil quilos por hectare (BRUNETTA et al., 2004).

O Brasil produz cerca de 6.073.500 toneladas de trigo, sendo que os Estados do Paraná e Rio Grande do Sul destacam-se como os principais produtores, responsáveis por 52,3% e 36,9% da produção nacional, respectivamente (FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO, 2005). Esta produção é insuficiente para atender as exigências nacionais, ocasionando a importação de trigo. Estudos visando determinar as relações entre rendimento, adaptação, zoneamento, clima e (principalmente) doenças são necessários para disponibilizar novas variedades que ajudem a equacionar, assim como solucionar as adversidades encontradas no país.

Entre os fatores que apresentam-se como limitantes para o cultivo do trigo no Brasil, estão, sem dúvida as doenças. Dentre elas, a giberela (ou fusariose) do trigo, cujo agente causal é o fungo *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (anam. *Fusarium graminearum* Schwabe), transmitido pela semente, é uma doença que se manifesta mais intensamente em regiões com excesso de chuva e temperaturas amenas, durante os períodos de floração e maturação dos grãos (DEL PONTE et al., 2004; FORCELINI, 1991a), podendo ser encontrada de forma generalizada por todo o mundo. No Brasil, a giberela alcançou o “status” de principal doença nas regiões tritícolas, principalmente na região Sul do país (DEL PONTE et al., 2004).

Infecções causadas por *F. graminearum* podem afetar aspectos tanto físicos quanto fisiológicos das sementes, incluindo o tamanho e peso da semente, composição e qualidade (BECHTEL et al., 1985). No que diz respeito a qualidade de grãos, infecções de *F. graminearum* provocam reduções no armazenamento de proteínas, celulose e amido (BOYACIOGLU et al., 1992). Os grãos, caso consumidos, podem ser tóxicos, tanto para humanos quanto para animais,

sendo que não se conhece bem a natureza exata das toxinas produzidas pelo fungo (MEHTA, 1993).

Uma semente de boa qualidade, fisiológica e sanitária, é extremamente importante para o estabelecimento e desenvolvimento da cultura no campo. A qualidade sanitária ainda é negligenciada, apesar da transmissão de patógenos causar sérios danos a cultura subsequente (FRARE et al., 2002). Assim, a análise de sementes, voltada para a qualidade sanitária de uma amostra, representa uma ferramenta de grande importância em certificação de sementes, programas de melhoramento e na diagnose de rotina em laboratórios de análise. Dentre os métodos recomendados e mais utilizados em laboratórios de patologia de sementes estão os métodos de incubação com papel de filtro (“blotter test”), com ou sem modificações, bem como o uso de meios agarizados, seletivos ou não (ISTA, 1966; NEERGAARD, 1977).

Para a detecção de *F. graminearum* em sementes de trigo, o método utilizado é o do papel de filtro modificado com congelamento (“deep freezing blotter test”). Apesar desse método ser amplamente empregado, ele apresenta como desvantagem a necessidade de interromper o período de incubação das sementes, por 24 horas, utilizando um equipamento adicional para o congelamento das mesmas (“freezer”), com o intuito de causar a morte do embrião e assim inviabilizar a germinação da semente, para facilitar a identificação dos fungos presentes nas sementes incubadas. Além disso, o procedimento do deslocamento das sementes, por ocasião do congelamento e o seu retorno para a câmara, visando completar o período de incubação, resulta em menor número de amostras a serem analisadas, em um laboratório de rotina, em um determinado período, quando comparado com outros métodos de detecção.

A maioria dos patógenos serve-se das sementes como veículo de transporte e como abrigo à sobrevivência. Dessa forma, a semente está diretamente envolvida na continuidade do ciclo biológico dos patógenos de uma para outra geração do hospedeiro (CASA et al., 2005). Verificar a possibilidade da transmissão de *F. graminearum* da semente para a plântula, bem como o efeito causado por esse fungo na germinação de sementes e emergência de plântulas, pode representar um diferencial nas medidas de controle disponível para esse patógeno em uma determinada área.

Não existe, na literatura analisada, informações da incidência de *F. graminearum*, em sementes provenientes de plantas de trigo sob o efeito da interação entre a adubação nitrogenada, o local de cultivo, a cultivar utilizada e a aplicação de fungicidas na parte aérea das plantas. As informações obtidas destes estudos são importantes na escolha ideal das doses de nitrogênio a

serem aplicadas, local de cultivo, escolha de cultivar e a aplicação ou não de fungicidas, fornecendo subsídios para a implantação de campos de produção visando obter sementes livres do patógeno, pois o sucesso de uma boa produção depende, em grande parte, da utilização de sementes saudáveis.

No Brasil, em especial na região Sul, o trigo é a cultura com maior demanda de fungicidas para o tratamento de sementes. Considerando que uma gama de novos compostos, cada vez mais seguros e eficazes, estão sendo desenvolvidos e selecionados para este fim, estudos visando selecionar produtos fungicidas eficientes no tratamento de sementes de trigo para o controle de *F. graminearum* é, sem dúvida, muito importante, tendo em vista que, além do controle do patógeno nas sementes, um produto eficiente pode também proteger a planta nos estádios iniciais de desenvolvimento, contra o ataque desse patógeno presente no solo ou em restos de cultura.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar: (i) a eficiência de diferentes métodos de detecção de patógenos em sementes de trigo, dando maior ênfase a detecção de *Fusarium graminearum*; (ii) o efeito causado pelo patógeno na germinação das sementes, bem como na emergência de plântulas e determinar, em diferentes cultivares, as taxas de transmissão do patógeno da semente para diferentes partes das plântulas [colo, haste, raiz e total (colo + haste + raiz)]; (iii) o efeito da interação entre diferentes locais, cultivares, doses de nitrogênio e aplicação de fungicidas foliares na incidência do patógeno; e por fim (iv) o efeito do tratamento químico de sementes na incidência de *F. graminearum*.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 O cultivo do trigo (*Triticum aestivum* L.)

Todas as espécies de trigo, selvagens ou cultivadas, são gramíneas originalmente de clima frio e pertencem ao gênero *Triticum*, da família Poaceae. Suas flores são envoltas em brácteas, as quais são agrupadas em estruturas características conhecidas como espiguetas. Estas, por sua vez, são encontradas anexadas diretamente a uma haste central, relativamente adensadas, formando uma cabeça ou espiga (PETERSON, 1965).

Triticum aestivum L. é originário do sudoeste asiático e foi introduzido na Índia, China e Europa onde existem relatos datando o cultivo desta espécie desde 5.000 a.C. Atualmente, é possível encontrar plantações desta poácea no mundo todo, desde o Equador até regiões próximas aos pólos, devido à seleção natural e também pela criação de novas variedades, adaptadas a condições ambientais específicas de cada região (OSÓRIO, 1982).

As diferentes espécies e variedades de trigo podem ser divididas, baseadas em suas adaptações climáticas, em dois grandes grupos: trigos de primavera e trigos de inverno. Os trigos de primavera são aqueles semeados no começo desta estação. São bastante adequados aos países ou regiões com inverno rigoroso e geadas fortes antes das quais, necessariamente, devem estar colhidos. Uma característica marcante desse grupo é o ciclo curto. Os trigos de inverno são aqueles cuja semeadura se faz no outono, sendo que o desenvolvimento e a frutificação ocorrem bem no inverno não muito severo, cujas geadas os afetam parcialmente (BAYMA, 1960).

2.1.2 Doenças bióticas do trigo

As doenças bióticas do trigo podem ser classificadas em quatro grandes grupos: (i) doenças causadas por fungos; (ii) doenças causadas por bactérias; (iii) doenças causadas por vírus; e (iv) doenças causadas por nematóides (MEHTA, 1978).

Dentre as doenças do trigo causadas por fungos encontram-se a giberela cujo agente etiológico é *Gibberella zeae* (anamorf.: *Fusarium graminearum*), ferrugem do colmo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), ferrugem da folha (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*), ferrugem amarela (*Puccinia striiformis*), mancha da gluma (*Stagnospora nodorum*), mancha marrom (*Bipolaris*

sorokiniana), manchas foliares (*Septoria tritici*, *Septoria avenaria* e *Phoma insidiosa*), mancha amarela (*Bipolaris sorokiniana*), crestamento da folha (*Pyrenophora trichostoma*), oídio (*Erysiphe graminis*), antracnose (*Colletotrichum graminicola*), mal-do-pé (*Gaeumannomyces graminis*), brusone (*Pyricularia oryzae*), podridão de raízes (*Rhizoctonia solani*), podridão radicular (*Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*), carvão (*Ustilago tritici*) e cárie do trigo (*Tilletia caries*) (MEHTA, 1978).

Como doenças bacterianas e viróticas, vale mencionar o crestamento foliar bacteriano *Xanthomonas translucens*, vírus do mosaico o trigo (*Soil-Born Wheat Mosaic Virus* - SBWMV), mosaico estriado da cevada (*Barley Stripe Mosaic Virus* - BSMV) e “hoja blanca” (*Hoja Blanca Virus* – RHBV). No que diz respeito a doenças do trigo causadas por nematóides, elas são causadas *Pratylenchus minyus* e *P. neglectus*, responsáveis por lesões nas raízes, especialmente em associação com *Rhizoctonia solani* (MEHTA, 1978).

2.1.3 Giberela (fusariose)

Gibberella zeae foi descrita, pela primeira vez, pelo micologista americano Schweinitz em 1822, com o nome *Sphaeria zeae* (SACCARO, 1882). Somente cem anos depois, o micologista britânico Petch, examinando um espécimen original, depositado por Schweinitz cem anos antes, corrigiu o nome para *Gibberella zeae* (DESJARDINS, 2003).

A giberela ou fusariose é uma doença cujo agente causal é o fungo *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (Sin. *Gibberella roseum* f. sp. *cerealis* “*graminearum*”), forma perfeita de *Fusarium graminearum* Schwabe (Sin. *Fusarium roseum* LK emed Snyder e Hans. f. sp. *cerealis* (Cke.) Snyd. e Hans. cv. “*graminearum*”). Esta doença é tipicamente de infecção floral e apresenta, como característica marcante, a esporadicidade de ocorrência, sendo mais freqüente naquelas regiões onde ocorrem períodos prolongados de chuva (mais que 72 horas) e temperaturas médias no período chuvoso maiores que 20°C após o início da floração (REIS; CASA; MEDEIRA, 2001). Essas características são encontradas na região sul da América do Sul e permitem que o patógeno cause severas perdas no rendimento, as quais podem ser superiores a 50%, além de afetar a qualidade dos grãos de cultivares suscetíveis (LUZZARDI; PIEROBOM, 1989; SNIJDERS, 1990c; TAVELLA; GONNET; DIAZ, 1979). Tais perdas ocorreram

especialmente após a difusão de germoplasmas com genes de nanismo, provenientes do México, bastante suscetíveis a *F. graminearum*.

O fungo pode infectar, além das espigas, o sistema radicular, a coroa e porções basais da planta de trigo, causando a morte de plântulas (SUTTON, 1982). Essas, quando infectadas pelo patógeno, caracterizam-se por apresentar podridão cortical úmida de cor pardo-avermelhado a pardo-clara. Palha ou material vegetal em decomposição, colonizado pelo fungo, apresentam-se como uma ótima fonte de inóculo para a infecção de sementes saudáveis (REIS, 1985).

A giberela é uma doença encontrada praticamente em todas as áreas produtoras de trigo do mundo. Grandes epidemias têm ocorrido em diversas regiões do globo, como no oeste e no norte central dos Estados Unidos, oeste do Canadá, oeste e leste Europeu, Rússia, China e Brasil (BERGSTROM, 1993). Na Hungria, onde a produção anual encontra-se entre 1,1 e 1,3 milhões de hectares, em anos secos, apenas 5% a 6% dos grãos são infectados. Quando as condições ambientais são favoráveis ao patógeno, a média nacional da doença excede 20%, sendo que em muitos campos a mesma pode atingir 100% (MESTERHÁZY et al., 2003). Neste país são utilizados fungicidas para controlar a doença, mas a eficácia tem sido variável e frequentemente insatisfatória, onde pesquisas têm apontado controle de aproximadamente 50% a 60% (MCMULLEN et al., 1997).

A forma telomórfica pertence ao grupo dos Ascomycetos, apresentando peritécios superficiais, gregários e de coloração púrpura-escuro a preto, produzindo de quatro a oito ascósporos por asca (HANLIN, 1990), os quais podem desenvolver-se tanto nas hastes florais infectadas (REIS, 1985) quanto sobre uma larga gama de cereais e gramíneas (DESJARDINS, 2003) e desenvolvem um expressivo papel como fonte de inóculo (REIS et al., 2001). Embora o ciclo de vida do patógeno seja bem conhecido (PARRY et al., 1995; SUTTON, 1982), pouco se sabe sobre a epidemiologia do seu estágio sexuado (FERNANDO et al., 1997). O principal agente de disseminação dos ascósporos é o vento, enquanto que para os macroconídios são os respingos de chuva. O primeiro é o responsável pelo transporte a longas distâncias enquanto que o segundo a curta distância (REIS, 1988). Os ascósporos só são lançados ativamente no ar após a sua hidratação, quando então são transportados pelo vento (SUTTON, 1982).

No que diz respeito ao manejo de estratégias de controle do patógeno, informações sobre a epidemiologia da forma perfeita do fungo podem ser valiosas. Questões relevantes incluem a disseminação dos ascósporos, os quais podem viajar a longas distâncias a partir da fonte de

inóculo; o efeito da direção do vento nessa disseminação; e a mensuração de gradientes da doença, a partir de uma fonte de inóculo, dentre outras (FERNANDO et al., 1997).

A forma anamórfica está classificada na seção Discolor (BOOTH, 1971) e apresenta macroconídios hialinos, gerados em fiálides com curtas ramificações de conidióforos, cuja produção é abundante sob clima úmido e quente. Infecções causadas por *Fusarium graminearum* podem ocorrer nos principais componentes da espiga: partes florais, glumas, grãos e ráquis. A espiguetas, quando infectada, apresenta coloração rosada ou rosa salmão, especialmente na base e nas bordas das glumas (REIS, 1985). As aristas das espiguetas infectadas mostram-se arrepiadas e os grãos podem se desenvolver, porém tornam-se enrugados, chochos, de aparência áspera e com coloração cor-de-rosa (REIS et al., 2001).

Diferenças na resistência contra *Fusarium graminearum* em cultivares de trigo foram reportadas, pela primeira vez, em 1891. Mecanismos ativos de resistência contra a infecção de *F. graminearum* incluem resistência inicial à infecção (resistência tipo I) e a resistência contra a disseminação da infecção para dentro da espiguetas da planta (resistência tipo II) (SCHROEDER; CHRISTENSEN, 1963). Diversos estudos indicaram diferenças entre cultivares suscetíveis e resistentes, com relação a severidade da infecção e aos modos de resistência (BAI; SHANER, 1996; MESTERHAZY et al., 1999; RIBICHICH et al., 2000), mas nenhum desses estudos estimaram os efeitos da resistência contra *F. graminearum* na qualidade da semente em desenvolvimento no campo.

Durante o período de 1984 a 1994, Reis et al. (1996) quantificaram os efeitos nos grãos causados pela giberela e encontraram, em média, 5,41% de redução no rendimento. Na década de 90, houve um aumento na intensidade da giberela, devido principalmente a adoção e difusão do sistema de plantio direto em grandes áreas cultivadas. Este aumento foi constatado não somente no trigo, mas também na aveia (*Avena sativa* L.), em cevada (*Hordeum vulgare* L.) e em tritcale (*Triticum secalotricum* Meister) (PANISSON, 2001; REIS et al., 2001). Particularmente para o trigo, este aumento foi constatado por Casa et al. (2004), que observaram um dano médio de 13,4% em 25 amostras de trigo coletadas em 2001 e um dano médio de 11,6% em 18 amostras coletadas em 2002.

No Brasil, segundo informações mais recentes, houve o aumento na intensidade da doença devido, provavelmente, ao aumento de inóculo no ar, consequência da manutenção dos restos

culturais sobre a superfície do solo no sistema plantio direto (MAULER-MACHNIK; ZAHN, 1994; PANISSON, 2001).

Foram caracterizados na Austrália dois grupos ecológicos de *F. graminearum* (BURGESS, 1981). Em regiões de clima seco, constata-se a ocorrência o grupo I, geralmente associado à podridão de raízes e do colmo do trigo; raras vezes forma peritécios e sobrevive, principalmente, como micélio, em resíduos culturais dos hospedeiros (WEARING; BURGESS, 1977). No que diz respeito ao grupo II, sua predominância ocorre em regiões de clima úmido e associado, principalmente, ao ataque em espigas de trigo; forma, facilmente, peritécios na natureza e em meio de cultura com folhas de cravo; sobrevive como peritécio em restos culturais de trigo e de milho deixados na superfície do solo (WEARING; BURGESS, 1978). No Brasil, Reis (1987) constatou, para a região do Rio Grande do Sul, a existência do grupo ecológico II, a partir de experimento realizado com uma amostra de 28 isolados diferentes de *F. graminearum*.

A ocorrência de fusariose resulta em significantes reduções de grãos no campo e também na qualidade dos mesmos. Perdas não estimadas estão associadas com a produção de micotoxinas produzidas pelo fungo quando este infecta e coloniza os grãos, podendo causar micotoxicoses em animais e humanos que consomem os grãos “giberelados” (MARASAS et al., 1984).

Por se tratar de um fungo cosmopolita, inúmeros são os hospedeiros secundários que podem abrigar o patógeno e assim servir como fonte de inóculo capaz de iniciar uma nova infecção ou mesmo uma epidemia. Milho, arroz, cevada, sorgo, aveia e inúmeras gramíneas são exemplos de hospedeiros suscetíveis que podem abrigar o patógeno, mesmo na ausência de trigo no campo (MEHTA, 1978). Além disso, monoculturas, cultivo reduzido e rotações milho-trigo aumentam expressivamente os níveis de inóculo no solo (MILLER et al., 1998). Sua sobrevivência ocorre de uma estação para outra na forma de micélio, conídio ou ascósporo, no solo, em restolhos e sementes (LUZZARDI, 1988).

2.1.4 Detecção de patógenos nas sementes

Diferentes métodos podem ser empregados com a finalidade de avaliar as condições de sanidade de uma amostra de sementes. A escolha do método a ser utilizado depende do patógeno a ser detectado, da sensibilidade do método, da infra-estrutura disponível do laboratório, da espécie de sementes a ser avaliada, do próprio objetivo do teste e do grau de treinamento do

técnico envolvido com a interpretação do referido teste. Na aplicação de um teste sanitário, de forma rotineira, deve-se atender a certos requisitos básicos de eficiência e economicidade, fornecendo informações condizentes com o desempenho das sementes no campo; fornecendo resultados reproduzíveis; o tempo, o trabalho e os equipamentos necessários para a condução do teste devem ser mantidos dentro dos limites econômicos, e, para aqueles testes que exigem incubação das sementes, estes devem ser relativamente rápidos (LUCA FILHO, 1987).

O método do papel de filtro apresenta baixo custo e possui eficiência na detecção para a maioria dos fungos presentes nas sementes. Este método é utilizado para gramíneas, com o congelamento das sementes ou com a utilização de 2,4 diclorofenoxiacetato de sódio (2,4 – D). Além das vantagens acima citadas, este método, independente da modificação (congelamento ou 2,4 – D) suprime a germinação das sementes, facilitando a identificação dos fungos presentes nas mesmas. Por outro lado, o método de congelamento das sementes, favorece o desenvolvimento de bactérias e fungos saprofíticos presentes nas superfícies das mesmas e apresenta a necessidade de movimentação das placas, na ocasião do congelamento, durante o período de incubação. Em relação ao uso de 2,4 - D no teste de sanidade de sementes, o efeito fungitóxico é constatado quando este herbicida é utilizado em altas concentrações, podendo constituir um sério risco à saúde dos seus operadores em laboratório (LIMONARD, 1968).

O método da restrição hídrica, apesar de não ser o método utilizado com mais frequência em laboratórios de rotina, tem sido empregado com sucesso na análise de sanidade de sementes de algumas espécies vegetais. Relativamente recente, tal método evita a necessidade do congelamento, durante o período de incubação das sementes e, em concentrações adequadas, não afeta o desenvolvimento de fungos associados às sementes e nem prejudica o cultivo dos mesmos com potenciais hídricos ajustados (CARVALHO, 1999; COUTINHO 2000; COUTINHO; MACHADO, 2002).

Celano (2003) estudou o uso a restrição hídrica em teste de sanidade e sobre a interação entre fungos e sementes de trigo, utilizando como solutos o cloreto de sódio e manitol, nos potenciais -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa, e pode constatar a influência desses potenciais na germinação e comprimento de plântulas. No que diz respeito à incidência de *Fusarium graminearum*, esta foi reduzida quando utilizou-se cloreto de sódio nos potenciais osmóticos de -1,2, -1,8 e -2,4 MPa e manitol com potencial osmótico de -2,4 MPa.

Machado (2002) avaliou o uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro, utilizando os solutos manitol e cloreto de sódio, nos potenciais osmóticos de -0,6, -0,8, -1,0 e -1,2 MPa, avaliando fatores como porcentagem de germinação e comprimento de plântulas e constatou que a utilização dos solutos nos potenciais osmóticos testados reduziu a germinação e o comprimento das plântulas de algodoeiro. Quanto ao crescimento micelial dos fungos detectados nas sementes analisadas, este foi reduzido nos potenciais osmóticos mais negativos que -0,6 MPa.

Em sementes de arroz e feijão foi utilizada, com sucesso, a técnica da restrição hídrica, como forma de substituir os métodos de congelamento das sementes e o emprego de 2,4 - diclorofenoxiacetato de sódio (2,4 - D). Quando foram utilizados restritores hídricos como manitol, cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl), em diferentes potenciais osmóticos, aplicados sobre substrato de papel de filtro e também em meio agarizado, não houve a interferência na detecção os fungos associados às sementes ou às plântulas (COUTINHO, 2000).

A técnica da restrição hídrica, no teste de sanidade de sementes, também já foi utilizada na detecção de patógenos em sementes de soja. Alves et al. (2002) avaliaram o efeito da restrição hídrica sobre a germinação e detecção de patógenos presentes em sementes de soja, utilizando os solutos manitol, cloreto de sódio e cloreto de potássio, nos potenciais osmóticos de -0,6, -0,8 e -0,9 MPa, para umedecer o papel de filtro utilizado como substrato. Os autores constataram que as menores porcentagens de emissão de radícula foram obtidas com NaCl a -0,8 e -0,9 MPa e manitol a -0,9 MPa. Contudo, também foi observado que houve maior sensibilidade na detecção de diferentes espécies de *Fusarium* quando utilizou-se o soluto KCl, nos potenciais osmóticos acima descritos.

Em um estudo semelhante ao descrito anteriormente, Gravena et al. (2002) avaliaram a utilização da restrição hídrica no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de milho, utilizando como restritores os solutos manitol, cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl), nos potenciais osmóticos de -0,6, -0,8 e -0,9 MPa e analisaram os seguintes parâmetros: detecção de patógenos propriamente dita e redução na germinação das sementes de milho testadas, oriundas de dois lotes distintos (lote 1 - baixo vigor e lote 2 - alto vigor). Os autores observaram que, em termos de contenção de germinação, o manitol a -0,9 MPa e KCl a -0,9 MPa propiciaram os melhores resultados. Dentre outros resultados, aquele que diz

respeito à detecção de *Fusarium moniliforme*, os tratamentos com KCl a -0,9 MPa e NaCl a -0,9 MPa apresentaram os melhores resultados.

A aplicação da restrição hídrica em teste de sanidade de sementes também já foi avaliada para o patossistema *Macrophomina phaseolina* e caupi (*Vigna unguiculata*). Athayde Sobrinho et al. (2003) analisaram o efeito da restrição hídrica e congelamento como inibidores da germinação de sementes e sobre a detecção do patógeno citado anteriormente. Os autores utilizaram os solutos manitol, cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl), nos potenciais osmóticos de -0,6, -0,8 e -0,9 MPa, além do método do papel de filtro com congelamento e observaram que este último método inibiu a expressão do fungo, cuja condição revelou valores significativamente inferiores a todas as demais condições. Os restritores, em todos os potenciais osmóticos testados, bem como o congelamento, foram eficazes em inibir a germinação das sementes, cujos resultados não revelaram diferenças estatísticas significativas.

2.1.5 Transmissão de patógenos

Oito principais tipos de ciclos de doenças transmitidos pelas sementes foram propostos por Neergaard (1977) e são classificados de acordo com o modo pelo qual o patógeno é transportado com a semente e com o subsequente desenvolvimento do patógeno durante o desenvolvimento da planta oriunda de semente infectada ou contaminada: (i) infecção intra-embrionária seguida de infecção sistêmica; (ii) infecção intra-embrionária seguida de infecções locais; (iii) infecção extra-embrionária seguida de infecção sistêmica; (iv) infecção extra-embrionária seguida de infecção local; (v) contaminação de sementes seguida por infecção sistêmica; (vi) contaminação de sementes seguida por saprofitismo e posterior infecção; (vii) contaminação de sementes seguida por saprofitismo ou fase dormente e posterior infecções locais; e (viii) contaminação de sementes por estruturas organo-específicas seguida por fase não parasítica e posterior infecção organo-específica direta. O mesmo autor ainda afirma que para o patossistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*/ áster o modo de transmissão pela semente ocorre pela contaminação seguida por saprofitismo e posterior infecção sistêmica. Não foi encontrado na literatura relatos sobre o modo de transmissão de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo.

Entende-se por transmissão semente-plântula a passagem do inóculo presente na semente infectada para as plântulas emergidas (MAUDE, 1996). Diversos são os organismos capazes de

serem transmitidos pelas sementes. Dentre eles, o grupo dos fungos é o mais numeroso, seguido das bactérias, vírus e alguns nematóides (MACHADO, 1988). Fungos transmitidos por sementes encontram-se incluídos em 90 gêneros (MAUDE, 1996). Existem diferentes pontos de entrada para a infecção da semente, que pode ocorrer ou através da planta-mãe ou a partir de patógenos presentes no ambiente externo. Se ocorrer a partir da planta-mãe, a infecção tem início através do pedúnculo de flores e frutos e do pedúnculo da semente (funículo), ou ainda pela superfície íntegra da mesma. Caso a infecção seja provocada por patógenos presentes no ambiente externo, esta pode atingir flores, frutos e sementes indiferenciadas ou frutos e sementes maduras (MENTEN; BUENO, 1987). De qualquer forma, essa relação biológica é afetada por fatores físicos, biológicos e também por aqueles inerentes ao tipo de germinação das sementes (MACHADO, 1988).

A transmissão do patógeno da semente para a plântula ocorre entre as etapas de disseminação e colonização do seu ciclo de vida. Esse processo implica no transporte que proporciona uma infecção bem sucedida, dando origem a uma planta doente. Quanto à quantificação da transmissão, esta pode ser realizada através da detecção dos sintomas nas plantas, partindo do princípio de que o único meio de inoculação foi através da associação do patógeno com a semente (MENTEN; BUENO, 1987). Patógenos necrotróficos, em sua grande maioria, utilizam-se da semente como veículo de disseminação, abrigo e sobrevivência (BARBA, 2001).

Devido ao fato das sementes permanecerem viáveis por longos períodos de tempo permite que infecções e contaminações nelas presentes também sobrevivam por períodos maiores, dependendo apenas dos hospedeiros, dos patógenos e das contaminações de armazenamento. Um sério problema é o fato de que, pelas sementes portadoras, os patógenos possam ser levados a grandes distâncias e introduzidos em áreas livres das doenças. Contudo, locais onde uma determinada doença é eminente, também podem ser introduzidos novos biótipos (raças) mais virulentos, aumentando os danos e diminuindo o rendimento das culturas (RIBEIRO, 1996)

O grau de severidade de ocorrência da doença na planta presumivelmente deve ser proporcional ao transporte e à transmissão do patógeno pelas sementes. Presume-se também que a variabilidade genética existente quanto à resistência das plantas ao patógeno deve estender ao nível de transmissão para as sementes e destas para as plântulas. Contudo, trabalhos de pesquisa

realizados com algodoeiro e outras culturas têm demonstrado que nem sempre existe essa correlação positiva (TANAKA, 1991).

A transmissão de patógenos através das sementes é capaz de propiciar: (i) a introdução do patógeno em novas áreas; (ii) a sobrevivência do microrganismo na ausência do hospedeiro; (iii) seleção e disseminação de raças específicas a determinados hospedeiros; e (iv) distribuição através da população de plantas como focos primários de inóculo (MENTEN; BUENO, 1987).

Por se tratar de uma associação biológica, as taxas de transmissão planta-semente e semente-plântula são bastante influenciadas pelo ambiente e pelas características inerentes ao patógeno e ao hospedeiro. A idade da planta, na ocasião da infecção, por exemplo, é um dos fatores que sabidamente afeta a transmissão, conforme evidenciado por Lima et al. (1985).

Particularmente para os patógenos fúngicos, o processo de infecção é diretamente influenciado pelo estágio de desenvolvimento das sementes. Um determinado fungo, muitas vezes, é capaz de provocar a morte da semente, caso a infecção ocorra nos primeiros estádios, devido a localização do inóculo dentro dos tecidos da semente madura. Por outro lado, se a infecção ocorrer quando a semente encontra-se próxima da maturação, somente a casca é invadida, atacando principalmente as camadas epidérmicas (MENTEN; BUENO, 1987).

Dentre os fatores que afetam a transmissão de patógenos a partir de sementes e que podem afetar o estabelecimento do patógeno em uma cultura destacam-se: espécie cultivada (resistência varietal), condições ambientais (umidade ambiental e do solo, temperatura, vento, chuva e luz), inóculo (viabilidade, localização na semente, tipo), práticas culturais (tipo de solo, pH, população de plantas, profundidade de semeadura e época de plantio, fertilização, etc.), sobrevivência do inóculo, vigor da semente, microflora do solo e da semente, entre outros (BARBA et al., 2002). Tais fatores podem reduzir ou incrementar significativamente a passagem do patógeno para os órgãos foliares e/ou radiculares da planta hospedeira, refletindo no desenvolvimento da doença na lavoura (AGARWAL; SINCLAIR, 1997; NEERGAARD, 1977).

Para patógenos habitantes do solo, como por exemplo *Fusarium* spp., o acesso à superfície dos frutos e sementes é favorecido pelo contato direto dessas estruturas com o solo ou através de respingos de chuva ou de irrigação por aspersão (GALVES, 1976). Por outro lado, de acordo com Baker e Smith (1976) e Neergaard (1977), existem duas outras maneiras possíveis de estabelecimento do patógeno no interior das sementes: através do sistema vascular de plantas atacadas e através de órgãos fertilizadores, como grão de pólen, contaminados ou infectados. No

caso da contaminação de sementes por patógenos, esta é comumente concretizada pela mistura mecânica do inóculo por ocasião da manipulação de plantas durante a colheita (MACHADO, 1988).

Durante o processo de beneficiamento das sementes, o manejo das mesmas pode provocar a transferência de inóculo superficial entre as sementes, fato que ocorre comumente com fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Fusarium* e *Septoria*, cujos esporos são pegajosos. Outro fato importante, que também deve ser ressaltado, é a transferência de inóculo de semente para semente, durante o tratamento das mesmas, quando se tem outro objetivo que não o controle de patógenos. Da mesma forma, máquinas e equipamentos empregados no beneficiamento das sementes são importantes fontes de contaminação entre lotes de sementes (MACHADO, 1988).

Não há segurança de que os patógenos associados à semente infectarão as plântulas. É, portanto, essencial diferenciar o transporte do patógeno por meio da semente, de um lugar para outro, e sua transmissão bem sucedida à progênie do hospedeiro. A simples presença de um patógeno na semente não assegura a sua passagem às plântulas. A eficiência da passagem, ou mesmo da transmissão do patógeno, da semente às plântulas necessita ser mostrada e quantificada (REIS; CASA, 1998).

Uma alta porcentagem de sementes podem ser infectadas por diferentes espécies de *Fusarium*. Como consequência, existe a possibilidade de ocorrer falhas na germinação ou originar plântulas “gibereladas”, especialmente se as sementes forem plantadas em solos quentes e secos (COOK, 1981). Particularmente para *Fusarium graminearum*, Bechtel et al. (1985) observaram que este patógeno invadia agressivamente grandes porções de sementes de trigo, porém não afetavam o embrião. Reduções que ocorriam na germinação de sementes infectadas foram atribuídas ao recomeço do crescimento fúngico e a invasão de tecidos embrionários seguidos por inibição.

2.1.6 Efeito do nitrogênio na quantidade de doença

Apesar da resistência de plantas a doenças ser geneticamente controlada, ela é influenciada por fatores ambientais. Os efeitos são relativamente pequenos em cultivares com elevada resistência ou suscetibilidade, mas grandes em cultivares moderadamente suscetíveis ou parcialmente resistentes. A nutrição mineral, como fator ambiental, pode ser manipulada com relativa facilidade para o controle de doenças. Entretanto, é necessário um conhecimento

detalhado de como os nutrientes minerais aumentam ou diminuem a resistência das plantas (MARSCHNER, 1995).

A nutrição mineral do hospedeiro pode afetar a sua suscetibilidade e causar variações nos mecanismos bioquímicos e estruturas de defesa, além de influenciar nas reservas de alimento disponíveis para o patógeno. As relações entre a nutrição da planta hospedeira e as doenças de plantas foram estudadas em alguns trabalhos. Foi constatada a ação de nutrientes como o nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e alguns micronutrientes, tanto em doenças causadas por organismos do solo, quanto em doenças de parte aérea (MATTHEE; DAINES, 1969).

O nitrogênio promove crescimento vigoroso, retarda a maturação e é essencial para a produção de aminoácidos, proteínas, hormônios de crescimento, fitoalexinas e fenóis (HUBER, 1980). Em níveis altos, resulta na produção de tecidos jovens e suculentos, além de prolongar o estágio vegetativo e/ou retardar a maturidade da planta. Abdel-Raheem e Bird (1967) observaram maior suscetibilidade da planta em altas doses de nitrogênio. Esses efeitos criam condições favoráveis aos patógenos, indicando que o uso de nitrogênio suplementar, em produções intensivas, pode aumentar a incidência da infecção de sementes (MARTIN et al., 1991). Por outro lado, a planta cultivada, com deficiência de nitrogênio, pode tornar-se debilitada, crescer lentamente e, conseqüentemente, tornar-se suscetível ao patógeno (ZAMBOLIM; VENTURA, 1993). A forma do nitrogênio (amônio ou nitrato) disponível para o hospedeiro ou para o patógeno, independente da quantidade do elemento, afeta a severidade da doença (AGRIOS, 1988).

A redução de doenças devido ao efeito do nitrogênio é resultado, geralmente, da influência de formas específicas desse nutriente em diferentes rotas metabólicas, alterando o crescimento de constituintes da planta ou exsudados (HUBER; WATSON, 1974). As formas de nitrogênio também apresentam efeitos diretos sobre a germinação, sobrevivência, reprodução, crescimento e virulência do patógeno. O efeito de cada forma de nitrogênio sobre as doenças está associado ao pH. O aumento na severidade das doenças na presença de amônio é, geralmente, devido ao pH ácido, enquanto o aumento devido ao nitrato é geralmente associado a condições de pH neutro e alcalino (JONES et al., 1990). A absorção de NH_4^+ pela planta reduz a translocação de cátions como K^+ e Ca^{+2} , enquanto o ânion NO_3^- reduz a absorção de H_2PO_4^- e SO_4^{-2} . Porém, nutrir a planta com amônio reduz o pH da rizosfera, o qual pode influenciar negativamente na atividade de

rhizobactérias (SMILEY, 1978) e aumentar a disponibilidade de micronutrientes (HUBER; WATSON, 1974).

2.1.7 Controle químico de *Fusarium graminearum*

A aplicação de fungicidas, visando o controle de *F. graminearum*, na parte aérea das plantas de trigo é insatisfatório, pois as anteras da planta expõem-se não simultaneamente em espigas e partes de espigas, persistindo a antese por até um mês. A translocação de produtos sistêmicos para os órgãos florais é dificultada pela baixa transpiração destes, limitando a ação de fungicidas. Desta forma, a aplicação, por repetidas vezes, torna-se necessária para um controle efetivo, dificultando a viabilidade da prática, especialmente em grandes lavouras (REIS et al., 1988).

Por outro lado, algumas investigações relatam reduções significantes da fusariose com a aplicação de fungicidas foliares como o triadimefon, propiconazole, benomyl ou com metil 2-benzimidazole (MBC). Relatos também apontam que um controle rentável é possível com a aplicação de fungicidas foliares, sob condições que conduzem a epidemias (BOYACIOGLU et al., 1992; MARTIN; JOHNSTON, 1982).

O efeito da época, do número de aplicações e doses de fungicida no controle da giberela em trigo foi estudado por Panisson et al. (2002), os quais observaram que até sete aplicações de tebuconazole (150g.i.a.ha⁻¹), realizadas durante a antese, não erradicaram a doença (controle de 91%). Quando os autores utilizaram duas e três aplicações durante a antese, houve controle superior em relação a uma única aplicação, sendo que o controle médio dos tratamentos foi de 67% em relação a severidade.

Sementes portadoras de patógenos, quando semeadas, podem não germinar ou morrer pela ação dos patógenos (fungos, bactérias, vírus e nematóides), que matam o embrião ou infectam as plântulas delas originadas, causando manchas, queimas ou morte. O fato de sementes permanecerem viáveis por longos períodos de tempo faz com que patógenos nelas presentes também sobrevivam por períodos maiores, dependendo apenas dos hospedeiros, das características dos patógenos e das condições de armazenamento (BARROS, 1996).

Os efeitos negativos dos patógenos nas sementes, geralmente, são representados por lavouras com baixo número de plantas por hectare e pela ocorrência de focos iniciais a partir de

plantas doentes. Dependendo do caso, esses danos poderão atingir níveis econômicos no rendimento de grãos, além de interferirem na qualidade comercial, diminuindo o peso hectolítrico (PH) e a extração de farinha, como ocorre em trigo (VIEIRA, 1988).

De acordo com Machado (1982, 1994), o melhor método para o controle de doenças é sempre o uso de sementes de boa qualidade. Quando não há disponibilidade dessas sementes em quantidade suficiente, ou se deseja introduzir materiais de procedências duvidosas, ou ainda reduzir o potencial de inóculo primário, é recomendável que as sementes sejam tratadas. No caso de fungos de solo, o tratamento das sementes pode também proteger as plântulas (RIBEIRO, 1996).

O tratamento químico das sementes, visando controlar ou erradicar os patógenos presentes em diferentes estruturas vegetativas, envolve a aplicação de substâncias por meio de vários processos, cujo principal objetivo é a preservação da sanidade da semente, com o intuito de evitar a redução no rendimento das plantas. Este método consiste na aplicação de fungicidas, antibióticos e nematicidas às sementes. É o método mais comum de se tratar sementes, sendo de grande valor comercial. O seu princípio é bastante simples e baseia-se na existência de produtos eficientes contra o(s) patógeno(s), que apresentem baixa fitotoxicidade e sejam pouco tóxicos ao homem e ao ambiente (MENTEN, 1991).

No sentido amplo, o tratamento de sementes envolve a aplicação de diversos processos e substâncias às sementes, com o objetivo de preservar ou aperfeiçoar seu desempenho e aumentar o rendimento das plantas. No sentido restrito e mais tradicional, tratamento de sementes visa, exclusivamente, o controle de agentes causais que interferem no rendimento das plantas cultivadas. Para o agricultor interessa, em geral, a obtenção de lucro imediato e este é alcançado com a redução de danos causados pelos patógenos; contudo, deve-se considerar o efeito obtido a médio e longo prazo, pois a prática de se tratar sementes evita a introdução de patógenos em novas áreas e inibe a contínua adição de patógenos em áreas já tradicionais (MENTEN, 1991).

A partir de 1930, com a descoberta dos derivados do ácido ditiocarbâmico, principalmente do thiram [(dissulfito de tetra metil thiuram (TMTD)], surgiram vários outros fungicidas não mercuriais com ação protetora, ainda usados atualmente no tratamento de sementes (thiram, PCNB e captana). Mais recentemente, a partir de 1960, foram introduzidos novos fungicidas, denominados sistêmicos (benomil, carbendazin, carboxin, difeconazole, thiabendazole, tiofanato metílico, triadimenol e outros), trazendo novas possibilidades de controle de patógenos em

sementes, com a erradicação daqueles no interior destas, e a proteção das plantas por períodos maiores, atingindo os estádios iniciais de crescimento da planta (RIBEIRO, 1996).

Dihel e Reis (1983) estudaram o efeito do tratamento de sementes de trigo com fungicidas no controle de *Fusarium graminearum* e observaram que a aplicação de benomil + thiram foi capaz de erradicar o fungo presente nas sementes. Controles satisfatórios também foram observados com produtos como Fenapronil H 719 + imazalil + thiabendazole, CGA 64251 + imazalil + thiabendazole e imazalil, quando estes eram aplicados na sementes.

Uma questão que deve ser levada em consideração é se o método a ser empregado na avaliação sanitária de sementes não tratadas, é adequado para sementes tratadas. Algumas observações em laboratório indicam que a avaliação aos sete dias de incubação de, por exemplo, sementes de milho tratadas é dificultada pelo fato das colônias não se desenvolverem o suficiente para diferenciar fungos como *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium* sp. Com dez dias de incubação, as colônias se desenvolvem a ponto de facilitar a identificação, provavelmente devido ao efeito fungistático que certos fungicidas possuem, apenas retardando o desenvolvimento do fungo (MORAES, 2004). De acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), é recomendado que o período de incubação do teste seja prolongado, no caso de sementes tratadas.

2.1.8 Resistência do trigo à *Fusarium graminearum*

Não há relatos de cultivares completamente resistentes à *F. graminearum*. A maioria das variedades são totalmente suscetíveis e apenas poucas são moderadamente resistentes (van Ginkel et al., 1996; WILCSON et al., 1992). A baixa frequência de genótipos resistentes reportados por Wang e Miller (1988) é típica. Quando mais de 10.000 variedades e linhagens de trigo originadas na China e em outros países foram desenvolvidas, apenas 40 delas apresentavam resistência à fusariose suficiente para serem consideradas como germoplasma viáveis (DARDIS; WALSH, 2002). Todavia, alguns genótipos com altos níveis de resistência têm sido encontrados, especialmente em materiais provenientes da China, Japão e sul do Brasil (LUZZARDI, 1988).

O aumento do nível de resistência à fusariose é uma das estratégias de controle em que baseiam-se os melhoristas na obtenção de novas cultivares de trigo (REIS et al., 2001). O modelo de resistência proposto por Schroeder e Christensen (1963) tem sido largamente aceito e é baseado em dois componentes de resistência: tipo I - definida como resistência à infecção inicial e

tipo II - definida como resistência à colonização subsequente do tecido após a infecção. Contudo, outros mecanismos adicionais de resistência foram em seguida propostos: tipo III - resistência expressa no próprio grão; tipo IV - tolerância de infecção, onde o rendimento econômico é mantido, mesmo na presença da doença; e tipo V - resistência ao acúmulo de micotoxinas (GILBERT; TEKAUZ, 2000).

Acredita-se que, geralmente, a resistência do tipo II pode dar maior ênfase no desenvolvimento de estratégias de controle, devido ao fato de que perdas no rendimento são limitadas mesmo quando o fungo está presente (WANG; MILLER, 1988). Algumas cultivares de trigo como a BRS 177, BRS 179, BRS Louro, BRS Timbaúva e BRS Umbu apresentam moderada resistência à fusariose, a qual é caracterizada como sendo do tipo II (resistência à colonização). A cultivar Frontana, por outro lado, apresenta resistência do tipo I, caracterizada pela resistência da planta à infecção (LIMA, 2004).

No desenvolvimento de cultivares resistentes à fusariose, o ideal é selecionar aqueles genótipos que possuam resistência do tipo I ou II. Resistências dos tipos III, IV e V ainda necessitam receber muita atenção nos programas de melhoramento. Tipicamente, pesquisas buscam a identificação de genótipos com os tipos I e II de resistência, na esperança de que os tipos III, IV e V também estejam presentes (DARDIS; WALSH, 2002).

A resistência de cultivares de trigo à fusariose pode ser estimada pela mensuração da incidência da doença, pela proporção de grãos visivelmente afetados pelo fungo, por infecções de *Fusarium graminearum* no grão e por níveis de micotoxinas presentes em amostras de grãos. Enquanto estas mensurações podem ser correlacionadas, tem sido sugerido que a resistência de cultivares à doença e micotoxinas podem ser controladas por diferentes genes (BAI; SHANER, 1994). O conhecimento dessas mensurações pode ser utilizado para o desenvolvimento de linhagens que possam ser utilizadas para selecionar cultivares com níveis apropriados e diferentes tipos de resistência à fusariose (CROMEY et al., 2004).

Os mecanismos de resistência à fusariose são complexos e ainda não foram completamente entendidos. Muito provavelmente, uma gama de fatores são responsáveis por reduzir a suscetibilidade, incluindo efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos que expressam reações de defesa passivas ou ativas por parte do hospedeiro (MIEDANER, 1997). O patógeno e qualquer um daqueles fatores de resistência do hospedeiro são largamente influenciados pelas condições ambientais, promovendo complicações na análise da resistência (DARDIS; WALSH, 2002).

Um grande número de estudos tem examinado o modelo de herança da resistência à fusariose em plantas de trigo, mas é grande a diversidade encontrada nos resultados. A resistência tem sido descrita, várias vezes, como sendo monogênica, oligogênica ou poligênica na natureza (BAI et al., 1989; SNIJDERS, 1990a, 1990b, 1990d). Vários estudos concluíram que pouco menos de cinco genes estão envolvidos na resistência em genótipos resistentes à fusariose, provenientes da China e da América do Sul (BAI et al., 1989; BAN; van GINKEL et al., 1996; SUENAGA, 2000; SINGH et al., 1995; YU, 1982).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Comparação de métodos no teste de sanidade de sementes para a detecção de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo

O experimento foi instalado no CPDSV - Laboratório de Patologia de Sementes do Instituto Biológico, em São Paulo, no período de junho a julho de 2005. Foram utilizadas sementes de trigo da cultivar BR 23, portadoras de *Fusarium graminearum*, cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisas de Trigo (CNPT – EMBRAPA Trigo/Passo Fundo - RS), colhidas na safra 2004.

Foi empregado o delineamento inteiramente casualizado, com vinte e dois tratamentos e quatro repetições de 50 sementes. Os tratamentos foram constituídos de: (i) papel de filtro modificado, com congelamento; (ii) papel de filtro (sem congelamento); (iii) papel de filtro modificado, com 2,4 - diclorofenoxiacetato de sódio (2,4 - D); (iv) papel de filtro com restritores hídricos (soluções de manitol, sacarose, cloreto de sódio e cloreto e potássio com -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa); (v) meio semi-seletivo para *Fusarium graminearum*; (vi) meio semi-seletivo para *Fusarium graminearum* mais 2,4 - D (0,02% v/v); e (vii) meio semi-seletivo para *Fusarium graminearum*, mais cloreto de potássio (-0,8 MPa). Cada unidade experimental foi constituída por duas placas de poliestireno, com 9 cm de diâmetro, contendo 25 sementes de trigo distribuídas em: (i) meio de cultura (tratamento com meio semi-seletivo para *Fusarium graminearum*); (ii) três folhas de papel de filtro umedecidos com água destilada (tratamentos com e sem congelamento das sementes); (iii) três folhas de papel de filtro umedecidos com soluções

de 2,4 - D; (iv) três folhas de papel de filtro umedecidos com restritores hídricos (manitol, sacarose, cloreto de sódio e cloreto de potássio).

O tratamento com 2,4 - D foi empregado umedecendo o substrato (papel de filtro) com uma solução de água destilada e o herbicida a 0,02% (v/v). Com relação ao tratamento com meio semi-seletivo, foi realizada a assepsia das sementes com hipoclorito de sódio (1,0%) por dez minutos. Utilizou-se o meio batata-dextrose-água (marca Merck KGaA[®]) mais 8 g de ágar-água, esterilizado em autoclave (120 °C; 1 atm; 30 minutos) e, em seguida, adicionou-se 25 ppm de iprodione, 15 ppm de triadimenol, 25 ppm de nistatina, 1000 ppm de sulfato de estreptomicina e 50 ppm de sulfato de neomicina, de acordo com metodologia descrita por Segalin et al.¹ (em fase de elaboração). Quanto as concentrações dos restritores hídricos utilizados no método de restrição hídrica, estas foram obtidas a partir do cálculo realizado pelo “software” SPM[®], cujos valores estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Quantidades de manitol, sacarose, cloreto de potássio (KCl) e cloreto de sódio (NaCl) utilizadas para ajustar a solução em diferentes níveis de potencial osmótico (MPa)

Potencial osmótico ajustado (MPa)	Manitol	Sacarose	KCl	NaCl
	g.L ⁻¹			
-0,4	29,3	46,4	6,6	5,1
-0,6	44,9	71,3	9,9	7,7
-0,8	59,8	95,1	13,4	10,3
-1,0	66,8	117,9	15,8	12,2

Com exceção do tratamento que foi submetido ao congelamento, as sementes distribuídas nas placas dos demais tratamentos foram incubadas por 10 dias, a 20 °C ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz negra. Para o tratamento com papel de filtro e congelamento, a incubação foi interrompida no segundo dia, onde as placas foram colocadas em “freezer” a -18 °C, por 24 horas, sendo em seguida, incubadas novamente, com as mesmas condições descritas para os demais tratamentos. Após o período de incubação, a identificação de *F. graminearum* e de outros fungos presentes nas sementes foi feita baseando-se nas estruturas reprodutivas desses organismos visualizadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e, quando necessário, com a preparação de lâminas para visualização em microscópio óptico. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão para os restritores manitol, sacarose, KCl e NaCl, com o auxílio do “software” STAT[®]. Para os demais tratamentos foi realizada a análise de variância

¹ SEGALIM, M; REIS, E. M. (Universidade de Passo Fundo). Meio semi-seletivo para *F. graminearum*.

aplicando-se o teste de Tukey para a comparação dos resultados.

2.2.2 Avaliação do efeito de *Fusarium graminearum* na germinação e emergência de sementes de trigo e estudo da transmissão do patógeno da semente para a plântula

Os experimentos foram realizados em laboratório e casa-de-vegetação do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal (CPDSV) do Instituto Biológico, em São Paulo, no período de abril a julho de 2005. Foram utilizadas sementes de 30 genótipos de trigo que diferem entre si quanto à suscetibilidade de *F. graminearum*, cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisas de Trigo (CNPT – EMBRAPA Trigo/Passo Fundo - RS), colhidas na safra 2004.

2.2.2.1 Efeito causado por *Fusarium graminearum* na germinação de sementes de trigo

Inicialmente foi realizado teste de sanidade de sementes para *F. graminearum* dos 30 genótipos utilizados. O método empregado foi o papel de filtro modificado com congelamento (ISTA, 1966; Brasil, 1992), no qual foram usadas quatro repetições de vinte e cinco sementes. Foram utilizadas placas de Petri descartáveis, com nove centímetros de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro previamente umedecidas com água destilada, distribuindo-se vinte e cinco sementes por placa. Em seguida, as sementes foram incubadas por dez dias, a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas de luz negra e 12 horas de escuro. A incubação foi interrompida no segundo dia e as placas foram colocadas em “freezer” a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 horas, e, em seguida, incubadas novamente, com as mesmas condições descritas anteriormente, por mais oito dias. Após o período de incubação, as sementes foram examinadas, com o auxílio de microscópio estereoscópio e, quando necessário, com microscópio óptico e determinada a incidência de *F. graminearum*.

Após a avaliação da sanidade das sementes, foi instalado um experimento em laboratório, utilizando os 30 genótipos de trigo, citado no item anterior, para avaliar o efeito de *Fusarium graminearum* na germinação das sementes, utilizando-se o método do rolo de papel (BRASIL, 1992). O delineamento estatístico empregado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, de 50 sementes cada.

O substrato utilizado, em cada unidade experimental, foram três folhas de papel especial para germinação (“germitest”), medindo 38 x 28 cm, umedecidas previamente com água destilada esterilizada. As 50 sementes foram distribuídas, equidistantemente, sobre duas folhas de papel de

germinação e cobertas com a terceira folha. Em seguida, as folhas foram dobradas ao longo da maior dimensão e enroladas no sentido perpendicular a si mesma. Os rolos, contendo as sementes, foram mantidos em câmara climatizada, com temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante oito dias, conforme especificado nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). A avaliação da germinação foi realizada contando-se o número de plântulas normais, transformando em porcentagem. Também foram analisadas as plântulas anormais, infeccionadas e não infeccionadas, e sementes mortas.

Uma avaliação visual das sementes com sintomas de fusariose (“gibereladas”) foi realizada na Embrapa Trigo, em subamostra composta de 1.000 sementes de cada genótipo, determinando-se o percentual de sementes “gibereladas” (sementes com colorações rosa-salmão e rosa).

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, com o auxílio do “software” STAT[®]. Foi realizada também a análise de correlação entre: (i) incidência (%) de *F. graminearum* e a avaliação visual de sementes “gibereladas”; (ii) incidência (%) de *F. graminearum* e germinação (%) das sementes; (iii) incidência (%) de *F. graminearum* e quantidade (%) de sementes mortas com *F. graminearum* (SMF); e (iv) germinação (%) das sementes e SMF.

2.2.2.2 Efeito causado por *Fusarium graminearum* na emergência de plântulas de trigo e estudo da transmissão do patógeno da semente para a plântula

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação do CPDSV do Instituto Biológico, em São Paulo, no período de abril a julho de 2005. Foram utilizadas sementes de 30 genótipos de trigo que diferem entre si quanto à suscetibilidade de *F. graminearum*, cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisas de Trigo (CNPT – EMBRAPA Trigo/Passo Fundo - RS), colhidas na safra 2004.

Empregou-se o delineamento em blocos casualizados, com 30 tratamentos (genótipos) e quatro repetições de cinquenta sementes cada. Cada unidade experimental constituiu-se de uma caixa de plástico, com cinquenta sementes de um único tratamento, medindo 45 x 30 x 11 cm, contendo areia tratada com brometo de metila. As bandejas foram colocadas em casa-de-vegetação onde o efeito de *F. graminearum* na emergência das plântulas foi observado, contando-se o número de plantas emergidas aos sete, 14 e 21 dias após a semeadura (DAS).

Nos estudos de transmissão de *F. graminearum* foram feitas avaliações aos sete, quatorze e vinte e um dias após a semeadura, observando a ocorrência de sintomas em plântulas ou em pelo menos uma de suas estruturas vegetativas. As plântulas sintomáticas foram retiradas da areia e lavadas com água corrente e colocadas em câmara úmida por sete dias, com temperatura de ± 21 °C. Após este período, as plântulas com sintomas foram analisadas para verificar a presença de sinais do patógeno, com o auxílio de microscópio estereoscópio e óptico. Após a avaliação, calculou-se a taxa de transmissão do patógeno, da semente para as plântulas, a partir da fórmula sugerida por Forcelini (1991b):

$$\text{Taxa de transmissão} = \frac{\% \text{ de plântulas com sintomas} \times 100}{\% \text{ de infecção inicial das sementes}}$$

Uma análise de variância foi realizada com os dados obtidos do experimento de emergência e de transmissão e suas médias analisadas utilizando o teste de Tukey; ambos os procedimentos foram realizados com auxílio do “software” STAT[®]. Em seguida foram calculados os coeficientes de correlação entre a incidência de *F. graminearum* nos diferentes genótipos comparados e as seguintes taxas de transmissão do mesmo: (i) da semente para o colo da plântula; (ii) da semente para a haste; (iii) da semente para a raiz primária; e (v) total (semente para colo + haste + raiz primária).

2.2.3 Avaliação do efeito da interação entre cultivares, doses de nitrogênio e aplicação de fungicidas na incidência de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo

O experimento foi instalado no Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade de São Paulo, no Campus “Luiz de Queiroz”, no município de Piracicaba - SP, durante o período de setembro de 2003 a julho de 2005. Foram utilizadas sementes de trigo das cultivares IAC – 24 e IAC - 350 (safrá 2003/ município de Itararé -SP) e IAC - 24 e IAC - 370 (safrá 2004/municípios de Itararé - SP e Mandurí - SP), cedidas pelo Instituto Agrônômico de Campinas.

O material utilizado para a análise de sanidade foi proveniente de ensaio realizado no município de Itararé - SP em 2003, com blocos em parcelas subdivididas, com duas parcelas: aplicação de fungicidas (triazolam + tebuconazol: três aplicações de 0,75 L.ha⁻¹ (i) emborrachamento; (ii) início da emergência das espigas; e (iii) florescimento) e sem aplicação;

cinco subparcelas: 0, 30, 60, 90 e 120 kg.ha⁻¹ de nitrogênio na forma de uréia (NH₃); duas sub-subparcelas, constituídas por dois genótipos: IAC - 24 e IAC - 350 e quatro repetições.

O mesmo ensaio foi realizado na safra seguinte (2004), nos municípios de Itararé - SP e Mandurí - SP, com algumas modificações: quatro subparcelas ao invés de cinco (0, 60, 120 e 180 kg.ha⁻¹ de nitrogênio na forma de NH₃) e sub-subparcelas constituídas por duas cultivares: IAC - 24 e IAC - 370.

As sementes oriundas desses dois ensaios foram utilizadas para instalar um experimento para avaliar a interação de cada um dos fatores acima descritos na incidência de *Fusarium graminearum* nas sementes de trigo. Dessa forma, testes de sanidade foram realizados com sementes oriundas das duas safras descritas, em delineamento com blocos casualizados em parcelas subdivididas, visando a detecção de *F. graminearum*, onde avaliaram-se 20 tratamentos (parcelas x subparcelas x sub-subparcelas), com quatro repetições (safra 2003 - Itararé) e 16 tratamentos (parcelas x subparcelas x sub-subparcelas), com quatro repetições (safra 2004 - Itararé e Mandurí); Utilizou-se o método do papel de filtro modificado com congelamento (ISTA, 1966; BRASIL, 1992). Este método constitui-se do plaqueamento de 25 sementes de trigo por repetição em placas de Petri descartáveis contendo três folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada. Em seguida, as sementes foram incubadas por 10 dias a 20 °C ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz negra e 12 horas de escuro. A incubação foi interrompida no segundo dia, onde as placas foram colocadas em “freezer” a -18 °C, por 24 horas, sendo em seguida, incubadas novamente, com as mesmas condições descritas.

Após o período de incubação, as sementes foram examinadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e, quando necessário, lâminas foram preparadas para visualização em microscópio óptico. As sementes que apresentavam sinais de *F. graminearum* foram anotadas e seus valores foram expressos em porcentagem. Para a avaliação dos resultados, os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, com o auxílio do “software” STAT[®].

2.2.4 Efeito do tratamento químico de sementes de trigo na incidência de *Fusarium graminearum*

Foram realizados experimentos de laboratório e casa-de-vegetação no CPDSV - Laboratório de Patologia de Sementes do Instituto Biológico, em São Paulo, no período de

setembro a outubro de 2005. Nestes experimentos foram utilizadas sementes da cultivar BR 18 Terena, apresentando 25% de incidência de *F. graminearum*, cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisas de Trigo (CNPT – EMBRAPA Trigo/Passo Fundo - RS), colhidas na safra 2004.

As sementes foram tratadas com dez fungicidas, listados na Tabela 2. Após os tratamentos das sementes, realizaram-se dois experimentos de laboratório e um de casa-de-vegetação. Em laboratório foram avaliadas a germinação e a sanidade das sementes. Em casa-de-vegetação avaliou-se o efeito dos tratamentos fungicidas na altura de plântulas e emergência. Em seguida, determinou-se o índice de velocidade de emergência (IVE), de acordo com a fórmula descrita por Maguire (1962):

$$IVE = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$$

Onde:

- G_1, G_2, G_n = número de plântulas normais na primeira, segunda e “n” contagem;
- N_1, N_2, N_n = número de dias após a semeadura na primeira, segunda e última contagem.

Tabela 2 - Fungicidas utilizados para o tratamento de sementes de trigo cultivar BR 18 Terena visando controle de *F. graminearum*

Nome técnico	Nome comercial	Formulação	Dose p.c./100 Kg Sementes (g ou mL)	Dose i.a./100kg Sementes (g ou mL)
Captana	Captan 750 TS	750 PS	200	150,0
Tiofanato metílico	Cercobin 500 SC	500 SC	150	75,0
Triflumizole	Trifmine	300 PM	150	45,0
Triticonazole	Premis	200 SC	225	45,0
Triadimenol	Baytan 50 FS	50 FS	270	13,5
Tolyfluanida	Euparen 500 PM	500 PM	150	75,0
Tebuconazole	Raxil 25 FS	25 FS	200	5,0
Fludioxonil	Maxim	25 SC	200	5,0
Difeconazole	Spectro	150 SC	200	30,0
Thiabendazole	Tecto SC	485 SC	62	30,0

p.c.: produto comercial; i.a.: ingrediente ativo

A germinação das sementes foi avaliada empregando-se o método do rolo de papel. O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições de 50 sementes cada. Estas foram distribuídas, equidistantemente, sobre duas folhas de papel de germinação e cobertas com a terceira folha. Em seguida, as folhas foram dobradas ao longo da maior dimensão e enroladas no sentido perpendicular a si mesma. Os rolos, contendo as sementes, foram incubados em câmara climatizada, com temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante oito dias, conforme especificado nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Em seguida, a

porcentagem de germinação foi determinada através da contagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas, sendo o resultado expresso em porcentagem.

A incidência de *Fusarium graminearum* e outros fungos nas sementes utilizadas foi avaliada utilizando o método do papel de filtro modificado com congelamento (ISTA, 1966; BRASIL, 1992), empregando delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e quatro repetições de 50 sementes. Cada unidade experimental constitui-se de duas placas, contendo 25 sementes por placa. Foram utilizadas placas de Petri descartáveis, com 9 cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro previamente umedecidas com água destilada, distribuindo-se vinte e cinco sementes por placa. Em seguida, essas placas foram incubadas por dez dias a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas de luz negra e 12 horas de escuro. A incubação foi interrompida no segundo dia e as placas foram colocadas em “freezer” a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas e, em seguida, incubadas novamente, com as mesmas condições descritas anteriormente. Após o período de incubação, as sementes foram examinadas, com o auxílio de microscópio estereoscópio e quando necessário com microscópio óptico e determinada a incidência dos fungos presentes nas sementes.

No experimento em casa-de-vegetação foi empregado o delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e quatro repetições de 50 sementes. Cada unidade experimental constitui-se de uma caixa de plástico medindo 45 x 30 x 11 cm, contendo areia tratada com brometo de metila. Em cada caixa foram colocadas 50 sementes de trigo, provenientes de um único tratamento, representando uma repetição. Foram avaliadas as seguintes variáveis: (i) velocidade de emergência - através da contagem de plântulas aos dois, três, cinco e dez dias após a emergência (D.A.E); (ii) altura de plântulas - mensuração do comprimento da parte aérea de dez plântulas, escolhidas ao acaso, em cada tratamento, realizada aos sete, quatorze e vinte um dias após a emergência; e (iii) avaliação de plântulas com sintomas de doença - as plântulas sintomáticas foram retiradas da areia, colocadas em câmara úmida por cinco dias, analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e, quando necessário, procedeu-se com o isolamento em meio de cultura BDA (batata-dextrose-água).

Os dados obtidos, tanto nos experimentos de laboratório quanto os de casa-de-vegetação, foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, com o auxílio “software” STAT[®].

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Comparação de métodos para a detecção de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo

Os resultados obtidos nos estudos de comparação de métodos, expressos na Tabela 3 e apresentados na Figura 1, mostram diferenças significativas entre os diferentes métodos avaliados, quanto à incidência de *Fusarium graminearum* presente nas sementes de trigo da cultivar BR 21. A maior incidência do patógeno (37,5%) foi observada no método em que foi utilizado o meio semi-seletivo com 0,02% (v/v) de 2,4 - diclorofenoxyacetato de sódio (2,4 - D), enquanto que a menor incidência (12,5%) foi observada quando utilizou-se a sacarose com potencial osmótico de -1,0 MPa. O método do meio semi-seletivo com 0,02% (v/v) de 2,4 - D diferiu significativamente dos seguintes tratamentos: manitol -0,6 MPa (15,0%); manitol -1,0 MPa (15,0%); sacarose -0,8 MPa (15,0%); PF sem congelamento (13,0%); e sacarose -1,0 MPa (12,5%). Os métodos em que foram empregados os sais cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl), para todos os potenciais osmóticos comparados, bem como os métodos em que foram utilizados manitol -0,4 MPa e -0,8 MPa e sacarose -0,4 MPa e -0,6 MPa, além dos métodos do papel de filtro com congelamento das sementes ou com a adição de 2,4-D e os demais métodos com o uso de meio semi-seletivo, não diferiram estatisticamente entre si.

A utilização dos solutos manitol, sacarose, NaCl e KCl, em todos os potenciais osmóticos, para a detecção de *F. graminearum*, proporcionam resultados semelhantes ao método do papel de filtro com congelamento, recomendado para a detecção de fungos em gramíneas (ISTA, 1966; BRASIL, 1992) e utilizado como padrão neste experimento. Este resultado é semelhante aqueles obtidos por Del Ponte (2001), que não verificaram influência dos níveis de restrição hídrica obtidos com os mesmos solutos na detecção de fungos em sementes de trigo, utilizando o mesmo método de incubação de sementes. Machado (2002), utilizando os solutos manitol e NaCl, nos potenciais osmóticos de -0,4, -0,6, -0,8, -1,0 e -1,2 MPa, no teste de sanidade de sementes de algodoeiro com papel de filtro, também não encontrou efeito desses solutos na detecção de diferentes espécies de *Fusarium*. Contrastando esses resultados, Magalhães (2005) avaliou o efeito da incubação de sementes de sorgo, utilizando os restritores hídricos manitol e NaCl, com os mesmos potenciais osmóticos utilizados no presente experimento, e verificou que a incidência média de *Fusarium moniliforme* foi menor com a utilização desses solutos adicionados ao

substrato quando comparado com a incidência média do mesmo fungo em sementes incubadas com o método do congelamento.

Figura 1 – Diferentes métodos de detecção de *Fusarium graminearum* : (A) meio semi-seletivo (MSS) + KCl (0,8MPa); (B) MSS + 2,4 – D; (C) MSS; (D) papel de filtro (PF) + congelamento; (E) PF sem congelamento; (F) PF + 2,1-D; (G) KCl (-0,4 MPa); (H) KCl (-0,6 MPa); (I) KCl (-0,8 MPa); (J) KCl (-1,0 MPa); (K) NaCl (-0,4 MPa); (L) NaCl (-0,6 MPa); (M) NaCl (-0,8 MPa); (N) NaCl (-1,0 MPa); (O) manitol (-0,4 MPa); (P) manitol (-0,6 MPa); (Q) manitol (-0,8 MPa); (R) manitol (-1,0 MPa); (S) sacarose (-0,4 MPa); (T) sacarose (-0,6 MPa); (U) sacarose (-0,8 MPa); (V) sacarose (-0,4 MPa)

Foram detectados, além de *Fusarium graminearum*, os seguintes fungos: *Alternaria alternata*, *Epicoccum* sp., *Cladosporium* sp., *Bipolaris* sp. e *Bipolaris sorokiniana*. Com exceção de *Epicoccum* sp. e *Cladosporium* sp., os demais fungos não apresentaram diferenças significativas quanto a incidência nas sementes. Contudo, vale ressaltar que apenas o fungo *Bipolaris sorokiniana*, dentre os demais, é considerado patogênico a cultura do trigo.

A maior incidência de *Epicoccum* sp. (37,0%), encontrada nas sementes analisadas, foi obtida com o emprego do restritor hídrico sacarose, com potencial osmótico de -0,8 MPa, enquanto que a utilização do método do papel de filtro, com o congelamento das sementes, apresentou a menor incidência desse fungo (12,5%). Os demais métodos analisados não diferiram significativamente tanto entre si, quanto entre os métodos anteriormente citados (Tabela 3). Em sementes de sorgo, Magalhães (2005) observou que a incidência de *Epicoccum purpurencens* foi menor quando as sementes foram submetidas à incubação utilizando os solutos manitol e NaCl,

nos potenciais osmóticos de -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, quando comparadas com o método do congelamento, contradizendo os resultados do presente experimento.

Houve variação significativa na incidência de *Cladosporium* sp., de acordo com o método utilizado. Sementes submetidas ao método com sacarose, com -1,0 MPa, apresentaram a maior incidência do fungo (32,5%), diferindo dos seguintes métodos: meio semi-seletivo (2,0%), meio semi-seletivo mais 2,4 – D (5,5%), KCl com -0,6 MPa (7,0%), meio semi-seletivo mais KCl com -0,8 MPa (7,0%), KCl com -0,8 MPa (7,5%), KCl com -1,0 MPa (8,5%), papel de filtro sem congelamento (10,0%), NaCl em todos os potenciais comparados (13,0%, 10,5%, 12,0%, 15,0% para -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, respectivamente) e por fim, papel de filtro com 0,02% de 2,4 -D e papel de filtro com congelamento, ambos com 12,5%. No outro extremo, sementes submetidas ao método do meio semi-seletivo apresentaram a menor incidência de *Cladosporium* sp. (2,0%), diferindo significativamente dos seguintes métodos: KCl com -0,4 MPa (18,0%), manitol com -0,8 MPa (20,0%), manitol com -0,6 MPa (20,5%), manitol com -1,0 MPa (22,5%), sacarose com -0,4 MPa e -0,8 MPa (25,0%) e por fim, sacarose com -1,0 MPa (Tabela 3).

O segundo maior valor de incidência de *Cladosporium* sp. foi observado com a utilização de sacarose com potenciais osmóticos de -0,4 MPa e -0,8 MPa (25,0%). Essa incidência foi significativamente diferente daquelas encontradas com os seguintes métodos: meio semi-seletivo (2,0%), meio semi-seletivo mais 0,02% de 2,4-D (5,5%), meio semi-seletivo mais KCl com -0,8 MPa (7,0%) e para todos os potenciais osmóticos de KCl utilizados com exceção de -0,4 MPa (7,0%, 7,5%, 8,5% para -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, respectivamente) (Tabela 3).

Os fungos *Bipolaris* sp. e *Bipolaris sorokiniana* apresentaram baixa incidência nas sementes avaliadas. Independente do tratamento empregado, não houve influência dos tratamentos na detecção desses fungos. Os solutos utilizados (sacarose, manitol, cloreto de sódio e cloreto de potássio), mesmo nos potenciais mais negativos, não afetaram a detecção desses microrganismos. Particularmente para o fungo *Bipolaris sorokiniana*, tal resultado é semelhante aquele encontrado por Celano (2003), para os solutos manitol e cloreto de sódio, indicando que a técnica da restrição hídrica no método de incubação de sementes em substrato de papel pode ser promissora na detecção desse patógeno.

O condicionamento osmótico das sementes, obtido através do uso de restritores hídricos, tem como finalidade controlar a velocidade de embebição das sementes, permitindo que ocorram as fases I (início da embebição) e II (transporte ativo das reservas) do processo de embebição das

sementes, contudo, impede que ocorra a fase III (alongamento celular e emissão da radícula). Sementes secas, em equilíbrio higroscópico com o ar em uma umidade relativa de 50%, podem estar com um potencial hídrico de aproximadamente -100 MPa, proporcionando um gradiente hídrico favorável à absorção de água pelas sementes quando elas são colocadas em água pura ou em substratos com potenciais hídricos maiores que -2,0 MPa (BRADFORD, 1986). Por outro lado, a faixa de potencial hídrico adequada para a grande maioria de fungos e bactérias varia de -0,3 a -0,5 MPa (COOK; PAPENDICK, 1978). Ainda assim, estudos do crescimento micelial *in vitro* de diversos fungos indicam que tais organismos diferem na habilidade de absorver água do ambiente e cada espécie possui uma faixa adequada de potencial hídrico para o seu desenvolvimento (BROWNELL; SCHNEIDER, 1985; WOODS; DUNIWAY, 1986; KACKLEY et al., 1990), comprovando a variação encontrada na incidência dos fungos detectados com a técnica da restrição hídrica, utilizada no presente trabalho.

O método do papel de filtro com congelamento diferiu dos demais métodos analisados, apresentando a menor porcentagem de sementes germinadas (1,5%), enquanto que o método do papel de filtro sem congelamento apresentou a maior porcentagem de sementes germinadas (91,0%), como era esperado. Embora os demais métodos tenham apresentado porcentagens expressivas de sementes germinadas, variando de 45,0% a 75,5% (Tabela 3), vale ressaltar que foram constadas diferenças visuais quanto ao comprimento das estruturas seminais. Assim, os tratamentos com menores potenciais osmóticos (-0,4 MPa e -0,6 MPa), bem como o método de papel de filtro sem congelamento, apresentaram o maior número de sementes com desenvolvimento de estruturas seminais, possibilitando a movimentação das sementes nas placas. Por outro lado, tratamentos com maiores potenciais osmóticos (-0,8 MPa e -1,0 MPa), bem como o método do papel de filtro modificado com 0,02% (v/v) de 2,4 - D, propiciaram o menor desenvolvimento dessas estruturas, impedindo a movimentação das sementes no interior das placas, bem como evitando que as mesmas tivessem as suas tampas levantadas, facilitando a identificação dos fungos presentes nas sementes.

Tabela 3 - Incidência de fungos (%) e de sementes germinadas (%) encontradas em diferentes métodos de detecção utilizados no teste de sanidade de sementes de trigo

Tratamento	Incidência média (%)						S.G. (%)
	<i>F. graminearum</i>	<i>A. alternata</i>	<i>Epicoccum</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>B. sorokiniana</i>	
MSS + 2,4 – D	37,5 A	26,0 A	21,5 AB	5,5 EF	1,0 A	0,0 A	56,0 B
PF + 2,4 – D	29,5 AB	15,5 A	29,5 AB	12,5 BCDEF	0,0 A	0,0 A	54,5 B
PF + congelamento	28,0 AB	29,5 A	12,5 B	12,5 BCDEF	0,5 A	0,5 A	1,5 C
PF + NaCl (-0,6 MPa)	27,5 AB	26,0 A	30,5 AB	10,5 BCDEF	1,5 A	0,0 A	62,5 AB
PF + NaCl (-0,8 MPa)	25,5 AB	25,5 A	26,0 AB	12,0 BCDEF	0,0 A	0,0 A	52,5 B
PF + Manitol (-0,8 MPa)	25,5 AB	18,5 A	30,0 AB	20,0 ABCDE	1,5 A	0,5 A	45,0 B
PF + NaCl (-0,4 MPa)	25,0 AB	28,0 A	20,5 AB	13,0 BCDEF	2,5 A	0,0 A	63,0 AB
PF + NaCl (-1,0 MPa)	24,0 AB	27,5 A	34,0 AB	15,0 BCDEF	0,5 A	0,0 A	47,5 B
PF + Manitol (-0,4 MPa)	23,0 AB	20,0 A	33,0 AB	24,0 ABC	1,0 A	0,0 A	65,5 AB
PF + Sacarose (-0,4 MPa)	23,0 AB	22,5 A	24,0 AB	25,0 AB	1,0 A	0,5 A	64,0 AB
MSS	23,0 AB	24,0 A	19,5 AB	2,0 F	2,5 A	0,5 A	75,5 AB
MSS + KCl (-0,8 MPa)	23,0 AB	25,0 A	22,0 AB	7,0 DEF	1,0 A	0,0 A	60,0 B
PF + KCl (-1,0 Mpa)	21,5 AB	27,0 A	31,0 AB	8,5 CDEF	1,5 A	0,5 A	57,0 B
PF + Sacarose (-0,6 MPa)	21,5 AB	22,0 A	21,0 AB	23,5 ABC	0,0 A	0,0 A	71,5 AB
PF + KCl (-0,6 Mpa)	20,5 AB	25,5 A	32,5 AB	7,0 DEF	0,0 A	0,0 A	58,0 B
PF + KCl (-0,8 Mpa)	20,5 AB	21,5 A	30,5 AB	7,5 DEF	0,0 A	0,5 A	57,0 B
PF + KCl (-0,4 Mpa)	17,5 AB	20,5 A	23,0 AB	18,0 ABCDE	1,0 A	0,0 A	59,0 B
PF + Manitol (-0,6 MPa)	15,0 B	24,5 A	34,0 AB	20,5 ABCDE	0,5 A	1,5 A	63,0 AB
PF + Manitol (-1,0 MPa)	15,0 B	25,0 A	32,0 AB	22,5 ABCD	0,0 A	0,0 A	49,5 B
PF + Sacarose (-0,8 MPa)	15,0 B	20,5 A	37,0 A	25,0 AB	0,0 A	0,0 A	64,5 AB
Sem congelamento	13,0 B	19,5 A	23,5 AB	10,0 BCDEF	1,0 A	0,0 A	91,0 A
PF + Sacarose (-1,0 MPa)	12,5 B	24,5 A	30,5 AB	32,5 A	0,5 A	0,0 A	56,5 1B
F tratamentos	1,98*	0,74 n.s.	1,96*	7,39**	0,73 n.s.	1,69 n.s.	7,52**
C.V. (%)	38,35	34,42	32,58	38,64	226,19	276,40	20,15

F: teste de F (análise de variância); C.V: coeficiente de variação; n.s.: não significativo; ** significativo com 99% de confiança; * significativo com 95% de confiança; PF: papel de filtro; MSS: meio semi-seletivo; S.G.: sementes germinadas; valores acompanhados por letras maiúsculas diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

A redução da germinação em sementes de diferentes espécies, como algodão (MACHADO, 2002), arroz e feijão (COUTINHO, 2000), azevém (MAGRO et al., 2002), milho (GRAVENA et al., 2002), soja (ALVES et al., 2002) e trigo (DEL PONTE, 2001), foi observada quando utilizaram-se potenciais osmóticos em torno de -1,0 MPa, obtidos com o uso de diversos solutos. Por outro lado, Celano (2003) utilizou as soluções de NaCl e manitol com diferentes potenciais osmóticos (0,0, -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa) na incubação de sementes de trigo e observou que ambos os solutos, no potencial de -1,2 MPa, propiciaram porcentagens de germinação superiores a 90%, indicando semelhança com os resultados obtidos no presente trabalho, com o uso desses mesmos restritores.

O meio semi-seletivo utilizado neste trabalho está sendo desenvolvido na Universidade de Passo Fundo - RS e ainda não existem resultados publicados comprovando a sua eficiência na detecção de *Fusarium graminearum*. O seu uso mostrou-se tão eficiente quanto o método padrão (papel de filtro com congelamento das sementes) recomendado pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), mesmo quando foi adicionado o herbicida 2,4-D (0,02% v/v) ao meio, com o intuito de reduzir o desenvolvimento das estruturas seminais das sementes incubadas. Este método apresentou, como principal vantagem, a facilidade na identificação do patógeno (a análise foi feita baseando-se nas inspeções visuais das características culturais do fungo), o qual apresentou elevado crescimento e abundante esporulação, reduzindo demasiadamente o uso de microscópio estereoscópio e óptico e otimizando o tempo de análise das amostras. Outra vantagem desse método é não haver necessidade de interromper o período de incubação por 24 horas.

Como já foi comentado para o método do papel de filtro, o uso de meio semi-seletivo, quando se adiciona o 2,4 - D, suprime a germinação das sementes, facilitando a identificação dos fungos presentes nas mesmas. Outra vantagem observada foi à redução ou mesmo inibição do desenvolvimento de bactérias e fungos saprofíticos, presentes nas superfícies das mesmas. Contudo, vale lembrar que o seu uso constitui-se num risco à saúde dos seus operadores em laboratório, como dito anteriormente.

Com exceção do manitol (-0,6 e -1,0 MPa) e da sacarose (-0,8 e -1,0 MPa), além do método de papel de filtro sem o congelamento das sementes, os demais métodos analisados apresentaram resultados semelhantes ao método com a utilização do meio semi-seletivo com adição de 0,02% de 2,4-D e também ao método padrão (papel de filtro com o congelamento das

sementes). Estes resultados indicam que tais métodos não influenciam a incidência de *F. graminearum* e, dessa forma, podem ser empregados no teste de sanidade de sementes de trigo.

A detecção de *F. graminearum* pode ser prejudicada pela alta incidência de fungos saprofíticos (no caso, *Epicoccum* sp. e *Cladosporium* sp.) detectada, de acordo com o método empregado, uma vez que a presença desses organismos competem com o patógeno pela superfície do substrato a ser colonizado, alimento e umidade. Portanto, a escolha do método de detecção deve ser baseada em dois parâmetros: qual método proporciona a maior incidência do patógeno alvo incidências de organismos saprofíticos que não interfiram na sua detecção. Seguindo essa premissa, o método do meio semi-seletivo com a adição de 2,4 – D com 0,02% (v/v) pode ser indicado na detecção de *F. graminearum* em sementes de trigo.

2.3.2 Influência de *Fusarium graminearum* na germinação de sementes de trigo

Analisando a Tabela 4, verifica-se que os genótipos apresentaram diferenças significativas nas incidências de *F. graminearum*. Embora também tenha havido diferenças significativas na germinação, de modo geral, as cultivares comportaram-se de maneira semelhante.

As maiores incidências do patógeno foram observadas nas cultivares BRS 209 (44%), BRS 210 (43%), BRS 220 (43%), BRS 193 (41%) e BR 18 Terena (33%). Essas incidências, exceto aquela observada na cultivar BR 18 Terena, foram significativamente superiores as demais encontradas no experimento. Este grupo de cultivares apresentou, na avaliação de sementes “gibereladas”, os seguintes valores: 13,4%, 43,2%, 12,4%, 20,0% e 35,5%, respectivamente. Por outro lado, tal grupo não diferiu significativamente quanto à germinação das sementes (73,0%, 86,5%, 71,5%, 71,5% e 79,0%, respectivamente) (Tabela 4).

Um segundo grupo que pode ser formado, em relação à incidência do patógeno, constituído por BRS Canela (26,0%), BRS Guatambú (28,0%), BRS 192 (23,0%), BRS 229 (23,0%), Sumai 3 (23,0%), PF 87451 (20,0%) e BRS 208 (19,0%), apresentaram 26,2%, 11,0%, 9,5%, 12,1%, 9,7%, 24,8% e 21,3 de sementes “gibereladas”, respectivamente. As incidências nessas cultivares e no genótipo (PF 87451) foram semelhantes aquelas encontradas nas cultivares BRS 220 (43,0%), BRS 193 (41,0%) e na BR 18 Terena (33,0%) (Tabela 4).

As cultivares BRS Timbaúva, Trigo BR 32 e BR 23 apresentaram semelhanças tanto nas incidências (18,0%, 18,0% e 14,0%, respectivamente) do patógeno quanto nas germinações das sementes (79,5%, 81,0% e 74,5%, respectivamente). Contudo, valores semelhantes de sementes “gibereladas” foram observados apenas nas cultivares BRS Timbaúva e Trigo BR 32 (12,7% e

13,7%, respectivamente), enquanto que a cultivar BR 23 apresentou 42,8% de sementes “gibereladas” (Tabela 4).

As cultivares CEP 24, Shanghai 3, BRS 179, Toropi, GW 5 e BRS Louro, com 18,0%, 18,0%, 15,0%, 14,0%, 10,0% e 6,0%, respectivamente, de incidência de *F. graminearum* apresentaram 18,3%, 56,9%, 17,9%, 39,5%, 10,6% e 16,8% de sementes “gibereladas” e 81,0%, 91,5%, 90,5%, 79,5%, 85,0% e 84,0%, de germinação, respectivamente. (Tabela 4).

As cultivares Trigo Chapéu, BRS Umbu e GW 3, com 18,0%, 12,0% e 2,0%, respectivamente, de incidência de *F. graminearum*, apresentaram 7,9%, 26,4% e 9,2% de sementes “gibereladas”, respectivamente. Tanto o maior índice de germinação (93,0% para GW 3) quanto o menor (65,5% para Trigo Chapéu) foram observados nesse grupo. A cultivar BRS Umbu apresentou 74,0% de germinação das sementes. Com uma incidência do patógeno significativamente semelhante (11,0%), a cultivar BRS Tarumã apresentou 11,3% de sementes “gibereladas” e 77,0% de germinação das sementes (Tabela 4).

Foi observado nas cultivares GW 3 e Sumai 2 e BRS Louro, incidências de *F. graminearum* (2,0%, 6,0% e 6,0%, respectivamente) significativamente inferiores às aquelas encontradas nas cultivares BRS 209 (44,0%), BRS 210 (43,0%), BRS 220 (43,0%), BRS 193 (41,0%), BR 18 Terena (33,0%), BRS Canela (26,0%), BRS Guatambú (28,0%), BRS 192 (23,0%), BRS 229 (23,0%) e Sumai 3 (23,0%) (Tabela 4).

Não houve correlação significativa entre a porcentagem de sementes “gibereladas” e a incidência de *F. graminearum* obtida no teste de sanidade de sementes, bem como da incidência de *F. graminearum* e a germinação das sementes (Tabela 4). É possível que essa ausência de correlação tenha ocorrido devido a alguns fatores: (i) não padronização do percentual de sementes “gibereladas” entre os genótipos; (ii) diferenças na resistência varietal; (iii) redução de viabilidade do inóculo presente nas sementes durante o armazenamento (oito meses); (iv) localização do patógeno na semente (superficial ou internamente). Este resultado reforça a importância da avaliação visual de sementes “gibereladas”, uma vez que a mesma pode ser usada para quantificar os danos causados pelo patógeno, havendo ou não diferenças entre genótipos, épocas de semeadura e safras nas condições de desenvolvimento e colonização do patógeno nas plantas e nas sementes. Neste sentido, Teles Neto (2004) constatou, utilizando como parâmetro o percentual de sementes “gibereladas”, que houve diferenças nas condições climáticas que favoreciam o desenvolvimento de *F. graminearum* entre os anos de 1999 e 2000. Lima et al.

(2002) também relataram grande efeito genótipo-ambiente em relação à giberela em trigo, usando como um dos parâmetros o percentual de sementes “gibereladas”.

Diferenças significativas foram encontradas para a quantidade de sementes mortas *Fusarium graminearum* (SMF) nas cultivares testadas. A maior quantidade de SMF (15,0%) foi observada na cultivar BRS 220 sendo este valor significativamente superior aqueles observados nas cultivares Sumai 3 (0,5%), GW3 (0,5%), BRS Tarumã (1,5%), Sumai 2 (1,5%) e Trigo Chapéu (6,0%). A menor quantidade de SMF (0,5%) observada nas cultivares Sumai 3 e GW3, foi significativamente inferior aos valores encontrados nas cultivares BRS 220 (15,0%), BRS 192 (12,5%), BRS 208 (12,5%) e BRS Timbaúva (12,0%). As quantidades de SMF (12,5%) presentes nas cultivares BRS 192 e BRS 208 foram significativamente superiores aquelas observadas nas cultivares Sumai 3, BRS Tarumã, Sumai 2 e GW 3 (0,5%, 1,5%, 1,5%, 0,5%, respectivamente). O valor de SMF presente na amostra da cultivar BRS Timbaúva (12,0%) foi significativamente superior aos valores observados nas cultivares Sumai 3, GW3 (ambas com 0,5%). No outro extremo, a cultivar BRS Tarumã apresentou 1,5% de SMF, sendo significativamente inferior aos valores observados nas cultivares BRS 208, BRS 192 e BRS 220 (12,5%, 12,5% e 15,0%, respectivamente) (Tabela 4).

A SMF apresentou correlação significativa e positiva (0,65) em relação à incidência do patógeno, indicando que amostras de sementes com maiores incidência de *F. graminearum* também apresentam maiores quantidades de SMF. A germinação das sementes apresentou correlação negativa (-0,56) em relação a quantidade de SMF, indicando que quanto menor a germinação encontrada, maior era a quantidade de SMF observada nas amostras das cultivares testadas (Tabela 4). Tal resultado permite concluir que, embora não seja possível correlacionar a incidência de *F. graminearum* e a germinação das sementes, é possível correlacionar a variável “quantidade de sementes mortas com presença de *F. graminearum*” e a germinação das sementes, demonstrando que o patógeno realmente interfere no processo de germinação.

Bechtel et al. (1985) sugeriram que, mesmo invadindo grandes porções das sementes, *F. graminearum*, muitas vezes, pode inicialmente não afetar os embriões. Assim, possíveis reduções na germinação das sementes infectadas pelo patógeno provavelmente são atribuídas ao recomeço do crescimento fúngico e a posterior invasão de tecidos embrionários seguidos por inibição, culminando na morte das sementes.

Tabela 4 - Avaliação visual de sementes “gibereladas”, incidência de *F. graminearum*, germinação de sementes e quantidade de sementes mortas com *F. graminearum* em 30 genótipos de trigo

Cultivares	Sementes “gibereladas” (%)	Incidência (%)	Germinação (%)	SMF (%)
BRS 209	13,4	44,0 A	73,0 BCDE	11,5 ABCD
BRS 210	43,2	43,0 A	86,5 ABCD	8,5 ABCD
BRS 220	12,4	43,0 AB	71,5 CDE	15,0 D
BRS 193	20,0	41,0 AB	71,5 CDE	10,0 ABCD
BR 18 Terena	35,5	33,0 BC	79,0 ABCDE	10,5 ABCD
BRS Canela	26,2	26,0 CD	80,5 ABCDE	10,0 ABCD
BRS Guatambu	11,0	28,0 CDE	79,5 ABCDE	8,0 ABCD
BRS 192	9,5	23,0 CDEF	80,5 ABCDE	12,5 CD
BRS 229	12,1	23,0 CDEF	81,0 ABCDE	10,5 ABCD
Sumai 3	9,7	23,0 CDEF	91,0 ABCDE	0,5 A
PF 87451	24,8	20,0 CDEFG	68,5 DE	8,5 ABCD
BRS 208	21,3	19,0 CDEFG	68,5 DE	12,5 CD
Trigo Chapéu	7,9	18,0 DEFG	65,5 E	6,0 ABC
BRS Timbaúva	12,7	18,0 DEFG	79,5 ABCDE	12,0 BCD
CEP 24	18,3	18,0 DEFG	81,0 ABCDE	8,0 ABCD
Shanghai 3	56,9	18,0 DEFG	91,5 AB	2,0 ABCD
Trigo BR 32	13,7	18,0 DEFG	81,0 ABCDE	9,0 ABCD
IPF 70872	39,9	17,0 DEFG	82,5 ABCDE	2,5 ABCD
Frontana	30,8	17,0 DEFG	78,0 ABCDE	7,5 ABCD
BRS Figueira	21,7	16,0 DEFGH	75,5 ABCDE	6,5 ABCD
BRS 179	17,9	15,0 DEFGH	90,5 ABC	4,0 ABCD
Toropi	39,5	14,0 DEFGH	79,5 ABCDE	3,5 ABCD
Trigo BR 23	42,8	14,0 DEFGH	74,5 ABCDE	6,5 ABCD
BRS Umbu	26,4	12,0 DEFGH	74,0 ABCDE	4,5 ABCD
BRS Tarumã	11,3	11,0 EFGH	77,0 ABCDE	1,5 AB
GW 5	10,6	10,0 FGH	85,0 ABCDE	7,5 ABCD
Fuging 5114	30,0	10,0 FGH	86,0 ABCD	4,0 ABCD
BRS Louro	16,8	6,0 GH	84,0 ABCDE	4,5 ABCD
Sumai 2	15,6	6,0 GH	87,5 ABCD	1,5 AB
GW3	9,2	2,0 H	93,0 A	0,5 A
F cv.; incid.; SMF		18,8**	3,9**	4,2**
C.V. (%)		26,2	9,0	27,6
r	0,05 n.s.		-0,34 n.s.	(2) 0,65**, (3) -0,56**

SMF: sementes mortas com presença de *F. graminearum*; F: teste de F (análise de variância); cv.: cultivar; incid.: incidência; C.V.: coeficiente de variação; r: coeficiente de correlação; (2) coeficiente de correlação entre incidência de *F. graminearum* e SMF; (3) coeficiente de correlação entre germinação e SMF; n.s.: não significativo; **: significativo com 99% de confiança; valores acompanhados por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

Procurar relacionar avaliações visuais para detectar a presença de um patógeno na semente com testes de sanidade de sementes pode trazer grandes benefícios quando um resultado é corroborado pelo outro. Contudo, para que haja tal correspondência, é necessário que o avaliador seja bem treinado, apresentando precisão e acurácia visual para que não ocorra tanto a superestimação quanto à subestimação dos valores. A análise visual de uma determinada doença presente na semente, geralmente, não pode substituir o consagrado teste de sanidade de sementes, visto que o patógeno pode estar associado às sementes e estas não apresentarem sintomas nem

sinais do patógeno, os quais, somente serão detectados após serem submetidos a especiais para o seu desenvolvimento; porém, tal avaliação visual pode servir como um valioso indicador do grau de infecção de um patógeno presente nas sementes em plantas no campo.

Lima et al. (2002), avaliando sementes de cevada, verificou que *F. graminearum* sofreu efeito do armazenamento, onde o tempo diminuiu significativamente a incidência desse patógeno. Assim, o teste de sanidade de sementes em relação a *F. graminearum*, não deve ser indicado quando se quer determinar o número de sementes que foram afetadas pelo patógeno, exceto em sementes recém colhidas.

A presença de *F. graminearum* em sementes de trigo provocou a redução na germinação das sementes, variando de acordo com a cultivar analisada. Outros fatores intrínsecos à semente, como efeitos causados por geada, levam ao espiralamento da plúmula e do coleóptilo da semente durante a formação do embrião, a ausência de estruturas ou a sua má formação afetando diretamente a porcentagem de sementes germinadas. É necessário salientar que o efeito na germinação é representado pelas sementes mortas com *F. graminearum*, assim como a presença do fungo em plântulas anormais - neste último caso, a simples presença do fungo pode contribuir para a ausência ou má formação das estruturas da semente, como coleóptilo, raízes seminais e demais estruturas.

Em relação a redução da germinação na maioria dos genótipos com alta porcentagem de sementes mortas com *F. graminearum*, observou-se que a germinação das sementes nem sempre foi afetada pela presença do patógeno, visto que, em muitos casos, ele estava presente e não afetou a germinação. Portanto, quatro situações foram observadas na germinação das sementes com a presença de *F. graminearum*: (i) não germinação; (ii) produção de plântulas normais, com sintomas ou não; (iii) produção de plântulas anormais; e (iv) sementes mortas com o patógeno.

Uma generalidade observada foi a alta porcentagem de germinação obtida naqueles genótipos que apresentaram as menores incidências de *F. graminearum*. Embora não tenha havido correlação significativa entre a germinação das sementes e a incidência do patógeno, a possibilidade de nessas cultivares existe maior resistência ao patógeno, não pode ser descartada.

2.3.3 Efeito causado por *Fusarium graminearum* na emergência de plântulas de trigo e transmissão do patógeno da semente para a plântula

Os resultados apresentados na Tabela 5 mostraram que a porcentagem de emergência de plântulas, avaliada aos sete, 14 e 21 dias após a semeadura (DAS) variou de 60,0% a 97,5%. Contudo, não houve diferenças significativas entre os genótipos, indicando que *F. graminearum* não afeta a emergência de plântulas. Um resultado semelhante foi encontrado por Vechiato (1996), para o patossistema *Colletotrichum lindemuthianum* e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), no qual a autora constatou que este patógeno não tem efeito sobre a emergência de plântulas de feijão.

Detectou-se a presença de *F. graminearum* nas raízes primárias (possibilidade de causar podridão radicular e podridão da coroa), no colo e na haste das plântulas de trigo (possibilidade de causar podridão do colo e da haste). A presença do patógeno variou entre 0,0% e 2,0% no colo das plântulas e 0,0% e 2,5% tanto nas hastes quanto nas raízes primárias das plântulas, contudo, não houve diferenças significativas entre os genótipos, para nenhuma das estruturas onde detectou-se o patógeno (Tabela 5). Mesmo assim, fica evidente que *F. graminearum* é transmitido para diferentes partes da plântula de trigo a partir de sementes naturalmente infectadas pelo patógeno. Resultados semelhantes foram encontrados por Teles Neto (2004) para o mesmo e patossistema (*F. graminearum* e trigo) e por Sartori et al. (2004) para o patossistema *F. moniliforme* e milho (*Zea mays* L.).

Os altos valores de emergência obtidos, mesmo com a presença de sementes infectadas, alertam para os cuidados que devem ser tomados quando utilizam-se estas sementes, uma vez que, mesmo com baixos níveis de incidência do patógeno, quando semeadas no campo, servem de fonte de inóculo primário, possibilitando a disseminação do patógeno que, neste caso é importante para a podridão de raízes. Sementes infectadas podem ser importantes em epidemias de giberela caso não exista inóculo no campo (ou se for baixo), como por exemplo, restos de cultura e hospedeiros alternativos. Através da semente, o fungo se estabelece na plântula. É possível que este permaneça colonizando outras estruturas (folhas velhas (senescentes), hastes, etc.) até o estágio reprodutivo da planta (emissão das espigas) quando pode infectar a inflorescência no estágio da antese. Menten (1991) afirma que, quanto mais cedo aparecer a doença no campo, maior será a probabilidade da epidemia atingir níveis suficientemente altos, em fases críticas da cultura, para causar danos.

Vale lembrar que, em áreas com rotação de culturas bem executadas, o inóculo presente no local irá diminuir ou mesmo desaparecer. A utilização de sementes portadoras de *F. graminearum* permitem a re-introdução do inóculo nestas áreas – o fungo irá se estabelecer na haste, além de colonizar folhas senescentes, de modo saprofítico, culminando no aumento da população desse patógeno, justamente no período de maior suscetibilidade da planta – durante a formação das espiguetas. Indo mais além, não se pode excluir a possibilidade do fungo ser capaz de colonizar de maneira sistêmica a planta, podendo dificultar ainda mais o seu controle.. Portanto o uso de sementes livres de *F. graminearum* ou adequadamente tratadas, contribuem para o manejo da doença (BERGSTROM, 1993).

De acordo com a Tabela 6, houve uma grande variação nas taxas calculadas de transmissão, da semente para plântula, de *F. graminearum* (colo, haste, raiz e total) nos genótipos avaliados. As cultivares BRS 192, BR 32, trigo Chapéu, Frontana, Toropi e GW 3 apresentaram a menor taxa de transmissão do patógeno para os colos das plântulas, enquanto que a cultivar BRS Louro apresentou a maior taxa de transmissão (25,0%) para a mesma região. Nas hastes das plântulas verificou-se a menor transmissão (0%) do patógeno nas cultivares BRS 193, BRS 208, BR 32, Trigo Chapéu, BRS Figueira, BRS 179 e GW 3 e a maior (25,0%) na cultivar BRS Louro. A transmissão do patógeno das sementes para as raízes primárias das plântulas, teve a menor taxa (0%) com as cultivares BRS 192, Shanghai 3, BR 32, Trigo chapéu, BRS Tarumã e GW3 enquanto que a maior taxa (20,0%) foi encontrada nas cultivares Fuging 5114 e GW 5. Por fim, em relação à taxa total de transmissão, as cultivares GW3, Chapéu e BR 32 apresentaram a menor taxa (0%), enquanto que a maior taxa (58,3%) foi observada na cultivar BRS Louro.

Tabela 5 - Emergência de plântulas (%) e *F. graminearum* (%) encontrados em diferentes estruturas de plântulas de trigo provenientes de 30 genótipos

Genótipo	Emergência (%)			<i>Fusarium graminearum</i> (%)		
	7 DAS	14 DAS	21 DAS	Colo	Haste	Raiz primária
BRS 209	83,5 A	83,5 A	84,5 A	2,0 A	1,0 A	1,0 A
BRS 220	90,0 A	90,0 A	90,0 A	1,5 A	1,5 A	2,5 A
BRS 210	66,0 A	70,0 A	70,0 A	1,5 A	2,5 A	0,5 A
BRS 193	83,0 A	83,0 A	83,0 A	2,0 A	0,0 A	1,5 A
BR 18 Terena	60,0 A	60,0 A	60,0 A	1,5 A	2,0 A	0,5 A
BRS Guatambú	73,0 A	74,0 A	73,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A
BRS Canela	72,5 A	74,5 A	74,5 A	1,5 A	1,0 A	1,0 A
Sumai 3	81,0 A	81, A	84,0 A	3,0 A	2,0 A	2,5 A
BRS 229	84,0 A	85,5 A	85,5 A	2,0 A	1,5 A	1,0 A
BRS 192	86,0 A	86,5 A	86,5 A	0,0 A	0,5 A	0,0 A
PF 87451	81,5 A	81,5 A	83,5 A	1,0 A	0,5 A	0,5 A
BRS 208	76,0 A	76,0 A	76,5 A	0,5 A	0,0 A	0,5 A
BRS Timbaúva	92,0 A	92,0 A	93,5 A	0,5 A	0,5 A	0,5 A
CEP 24	90,5 A	90,5 A	90,5 A	0,5 A	1,0 A	0,5 A
Shanghai 3	80,0 A	80,0 A	80,0 A	0,5 A	0,5 A	0,0 A
BR 32	76,0 A	76,5 A	77,5 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Trigo Chapéu	87,5 A	87,5 A	87,5 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
IPF 70872	89,0 A	89,0 A	89,0 A	2,0 A	1,0 A	1,0 A
Frontana	89,0 A	89,0 A	89,0 A	0,0 A	0,5 A	0,5 A
BRS Figueira	90,5 A	92,5 A	92,5 A	1,0 A	0,0 A	0,5 A
BRS 179	94,0 A	94,0 A	94,0 A	0,5 A	0,0 A	0,5 A
Toropi	73,5 A	73,5 A	73,5 A	0,0 A	1,5 A	0,5 A
Trigo BR 23	93,0 A	93,0 A	95,5 A	0,5 A	0,5 A	1,5 A
BRS Umbú	85,5 A	86,0 A	88,5 A	1,5 A	2,0 A	0,5 A
BRS Tarumã	94,0 A	95,5 A	95,5 A	0,5 A	0,5 A	0,0 A
Fuging 5114	86,5 A	86,5 A	88,0 A	1,0 A	1,0 A	2,0 A
GW5	75,5 A	77,0 A	79,5 A	1,0 A	1,5 A	2,0 A
BRS Louro	87,5 A	87,5 A	87,5 A	1,5 A	1,5 A	0,5 A
Sumai 2	89,0 A	89,0 A	89,0 A	0,5 A	1,0 A	0,5 A
GW3	97,0 A	97,5 A	97,5 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
F	0,9 n.s.	0,9 n.s.	1,1 n.s.	1,0 n.s.	1,0 n.s.	0,9 n.s.
C.V. (%)	21,4	20,6	19,4	35,9	34,0	35,1

DAS: dias após a semeadura; C.V.: coeficiente de variação; n.s.: não significativo; valores acompanhados de letras maiúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

Cultivares BRS Figueira, BRS 193, BRS 210 e BR 18 Terena, consideradas suscetíveis a giberela, apresentaram 9,4%, 8,6%, 9,0% e 11,4% de transmissão total de *F. graminearum*, respectivamente, das sementes para as plântulas. Essas cultivares, com exceção da cultivar BRS Figueira, apresentaram elevadas incidências do patógeno (16,0%, 41,0%, 43,0% e 33,0%, respectivamente), reforçando a teoria que o transporte do fungo pelas sementes, não assegura, necessariamente a sua transmissão à progênie (Tabela 6).

Outros casos interessantes são os das cultivares BRS 209, BRS 220, CEP 24, BRS 208 e BRS 229, consideradas moderadamente suscetíveis ao agente causal da giberela. Tais cultivares

apresentaram transmissão total de 9,1%, 12,8%, 10,5%, 5,0% e 19,6% (respectivamente) e 46,0%, 43,0%, 18,0%, 19,0% e 23%, respectivamente, de incidência de *F. graminearum*. A cultivar Umbu, considerada moderadamente resistente, apresentou 33,4% de transmissão total e 12% de incidência de *F. graminearum*. Por outro lado, cultivares como a BRS 179, Frontana, BRS Timbaúva e BRS Louro, as quais possuem resistência do tipo II e Frontana que possui resistência tipo I contra a giberela (LIMA, 2004), apresentaram transmissão de 5,8%, 5,9%, 8,4% e 58,3% (respectivamente) e 15,0%, 17,0%, 18,0% e 6,0% (respectivamente) de incidência de *F. graminearum*. No caso isolado da cultivar BRS Louro, esta apresentou elevada taxa de transmissão total (58,3%) do patógeno mas reduzida incidência (6,0%) do mesmo. Estes resultados indicam que existe um comportamento bastante distinto em relação à presença de *F. graminearum*, bem como à sua transmissão da semente para diferentes regiões das plântulas, de acordo com o genótipo cultivar utilizada (Tabela 6).

As variações encontradas nas taxas de transmissão eram esperadas, uma vez que a resistência varietal é um dos fatores capazes de influenciar a transmissão de um dado patógeno, da semente para a plântula (BARBA et al., 2002). Contudo, observaram-se correlações significativas apenas entre a incidência do patógeno (obtida no item 2.3.2) e taxa de transmissão do mesmo das sementes para as hastes (-0,37) e entre a incidência e a taxa total de transmissão (-0,33).

Tabela 6 - Taxa de transmissão de *F. graminearum* em diferentes órgãos de plântulas de trigo em 30 genótipos

Genótipo	<i>Fusarium graminearum</i> (%)				Incidência ⁽¹⁾
	Taxa de transmissão			Total	
	Colo	Haste	Raiz primária		
BRS 209	4,5	2,3	2,3	9,1	44,0
BRS 220	3,5	3,5	5,8	12,8	43,0
BRS 210	3,0	5,0	1,0	9,0	43,0
BRS 193	4,9	0,0	3,7	8,6	41,0
BR 18 Terena	4,3	5,7	1,4	11,4	33,0
BRS Guatambú	3,6	3,6	3,6	10,8	28,0
BRS Canela	5,8	3,8	3,8	13,4	26,0
Sumai 3	13,0	8,7	10,9	32,6	23,0
BRS 229	8,7	6,5	4,3	19,5	23,0
BRS 192	0,0	2,2	0,0	2,2	23,0
PF 87451	5,0	2,5	2,5	10,0	20,0
BRS 208	2,5	0,0	2,5	5,0	19,0
BRS Timbaúva	2,8	2,8	2,8	8,4	18,0
CEP 24	2,6	5,3	2,6	10,5	18,0
Shanghai 3	2,8	2,8	0,0	5,6	18,0
BR 32	0,0	0,0	0,0	0,0	18,0
Trigo Chapéu	0,0	0,0	0,0	0,0	18,0
IPF 70872	11,8	5,9	5,9	23,6	17,0
Frontana	0,0	2,9	2,9	5,8	17,0
BRS Figueira	6,3	0,0	3,1	9,4	16,0
BRS 179	2,9	0,0	2,9	5,8	15,0
Toropi	0,0	10,7	3,6	14,3	14,0
Trigo BR 23	1,7	1,7	5,0	8,4	14,0
BRS Umbú	12,5	16,7	4,2	33,4	12,0
BRS Tarumã	4,5	4,5	0,0	9,0	11,0
Fuging 5114	10,0	10,0	20,0	40,0	10,0
GW5	10,0	15,0	20,0	45,0	10,0
BRS Louro	25,0	25,0	8,3	58,3	6,0
Sumai 2	8,3	16,7	8,3	33,3	6,0
GW3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0
R órgão: total) x incidência	-0.22 n.s.	-0.37*	-0.25 n.s.	-0.33*	

C.V.: coeficiente de variação; r: coeficiente de correlação; *: significativo com 90% de confiança pelo teste de t; n.s.: não significativo; ⁽¹⁾: valores obtidos do item 2.3.2

2.3.4 Avaliação do efeito da interação entre locais, cultivares, doses de nitrogênio e aplicação de fungicidas na incidência de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo

Os resultados obtidos no experimento de Itararé, safra 2003, expressos na Tabela 7, mostram que nos tratamentos que receberam a aplicação da mistura de fungicidas (triciclazole + tebuconazol) apresentaram menores valores de incidência de *F. graminearum* nas sementes, quando comparados com os tratamentos que não receberam a aplicação da mistura. Em relação ao efeito das diferentes doses de nitrogênio (0, 30, 60, 90 e 120 kg/ha⁻¹) na incidência de *F.*

graminearum nas sementes, bem como para as cultivares testadas, não houve diferenças significativas entre os tratamentos analisados.

Tabela 7 - Incidência de *F. graminearum* em sementes provenientes de diferentes cultivares de trigo, colhidas no município de Itararé - SP, safra 2003, com e sem tratamento fungicida da parte aérea e adubadas com quatro doses de nitrogênio

Cultivar	Nível de N (Kg. ha ⁻¹)	Incidência (%) de <i>F. graminearum</i>	
		S.F.	C.F.
IAC – 24	0	4,5 A	1,5 B
IAC – 24	30	7,3 A	1,3 B
IAC – 24	60	5,8 A	2,3 B
IAC – 24	90	6,3 A	0,8 B
IAC – 24	120	9,3 A	1,0 B
Média (IAC – 24)		6,6 Aa	1,4 Bb
IAC – 350	0	6,8 A	1,8 B
IAC – 350	30	5,3 A	2,3 B
IAC – 350	60	5,8 A	3,3 B
IAC – 350	90	7,0 A	0,5 B
IAC – 350	120	6,3 A	1,8 B
Média (IAC – 350)		6,2 A	1,9 Bb
Média (IAC – 24 + IAC – 350)		6,4 a	1,7 b
F (cv.) = 0,17 n.s.		F (N) = 0,24 n.s.	F (S.F./C.F.) = 51,2**
C.V. = 68,5%		C.V. = 63,5%	C.V. = 51,0%

F: teste de F (análise de variância); cv.: cultivar; C.V.: coeficiente de variação; ** significativo com 99% de confiança; n.s.: não significativo; N: doses de nitrogênio (NH₃) em kg.ha⁻¹; S.F.: sem aplicação de mistura de fungicida; C.F.: com aplicação de mistura de fungicida; letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

No experimento realizado no município de Itararé, no ano de 2004, diferenças significativas foram encontradas apenas para a aplicação ou não da mistura de fungicidas (triciclazole + tebuconazol) e para doses de nitrogênio (0, 60, 120 e 180 kg/ha⁻¹); entretanto, a interação entre esses fatores não foi significativa. Em relação a aplicação ou não da mistura de fungicidas, os tratamentos que receberam a aplicação da mistura apresentaram incidência de *F. graminearum* menores do que aqueles observados nos tratamentos que não receberam a aplicação dos fungicidas (Tabela 8). Quanto ao efeito das doses de nitrogênio, tratamentos que receberam a menor dose (0 kg/ha⁻¹) apresentaram os menores valores de incidência de *F. graminearum*. É possível que o efeito positivo do nitrogênio seja observado somente quando este é aplicado em conjunto com outros nutrientes, como por exemplo, o fósforo e o zinco. Nessa situação, Cavalcante et al. (1982) constataram um acréscimo na germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) devido ao efeito positivo de ambos os nutrientes, os quais são aumentados com a adição

de nitrogênio. Seguindo este pensamento, é provável que uma semente “bem nutrida” deva também apresentar maior resistência ao ataque de patógenos.

O município de Itararé, para o ano de 2004, apresentou, levando em consideração cultivares, doses de nitrogênio e aplicação ou não da mistura de fungicidas, incidências menores do que aquelas observadas no experimento realizado no ano anterior no mesmo município (Tabela 7). Este resultado indica que a incidência de *F. graminearum*, provavelmente, foi influenciada pela variação, no período de 2003 a 2004, na quantidade de inóculo presente no solo, em restos culturais e também pelas condições climáticas (temperatura, precipitação e umidade relativa do ar).

No experimento realizado no município de Manduri, durante a safra de 2004, a aplicação da mistura de fungicidas (ou ausência), as doses de nitrogênio, bem como a interação entre a mistura de fungicidas e doses de nitrogênio influenciaram significativamente a incidência de *F. graminearum*. Os tratamentos que não receberam a mistura de fungicidas (tricilazole + tebuconazol) e receberam a maior dose de nitrogênio (180 kg.ha^{-1}) apresentaram as maiores incidências de *F. graminearum* (0,3% para IAC – 24 e 2,8% para IAC – 370). De modo geral, menores doses de nitrogênio apresentaram menores incidências do patógeno (Tabela 8). Este resultado é semelhante àqueles obtidos com a cultivar IAC – 24 nos dois experimentos realizados no município de Itararé, em 2003 e 2004 (Tabelas 7 e 8).

A aplicação da mistura de fungicidas (triclazole + tebuconazol) influenciou a incidência de *Fusarium graminearum* em todos os experimentos realizados (Itararé 2003/2004 e Manduri 2004) (Tabelas 7 e 8). De modo geral, com a aplicação de fungicida, a incidência de *F. graminearum* foi reduzida. Este resultado era esperado, uma vez que o uso de tebuconazole é indicado para o controle de *F. graminearum* em trigo.

Quanto às doses de nitrogênio avaliadas, estas não influenciaram a incidência de *F. graminearum* no experimento de Itararé/2003 (Tabela 7), contudo, ambos os experimentos realizados em 2004 (Itararé e Manduri) (Tabela 8) apresentaram incidências do patógeno que foram influenciadas pelo acréscimo de nitrogênio. Neste caso, maiores incidências foram observadas com o aumento das doses desse nutriente. Este resultado é corroborado por Heier et al. (2005), que também observaram um acréscimo significativo na incidência de *F. graminearum* com a utilização da adubação nitrogenada em plantas de trigo.

Lemmens et al. (2004) estudaram o efeito da fertilização nitrogenada no desenvolvimento da fusariose em plantas de trigo, testando cinco diferentes tipos de fontes de nitrogênio (orgânico e mineral), com doses que variaram de 0 a 160 kg.ha⁻¹ e também verificaram aumentos significantes na intensidade da doença com o aumento das doses de nitrogênio, não importando a fonte de nitrogênio utilizada.

O emprego de cultivares diferentes, em todos os experimentos (Tabelas 7 e 8), não surtiram efeito na incidência de *F. graminearum* encontrado nas sementes colhidas. Além disso, ao separar os tratamentos em grupos distintos quanto às cultivares empregadas, não foi encontrada correlação entre as incidências de *F. graminearum* e valores de produção de grãos, produção de palha e altura de plantas.

No experimento realizado em Manduri/2004 (Tabela 8), onde houve interação entre o nitrogênio e a aplicação (ou ausência de fungicida), é possível que tal interação tenha ocorrido somente nesse experimento devido as condições nutricionais e físicas do solo, ou mesmo devido a diferença, em relação ao município de Itararé, das condições climáticas durante o período de cultivo.

Quanto ao município de Itararé, a diferença observada na incidência de *F. graminearum* nos experimentos realizados em 2003 e 2004 (Tabelas 7 e 8) pode estar associada com a ausência ou presença do efeito das doses de nitrogênio. É possível que maiores incidências do patógeno, como observado no experimento de 2003, não sejam influenciadas pelo estado nutricional das plantas. Contudo, uma menor pressão do patógeno sobre as plantas, evidenciada pela baixa incidência (como observado no experimento de 2004) talvez permita que haja efeito significativo da adubação nitrogenada sobre a quantidade de doença.

As diferenças encontradas em 2003 (Itararé) e 2004 (Itararé e Manduri) na quantidade de doença (Tabelas 7 e 8), medida através da incidência de *F. graminearum*, permite elaborar algumas hipóteses: (i) diferenças no estado nutricional do solo, bem como na quantidade de inóculo do patógeno e diferenças nas condições climáticas entre 2003 e 2004 podem ter afetado a quantidade de doença de um ano para o outro no município de Itararé; (ii) a área onde foi instalado o experimento de Itararé pode apresentar maior quantidade de inóculo do patógeno, em relação a área do experimento de Manduri; e (iii) as condições climáticas de Manduri são menos propensas ao desenvolvimento do patógeno.

Tabela 8 - Efeito de cultivares, doses de nitrogênio (N) e a aplicação de fungicidas na incidência de *F. graminearum* em sementes de trigo colhidas nos municípios de Itararé - SP e Manduri - SP, no ano de 2004

Cultivar	N ^(1,2)	Incidência (%) de <i>F. graminearum</i>			
		Itararé ⁽¹⁾		Manduri ⁽²⁾	
		S.F.	C.F.	S.F.	C.F.
IAC – 24	0	2,5 A	0,3 B	0,5 A	0,0 B
IAC – 24	60	4,8 A	1,5 B	1,5 A	0,0 B
IAC – 24	120	4,5 A	1,5 B	0,8 A	0,0 B
IAC – 24	180	4,8 A	1,3 B	0,3 A	0,5 B
Média (IAC – 24)		4,1 Aa	1,1 Bb	0,7 Aa	0,1 Bb
IAC – 370	0	1,5 A	0,0 B	1,3 A	0,0 B
IAC – 370	60	2,6 A	0,0 B	0,5 A	0,3 B
IAC – 370	120	2,3 A	0,3 B	1,3 A	0,0 B
IAC – 370	180	2,5 A	0,5 B	2,8 A	0,5 B
Média (IAC – 370)		2,2 Aa	0,2 Bb	1,4 Aa	0,2 Bb
Média (IAC – 24 + IAC – 370)		3,2 Aa	0,7 Bb	1,1 Aa	0,1 Bb
F – cultivares		1,9 n.s.		0,4 n.s.	
F – N		5,7**		3,7*	
F – S.F./C.F.		28,3**		25,0*	
F – S.F./C.F. x N		0,6 n.s.		9,4**	
F – S.F./C.F. x cv.		0,4 n.s.		0,2 n.s.	
F – N x cv.		0,7 n.s.		1,1 n.s.	
F – S.F./C.F. x N x cv.		0,1 n.s.		1,1 n.s.	
C.V. (cv.)		94,4%		181,1%	
C.V. (N)		77,5%		121,1%	
C.V. (S.F./C.F.)		98,6%		90,0%	

⁽¹⁾: Itararé/SP; ⁽²⁾: Manduri/SP; teste de F (análise de variância); cv.: cultivar; C.V.: coeficiente de variação (%); ** significativo com 99% de confiança; * significativo com 95% de confiança n.s.: não significativo; N: doses de nitrogênio (NH₃) em kg.ha⁻¹; S.F.: sem aplicação de mistura de fungicida; C.F.: com aplicação de mistura de fungicida; letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferentes indicam diferença entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

2.3.5 Efeito do tratamento químico de sementes de trigo no controle de *Fusarium graminearum*

Os resultados do teste de sanidade das sementes da cultivar BR 18 Terena, realizado em laboratório, encontram-se na Tabela 9. Observaram-se reduções significativas na incidência de *Fusarium graminearum*, nos tratamentos com triflumizole, triadimenol, triticonazole, thiabendazole e tiofanato metílico em relação ao tratamento testemunha. Entre os fungicidas avaliados, thiabendazole e tiofanato metílico foram significativamente superiores em eficiência quando comparados com triflumizole e triadimenol. Os fungicidas tebuconazole, captana, difenoconazole, tolyfluanida e fludioxonil comportaram-se de maneira semelhantes à testemunha. Resultados semelhantes no controle desse patógeno foram observados por Moraes et al. (1997) ao utilizarem triadimenol (eficiente no controle) e fludioxonil (ineficiente), nas doses de 40 e 5 g

i.a./100 kg de sementes, respectivamente. O difeconazole (200 ml produto comercial / 100 kg de semente), que não apresentou efeito significativo na incidência de *F. graminearum*, quando associado com o bioprotetor *Paenibacillus macerans*, reduziu significativamente patógenos presentes nas sementes como *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* e *Aspergillus* spp. (LUZ, 2003).

A tolyfluanida, que não apresentou diferença significativa em relação à testemunha (Tabela 9), quando utilizada na mesma concentração em que foi empregada neste experimento, também não apresentou bom resultado no controle de *Fusarium* sp. presente em sementes de soja (PIMENTA et al., 1998).

Em relação ao tebuconazole, Homdork et al. (2000) aplicaram este produto em plantas de trigo antes de inocularem as mesmas com *Fusarium culmorum*, outro causador da giberela, e observaram reduções na incidência do patógeno. Embora *F. graminearum* e *F. culmorum* sejam espécies diferentes, era esperado que o tebuconazole também controlasse a incidência de *F. graminearum* nas sementes.

O fungicida captana, indicado na literatura para o controle de *F. graminearum* em sementes de trigo, não apresentou eficiência no controle do fungo. Embora a incidência do patógeno tenha sido reduzida, a mesma não diferiu estatisticamente da testemunha. O thiabendazole, molécula cujo uso é indicado para o controle do patógeno em sementes de trigo, apresentou, como era de se esperar, controle extremamente eficiente do patógeno, promovendo a reduções de 96,6% na sua incidência, quando comparado com a testemunha (Tabela 9). Dihel e Reis (1983) também encontraram controles satisfatórios utilizando thiabendazole em mistura com Fenapronil H 719 + imazalil e com CGA 64251 + imazalil quando estes eram aplicados na sementes.

Além de *F. graminearum* também foram detectados, no teste de sanidade, os seguintes fungos: *Fusarium* sp., *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp., *Bipolaris sorokiniana*, *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Curvularia* sp. e *Penicillium* sp. O fungo *A. alternata* apresentou uma variação em sua incidência de 3,5% a 43,0% de acordo com o tratamento empregado, sendo que a menor incidência foi observada quando as sementes foram tratadas com o fungicida triflumizole (3,5%), diferindo significativamente da testemunha (24%) e dos tratamentos com tiofanato metílico (37,0%) e thiabendazole (43,0%). Em relação à incidência de *Cladosporium* sp., a qual variou de 4,0% a 15,4%, embora não tenha havido diferenças significativas entre os tratamentos

com fungicidas e a testemunha (9,5%), foi possível verificar diferença significativa entre a maior incidência do fungo observada em sementes tratadas com triflumizole (15,4%) e sementes tratadas com captana (4,0%), tolyfluanida (4,7%), difeconazole (5,5%) e fludioxonil (6,5%) (Tabela 9).

Resultados interessantes foram encontrados para os fungicidas tiofanato metílico, triticonazole, triadimenol e triflumizole. Embora o uso dessas moléculas não seja indicado para o controle de *F. graminearum* em sementes de trigo, as mesmas apresentaram eficiência de 100%, 76,4%, 61,8% e 60,7%, respectivamente, em relação a incidência do patógeno encontrada em sementes não tratadas (Tabela 9). Tais resultados indicam a eficiência dessas moléculas na inibição ou mesmo ação fungistática das moléculas sobre o desenvolvimento do fungo. Barreto et al. (2003) estudaram o efeito de fungicidas sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* e verificaram que o fungicida tiofanato metílico promoveu a inibição do crescimento micelial deste patógeno em meio de cultura. Tal resultado ajuda a corroborar a eficiência dessa molécula no controle de *F. graminearum*.

Os resultados obtidos nos tratamentos com thiabendazole e tiofanato metílico, os quais indicam o controle da fusariose nas sementes são corroborados por aqueles resultados obtidos por Teles Neto (2004) que também verificou o controle do patógeno em sementes de trigo utilizando as moléculas acima citadas (50g i.a./100 kg sementes) em mistura com 50 g i.a. de iprodiona/100kg de sementes. O thiabendazole também promoveu ótimo controle de *Fusarium oxysporum* presente em sementes de alfafa, quando essas foram infectadas artificialmente, reduzindo a infecção desse fungo nas sementes de 50,5% para 0% (MENDES et al., 1998).

A germinação das sementes dos diferentes tratamentos variou de 75,0% a 85,5%. Foi observada uma variação de 0,5% a 6,0% de plântulas anormais e uma variação de 12,5% a 21,5% de sementes mortas nos diferentes tratamentos analisados. Contudo não houve diferenças significativas entre os tratamentos com fungicidas e a testemunha, indicando que não houve influência de nenhum dos produtos comparados na germinação das sementes (Tabela 10). Resultado semelhante, para o caso específico do fungicida triticonazole, foi observado por Picinini e Fernandes (2002) que, ao avaliarem o efeito do tratamento de sementes com determinados fungicidas no controle de doenças de parte aérea da cultura do trigo, também não constataram efeito dessa molécula na germinação das sementes analisadas.

Tabela 9 - Incidência (%) de fungos encontrados em sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com fungicidas

Tratamento	Incidência (%)								
	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Epicoccum</i> sp.
Testemunha	44,5 A	2,0 A	24,0 ABC	0,5 A	1,5 A	0,0 A	1,0 A	9,5 AB	13,3 A
Tebuconazole	32,0 AB	0,5 A	14,5 BCD	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,5 A	6,9 AB	9,0 A
Captana	30,5 AB	3,0 A	15,0 BCD	0,0 A	0,0 A	0,5 A	0,0 A	4,0 B	8,2 A
Difeconazole	29,0 AB	3,0 A	6,5 CD	0,5 A	0,0 A	0,0 A	0,5 A	5,5 B	8,0 A
Tolyfluanida	20,5 AB	2,0 A	12,0 CD	0,5 A	1,0 A	0,0 A	0,0 A	4,7 B	8,2 A
Fludioxonil	18,0 AB	1,5 A	24,5 ABC	1,5 A	1,5 A	0,5 A	0,0 A	6,5 B	9,3 A
Triflumizole	17,5 B	0,5 A	3,5 D	0,0 A	0,5 A	0,0 A	0,0 A	15,4 A	8,5 A
Triadimenol	17,0 B	1,5 A	9,0 CD	0,0 A	0,0 A	0,5 A	0,0 A	7,7 AB	12,8 A
Triticonazole	10,5 BC	0,0 A	12,5 BCD	0,5 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	8,2 AB	9,4 A
Thiabendazole	1,5 C	0,0 A	43,0 A	1,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	10,7 AB	9,7 A
Tiofanato metílico	0,0 C	0,0 A	37,0 AB	0,0 A	0,0 A	1,0 A	0,0 A	10,4 AB	7,2 A
F	11,2**	1,5 n.s.	7,0**	1,1 n.s.	1,0 n.s.	0,7 n.s.	1,5 n.s.	3,2**	0,9 n.s.
C.V. (%)	25,1	40,5	26,9	27,4	33,6	24,8	18,9	44,2	41,9

C.V: coeficiente de variação; **: significativo pelo teste de F com 99% de confiança; n.s.: não significativo; valores acompanhados de letras diferentes, nas colunas, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

Tabela 10 - Teste de germinação (porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas) de sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com diferentes fungicidas

Tratamento	Germinação (%)		
	Plântulas normais	Plântulas anormais	Sementes mortas
Difeconazole	85,5 A	0,5	14,0
Testemunha	85,0 A	2,5	12,5
Fludioxonil	84,0 A	2,0	14,0
Tiofanato metílico	84,5 A	1,5	14,0
Tolyfluanida	83,5 A	1,5	15,0
Thiabendazole	81,5 A	2,0	16,5
Tebuconazole	80,0 A	2,5	17,0
Triticonazole	79,5 A	2,0	18,5
Triflumizole	76,5 A	4,0	19,5
Captana	75,5 A	3,0	21,5
Triadimenol	75,0 A	6,0	19,0
F	1,4 n.s.		
C.V. (%)	8,2		

n.s.: não significativo pelo teste de F; C.V.: coeficiente de variação; valores acompanhados por letras diferentes, nas colunas, apresentam diferença significativa com 95% de confiança pelo teste de Tukey.

Moraes et al. (1997) também não observaram melhora no desempenho de sementes da cultivar EMBRAPA 40 com o uso de fungicidas como difeconazole (5; 10; 20; 25 e 30 g i.a./100 kg de semente), triadimenol (40 g i.a./100 kg de semente) e fludioxonil (2,5; 3,75 e 5 g i.a./100 kg de semente).

A emergência, avaliada aos 21 dias após a semeadura (DAS), apresentou uma variação de 36,4% a 42,1%; contudo, não houve diferenças significativas entre os tratamentos analisados e a testemunha. Por outro lado, foi possível observar diferenças entre os tratamentos fungicidas. Sementes que receberam tiofanato metílico apresentaram emergência (42,1%) superior aquelas sementes que receberam captana (36,5%) e triadimenol (36,4%) (Tabela 11). Moraes et al. (1997) observaram efeito negativo na emergência de plântulas com o uso de fludioxonil, nas doses 2,5; 3,75 e 5 g i.a./100 kg de sementes. Lasca et al. (1985) verificaram que o triadimenol promoveu o aumento da emergência de plântulas de trigo em condições de campo, contudo sua eficiência não foi das melhores para o controle de *Bipolaris sorokiniana*.

A altura de plântulas, avaliada aos sete, 14 e 21 DAS, apresentou diferenças significativas, em relação à testemunha, apenas aos 14 dias. Nesta avaliação, os tratamentos com captana, triticonazole, tebuconazole e triadimenol apresentaram valores significativamente inferiores em relação à testemunha, interferindo assim no desempenho das plântulas. O pior resultado (17,1 cm) foi observado em sementes tratadas com o fungicida triadimenol (Tabela 11). Para esse fungicida, utilizando uma dosagem muito superior (40 g i.a./100 kg de sementes) a usada neste experimento,

Moraes et al. (1997) também observaram efeito negativo na altura de plântulas. Tais resultados indicam que o triadimenol, possivelmente, apresenta efeito fitotóxico à plântula de trigo nesta fase, sendo que aos 21 DAS este efeito não se manteve.

Tebuconazole, triticonazole e captana apresentaram, respectivamente, 19,3 cm 19,9 cm, e 21,3 cm em relação a altura de plântulas (Tabela 11). O fungicida tebuconazole, quando foi utilizado por Balardin e Facco (2003) para tratar sementes de trigo cultivar BR 23, com o intuito de avaliar a sua eficiência e fitotoxicidade no controle de *Bipolaris sorokiniana*, promoveu as maiores reduções na altura de plântulas.

A Tabela 11 ainda permite observar que o índice de velocidade de emergência (IVE), avaliado aos dois, três, quatro e cinco dias após a semeadura (DAS), variou entre 43,7 e 50,7, contudo não houve diferenças significativas entre os tratamentos, indicando a ausência de efeitos negativos ou positivos. Reis (1987) relata que o uso de triadimenol pode retardar a velocidade de emergência de sementes de trigo. Como apresentado anteriormente, tal fungicida não influenciou significativamente essa variável de vigor.

Tabela 11 - Altura de plântulas, emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) provenientes de sementes de trigo, cultivar BR 18 Terena, tratadas ou não com diferentes fungicidas

Tratamento	Altura de plântulas (cm)			Emergência (%)	Índice de velocidade de emergência (IVE)
	7 DAS	14 DAS	21 DAS	21 DAS	
Testemunha	10,4 A	25,2 A	30,0 AB	78,0 AB	50,1 A
Tolyfluanida	10,5 AB	22,7 ABCD	27,9 AB	79,6 AB	50,8 A
Difeconazole	10,1 AB	23,6 AB	30,7 A	74,8 AB	47,1 A
Fludioxonil	10,0 AB	23,2 ABC	28,8 AB	76,2 AB	48,3 A
Thiabendazole	9,8 AB	23,7 AB	28,8 AB	74,6 AB	45,1 A
Captana	9,8 AB	21,3 BCD	25,5 AB	73,0 B	48,5 A
Triflumizole	9,5 AB	23,0 ABC	30,2 AB	74,4 AB	45,0 A
Triticonazole	8,3 AB	19,9 CDE	25,2 AB	79,2 AB	50,7 A
Tebuconazole	8,0 AB	19,3 DE	25,3 B	78,4 AB	48,4 A
Tiofanato metílico	9,7 AB	23,1 ABC	28,6 AB	84,2 A	46,6 A
Triadimenol	6,1 B	17,1 E	26,0 AB	72,8 B	43,7 A
F	2,9**	10,8**	3,4**	2,9*	0,4 n.s.
C.V. (%)	10,3	3,5	4,2	5,2	14,3

DAS: dias após semeadura; n.s.: não significativo; **: diferença significativa com 99% de confiança pelo teste de F; C.V.: coeficiente de variação; valores acompanhados por letras diferentes, nas colunas, apresentam diferença significativa com 95% de confiança pelo teste de Tukey.

Analisando conjuntamente todas as variáveis (incidência de fungos, altura de plântulas, emergência e o índice de velocidade de emergência), observou-se que os produtos utilizados neste trabalho não afetaram o desempenho das sementes de trigo da cultivar BR 18 Terena. Dessa

forma, na escolha do fungicida a ser empregado no controle da fusariose, deve-se levar em consideração a eficiência do produto em controlar a doença, bem como proporcionar a máxima redução possível de fungos prejudiciais à germinação de sementes, como é o caso do *Bipolaris sorokiniana*.

É indiscutível a validade de se controlar *Fusarium graminearum* através do tratamento químico das sementes. Além de reduzir a quantidade de inóculo que será inserido no campo de produção, o controle de doenças de parte aérea, via tratamento de sementes, é uma nova alternativa, caracterizada pela facilidade de uso e do menor risco de contaminação ambiental, a qual poderá abrir novas perspectivas no controle das doenças em cereais de inverno no Brasil (PICININI; FERNANDES, 2000).

3 CONCLUSÕES

- O método do papel de filtro contendo solutos como manitol (-0,6 MPa e -1,0 MPa) e sacarose (-1,0 MPa) são menos eficientes na detecção de *F. graminearum* quando comparado com o método do plaqueamento de sementes em meio semi-seletivo com 0,02% de 2,4 – D;
- Não existe correlação entre a incidência de *Fusarium graminearum* nas sementes e: (i) a germinação das mesmas; (ii) a percentagem de sementes “gibereladas”;
- Existem correlações negativa entre a quantidade de sementes mortas com presença de *F. graminearum* (SMF) e a germinação e positiva entre a SMF e a incidência do patógeno presente nas amostras, ficando evidente a influência do fungo na germinação das sementes;
- *F. graminearum* não afeta a emergência de plântulas;
- Existe correlação negativa entre a taxa de transmissão total e a incidência do patógeno, possivelmente existindo relação entre a taxa de transmissão do patógeno e o nível de resistência da cultivar;
- É possível que o inóculo da semente tenha participação na epidemia de giberela;
- A aplicação da mistura de fungicidas (tebuconazol + tricyclazole), durante o período de emborrachamento dos grãos, reduziu a incidência de *F. graminearum* nas sementes de trigo analisadas;
- Maiores doses de nitrogênio promovem o aumento da incidência do patógeno;
- As cultivares IAC – 24, IAC – 350 e IAC – 370 não apresentaram diferenças na incidência de *F. graminearum*.
- Triticonazole, thiabendazole e tiofanato metílico promovem reduções significativas de *F. graminearum* em sementes de trigo, quando comparado com o tratamento testemunha, destacando-se em eficiência os fungicidas thiabendazole e tiofanato metílico;
- Os fungicidas analisados não tem efeito na germinação, emergência, velocidade de emergência e altura de plântulas de trigo.

REFERÊNCIAS

ABDEL RAHEEM, A.; BIRD, L. S. Effect of nutrition on resistance and susceptibility of cotton to *Verticillium albo-atrum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 57, n. 5, p. 457, May 1967. Abstract.

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. 2th ed. Boca Raton, Florida: CRC Press. Lewis Publishers, 1997. 324p.

AGRIOS, G. M. **Plant pathology**. 3th ed. London: Academic Press, 1988. 803p.

ALVES, C. A. Restrição hídrica como alternativa ao congelamento no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de soja. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. Resumo 43

ALVES, C. A.; GRAVENA, J. C.; MORAES, M. H. D.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; DEZORDI, C.; MENTEN, J. O. M. Restrição hídrica como alternativa ao congelamento no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de soja. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. Resumo 52.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; BRUNELLI, K. R.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Efeito do congelamento e da restrição hídrica como inibidores da germinação de sementes sobre a detecção de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Gold. em sementes de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Informativo Abrates**, Brasília, v. 13, n. 3, p. 231, set., 2003. Resumo.

BAI, G.; SHANER, G. Scab of wheat: prospects for control. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, n. 6 p. 760-766, Jul. 1994.

BAI, G.; SHANER, G. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 7, p. 975-979, Set. 1996.

BAI, G. H.; XIAO, Q. P.; MEI, J. F. Studies on the inheritance of scab resistance in six wheat varieties. **Acta Agriculturae Shanghai**, Shanghai, v. 5, n. 1, p.17-23, Jan. 1989.

BAKER, K.; SIMTH, S. H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 3, n. 2, p.311-344, Apr. 1976.

BALARDIN, R. S.; FACCO, M. J. Eficiência e fitotoxicidade de fungicidas no controle de *Helminthosporium sativum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum*) cultivar BR 23. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, supl., p. S276, Ago. 2003. Resumo.

BAN, T.; SUENAGA, K. Genetic analysis of resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum* in Chinese wheat cultivar Sumai 3 and the japanese cultivar Saikai 165. **Euphytica**, Dordrecht, v. 113, n.1, p. 87-99, Jan. 2000.

BARBA, J. T. *Bipolaris sorokiniana* (*Cochliobolus sativus*) em sementes de cevada: detecção, transmissão e controle. 2000. 135p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2001.

BARBA, J. T.; REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Efeito da temperatura e de fungicida na transmissão de *Bipolaris sorokiniana* da semente para plântulas de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n. 5, p. 500-507, set./out. 2002.

BARRETO, S. S.; RESENDE, M. L. V.; BOAS, C. V. Efeito de fungicidas sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, supl., p. S305, 2003. Resumo.

BARROS, B. C. O Trigo/Brasil: o papel das doenças na baixa produtividade. **Correio Agrícola**, São Paulo, v. 2, n.6, p. 703-710, June 1996.

BAYMA, C. **Trigo**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola – Ministério da Agricultura. 1960. 362p.

BECHTEL, D. B., KALEIKAU, L. A.; GAINES, R. L.; SEITZ, L. M. The effects of *Fusarium graminearum* infection on wheat kernels. **Cereal Chemistry**, S. Paul, v. 62, n. 2, p. 191-197, Feb. 1985.

BERGSTROM, G. C. Scab (head blight) In: MATHUR, S. B.; CUNFER, B. M. (Ed.). **Seed-borne diseases and seed health testing of wheat**. Copenhagen: Hellerup, 1993. chap. 4, p. 83-93.

BOOTH, C. **The genus Fusarium**. London: The Eastern Press, 1971. 237 p.

BOYACIOGLU, D.; HETTIARACHCHY, N. S.; STACK, R. W. Effect of three systemic fungicides on deoxynivalenol (vomitoxin) production by *Fusarium graminearum* in wheat. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 72, n. 1, p. 93-101, Jan. 1992.

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming improve germination under stress conditions. **Hort Science**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, Oct., 1986.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365p.

BROWNNELL, K. H; SCNEIDER, R. W. Roles of matric and osmotic components of water potential and their interaction with temperature in the growth of *Fusarium oxysporum* in synthetic media and soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, n. 1, p. 53-57, Jan. 1985.

BRUNETTA, D.; DOTTO, S.; BASSOI, M. SCHEEREN, P. L. Cultivar certa. **Cultivar**, São Paulo, v. 6, n. 60, p. 32-34, Jun. 2004.

BURGESS, L. W. General ecology of the fusaria. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUM, T. A.; COOK, R. J. (Ed.). **Fusarium: diseases, biology and taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University Press, 1981. chap. 4, p. 223-235.

CARVALHO, J. C. B. **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1999. 98p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CASA, T. C.; REIS, E. M.; MOREIRA, E. N. Transmissão de fungos em sementes de cereais de inverno e milho: implicações epidemiológicas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. cap.3, p. 55-74.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zeae* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n.3, p. 289-293, maio/jun. 2004.

CAVALCANTE, J. I. V.; SILVEIRA, J. F.; VIEIRA, M. G. Influência do nitrogênio, fósforo, potássio e zinco na germinação de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 4, n. 3, p. 27-33, maio 1982.

CELANO, M. M. **Uso da restrição hídrica em teste de sanidade e em estudos sobre a interação entre fungos e sementes de trigo**. 2003. 91p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

COOK, R. J. *Fusarium* diseases of wheat and other small grains in North America In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK R. J. (Ed.). ***Fusarium: diseases, biology, and taxonomy***. The Pennsylvania State University Press: University Park, 1981. chap. 1, p. 39-52.

COOK, R. J.; PAPENDICK, R. I. Role of potential in microbial growth and development of plant disease, with special reference to postharvest pathology. **Hort Science**, Alexandria, v. 13, n.5, p.559-564, May 1978.

COUTINHO, W. C. **Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade**. 2000. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

COUTINHO, W. C.; MACHADO, J.C. **Restrição hídrica: uma nova metodologia para controlar germinação de sementes em testes de sanidade**. Disponível em <<http://www.patologiadesementes.com.br>> Acesso em: 15 set. 2002.

CROMEY, M. G.; SHORTER, S. C.; GRIFFIN, W. B.; MUNRO, C. A.; LAUREN, D. R. Comparison of components of fusarium head blight in doubled haploid wheat lines. **New Zealand Plant Protection**, Auckland, v. 51, n. 1, p. 108-115, Jan. 2004.

DARDIS, J. V.; WALSH, E. J. Control of *Fusarium* head blight in wheat under growing conditions: current situation and future prospects. **Biology and Enviroments: Proceedings of the Royal Irish Academy**, Dublin, v. 102B, n. 2, p. 93-103, Feb. 2002.

DEL PONTE, E. M. Restrição hídrica em testes de sanidade com sementes de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Resumos...** Curitiba: ABRATES, 2001. Resumo 23.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo - aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 587-606, nov./dez., 2004.

DESJARDINS, A. E. *Gibberella* from A (*venaceae*) to Z (*dae*). **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, n. 2, p. 177-198, Feb. 2003.

DIHEL, J. A.; REIS, E. M. Efeito do tratamento de sementes de trigo com fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 2, p. 363-366, mar./abr. 1983.

FERNANDO, W. G. D.; PAULITZ, T. C.; SEAMAN, W. L.; DUTILLEUL, P.; MILLER, J. D. Head blight gradients caused by *Gibberella zeae* from area sources of inoculum in wheat field plots. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, n. 4, p. 414-421, Apr. 1997.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Agrianual 2005**. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2005, 520p.

FORCELINI, C. A. Importância epidemiológica de fungos do gênero *Helminthosporium* em sementes de trigo e cevada. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991a. cap. 3, p. 179-190.

FORCELINI, C. A. Tratamento de sementes de trigo no Brasil. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991b, cap. 4, p. 247-264.

FRARE, V. C.; MOURA, C. J. F.; TOGNI, D. A. J.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. A importância dos testes de sanidade de sementes para a cultura do feijoeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo. 2002. Resumo 35.

GALVES, G. E. **Establishment of a program in Brazil for producing disease-free seed of beans (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Cali: CIAT, 1976. 20p.

GILBERT, J.; TEKAUZ, A. Review: recent developments in research on *Fusarium* head blight of wheat Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 22, n. 1, p. 1-8, Jan. 2000.

GINKEL, M. van; VAN DER SCHAAR; W. ZHUPING, Y.; RAJARAM, S. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. **Plant Disease**, v. 80, n. 8, p. 863-867, Ago. 1996.

GRAVENA, J. C.; ALVES, C. A.; MORAES, M. H. D.; DEZORDI, C.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; MENTEN, J. O. M. Utilização de restrição hídrica no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de milho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. Resumo 112.

HANLIN, R. T. **Illustrated genera of ascomycetes**. St. Paul: APS Press, 1990. 263p.

HEIER, T.; JAIN, S. K.; KOGEL, K. H.; PONSKOHNEMANN, J. Influence of N-fertilization and fungicide strategies on fusarium head blight severity and mycotoxin content in winter wheat. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 153, n. 9, p. 551-557, Set. 2005.

HOMDORCK, S.; FEHMANN, H.; BECK, R. Effects of field Application of tebuconazole on yield, yield components and mycotoxin content of *Fusarium*-infected wheat grain. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 148, n. 1, p. 1-6, Jan. 2000.

HUBER, D. M. ; WATSON, R. D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, n.2, p. 139-165, Feb. 1974.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, A. C. COWLING, E. B. **Plant Pathology: an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1980. chap. 5, p. 381-406.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. International rules for seed testing. **Proceedings International Seed Testing Association**, Zürich, v. 31, p. 1-52, n.1, Jan. 1966.

JONES, J. P.; ENGELHARD, A. W.; WOLTZ, S. S. Management of Fusarium wilt of vegetables and ornamentals by macro and microelement nutrition. In: ENGELHARD, A. W. (Ed.) **Management of disease with macro and microelements**. ST. Paul: APS Press, 1990. chap. 1, p. 18-32.

KACKLEY, K. E.; GRYBAUSCAS, A. P.; DERNOEDEN, P. H. Growth of *Magnaporthe poae* and *Gaeumannomyces incrustans* as affected by temperature-osmotic potential interactions. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 7, p. 646-650, June. 1990.

LASCA, C. C.; BARROS, B. C.; VALARINI, P. J.; CASTRO, J. L.; CHIBA, S. Ação de fungicidas em tratamento de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) no controle de *Helminthosporium sativum* Pammel, King & Bakke. **Biológico**, São Paulo, v. 51, n. 9, p.225-231, oct. 1985.

LEMMENS, M.; HEIM, K.; LEW, H.; RUCKENBAUER, P. The effect of nitrogen fertilization on fusarium head blight development and deoxynivalenol contamination in wheat. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 152, n. 1, p. 1-8, Jan. 2004.

LIMA, M. I. P. M. Determinação da resistência de cultivares de trigo á giberela. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, suplemento, p.S119, ago., 2004. Resumo.

LIMA, E. F.; CARVALHO, J. M. F. C.; CARVALHO, L. P.; COSTA, J. N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através da semente do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 99-109, Jan. 1985.

LIMA, M. I. P. M.; EICHELBERGER L.; PORTELLA, J. A. fungos em sementes de cevada em função de épocas de colheita e armazenamento, em 2002. In: REUNIÃO ANUAL DE PESQUISA DE CEVADA, 22., 2002, Passo Fundo. **Anais...Passo Fundo: EMBRAPA Trigo**, 2002, p. 602-608.

LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Zürich, v. 33, Mar., n. 3, p. 343-513, 1968.

LUCA FILHO, C. A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargil, 1987, cap. 10, p. 276-298.

LUZ, W. C. Avaliação dos tratamentos biológico e químico na redução de patógenos em sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 93-95, jan./fev. 2003.

LUZZARDI, G. C. Wheat breeding for scab resistance. In: KLATT, A. R. (Ed.). **Wheat production constraints in tropical environments**. Mexico, DF: CIMMYT, 1988. chap. 7, p. 158-162.

LUZZARDI, G. C.; PIEROBOM, C. R. Importancia y distribución de la fusariosis del trigo en Brasil. In: KLATT, A. R. (Ed.). **Taller sobre la fusariosis de la espiga en America del Sur**. México, DF.: CIMMYT p.37-70, 1989.

MACHADO, J. C. Controle de fitopatógenos associados a sementes. **Informe Agropecuário**, Lavras, v. 8, n. 91, p. 34-40, Jan. 1982

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

MACHADO, J. C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 2, p. 229-263, 1994.

MAGALHÃES, F. H. L. **Restrição hídrica em patologia de sementes**: novas aplicações. 2005. 131p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MAGRO, T. D.; FARIAS, C. J. R.; CORREIA, C.; PIEROBOM, C. R. Restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.) In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Resumos...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. Resumo 159.

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

MARASAS, W. F. O.; NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A. **Toxigenic *Fusarium* species**: Identity and Micotoxicology. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, 1984. 328p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995. 889p.

MARTIN, R. A.; JOHNSTON, H. W. Effects and control of fusarium diseases of cereal grains in the Atlantic Provinces. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 4, n. 2, p. 210-216, Feb. 1982.

MARTIN, R. A.; McLEOD, J. A.; CALDWELL, C. Influences of production inputs on incidence of infection by *Fusarium* species on cereal seed. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, n. 7, p. 784-788, Jul. 1991.

MATTHEE, F. N.; DAINES, R. R. The influence of nutrition on susceptibility of peach foliage to water congestion and infection by *Xanthomonas pruni*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, Mar., n.3, p. 285-287, Mar. 1969.

MAUDE, R. B. **Seed borne diseases and their control: principles and practice**. Wallingford: CAB International, 1996. 202p.

MAULER-MACHNIK, A.; ZAHN, K. Ear fusarioses in wheat new findings on their epidemiology and control with Folicur (tebuconazole). **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 47, n. 1, p. 129-155, Jan. 1994.

McMULLEN, M. P.; JONES, R.; GALLENBERG, D. Scab of wheat and barley: A reemerging disease devastating impact. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 10, p.1340-1348, Oct. 1997.

MEHTA, Y. R. **Doenças do trigo e seu controle**. São Paulo: Ceres, 1978. 190p.

MEHTA, Y. R. **Manejo Integrado de Enfermedades del trigo**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, 1993. 314p.

MENDES, M. A. S.; FONSECA, J. N. L.; MOCHEL, P. M. P. L.; MENDES, A. P.; OLIVEIRA, A. S.; SIMOES, R. S. Controle e erradicação de *Fusarium oxysporum* de sementes de alfafa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, supl., ago., p. S259, 1998. Resumo.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: _____. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. cap. 4, p.203-224.

MENTEN, J. O. M.; BUENO, J. T. Transmissão de patógenos pelas sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 7, p.164-191.

MESTERHAZY, A.; BARTÓK, T.; LAMPER, C. Influence of cultivar, species of fusarium, and isolate aggressiveness on the efficacy of fungicides for control of fusarium head blight. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 9, p.1107-1115, Set. 2003.

MESTERHAZY, A. T.; BARTOK, C. G. MIROCHA, R.; KOMOROCZY, R. Nature of wheat resistance to FHB and the role of DON for breeding. **Plant Breeding**, Berlim, v. 118, n.1, p.97–110, Jan. 1999.

MIEDANER, T. Breeding wheat and rice for resistance to *Fusarium* disease. **Plant Breeding**, Berlim, v. 116, n. 2, p. 201-220, Feb. 1997.

MILLER, J. D.; CULLEY, J.; FRASER, K.; HUBBARD, S.; MELOCHE, F.; ONELLET, T.; SEAMAN, W. L.; SEIFERT, K.; TURKINGTON, K.; VOLDENG, H. Effect of tillage practices on *Fusarium* head blight of wheat. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 20, n. 1, p. 95-103, Jan. 1998.

MORAES, M. H. D. Análise sanitária de sementes tratadas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2., 2002, João Pessoa. **Resumos...** João Pessoa: UFJP, 2002. .Resumo 196.

MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M.; ALMEIDA, R. R.; SOUZA, L. Efeito do tratamento químico na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de trigo. **Informativo Abrates**, Brasília, v. 7, n. 1/2, p. 141, jan. 1997. Resumo.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. London: Mac Millan Press, 1977. 2v. 1191p.

OSORIO, E. A. **O trigo no Brasil**. São Paulo: Fundação Cargil, 1982. 287p.

PANISSON, E. **Giberela em trigo: intensidade, danos e controle químico**. 2001. 116p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2001.

PANISSON, E.; REIS, E. M.; BOLLER, W. Efeito da época, do número de aplicações e de doses de fungicida no controle da giberela em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p.495-499, out. 2002.

PARRY, D. W.; JENKISON, P.; McLEOD, L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. **Plant Pathology**, Ottawa, v. 44, n.2, p. 207-236, Feb. 1995.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Controle de doenças do trigo. In: BACALTCHUK, G. R.; ORG, B. **Tecnologia para produzir trigo no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Assembléia legislativa, Comissão de Agricultura, Pecuária e Cooperativismo/ Passo Fundo: EMBRAPA Trigo, (Série Culturas, 2), 2000, cap. 2, p.13-27.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas no controle de doenças na parte aérea da cultura do trigo em 1999. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002. Sete Lagoas. **Resumos...**: Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo. Resumo 63.

PIMENTA, A.A.; JULIATTI, F. C.; SILVA, S. A.; PEDROSA, M. G.; FONTES, R.C. Avaliação de fungicidas sistêmicos no controle de *Fusarium* sp., *Cercospora kikuchii* e *Phomopsis phaseolli* em sementes de soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, supl., p. S271, ago. 1998. Resumo.

REIS, E. M. **Doenças do trigo III** – Fusariose. São Paulo: Merck Sharp & Dohme, 1985. 28p.

REIS, E. M. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. São Paulo: CNDA. 1987. 58p.

REIS, E. M. **Doenças do trigo III** – Fusariose. 2.ed. São Paulo: Merck Sharp & Dohme, 1988. 12p.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1998. 88p.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIRA, C. A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina: ES Comunicação, 2001. 96p.

REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. Grain losses caused by the infection of wheat heads by *Gibberella zeae* in southern Brazil, from 1984 to 1994. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 22, n. 1, p. 134-137, jan. 1996.

REIS, E. M.; FERNANDES, J. M.; PICININI, E. C. **Estratégias para o controle de doenças do trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA - CNPT, 1988. 50p. (EMBRAPA-CNPT documentos, 7).

RIBEIRO, A. S. Tratamento de sementes com fungicidas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 382, jan. 1996.

RIBICHICH, K. F.; LOPEZ, S. E.; VEGETTI, A. C. Histopathological spikelet changes produced by *Fusarium graminearum* in susceptible and resistant wheat cultivars. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n. 7, p. 794–802, Jul. 2000.

SACCARO, P. A. **Sylloge Fungorum Omnium Hucusque Cognitorum**. London: Ann Arbor Mich, 1882. 223p.

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

SCHROEDER, H. W.; CHRISTENSEN, J. J. Factors affecting the resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 53, n. 7, p. 831-838, July 1963.

SINGH, R. P.; MA, H.; RAJARAM, S. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 2, p. 238-240, Feb. 1995.

SMILEY, R. W. Colonization of wheat roots by *Gaeumannomyces graminis* inhibited by specific soils, microorganisms, and ammonium nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 10, n. 2, p. 175-179, Feb. 1978.

SNIJDERS, C. H. A. Diallel analysis of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. **Euphytica**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 1-8, Jan. 1990d.

SNIJDERS, C. H. A. Fusarium head blight and mycotoxin contamination, a review. **Netherland Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 96, n.2, p. 197-198, Feb. 1990b.

SNIJDERS, C. H. A. Genetic variation for resistance to *Fusarium* head blight in bread wheat. **Euphytica**, Dordrecht, v. 50, n. 2, p. 171-179, Feb. 1990a.

SNIJDERS, C. H. A. The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. **Euphytica**, Dordrecht, v. 50, n. 1, p. 11-18, , Jan. 1990c.

SUTTON, J. C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v. 4, n. 2, p. 195-209, Feb. 1982.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. cap. 3, p. 171-178.

TAVELLA, C. M.; GONNET, M.; DIAZ, M. El golpe blanco del trigo. **Revista de la Asociación de Ingenieros Agronomos del Uruguay**, Montevideo, v. 13, n. 1, p. 3-6, enero 1979.

TELES NETO, F. X. B. **Transmissão e controle de *Fusarium graminearum* em sementes e danos causados pela giberela em trigo.** 2004. 113p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2004.

VECHIATO, M. H. **Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).** 1996. 70p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 1996.

VIEIRA, J.C. **Microflora de semente de cevada (cultivares Antártica 04 e FM 404) e influência de sementes manchadas (cv. FM 404) na qualidade do malte.** 1988, 123p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1988.

WANG, Y. Z.; MILLER, J. D. Screening techniques and sources of resistance to *Fusarium* head blight. In: KLATT, A. R. (Ed.). **Wheat production constraints in tropical environments.** Mexico, DF.: CIMMYT, 1988. chap. 11, p. 239-250.

WEARING, A. H.; BURGESS, L. W. Distribution and mode of survival of *Fusarium roseum* “*graminearum*” group II in maize soils of Eastern Australia. **Transcriptions of British Mycology Society**, London, v. 70, n. 4, p. 480-486, Apr. 1978.

WEARING, A. H.; BURGESS, L. W. Distribution of *Fusarium roseum* “*graminearum*” group I and its mode of survival in Eastern Australian wheat belt soils. **Transcriptions of British Mycology Society**, London, v. 69, n. 4, p. 429-442, Apr. 1977.

WILCSON, R. D.; BUSCH, R. H.; OZMAN, E. A. *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n.6, p. 658-661, June 1992.

WOODS, D. M.; DUNIWAY, J. M. Some effects of water potential on growth, turgor, and respiration of *Phytophthora cryptogea* and *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, n. 11, p.1248-1254, Nov. 1986.

YU, Y. J. Monosomic analysis for scab resistance and yeld components in the wheat cultivar Soo-moo-3. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 10, n. 2, p. 185-190, Feb. 1982.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência induzida pela nutrição de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 1, p. 275-318, jan. 1993.