

FATORES INFLUENCIANDO A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO
(*Zea mays* L.) EM PRESENÇA DE *Fusarium moniliforme* Sheldon

MARIA APARECIDA DE SOUZA TANAKA

Orientador: ÉRIC BALMER

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro, 1976

À

*memória de meu pai
e a minha mãe e irmãos
que muito contribuíram
para a minha formação*

MEU RECONHECIMENTO

Ao

meu esposo

Roberto

DEDICO

A G R A D E C I M E N T O S

A autora expressa seus agradecimentos:

- Ao Prof. Dr. Éric Balmer, pela valiosa orientação, estímulo e sugestões, durante a realização deste trabalho;
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa concedida, tomando possível a participação no Curso de Pós-Graduação e a realização desta pesquisa;
- Ao Prof. Dr. Francisco Ferraz de Toledo, pelas sugestões e pelas facilidades concedidas para a instalação dos experimentos no Laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz";
- Aos Professores e Funcionários do Departamento de Fitopatologia da E.S.A. "Luiz de Queiroz", pelo incentivo e apoio;
- Ao Departamento de Genética da E. S. A. "Luiz de Queiroz" e à Seção de Milho e Cereais Diversos do Instituto Agrônomo de Campinas, pelas sementes oferecidas;
- Aos Professores Dr. Ferdinando Galli, Dr. Caio O. N. Cardoso e Dr. Júlio Marcos Filho, pelas sugestões por ocasião da redação da tese;
- Ao Prof. Dr. Clovis Pompilio de Abreu, pela sua colaboração na parte estatística;

Ao Colega Professor Yodiro Massuda, pela versão do resumo para o inglês;

Ao Sr. José Danilo Graciano, pela ajuda na condução dos experimentos;

Ao meu irmão e amigo, Dr. Alfredo Querino de Carvalho, que nunca mediu esforços para que este trabalho se tornasse uma realidade.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa.

Í N D I C E

	Página
1 - RESUMO	1
2 - INTRODUÇÃO	3
3 - REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1 - Importância da doença e principais patógenos envolvidos	5
3.2 - Fatores que influenciam a relação entre micro- organismos e sementes ou "seedlings" de milho	7
3.2.1 - Efeito de temperaturas sub-ótimas para o desenvolvimento da planta	8
3.2.2 - Efeito de exudatos da semente em germina- ção e de fatores inerentes ao hospedeiro	9
3.2.3 - Efeito da qualidade da semente utilizada	12
3.2.4 - Efeito de substâncias fungicidas e prático- cas culturais	13
3.3 - Testes comumente utilizados no estudo da germi- nação de sementes de milho	14
3.3.1 - Teste padrão de germinação	14
3.3.2 - Testes de vigor	15
3.4 - Isolamento seletivo de microorganismos	19
4 - MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 - Cultivares utilizados e armazenamento das sementes .	22

	Página
4.2 - Substratos utilizados nos testes de germinação	23
4.3 - Temperaturas utilizadas	25
4.4 - Desinfecção superficial e tratamento das sementes ..	25
4.5 - O patógeno	26
4.5.1 - Isolados obtidos e sua preservação	26
4.5.2 - Obtenção de inóculo	27
4.6 - Avaliação dos resultados	28
4.7 - Testes e experimentos	30
4.7.1 - Teste padrão de germinação	30
4.7.2 - Teste de vigor - "envelhecimento rápido"	30
4.7.3 - Efeito da temperatura e substrato na germinação de sementes de dois cultivares de milho. Experimentos I e II	31
4.7.4 - Efeito da temperatura, substrato e concentração de inóculo de <i>Fusarium moniliforme</i> sobre a germinação de sementes. Experimentos III e IV	35
4.7.5 - Comportamento de diferentes cultivares de milho germinando em presença de <i>Fusarium moniliforme</i> . Experimento V	36
5 - RESULTADOS	37
5.1 - Teste padrão de germinação	37
5.1.1 - Para experimentos I , II , III e IV	37
5.1.2 - Para experimento V	38

	Página
5.2 - Teste de vigor - "envelhecimento rápido"	39
5.2.1 - Para experimentos I , II , III e IV	39
5.2.2 - Para experimento V	40
5.3 - Efeito da temperatura e do substrato na germinação de dois cultivares de milho. Experimento I e II	41
5.3.1 - Germinação das sementes	41
5.3.2 - Microorganismos associados às sementes e "seedlings"	47
5.4 - Efeito da temperatura, substrato e concentração de inóculo de <i>Fusarium moniliforme</i> na germinação de sementes. Experimentos III e IV	49
5.5 - Comportamento de diferentes cultivares de milho quando submetidos à germinação em presença de <i>Fusarium moniliforme</i> . Experimento V	57
6 - DISCUSSÃO	61
6.1 - Efeito da temperatura e do substrato na germinação de dois cultivares de milho. Experimentos I e II	62
6.2 - Efeito de diferentes temperaturas, substratos e concentrações de inóculo de <i>F. moniliforme</i> na germinação das sementes. Experimentos III e IV ...	67
6.3 - Comportamento de diferentes cultivares de milho germinado em presença de <i>F. moniliforme</i> . Experimento V	70

	Página
7 - CONCLUSÕES	72
8 - SUMMARY	74
9 - LITERATURA CITADA	76
10 - APÊNDICE	84

1 - RESUMO

O presente trabalho teve por objetivos proceder a um levantamento da microflora do solo associada a "damping-off" de "seedlings" de milho (*Zea mays* L.) quando a cultura é mantida em plantio contínuo no mesmo solo, estimar os principais fatores que interferem na relação patógeno-hospedeiro, como também testar o comportamento de cultivares de milho de diferentes constituições genéticas em relação ao principal patógeno isolado.

O levantamento da microflora foi efetuado mediante testes de germinação conduzidos a diferentes temperaturas, e utilizando a própria semente de milho como isca germinando em contacto com solo naturalmente infestado, proveniente de um campo seguidamente mantido com a cultura daquele cereal.

Fusarium moniliforme Sheld. foi o microorganismo de ocorrência mais frequente no levantamento efetuado. De posse desse resultado, procurou-se investigar o efeito da temperatura e da concentração de inóculo de *F. moniliforme* sobre a relação patógeno-hospedeiro. Foi observado que existe uma tendência para aumento da severidade da doença à medida em que se aumenta a concentração de inóculo do patógeno, em condições de temperaturas sub-ótimas para o desenvolvimento do "seedling".

Foi testado o comportamento de diferentes cultivares de milho quando em germinação em presença de *F. moniliforme* em condições sub-ótimas de temperatura. Puderam ser constatadas diferenças no comportamento dos cultivares testados, o que sugere a possibilidade da utilização de testes semelhantes aos deste experimento, para seleção visando a melhoramento genético para resistência aos patógenos envolvidos no complexo da doença.

2 - INTRODUÇÃO

A cultura do milho é entre nós uma das mais importantes, sendo que ocupa maior área cultivada. Entretanto, está sujeita a um grande número de doenças, algumas delas se constituindo em sérios problemas.

A germinação da semente de milho e o estabelecimento do "seedling" no campo são fases críticas no ciclo de vida da planta. As doenças devidas a patógenos que causam podridões de sementes e morte de "seedlings", resultando em redução do "stand" no campo, são muitas vezes responsáveis pelo baixo rendimento da cultura. Em geral essas doenças são causadas por fungos do solo que parasitam a semente em germinação, e se as condições ambientais forem favoráveis pode ocorrer morte do "seedling" antes ou após a emergência.

A temperatura é uma das variáveis ambientais mais importantes, governando a interação planta-patógeno nas fases iniciais da germinação da semente. E, intimamente associados às condições de temperatura, fatores tais como a microflora patogênica do solo, o vigor da semente e a constituição genética da mesma podem interagir durante a germinação, determinando o grau de intensidade da doença.

O problema do controle sempre foi muito complexo, e o seu êxito depende do conhecimento das variáveis que determinam a severidade da doença num determinado local.

O presente trabalho teve por objetivos proceder a um levantamento dos principais microorganismos associados a "damping-off" de "seedlings" de milho em solo seguidamente mantido com a cultura, conhecer os efeitos da temperatura e da concentração de inóculo na interação planta-patógeno, como também testar o comportamento de cultivares de milho utilizados em escala comercial em relação ao microorganismo mais frequentemente isolado.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 - Importância da doença e principais patógenos envolvidos

A importância das podridões de sementes e morte de "seedlings" na diminuição do rendimento de culturas de milho tem recebido considerável a tenção por parte dos pesquisadores.

FUTRELL e KILGORE (1969) associaram a dificuldade de obter bons rendimentos da cultura de milho com a presença de vários fungos causadores de redução da porcentagem de germinação e morte de "seedlings". Segundo os autores esses fungos provocam o aparecimento de "seedlings" enfraquecidos, que geralmente acabam morrendo.

HOOKER e DICKSON (1952) concluíram que as reduções do "stand" de culturas de milhos são geralmente devidas a fungos do solo que invadem as sementes e os "seedlings" nos primeiros estágios de desenvolvimento.

WILCOXSON (1962) atribuiu a *Fusarium graminearum* Schw e *Diplodia maydis* (Berk) Sacc. uma redução de 17% no rendimento de 14 híbridos de milho como consequência do apodrecimento de sementes.

Vários pesquisadores da República Árabe Unida relataram severos prejuízos causados por morte de "seedlings" de milho (MOHAMED *et alii*, 1967 ; MOHAMED *et alii*, 1968.b ; DJAKAMIHARDJA *et alii*, 1970). Muitos fungos foram isolados das sementes e "seedlings", sendo vários deles considerados causadores dos prejuízos constatados.

Fungos habitantes do solo são os mais comuns causadores de podridões de sementes e morte de "seedlings" de milho.

MOHAMED *et alii* (1968.a) atribuíram a vários fungos, dentre eles *F. moniliforme* Sheld. ; *F. graminearum* Schwabe ; *Nigrospora oryzae* (Berk. & Br.) Petch. e *Penicillium oxalicum* Currie & Thom. a causa de baixos "stands" em culturas de milho devido à morte de "seedlings".

FUTRELL e KILGORE (1969) além dos fungos anteriormente citados, encontraram também *Diplodia maydis* ; *Helminthosporium* sp. ; *Rhizoctonia* sp. causando morte de "seedlings" de milho. *F. moniliforme* foi apontado como o principal patógeno.

Pythium spp. é frequentemente responsável por doenças de "seedlings" de milho. Segundo HOPPE (1953), diferenças de intensidade de doenças em diferentes tipos de solo são atribuídas à presença de diferentes

espécies de *Pythium*, tais como *P. irregulare* Buis ; *P. ultimum* Trow ; *P. rostratum* Butl. e *P. ærhenomanes* Drechsl.

Os fungos causadores de doenças de "seedlings" de milho podem já estar presentes na semente utilizada. Assim, MOHAMED *et alii* (1967) isolaram sete gêneros de fungos, sabidamente patogênicos, de 42 amostras de sementes. Entre os isolados, foram considerados mais importantes: *F. moniliforme* ; *F. graminearum* ; *P. oxalicum* ; *N. oryzae* ; *Cephalosporium* spp. e *Aspergillus* spp.

Sclerotium spp. também é citado por GILL e SINGH (1970) como causador de redução do "stand" da cultura.

Curvularia spp. ; *Ophiobolus graminis* Sacc. e *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. também são apontados por SALLANS (1965) como responsáveis por podridões em raiz de "seedlings" de milho.

3.2 - Fatores que influenciam a relação entre microorganismos e sementes ou "seedlings" de milho

Muitos fatores podem influenciar o estabelecimento de relações entre a semente ou o "seedling" de milho recém-germinado e os microorganismos patogênicos presentes no solo. Dentre esses fatores destacam-se a temperatura, a presença de exudatos de semente em germinação, fatores inerentes ao próprio hospedeiro, a qualidade da semente e o efeito de fungicidas e práticas culturais.

3.2.1 - Efeito de temperaturas sub-ótimas para o desenvolvimento da planta

A temperatura é uma das variáveis ambientais mais importantes afetando os sistemas biológicos. A temperatura não só tem efeito marcante sobre a germinação e o crescimento das plantas, como também determina o grau de susceptibilidade e a velocidade com que a doença se desenvolve (SCHULZ e BATEMAN, 1969).

Segundo HASKELL (1948), as causas de baixo "stand" em culturas de milho são em parte devidas aos danos causados por fungos do solo, principalmente a temperaturas sub-ótimas para o crescimento dos "seedlings". MOHAMED *et alii* (1967) chegaram a conclusões semelhantes ao correlacionarem maior incidência de morte de "seedlings" de milho com locais onde o clima é frio e úmido durante a maior parte do ano. O efeito de temperaturas baixas durante a germinação da semente de milho torna-se evidente em algumas regiões dos Estados Unidos, onde é prática comum entre os agricultores e produtores de sementes antecipar o plantio para evitar o ataque de insetos e aproveitar melhor a estação de crescimento. O plantio antecipado, no entanto, coincide com a ocorrência de temperaturas sub-ótimas para o crescimento da planta, e as sementes e os "seedlings" são atacados por fungos patogênicos, raramente resultando em stands satisfatórios (TATUM e ZUBER, 1943 ; DUNGAN e KOELER, 1944 ; PINNEL, 1949 ; HARPER, 1954 ; MOHAMED *et alii*, 1968.b).

Além da temperatura, LEACH (1947) aponta a concentração de inóculo, a susceptibilidade do hospedeiro e a umidade do solo como os princip

pais fatores envolvidos na severidade de doenças do tipo "damping-off".

ANDREW (1953) e ALESSI e POWER (1971), em experimentos utilizando diversas temperaturas e profundidades de plantio, concluíram que a temperatura baixa tem um efeito muito maior na emergência de "seedlings" de milho do que a profundidade de plantio. Os autores também concluíram que sementes de milho postas a germinar sob temperaturas próximas a 10°C, tem pouca chance de dar origem aos "seedlings" sadios, devido à predisposição ao ataque de patógeno do solo.

3.2.2 - Efeito de exudatos da semente em germinação e de fatores inerentes ao hospedeiro

Muita atenção tem sido dada ao estímulo que os exudatos radiculares exercem sobre o desenvolvimento microbial na rizosfera de sementes em germinação (SCHROTH e HILDEBRAND, 1964 ; PARKINSON e PEARSON, 1965).

Alguns autores atribuem o aumento da severidade de doenças do tipo "damping-off" à grande quantidade de exudatos liberados pelas sementes nas fases iniciais da germinação. Estudos realizados com "seedlings" de milho mantidos a temperaturas sub-ótimas para o crescimento da planta revelaram aumento de susceptibilidade a "damping-off", o que foi atribuído ao aumento da exudação de constituintes orgânicos na rizosfera, que estimula o crescimento de patógenos aí presentes (VANCURA, 1967 ; SCHULZ e BATEMA, 1969).

Sob condições de temperaturas sub-ótimas para a germinação das sementes, "seedlings" de milho diferem no seu comportamento em relação aos principais patógenos, dependendo da constituição genética da planta. HOOKER e DICKSON (1952) relatam que linhagens puras, híbridos simples, híbridos duplos e retrocruzamentos reagem diferentemente em relação a *Pythium* spp. Os citados autores informam ainda que a resistência de "seedlings" de milho ao patógeno aumenta à medida que a germinação progride e que a resistência está correlacionada com a rapidez do desenvolvimento do "seedling". ANDREW (1952) encontrou resultados semelhantes aos de HOOKER e DICKSON (1952) e acrescentou ainda a observação de que, em linhagens e híbridos resistentes, a resistência é alcançada rapidamente, enquanto que em linhagens e híbridos susceptíveis, um período de tempo mais longo é requerido para ser alcançado o mesmo grau de resistência.

A natureza hereditária da resistência tem sido estudada por vários autores. DICKSON e HOLBERT (1926) observaram que "seedlings" de milho resistentes são capazes de crescer e se desenvolver sob condições sub-ótimas de temperatura e em solos altamente infestados. Os autores concluíram que esse tipo de resistência é uma característica hereditária e que os híbridos simples entre linhagens resistentes e susceptíveis são todos susceptíveis, o que indica ser a susceptibilidade dominante sobre a resistência. Em 1935, SMITH, trabalhando com linhagens de milho resistentes e susceptíveis, e híbridos simples e duplos provenientes dessas linhagens, concluiu que a resistência é dominante sobre a susceptibilidade, em virtude dos híbridos simples mostrarem praticamente o mesmo grau de resis-

tência do pai resistente. Esse trabalho aparentemente contradiz aquelas observações feitas por DICKSON e HOLBERT (1926). No entanto estes dois autores testaram apenas o comportamento dos "seedlings" até a geração F_1 e sugeriram que trabalhos mais detalhados deveriam ser feitos com a geração F_2 , para serem obtidas maiores informações quanto à natureza da resistência. McINDOE (1931) e PINNEL (1949) concluíram que a herança da resistência de "seedlings" de milho aos principais patógenos é quantitativa e governada por múltiplos fatores.

DICKSON e HOLBERT (1926) esclarecem que a expressão da resistência de "seedlings" de milho a esse tipo de doença está diretamente relacionada ao metabolismo do hospedeiro e influenciada pela temperatura. Os mesmos autores informam ainda que "seedlings" de milho crescendo a temperaturas acima de 24°C tem parede celular com camadas espessas de lignina e celulose, e as células corticais do coleoptilo e raízes primárias impregnadas de suberina. Por outro lado, os "seedlings" submetidos às temperaturas de 8 a 20°C têm paredes celulares compostas principalmente de pentosanas. A importância dessas observações reside no fato da penetração dos fungos do solo ser comprovadamente dificultada pela parede celulósica reforçada pela lignina ou suberina. Por outro lado, as pentosanas, tais como a pectina são substratos excelentes para os patógenos, e uma vez em grande quantidade nas paredes celulares de "seedlings" a baixas temperaturas, devem favorecer a doença.

3.2.3 - Efeito da qualidade da semente utilizada

A qualidade da semente, em adição ao genótipo da planta, é um dos fatores que maior influência exerce quando a germinação se processa sob condições sub-ótimas de temperatura (HOOKER e DICKSON, 1952 ; HOOKER,1955).

A experiência tem mostrado que sementes imaturas, injuriadas mecanicamente, velhas, enfim, de qualidade inferior são mais sensíveis ao ataque de patógenos causadores de "damping-off" (PINELL, 1949). MEYERS (1924) e TATUM e ZUBER (1943) informam que sementes de milho com pericarpos danificados podem ser a causa de redução do "stand" no campo, quando no solo ocorrem temperaturas baixas e umidade elevada. Os autores informam ainda que a injúria em si não é totalmente responsável pelo aumento da doença ; provavelmente favoreça a entrada e colonização pelos patógenos da rizosfera. Durante o beneficiamento das sementes de milho, o pericarpo e o embrião podem ser danificados com muita facilidade, e se as sementes não estiverem adequadamente secas e maduras para essa operação, os danos podem ter consequências mais sérias ainda (MOORE, 1968). RUSH e NEAL (1951) e HOPPE (1953) informam que também durante a colheita as sementes podem sofrer fermentos, e que sementes secas naturalmente manifestam maior resistência do que aquelas secas artificialmente.

DUNGAN e KOEHLER (1944) ; KOEHLER (1954) e MOHAMED *et alii*, (1968.a) observaram que sementes de milho com injúrias no pericarpo, ou imaturas, mostram um resposta significativa a tratamentos com fungicidas protetores. Sementes maduras e com pericarpos ilesos não respondem a esse tipo de tratamento, em termos de aumento do "stand" no campo. Os autores

atribuíram esse fato à maior predisposição das sementes injuriadas aos patógenos presentes na rizosfera.

SCHROTHE HILDEBRAND (1964) consideram a injúria, além da temperatura, como outro fator responsável pela exudação de substâncias orgânicas pela semente posta a germinar. Em protoplastos intactos, a permeabilidade seletiva da membrana celular das células vivas age como uma barreira à saída de substâncias do interior da célula. Quando as células são injuriadas, a membrana celular é danificada e a barreira que ela representa deixa de existir. Injúrias de diversas origens, tais como abrasões mecânicas, invasão de insetos, nematóides, etc., são comuns na natureza, e a elas as sementes e os "seedlings" estão continuamente expostos. Por essa razão os citados autores consideram que a injúria, apesar de contribuir para o aumento da exudação, dificilmente pode ser evitada.

3.2.4 - Efeito de substâncias fungicidas e práticas culturais

As doenças de "seedlings" de milho são controladas por tratamento de sementes, uso de boa semente e variedades resistentes (DJAKAMI-HARDJA *et alii*, 1970).

A proteção de um fungicida eficiente favorece a germinação da semente e o crescimento do "seedling", em condições propícias à doença. A proteção química tem mais importância ainda se as sementes estiverem injuriadas, pois estas teriam pouca chance de dar origem a "seedlings" sadios quando plantadas em solo infestado (HOPPE, 1958). MOHAMED *et alii* (1968.a)

informam que o tratamento de sementes de milho com Captan , na dosagem de 1,5 g/kg de sementes, aumentou consideravelmente a porcentagem de germinação em testes de laboratório, casa de vegetação e campo. Em experimentos feitos por HOPPE (1949) *Pythium* sp causou 100% de apodrecimento de sementes de milho não tratadas, quando submetidas à germinação a 11°C . O autor informa que Arasan oferece excelente proteção à semente em solos natural ou artificialmente infestados.

Solos de campos cultivados continuamente com milho mostram uma maior concentração de microorganismos patogênicos quando comparados com solos cultivados em rotação (GIIL e SINGH, 1970). SALLANS (1965) informam que culturas sucessivas de milho favorecem o aparecimento de maiores populações de patógenos. Uma medida de controle seria, segundo o autor, rotação de cultura com espécies não hospedeiras, ou outras gramíneas como *Bromus inermis* e *Agropyron cristatum* , que foram usadas com sucesso contra *Fusarium culmorum* e *Helminthosporium sativum*.

3.3 - Testes comumente utilizados no estudo da germinação de sementes de milho

3.3.1 - Teste padrão de germinação

O teste padrão de germinação, de um modo geral, fornece informações quanto à germinação das sementes em condições favoráveis de laboratório

rio, padronizadas para diferentes espécies vegetais. Os dados obtidos através desse teste permitem comparar o valor de dois ou mais lotes de sementes.

A porcentagem de germinação relatada, resultante da interpretação de um teste de germinação, corresponde à porcentagem de sementes que produziram "seedlings" normais nas condições padronizadas. Considera-se como normais os "seedlings" que, sob as condições utilizadas no teste, se mostrem capazes de continuar o seu desenvolvimento para dar formação a plantas normais. Da mesma maneira, são considerados anormais aqueles que não mostrem apidão para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais. As contagens de germinação devem ser feitas aos quatro e aos sete dias após a instalação do teste, e as temperaturas recomendadas variam de 20 a 30°C (16 horas a 20°C e 8 horas a 30°C), 25°C constante e 30°C constante (BRASIL, Min. Agric., 1967).

3.3.2 - Testes de vigor

a - "Envelhecimento rápido"

Os testes de vigor vem sendo cada vez mais usados, visando suprir as deficiências do teste de germinação convencional, considerado in suficiente para avaliar as propriedades fisiológicas das sementes.

Entre os numerosos métodos desenvolvidos para se testar o vigor das sementes encontra-se o método do "envelhecimento rápido". Em li-

nhas gerais, consiste em submeter as sementes a condições adversas de temperatura (40 a 45°C) e umidade relativa em torno de 100% durante um certo período de tempo e em seguida observar a resposta através de um teste de germinação. Para o caso específico de sementes de milho, as pesquisas indicam que a umidade relativa de 90 a 100% , à temperatura de 40 a 45°C e o tempo de permanência na câmara de envelhecimento de três a cinco dias parecem ser os mais efetivos (CASAGRANDE, 1970).

HELMER (1967) constatou a sensibilidade do teste de "envelhecimento rápido" para diferenciar o vigor de diferentes lotes de sementes de milho e estimar seu potencial de conservação ; o período de envelhecimento utilizado foi de 132 horas a 42°C e 100% de umidade relativa.

GOFF (1971) observou que o "envelhecimento rápido" acusou diferença de vigor entre oito lotes de sementes de milho, mesmo daqueles que apresentavam a mesma porcentagem de germinação. O mesmo autor observou ainda diferentes respostas ao "envelhecimento rápido", de acordo com o cultivar testado.

b - Teste de frio - "Cold test"

Observa-se geralmente uma falta de correlação muito grande entre os testes de germinação de laboratório e o "stand" no campo, sendo este geralmente bem inferior àquele esperado. Explica-se essa falta de correlação porque os testes padrões submetem as sementes a condições ideais para que a germinação ocorra e são voltados para se obter um máximo de germinação. Isso pode contribuir para que as sementes fracas e não vigorosas

sejam computadas na avaliação final (CASAGRANDE, 1970).

O teste de frio "cold test" para milho, vem sendo usado com sucesso para se obter melhor correlação entre testes de laboratório e "stand" no campo (HOPPE, 1953 ; HOPPE, 1956.a ; SMITH e BAILES, 1958 ; MOORE, 1968).

O "cold test" para milho consiste em submeter as sementes à germinação em solo infestado naturalmente ou artificialmente, à temperatura de 8 a 10°C por cinco a dez dias ; em seguida a germinação é completada a temperaturas mais altas, geralmente 25 a 30°C durante três dias. Este teste pode ser feito, ou em bandejas , ou em rolos de papel toalha. No primeiro caso, um teste completo pode ser realizado em três semanas, e as leituras são feitas quando os "seedlings" atingem o estágio de três a quatro folhas. O teste realizado em rolo de papel toalha é mais fácil de ser instalado, mais rápido, e a instalação requer espaço bem menor. Neste caso, um teste completo pode ser realizado em sete a treze dias (HOPPE, 1956.a).

O "cold test" é usado com sucesso para avaliar a eficiência de produtos químicos novos para tratamento de sementes (KOEHLER, 1954 ; HOPPE, 1956.b). KOEHLER (1954) sugere que a triagem de novos fungicidas pelo "cold test" deve ser seguida de outras informações com relação às condições de campo. Segundo ele, existem muitas variáveis que precisam ser levadas em conta. Por exemplo, o grau de infestação e o tipo da microflora presente no solo podem variar de um local para outro, e esses organismos podem variar na sua resistência aos fungicidas. Além disso, a umidade e o

pH do solo também variam, sendo quase impossível uma padronização desse tipo de teste.

Uma segunda finalidade para o uso do "cold test" é a avaliação da qualidade da semente armazenada, injuriada, ou imatura (HOPPE, 1956.a ; HOPPE, 1958 ; GILL e DELOUCHE, 1933). Este teste pode revelar falhas na germinação, não evidentes nos testes padrões de laboratório.

HOPPE (1956.a) considera como outra utilidade do "cold test" a avaliação de materiais genéticos usados em programas de melhoramento visando resistência aos patógenos causadores de morte de "seedlings" de milho. Usando condições ideais para a interação planta-patógeno, pode-se fazer a triagem dos materiais genéticos que tem a capacidade de germinar e resistir aos patógenos. No entanto, HOOKER (1955) acha que esse tipo de seleção pode ser baseada só em espécies de microorganismos altamente patogênicos que predominam num determinado local onde é coletado o solo para o teste. E isso seria perigoso, pois poderia resultar em descarte de certos genótipos do hospedeiro que talvez produzissem "stands" satisfatórios em solos onde a microflora fitopatogênica fosse diferente. Da mesma maneira, a seleção poderia ser baseada em resistência a espécies fracamente patogênicas de um local, e esse material considerado resistente poderia não apresentar os resultados esperados onde ocorrem espécies mais patogênicas. A microflora do solo, variando de um local para outro, seria responsável pela dificuldade de padronização do "cold test".

3.4 - Isolamento seletivo de microorganismos

Os fungos fitopatogênicos presentes no solo constituem uma pequena minoria entre uma miríade de microorganismos. Eles podem ser rapidamente mascarados pelos colonizadores secundários nos tecidos doentes. Segundo TSAO (1970) isso pode ter consequências sérias, como diagnoses falsas e adoção de medidas inadequadas para o controle das doenças.

O método comumente usado é a inibição seletiva, isto é, o uso de agentes químicos antimicrobiais que inibem o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis, mas pouco ou nada interferem no desenvolvimento dos que devem ser isolados. Um outro método é prover o meio de uma ou mais fontes de energia ou nutrientes que são assimiláveis somente por um número limitado de microorganismos, o que resulta em uma redução, ou mesmo exclusão dos microorganismos indesejáveis (ECKERT e TSAO, 1962 ; PAPAIVIZAS, 1967 ; TSAO, 1970).

O isolamento seletivo do gênero *Fusarium* da população fúngica do solo tem recebido muita atenção por parte dos fitopatologistas. Desde a utilização do meio de SNYDER *et alii* (1959) para o estudo quantitativo de populações de *Fusarium* no solo, muitos outros meios seletivos para o gênero tem sido relatados. Entre aqueles mais largamente usados encontra-se o de NASH-SNYDER (1962), que contém, entre outros ingredientes, estreptomomicina e o fungicida pentacloronitrobenzeno (PCNB). Esses componentes inibem muitos fungos contaminantes comuns, mas permitem o desenvolvimento de *Fusarium* spp. TSAO (1970) informa que a baixa solubilidade em água do PCNB torna necessária a sua utilização em um solvente como etanol.

A concentração final do solvente no meio não deve ser inibitório aos fungos a serem isolados. PAPAIVIZAS (1967) estudou comparativamente nove meios seletivos comumente usados para o gênero *Fusarium* e concluiu que o meio de NASH-SNYDER (1962) foi um dos mais eficientes.

Alguns outros agentes seletivos usados em meios para isolamento de *Fusarium* spp são: etanol, metabissulfito de potássio e surfactant TMN (TSAO, 1970), filtrados do crescimento de *Fusarium* em meio de cultura (PARMETER, 1961), azida de sódio (DENIS *et alii*, 1966), fitoactina (STONER e COOK, 1967), verde malaquita e captan (SING e NENE, 1965).

Os gêneros *Phytophthora* e *Pythium* são quase sempre difíceis de serem isolados por plaqueamento direto de tecidos infectados em agar. A dificuldade, segundo ECKERT e TSAO (1962) é decorrente do crescimento vagaroso de certas espécies dos gêneros mencionados, em contraste com o crescimento rápido, e muitas vezes antagônico, de bactérias e fungos associados. Conseqüentemente, a participação desses fungos nos complexos de doenças podem escapar à detecção. O isolamento seletivo de *Phytophthora* spp de tecidos de plantas pode ser efetuado com êxito pelo uso de agentes antimicrobiais, tais como nistatina e pimaricina, adicionados aos meios de cultura (HANSEN, 1960; ECKERT e TSAO, 1962). Para o isolamento seletivo de *Pythium* spp de populações do solo, SINGH e MITCHEL (1961) e VAARTAJA (1968) utilizaram com êxito um meio contendo PCNB e pimaricina. EMERSON (1968) relata que iscas de sementes de cânhamo, *Cannabis sativa* L., em água estéril, constituem um dos substratos naturais mais largamente usados

para o isolamento de fungos aquáticos, tais como: *Pythium* e *Phytophthora* . A principal dificuldade do uso desse método é a aquisição das sementes de *C. sativa* , por serem a fonte do narcótico maconha.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Cultivares utilizados e armazenamentos das sementes

Os cultivares de milho utilizados no presente estudo e suas respectivas procedências estão relacionados na Tabela 1 , sendo o cultivar CENTRALMEX da safra de 1973/74 , o cultivar IAC-HMD 7974 das safras de 1973/74 e 1974/75 , e todos os demais da safra de 1974/75.

As sementes dos cultivares CENTRALMEX e IAC-HMD 7974 safra de 1973/74 , recebidas em outubro de 1974, permaneceram durante dois meses em condições ambientes com temperatura média de 24,2°C e U.R. ao redor de 60% . Em seguida, foram armazenadas em câmara seca com temperatura de 23°C e 35% de umidade relativa. As sementes dos demais cultivares, utilizados logo após a aquisição, foram mantidas em condições ambientes.

TABELA 1 - Cultivares de milho utilizados no presente trabalho e suas respectivas procedências

	Cultivar	Procedência
Híbridos	IAC-HMD 7974	IAC - Campinas, SP.
Duplos	IAC-HMD 6999-B	IAC - Campinas, SP.
Híbridos de	IAC-PHOENYX 1211	IAC - Campinas, SP.
Variedades ^{a/}	IAC-PHOENYX 0 ₂ 66	IAC - Campinas, SP.
Variedades	IAC-MAYA XII	IAC - Campinas, SP.
	IAC-1 XI	IAC - Campinas, SP.
	IAC-MAYA 0 ₂ VI	IAC - Campinas, SP.
	IAC-1 0 ₂ VI	IAC - Campinas, SP.
	PIRANÃO	Depto. GENÉTICA, ESALQ
	CENTRALMEX	Depto. GENÉTICA, ESALQ
Compostos	COMPOSTO A F ₇	Depto. GENÉTICA, ESALQ
	COMPOSTO B F ₇	Depto. GENÉTICA, ESALQ

^{a/} IAC-PHOENYX 1211 (IAC-MAYA XII x IAC-1 XI)

IAC-PHOENYX 0₂66 (IAC-MAYA 0₂VI x IAC-1 0₂VI)

4.2 - Substratos utilizados nos testes de germinação

O substrato básico utilizado foi papel toalha, da Companhia Fabricadora de Papel de São Paulo, da marca "Xuga", em folhas de aproximadamente 40 x 30 cm. Antes da utilização, as folhas de papel foram lava

das em água corrente durante 24 horas, a fim de adquirirem um pH mais elevado do que aquele do papel simplesmente umedecido.

O solo, quando utilizado, constituiu um substrato adicional ao papel toalha. A coleta do solo foi feita num campo seguidamente cultivado com milho, pertencente ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP. Foram tomadas ao acaso cerca de quinze amostras por vez que, reunidas, constituíram uma amostra composta. Até o momento da sua utilização, o solo foi conservado em embalagem plástica, em local fresco e à sombra, no máximo por duas semanas, sendo feitas novas amostragens quando necessário, conforme recomenda JOHNSON (1972). O solo foi peneirado para separar torrões e excesso de detritos, e, quando necessário, submetido à esterilização. Para ser esterilizado, o solo, dividido em amostras de aproximadamente 600 cc e acondicionado em beakers de um litro foi autoclavado a 121°C durante duas horas e por três dias consecutivos.

Os tipos de substratos usados e a sua maneira de utilização foram os seguintes:

- 1 - Papel Toalha - A técnica usada foi a de germinação em rolos de papel toalha (RL) com 50 sementes por folha, de acordo com as REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES (BRASIL, Min. Agric., 1967).
- 2 - Papel Toalha mais Solo Naturalmente Infestado - Uma fina camada de solo, de aproximadamente 3 mm foi uniformemente espalhada sobre folhas duplas de papel toalha. As sementes colocadas sobre esse substrato foram cobertas com outra folha de papel toalha, e o conjunto foi enro-

rolado em cilindros, num procedimento semelhante ao descrito por HOPPE (1956,a).

- 3 - Papel Toalha mais Solos Esterilizado - O solo esterilizado foi espalhado sobre folhas duplas de papel toalha, e sobre ele foram colocadas as sementes, numa técnica semelhante à descrita no item anterior.

4.3 - Temperaturas utilizadas

Os testes foram conduzidos a temperaturas constantes de 20°C , 30°C , e, nas condições do "cold test" as sementes foram submetidas durante nove dias a 10°C , seguidos de três dias a 30°C . Para os testes conduzidos a 20°C , foi utilizado um germinador "BURROWS", enquanto que para a temperatura de 30°C foi utilizado um germinador "STULTS", ambos com uma variação de mais ou menos 1°C . Para o "cold test" , o pré-resfriamento ou choque frio das sementes foi obtido em incubadora com uma variação de mais ou menos 0,5°C .

4.4 - Desinfecção superficial e tratamento das sementes

Antes de serem utilizadas, todas as semente foram desinfetadas superficialmente, exceto para a realização dos testes-padrão de germinação e "envelhecimento rápido". As sementes foram imersas em solução a-

quosa de hipoclorito de sódio, obtida mediante uma parte de "Q-Boa", produto comercial contendo 5% de cloro ativo, e três partes de água, durante dois minutos. Em seguida, foram postas a secar em placas de Petri contendo papel de filtro esterilizado, durante 24 horas, antes de serem utilizadas.

Nos tratamentos destinados a avaliar a eficácia da proteção química que um fungicida pode oferecer à semente submetida à germinação em condições propícias à doença, foi utilizado Arasan (bissulfeto de tetrametiluram 50%) em forma de pó seco, na dosagem recomendada, ou seja, 85 gramas do produto por 100 quilos de sementes.

As sementes dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX ambos da safra de 1973/74, que foram utilizados durante um período de dez meses foram submetidas a um expurgo com o inseticida Phostoxin, na dosagem de dois comprimidos de 0,6 g cada (correspondente a 0,4 g de Fosfina), durante 24 horas.

4.5 - O Patógeno

4.5.1 - Isolados utilizados e sua preservação

No presente trabalho, foram utilizados diferentes isolados de *F. moniliforme* Sheld., obtidos do levantamento efetuado, e que se acham relacionados na Tabela 2 .

TABELA 2 - Isolados de *F. moniliforme* Sheld. utilizados no presente trabalho

Número do Isolado	Fonte de Isolamento	Cultivar
1	Semente	IAC-HMD 7974
2	Semente	CENTRALMEX
3	Semente	CENTRALMEX
4	Semente	IAC-HMD 7974
5	"Seedlings"	IAC-HMD 7974
6	"Seedling"	CENTRALMEX
7	Semente	IAC-HMD 7974
8	"Seedling"	IAC-HMD 7974
9	"Seedling"	IAC-HMD 7974
10	Semente	CENTRALMEX

Os isolados de *F. moniliforme* foram conservados em solo (o mesmo mencionado no item 4.2) esterilizado e contido em tubos de ensaio.

4.5.2 - Obtenção do inóculo

Os diferentes isolados de *F. moniliforme* relacionados na Tabela 2 foram cultivados em placas de Petri contendo BDA e mantidos em condições ambientes. Decorridos sete a dez dias, tempo suficiente para as colônias do fungo se desenvolverem em toda a superfície do meio de cultura, foram adicionados 10 ml de água destilada e esterilizada a cada placa de Petri. Com o auxílio de um pincel macio, os conídios foram removi-

dos da superfície do meio de cultura, e a suspensão assim obtida foi filtrada através de gase, a fim de reter os fragmentos de micélio nela contidos. Para a obtenção do inóculo os isolados foram misturados, e mediante o uso da câmara de Neubauer (hemocitômetro), foram feitas as estimativas das concentrações desejadas.

4.6 - Avaliação dos resultados

A avaliação dos resultados foi feita através da interpretação dos testes de germinação, de acordo com as REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES (BRASIL, Min. Agric., 1967).

O critério seguido para a interpretação dos resultados encontra-se na Tabela 3 . Para o cálculo da porcentagem de germinação foram computados os "seedlings" normais, ou seja, aqueles com potencialidade de continuar o seu desenvolvimento e ser tornar uma planta normal.

Para os testes conduzidos a 20°C e a 30°C , foram feitas duas leituras, aos cinco e nove e aos quatro e sete dias, respectivamente.

Para o "cold test", a leitura foi feita decorridos nove dias a 10°C , seguidos de três dias a 30°C , portanto no 12º dia.

Todos os experimentos foram analisados estatisticamente, sendo os dados, em número de sementes germinadas por repetição, transformados em raiz quadrada. A análise estatística encontra-se detalhadamente esquematizada no apêndice.

TABELA 3 - Critério adotado para a interpretação dos testes de germinação para milho, *Zea mays* L., segundo as REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES (BRASIL, Min. Agric., 1967).

Plântulas Normais	Plântulas Anormais
Possuem as seguintes estruturas essenciais:	Plântulas que apresentam os seguintes defeitos:
1 - Um sistema radicular bem desenvolvido, no qual esteja presente a raiz primária, ou em que existam pelo menos duas raízes adventícias.	1 - Sem raiz primária e sem raízes secundárias ou adventícias bem desenvolvidas.
2 - Uma plúmula intacta com uma folha verde bem desenvolvida no interior do coleoptilo, ou emergindo deste.	2 - Coleoptilo sem plúmula verde.
3 - Raiz primária danificada, mas possuindo várias raízes secundárias suficientemente longas e vigorosas, para atender às necessidades das plantas no solo.	3 - Plúmula curta, atingindo apenas metade da altura do coleoptilo.
4 - Plântulas com uma lesão ou machucadura superficial, cuja área seja limitada e não afete os tecidos condutores.	4 - Plúmula partida ou com rachadura longitudinal, com ou sem abertura do coleoptilo.
5 - Plântulas que tenham sido infectadas por fungos ou bactérias, desde que as estruturas essenciais não estejam danificadas e haja aptidão para o estabelecimento no campo.	5 - Parte aérea delgada, descorada ou hialina.
	6 - Parte aérea fraca e engrossada.
	7 - Plúmula apodrecida.
	8 - Plântulas inteiramente brancas.
	9 - Plântulas infeccionadas, nas quais uma ou todas as estruturas essenciais estejam de tal maneira afetadas, que impeçam o seu desenvolvimento normal.

4.7 - Testes e experimentos

4.7.1 - Teste padrão de germinação

Este teste visou a obtenção de informações sobre a germinação das sementes em condições favoráveis de laboratório, e foi conduzido de acordo com as recomendações das REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES (BRASIL, Min. Agric., 1967), com exceção do número total de sementes.

Utilizando como substrato rolo de papel toalha, 200 sementes de cada cultivar, em quatro repetições de 50, foram postas a germinar à temperatura constante de 30°C.

4.7.2 - Teste de vigor - "envelhecimento rápido"

O teste de vigor foi utilizado para complementar as informações obtidas no teste de germinação padrão. O método escolhido submete as sementes a condições extremamente desfavoráveis e provoca a deterioração rápida das mesmas, a não ser que elas resistam, e no posterior teste de germinação germinem e tenham condições de se estabelecer no campo (CASAGRANDE, 1970).

Para a condução deste teste foi usada uma câmara "DE LED", regulada para 42°C e umidade relativa em torno de 100%. Durante cinco dias, 200 sementes de cada cultivar, em quatro repetições de 50, foram submetidas às condições do teste de vigor. Findo esse prazo, as sementes imediatamente foram postas a germinar a 30°C, em papel toalha, sendo a

avaliação feita no quinto dia a partir da sementeira. A interpretação do teste, em porcentagem de germinação, foi feita de acordo com a Tabela 3, mencionada no item 3.6.

4.7.3 - Efeito da temperatura e substrato na germinação de sementes de dois cultivares de milho. Experimentos I e II

a - Germinação das sementes

Utilizando sementes de dois cultivares, IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, foram conduzidos testes de germinação às temperaturas de 10°C, "cold test", 20°C e 30°C.

Para cada um dos testes conduzidos nas temperaturas mencionadas, as sementes, desinfetadas superficialmente, foram submetidas à germinação em diferentes procedimentos, conforme mencionado a seguir:

- 1 - As sementes foram colocadas para germinar em papel toalha contendo solo naturalmente infestado, proveniente de um campo cultivado com milho;
- 2 - As sementes foram colocadas para germinar em papel toalha;
- 3 - As sementes, previamente tratadas com Arasan, foram colocadas para germinar em papel toalha contendo solo, num procedimento semelhante ao descrito para o primeiro substrato.

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial 2 x 3 x 3, com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento.

O experimento foi repetido, com um intervalo de 70 dias, tendo sido denominados de Experimento I e Experimento II.

b - Microorganismos associados às sementes e plântulas

Esta etapa do trabalho compreendeu o isolamento dos microorganismos associados às sementes não germinadas e plântulas com sintomas, e identificação desses microorganismos. O levantamento foi efetuado para os Experimentos I e II.

O procedimento para o isolamento dos microorganismos foi baseado na utilização das próprias sementes de milho utilizadas como iscas e submetidas à germinação em solo naturalmente infestado.

Após a interpretação dos testes de germinação mencionados no item anterior, as sementes não germinadas e fragmentos de tecidos das plântulas com lesões foram plaqueados para isolamento dos microorganismos patogênicos presentes. Esse material, primeiramente foi lavado em água corrente. Em seguida foi feita a desinfecção superficial dos tecidos em solução aquosa de hipoclorito de sódio, durante cinco minutos no caso de sementes, e dois minutos no caso de tecidos lesionados de plântulas. Após essa desinfecção o material foi transferido para placas de Petri contendo os substratos abaixo relacionados, nos quais procurou-se isolar os patógenos.

1 - Agar-água (agar 20 g ; água destilada 1 litro).

2 - Meio de NASH-SNYDER (1962) - meio seletivo para fungos do gênero *Fusarium* (peptona 15 g ; agar 20 g ; KH_2PO_4 1 g ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g ; sulfato de estreptomicina 300 ppm ; PCNB 750 ppm ; água destilada 1 litro).

O PCNB foi utilizado na forma do produto comercial Brassicol com 75% de princípio ativo, e foi adicionado ao meio após a autoclavagem deste, em forma de solução alcóolica (750 mg de Brassicol/1 litro de etanol), na razão de 1 ml por 1.000 ml de meio de cultura.

3 - Meio de VAARTAIA (1968) - meio seletivo para fungos pitiáceos (sacarose 2 g ; agar 20 g ; extrato de levedura 0,2 g ; K_2HPO_4 0,7 g ; KNO_3 1 g ; $CaCO_3$ 0,5 g ; pimaricina 100 ppm ; sulfato de estreptomicina 30 ppm ; PCNB 70 ppm ; água destilada 1 litro).

O PCNB foi adicionado ao meio após a autoclavagem, de maneira semelhante à descrita anteriormente.

A pimaricina foi utilizada na forma do produto comercial Pimaruficin , e em suspensão em água estéril foi assepticamente adicionada ao meio esterilizado, quando a temperatura deste se encontrava ao redor de 45°C .

4 - Isca de sementes de cânhamo em água estéril (duas sementes de cânhamo por placa de Petri contendo 15 ml de água estéril). Esta técnica foi utilizada numa segunda tentativa para detectar fungos pitiáceos ou outros ficomicetos aquáticos patogênicos.

O material pertencente a cada tratamento foi plaqueado separadamente. Esse material foi dividido em três partes, sendo uma delas colocada no substrato agar-água, uma segunda parte no substrato de NASH-SNYDER, a terceira parte foi dividida em duas, uma delas colocada no substrato de VAARTAIA e a outra em água contendo sementes de cânhamo.

A purificação de colônias dos microorganismos foi feita mediante repicagens para placas de Petri contendo meio de BDA (batata 200 g ; dextrose 20 g ; agar 20 g). As culturas puras obtidas foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio inclinado de BDA , e mantidos em condições ambientes até ser feita a identificação.

Os fungos que apresentavam estruturas de reprodução facilmente identificáveis foram identificados através da observação direta de lâminas contendo as estruturas do microorganismo. Nos casos em que não foi possível identificar pela simples observação de lâminas preparadas com as estruturas do microorganismo, foi utilizada a técnica do cultivo em bloquinho de agar, como segue: primeiramente cada placa de Petri, forrada com papel de filtro e contendo no seu interior um suporte, uma lâmina e uma lamínula, foi esterilizada. Asepticamente, foi transferido para a lâmina colocada sobre o suporte, um bloquinho retangular de BDA previamente esterilizado. A seguir, o bloquinho foi inoculado com o microorganismo a ser identificado, e coberto com a lamínula contida na placa. Para manter a umidade, em cada placa foram pipetados 10 ml de água estéril. Após quatro a cinco dias, a lamínula contendo as estruturas do fungo a ela aderentes foi transferida para lâmina contendo uma gota de corante, sendo então feita a identificação ao microscópio.

4.7.4 - Efeito da temperatura, substrato e concentração de inóculo de *F. moniliforme* sobre a germinação de sementes. Experimentos III e IV.

Nestes experimentos foi investigado o efeito da temperatura, substrato e concentração de inóculo na interação milho-*F. moniliforme* nas fases iniciais da germinação da semente.

Foram utilizadas sementes do híbrido IAC-HMD 7974 em dois tipos de substratos (papel toalha e papel toalha mais solo esterilizado), sendo os testes conduzidos às temperaturas de 20°C e 30°C e nas condições do "cold test".

No substrato papel toalha mais solo esterilizado, as sementes desinfectadas superficialmente, foram colocadas em contacto com o solo. Sobre cada semente foi adicionado aproximadamente 0,12 ml do inóculo de *F. moniliforme* previamente padronizado para 10^2 , 10^4 e 10^6 conídios/ml. Como testemunha foi utilizada água destilada e esterilizada, a qual foi adicionada às sementes, da mesma maneira e em quantidade semelhante àquela usada para o inóculo.

No substrato papel toalha, as sementes, também desinfectadas superficialmente, após receberem o inóculo foram postas a germinar, diferindo do procedimento anteriormente descrito apenas por não utilizar o solo.

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial $2 \times 3 \times 4$, com três repetições de 50 sementes para cada tratamento.

O experimento foi realizado em duas épocas diferentes, espaçadas entre si por 60 dias, tendo sido denominados de Experimento III e Experimento IV.

4.7.5 - Comportamento de diferentes cultivares de milho germinando em presença de *F. moniliforme*. Experimento V.

Com base nas informações obtidas nos experimentos anteriores, foi escolhido o tratamento (combinação da temperatura, substrato e concentração de inóculo) que permitiu uma melhor discriminação entre as interações planta-patógeno.

Os cultivares de milho utilizados acham-se relacionados com os resultados obtidos.

Para testar o comportamento dos diferentes cultivares quanto à interação milho-*F. moniliforme*, foram conduzidos testes de germinação nas condições do "cold test", utilizando como substrato papel toalha mais solo esterilizado e as concentrações de inóculos de 0 (zero) e 10^6 confídios/ml, sendo que a primeira se refere à testemunha.

Sobre cada semente desinfetada superficialmente, colocada sobre o substrato mencionado, foi adicionado aproximadamente 0,12 ml do inóculo previamente padronizado. Para a concentração de inóculo zero (testemunha), foi utilizada água destilada e esterilizada.

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial 2×11 , com três repetições de 50 sementes para cada tratamento.

5 - RESULTADOS

5.1 - Teste padrão de germinação

5.1.1 - Para Experimentos I , II , III e IV

Os resultados obtidos e a análise da variância para o teste padrão de germinação realizado com as sementes dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, ambos da safra de 1973/74 , encontram-se respectivamente nas Tabelas 1 e 2 do apêndice. O teste foi realizado em agosto de 1974.

A análise da variância não revelou diferenças significativas entre a germinação das sementes dos dois cultivares testados.

As médias referentes à contagem de germinação transformadas em raiz quadrada foram: 6,999 e 6,964 , respectivamente para os cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX , com um coeficiente de variação de 0,726.

5.1.2 - Para Experimento V

Os resultados obtidos para o teste padrão de germinação realizado para os cultivares utilizados no Experimento V e a análise da variação para os dados correspondentes à germinação das sementes são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 3 e 4 do apêndice. O teste foi realizado em dezembro de 1975.

A análise da variância revelou diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação das sementes dos diferentes cultivares testados.

Os dados referentes à contagem média de germinação transformados em raiz quadrada são apresentados na Tabela 4 .

O teste de Tuckey, com um Δ igual a 0,229 , revelou diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade entre as médias obtidas para o COMPOSTO A e aquelas obtidas para PIRANÃO , IAC-HMD 7974 sa fra 1974/75 , IAC-MAYA XII e CENTRALMEX , sendo que estes últimos não diferiram significativamente entre si.

TABELA 4 - Contagens de germinação obtidas para o teste padrão de germinação realizado com os cultivares utilizados no Experimento V .

Cultivar	Sementes Germinadas (média para dados transformados)
IAC-MAYA XII	7,036 ^{a/}
IAC - HMD 7974	6,999
PIRANÃO	6,982
IAC - 1 XI	6,964
IAC - HMD 7974	6,950
IAC - 1 O ₂ VI	6,946
IAC - PHOENYX 1211	6,928
IAC - PHOENYX O ₂ 66	6,909
IAC - HMO 6999 B	6,874
COMPOSTO B	6,873
IAC-MAYA O ₂ VI	6,873
COMPOSTO A	6,745

C. V. = 1,662

^{a/} Dados médios referentes a quatro repetições de 50 sementes cada.

5.2 - Teste de vigor - "envelhecimento rápido"

5.2.1 - Para Experimentos I , II , III e IV

Os resultados obtidos e a análise da variância para o teste de vigor realizado em agosto de 1974 , utilizando sementes dos cultivares

IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, ambos da safra de 1973/74, encontram-se, respectivamente nas Tabelas 5 e 6 do apêndice.

A análise da variância revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre a capacidade germinativa das sementes dos dois cultivares, quando submetidas ao teste de vigor pelo método do "envelhecimento rápido".

As médias, para a germinação referentes aos dados transformados em raiz quadrada foram, respectivamente, 5,446 e 6,480 para os cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, com um coeficiente de variação de 10,485.

5.2.2 - Para Experimento V

Nas Tabelas 7 e 8 do apêndice são apresentados, respectivamente, os resultados obtidos e a análise da variância para a germinação das sementes dos diferentes cultivares quando submetidas ao teste de vigor, realizado em dezembro de 1975.

A análise da variância revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para a capacidade germinativa das sementes nas condições em que o teste foi realizado.

As médias dos dados obtidos, transformados em raiz quadrada, são apresentadas na Tabela 5.

O teste de Tuckey, com um Δ igual a 0,793, revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação observada para o cultivar CENTRALMEX e aquela obtida para IAC-HMD 7974 de ambas as safras, COMPOSTO A, IAC - PHOENYX 0₂66 e IAC - 1 0₂VI.

TABELA 5 - Médias dos dados obtidos para o teste de vigor - "envelhecimento rápido" realizado com os cultivares utilizados no Experimento V.

Cultivar	Sementes Germinadas (média para dados transformados)
IAC - PHOENYX 1211	6,403 ^{a/}
PIRANÃO	6,300
COMPOSTO B	6,180
IAC - 1 XI	6,071
IAC - MAYA XII	5,859
IAC - MAYA 0 ₂ VI	5,829
IAC - HMD 6999 B	5,742
IAC - HMD 7974	5,520
COMPOSTO A	5,518
IAC - PHOENYX 0 ₂ 66	5,442
IAC - 1 0 ₂ VI	5,168
IAC - HMD 7974	5,021

C. V. = 8,899

^{a/} Dados médios de quatro repetições de 50 sementes cada.

5.3 - Efeito da temperatura e do substrato na germinação de dois cultivares de milho. Experimentos I e II

5.3.1 - Germinação das sementes

Os dados obtidos para os Experimentos I e II são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 9 e 10, do apêndice, enquanto que as

análises da variância para os dados transformados dos Experimentos I e II são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 11 e 12 , também do apêndice.

As médias por tratamento, referentes aos dados de contagem de germinação transformados em raiz quadrada, são apresentados nas Tabelas 6 e 7 , respectivamente para os Experimentos I e II.

Para cultivares, a análise da variância para o Experimento I não revelou diferenças significativas, enquanto que no Experimento II , foram detectadas diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade.

As médias, em dados transformados, obtidas para os dois cultivares no Experimento II foram 6,7652 para CENTRALMEX e 6,7066 para IAC-HMD 7974.

Com referência ao efeito das temperaturas sobre a germinação de sementes, a análise da variância revelou um efeito altamente significativo tanto no Experimento I como no Experimento II. As médias obtidas, em dados transformados, para o "cold test", 20° e 30°C foram, respectivamente, 6,4261 , 6,8241 e 6,9576 para o Experimento I e 6,3884 , 6,8197 e 6,9271 para o Experimento II. O teste de Tuckey, ao nível de 1% de probabilidade, com um Δ igual a 0,1145 para o primeiro experimento e um Δ igual a 0,0880 para o segundo experimento, revelou diferenças significativas para a germinação nas três diferentes temperaturas.

TABELA 6 - Médias obtidas por tratamento, referentes aos dados obtidos para contagem de germinação transformados em raiz quadrada, para os dois cultivares utilizados no Experimento I

Cultivares	Substrato	a/	Germinação das Sementes		
			"Cold test"	20°C	30°C
IAC-HMD 7974	1		5,3582	6,4744	6,8744
	2		6,7999	7,0365	6,9822
	3		6,8551	6,9997	6,9825
CENTRALMEX	1		5,9990	6,3822	6,9101
	2		6,7261	7,0361	7,0183
	3		6,8189	7,0182	6,9830

C. V. = 6,6092

Δ (Tuckey) a 1% = 0,3905

- a/
- 1 - Substrato papel toalha mais solo naturalmente infestado
 - 2 - Substrato papel toalha (testemunha)
 - 3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

Para o efeito dos substratos sobre a germinação de sementes dos dois cultivares, a análise da variância revelou diferenças altamente significativas em ambos os experimentos. As médias em dados transformados, para a germinação dos substratos 1) papel toalha mais solo naturalmente infestado ; 2) papel toalha e 3) substrato semelhante ao primeiro, utilizando-se no entanto sementes tratadas foram, respectivamente, 6,3327 , 6,9326 e 6,9424 para o Experimento I e 6,2932 , 6,9117 e 6,9303 para o Experimento II . O teste de Tuckey, ao nível de 1% de probabilidade, com um Δ igual a 0,1145 para o primeiro experimento e um Δ igual

a 0,0880 para o segundo experimento, revelou diferenças significativas entre a germinação de sementes não tratadas em solo naturalmente infestado e aquela ocorrendo nos substratos papel toalha e papel toalha mais solo naturalmente infestado, sendo que neste caso as sementes foram tratadas com fungicidas.

TABELA 7 - Média dos dados referentes a contagem de germinação obtidos por tratamento, e transformados em raiz quadrada, para os dois cultivares utilizados no Experimento II

Cultivares	Substrato ^{a/}	Germinação das Sementes		
		"Cold test"	20°C	30°C
IAC-HMD 7974	1	5,1227	6,3824	6,7990
	2	6,8004	6,9997	6,9461
	3	6,8192	6,9822	6,9639
CENTRALMEX	1	6,0820	6,5191	6,8550
	2	6,7244	7,0188	6,9820
	3	6,7827	7,0188	7,0175

C. V. = 6,9643

Δ (Tuckey) 1% = 0,3001

- ^{a/}
- 1 - Substrato papel toalha mais solo naturalmente infestado
 - 2 - Substrato papel toalha
 - 3 - Substrato 1 (sementes tratadas).

Para a interação cultivares x temperaturas, a análise da variância revelou diferenças significativas, aos níveis de 5% e 1% de probabi-

lidade, respectivamente, nos Experimentos I e II.

As análises da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação cultivares x temperaturas e cultivares, para os Experimentos I e II são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 13 e 14 do apêndice. As análises da variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação dos dois cultivares durante o "cold test", não tendo sido observadas diferenças significativas na germinação dos dois cultivares nas temperaturas de 20°C e 30°C.

As médias para a germinação dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX na temperatura de 10°C foram, respectivamente, 6,3377 e 6,5144 para o Experimento I e, 6,2474 e 6,5294 para o Experimento II.

Com relação à interação cultivares x substratos, as análises da variância revelaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade para ambos os experimentos.

As análises da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação cultivares x substratos e aqueles referentes a cultivares, para os Experimentos I e II, são apresentadas, respectivamente nas Tabelas 15 e 16 do apêndice. As análises da variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação das sementes não tratadas dos dois cultivares no substrato constituído de papel toalha mais solo naturalmente infestado, não tendo sido observadas diferenças significativas para a germinação dos cultivares nos demais substratos.

As médias para a germinação dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, no substrato papel toalha mais solo naturalmente infestado e utilizando sementes não tratadas foram respectivamente 6,2354 e 6,4300 para o Experimento I e 6,1013 e 6,4851 para o Experimento II.

No tocante à interação substratos x temperaturas, as análises da variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, em ambos os experimentos.

As análises da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação substratos x temperaturas mais aqueles devidos a substratos, para os Experimentos I e II são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 17 e 18 do apêndice.

As análises da variância revelaram diferenças significativas para a germinação das sementes nos diferentes substratos dentro das diferentes temperaturas, nos Experimentos I e II, com exceção para substratos dentro da temperatura de 30°C no Experimento I.

As médias para a germinação das sementes nos diferentes substratos, nas três temperaturas, para os dois experimentos, são apresentadas na Tabela 8.

O teste de Tuckey, com um Δ igual a 0,1983 para o Experimento I e um Δ igual a 0,1524 para o Experimento II, revelou diferenças significativas entre as germinações observadas nos três substratos nas condições do "cold test", nos dois experimentos. Foi observada também uma diferença significativa entre a germinação obtida no substrato papel toalha mais solo naturalmente infestado, e aquelas observadas no substrato

papel toalha e no substrato contendo solo infestado mas utilizando semente tratadas nas temperaturas de 20°C , nos dois experimentos. Diferença semelhante à descrita foi observada também para a temperatura de 30°C, no Experimento II.

TABELA 8 - Médias obtidas para a germinação das sementes nos diferentes substratos e temperaturas utilizadas nos Experimentos I e II

Substratos	Temperaturas					
	Experimento I			Experimento II		
	"Cold test"	20°C	30°C	"Cold test"	20°C	30°C
1 (*)	5,6784	6,7628	6,8369	5,6023	6,7624	6,8004
2	6,4282	7,0354	7,0086	6,4504	7,0087	6,9998
3	6,8914	6,9996	6,9818	6,8268	6,9638	6,9907

(*) 1 = Papel toalha mais solo naturalmente infestado

2 = Papel toalha

3 = Papel toalha mais solo naturalmente infestado (sementes tratadas)

5.3.2 - Microorganismos associados às sementes e "seedlings"

Os resultados obtidos no levantamento realizado são apresentados na Tabela 9 . Os resultados, em porcentagem de microorganismos isolados referem-se ao número de colônias do microorganismo, em relação ao número total de colônias obtidas nos isolamentos efetuados de sementes e "seedlings" procedentes dos Experimentos I e II.

TABELA 9 - Microorganismos isolados no levantamento efetuado, utilizando material procedente dos testes de germinação conduzidos às temperaturas de 30°C , 20°C e nas condições do "cold test" referentes aos Experimentos I e II

Microorganismos Isolados	Isolados Obtidos
<i>Fusarium moniliforme</i>	52,86
<i>Fusarium</i> spp	11,55
<i>Penicillium</i> spp	9,58
<i>Aspergillus</i> spp	7,22
<i>Helminthosporium</i> spp	1,49
<i>Trichoderma</i> spp	2,49
<i>Rhizoctonia</i> spp	2,52
<i>Sclerotium</i> spp	0,25
<i>Rhizopus</i> spp	9,83
<i>Mucor</i> spp	0,12
<i>Diplodina</i> spp	0,12
<i>Nigrospora</i> spp	0,12
<i>Curvularia</i> spp	0,87
<i>Diplodia</i> spp	0,12
Não identificados	0,86

A identificação dos gêneros foi feita utilizando-se a chave de classificação de fungos imperfeitos de BARNETT (1972).

A Tabela 9 mostra que o gênero *Fusarium* foi o mais frequentemente isolado, com predominância da espécie *F. moniliforme*, representando mais da metade dos isolamentos efetuados.

F. moniliforme Sheld. foi facilmente identificado a nível de espécie, por produzir microconídios em fiáldes simples, geralmente em cadeia (BOOTH, 1971).

Também foram isolados com frequência os gêneros *Penicillium*, *Rhizopus* e *Aspergillus*, mas em proporção bastante inferior quando comparados com o gênero *Fusarium*.

Nas Tabelas 19, 20 e 21 do apêndice são apresentados os resultados referentes aos isolamentos efetuados para cada substrato, respectivamente para o "cold test", 20°C e 30°C.

Os resultados dos isolamentos efetuados nos diferentes meios de cultura são apresentados na Tabela 22, também do apêndice.

5.4 - Efeito da temperatura, substrato e concentração de inóculo de *F. moniliforme* na germinação de sementes. Experimentos III e IV

Os dados obtidos para os Experimentos III e IV são apresentados, respectivamente nas Tabelas 23 e 24 do apêndice, ao passo que as análises da variância para os referidos experimentos são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 25 e 26, também do apêndice.

As médias obtidas por tratamento são apresentadas nas Tabelas 10 e 11, respectivamente para os Experimentos III e IV.

TABELA 10 - Médias dos dados referentes a contagem de germinação transformados em raiz quadrada, obtidas para o cultivar IAC-HMD 7974 , safra 1973/74 , utilizado no Experimento III

Substrato	Concentração de inóculo (con/ml)	Germinação das sementes		
		Temperaturas		
		"Cold test"	20°C	30°C
(Papel toalha + Solo esterilizado)	0	6,8553	7,0233	6,9993
	10 ²	6,4436	6,6823	6,8300
	10 ⁴	6,3763	6,6076	6,9520
	10 ⁶	5,9686	6,3770	6,7810
(Papel toalha)	0	6,5570	6,8759	6,8536
	10 ²	6,1340	6,7326	6,7076
	10 ⁴	6,1886	6,6573	6,4710
	10 ⁶	6,1363	6,4260	6,5520

C.V. = 5,0861

Δ (Tuckey) 1% = 0,7232

As análises da variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, para a germinação das sementes nos diferentes substratos no Experimento III , sendo que no Experimento IV não foram reveladas diferenças significativas para o efeito de substratos. As médias para a germinação das sementes nos substratos 1) papel toalha mais solo esterilizado e 2) papel toalha, no Experimento III foram, respectivamente, 6,6580 e 6,5326.

TABELA 11 - Médias dos dados referentes a contagem de germinação transformados em raiz quadrada, obtidas para o cultivar IAC-HMD 7974 , safra 1973/74 , utilizado no Experimento IV

Substrato	Concentração de inóculo (con/ml)	Germinação das Sementes		
		Temperaturas		
		"Cold test"	20°C	30°C
1 (Papel toalha + Solo esterilizado)	0	6,9040	7,0473	6,9026
	10 ²	6,7573	6,7323	6,8059
	10 ⁴	6,2706	6,6576	6,9040
	10 ⁶	5,9146	6,5316	6,7803
2 (Papel toalha)	0	6,8066	6,9756	6,9520
	10 ²	6,5823	6,6829	6,7573
	10 ⁴	6,5063	6,6073	6,5800
	10 ⁶	6,3503	6,4536	6,6050
C.V. = 4,0689		Δ (Tuckey) 1% = 0,4528		

Com relação ao efeito de diferentes temperaturas na germinação das sementes, as análises de variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, nos dois experimentos. As médias obtidas para a germinação nas temperaturas correspondentes ao "cold test", 20°C e 30°C foram respectivamente, 6,3324 , 6,6852 e 6,7683 para o Experimento III e 6,5115 , 6,7110 e 6,7859 para o Experimento IV.

O teste de Tuckey, com Δ igual a 0,1762 e 0,1103 , respectivamente para os Experimentos III e IV , revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre as germinações obtidas no "cold test" e aquelas ocorrendo a 20°C e a 30°C nos dois experimentos, não tendo sido detectadas diferenças significativas entre as duas últimas temperaturas.

Para o efeito de concentrações de inóculo na germinação das sementes, a análise da variância revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para os dois experimentos. As médias obtidas para a germinação nas concentrações de inóculo de *F. moniliforme* correspondentes a 0 (testemunha) , 10^2 , 10^4 e 10^6 conídios por ml, foram, respectivamente, 6,8774 , 6,5883 , 6,5421 e 6,3734 para o Experimento III e 6,9313 , 6,7197 , 6,5876 e 6,4392 para o Experimento IV .

O teste de Tuckey, com Δ igual a 0,2188 e 0,1370 , respectivamente para os Experimentos III e IV , revelou diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, entre a germinação das sementes observada para a testemunha e aquela observada para as demais concentrações de inóculo, em ambos os experimentos. No Experimento III não foram detectadas diferenças significativas entre as germinações nas concentrações de inóculo 10^2 , 10^4 e 10^6 conídios por ml, enquanto que no Experimento IV foram notadas diferenças significativas entre a germinação obtida para a maior concentração de inóculo (10^6 con/ml) e aquelas observadas para as duas menores (10^4 e 10^2 con/ml).

As análises da variância revelaram um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para a interação substratos x temperaturas no Experimento IV.

Para o desdobramento dos graus de liberdade da interação substratos x temperaturas e aqueles referentes a substratos, as análises da variância para os Experimentos III e IV são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 27 e 28 do apêndice. Foram detectadas diferenças significativas, aos níveis de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente para os Experimentos III e IV, para o efeito de substratos dentro da temperatura de 30°C. As médias obtidas para a germinação nos substratos 1) papel toalha mais solo esterilizado e 2) papel toalha na temperatura de 30°C foram, respectivamente, 6,8905 e 6,6460 para o Experimento III e 6,8482 e 6,7235 para o Experimento IV.

Embora a análise da variância não tenha revelado um efeito significativo para a interação substratos x concentrações de inóculo, é de grande interesse o conhecimento do efeito que diferentes concentrações de inóculo possam ter sobre a germinação das sementes em diferentes substratos. Assim, foi feito o desdobramento dos graus de liberdade correspondentes à interação substratos x concentrações de inóculo e concentrações de inóculo. As análises da variância para esse desdobramento são apresentadas nas Tabelas 29 e 30 do apêndice, respectivamente, para os Experimentos III e IV.

As análises da variância revelaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para o efeito de concentração de inóculo sobre a germinação das sementes nos dois tipos de substratos utilizados,

para ambos os experimentos. As médias para a germinação das sementes nas concentrações de inóculo correspondentes a 0 (testemunha) , 10^2 , 10^4 e 10^6 confídios/ml nos diferentes substratos, para os dois experimentos, são apresentados na Tabela 12 , a seguir.

TABELA 12 - Médias obtidas para a germinação das sementes em diferentes substratos e concentrações de inóculo, para os Experimentos III e IV

Experimentos	Substratos	a/	Concentração de Inóculo (Con/ml)			
			0	10^2	10^4	10^6
III	1		0,9593	6,6519	6,6453	6,3755
	2		6,7955	6,5247	6,4389	6,3714
IV	1		6,9513	6,7652	6,6107	6,4088
	2		6,9114	6,6742	6,5645	6,4696

- a/ 1 - Substrato papel toalha mais solo esterilizado
 2 - Substrato papel toalha.

O teste de Tuckey, com Δ igual a 0,2520 e 0,1577 , respectivamente para os Experimentos III e IV , revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre a germinação das sementes ob-

servada para a testemunha (concentração de inóculo zero) e aquelas observadas nas concentrações de inóculo correspondentes a 10^2 , 10^4 e 10^6 conídios/ml, nos dois substratos utilizados, e para os dois experimentos. O teste de Tuckey também revelou diferenças significativas entre a germinação das sementes observada na concentração de inóculo mais baixa (10^2 con/ml) e aquela observada na concentração mais elevada (10^6 con/ml), nos diferentes substratos, e para ambos os experimentos.

As análises da variância revelaram uma diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade, para a interação concentrações de inóculo x temperaturas, no Experimento IV. Sendo de grande interesse o conhecimento do efeito da concentração de inóculo nas diferentes temperaturas sobre a germinação das sementes, foi feito o desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x temperaturas e aqueles devidos a concentrações de inóculo para os dois experimentos. As análises da variância para esse desdobramento são apresentadas nas Tabelas 31 e 32 do apêndice, respectivamente para os Experimentos III e IV. Foi detectado efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação das sementes observada nas diferentes concentrações de inóculo dentro do "cold test" e da temperatura de 20°C , para os dois experimentos. Também foi detectado efeito significativo, ao nível de 5% de probabilidade para a germinação observada nas diferentes concentrações de inóculo dentro da temperatura de 30°C , no Experimento IV.

As médias obtidas para a germinação das sementes nas diferentes temperaturas e concentrações de inóculo para os Experimentos III e IV são apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 - Médias obtidas para a germinação das sementes em diferentes concentrações de inóculo e temperaturas, para os Experimentos III e IV

Experimentos	Temperaturas	Concentração de Inóculo (con/ml)			
		0	10 ²	10 ⁴	10 ⁶
III	"cold test"	6,7061	6,2888	6,2824	6,0524
	20°C	6,9996	6,7074	6,6324	6,4014
	30°C	6,9264	6,7688	6,7114	6,6665
IV	"cold test"	6,8553	6,6698	6,3884	6,1324
	20°C	7,0114	6,7076	6,6324	6,4926
	30°C	6,9273	6,7816	6,7419	6,6926

O teste de Tuckey, com Δ igual a 0,3525 e 0,2207, respectivamente para os Experimentos III e IV, revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre as germinações observadas para a testemunha (concentração de inóculo zero) e aquelas observadas para as concentrações de inóculo correspondentes a 10⁴ e 10⁶ con/ml no "cold test" e a 20°C, no terceiro e quarto experimentos. Para o efeito de concentrações de inóculo dentro da temperatura de 30°C, o teste de Tuckey, com Δ igual a 0,1742, revelou diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, para as germinações observadas na testemunha e aquelas observadas nas concentrações de inóculo correspondentes a 10⁴ e 10⁶ con/ml, para o Experimento IV.

5.5 - Comportamento de diferentes cultivares de milho quando submetidos à germinação em presença de *F. moniliforme*. Experimento V

Os dados obtidos para este experimento e a respectiva análise da variância são apresentados nas Tabelas 33 e 34 do apêndice.

As médias obtidas por tratamento, são apresentadas na Tabela 14 e Figuras 1 e 2 .

A análise da variância revelou significância ao nível de 1% de probabilidade, para os efeitos de cultivares, concentrações de inóculo e a interação cultivares x concentrações de inóculo.

Com relação ao efeito de concentrações de inóculo, a análise da variância revelou diferenças significativas entre a germinação das sementes quando foi utilizada concentração de inóculo zero (testemunha) e a aquela ocorrendo para a concentração de inóculo de 10^6 confídios/ml. As médias obtidas para a testemunha e para a concentração de 10^6 confídios/ml foram, respectivamente, 6,8360 e 6,4498.

A análise da variância para ao desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x cultivares mais aqueles devidos a concentrações de inóculo é apresentada na Tabela 35 do apêndice. Foi detectado efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para a germinação das sementes dos cultivares IAC-HMD 7974 , IAC-HMD 6999 B ; IAC-PHOENYX $0_2 66$; IAC-MAYA $0_2 VI$; IAC - 1 $0_2 VI$ e COMPOSTO B e, ao nível de 5% de probabilidade para os cultivares IAC - 1 XI , PIRANÃO, e COMPOSTO A quando foram utilizadas as concentrações de inóculo zero

(testemunha) e 10^6 conídios/ml. Não foram detectadas diferenças significativas entre germinações dos cultivares IAC-PHOENYX 1211 e IAC-MAYA XII quando utilizadas as duas concentrações de inóculo.

TABELA 14 - Médias obtidas por tratamento, referentes aos dados observados para contagem de germinação transformados em raiz quadrada, para os cultivares utilizados no Experimento V

Cultivares	Germinação das Sementes	
	Concentração de Inóculo (con/ml)	
	0	10^6
IAC - PHOENYX 1211	7,0233	6,8560
IAC - MAYA XII	6,9759	6,8053
PIRANÃO	7,0233	6,7326
IAC - 1 XI	6,9033	6,6580
COMPOSTO A	6,7323	6,5003
IAC - HMD 7974	6,9516	6,4529
IAC - 1 O_2 VI	6,6826	6,3746
COMPOSTO B	6,7813	6,2703
IAC - HMD 6999 B	6,7323	6,2176
IAC - PHOENYX O_2 66	6,6580	6,0536
IAC - MAYA O_2 VI	6,7326	5,9720

C.V. = 8,3058

Δ Tuckey (1%) = 0,4174

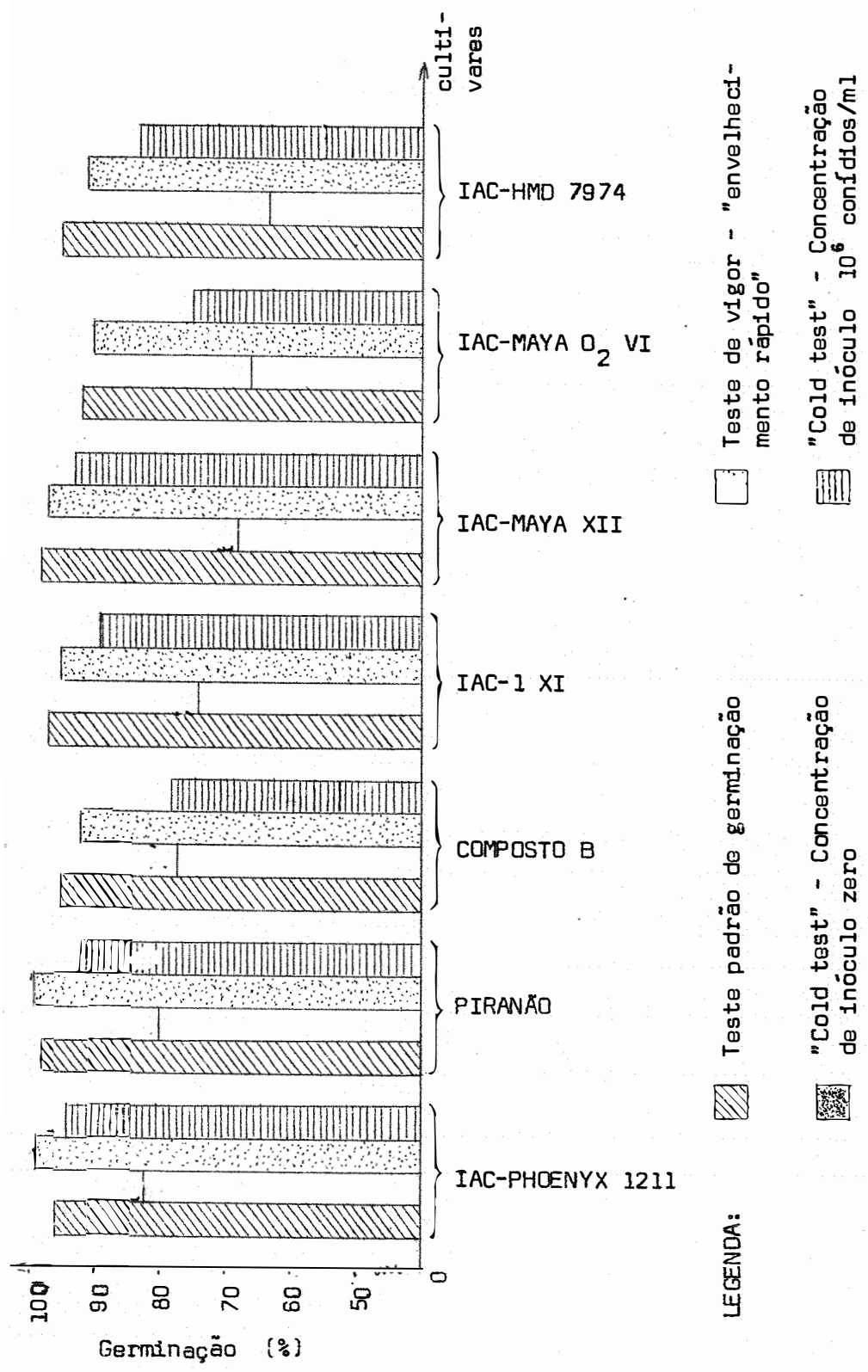
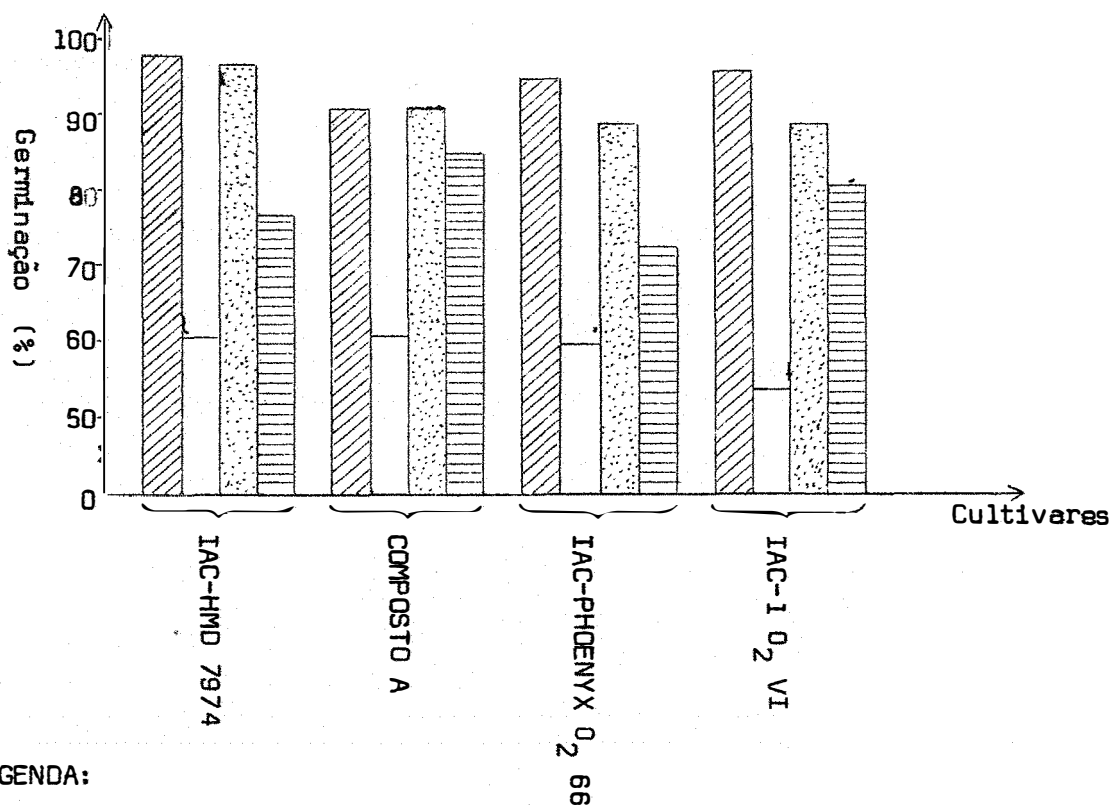


FIGURA 1 - Comparação entre a porcentagem de germinação obtida para o teste padrão de germinação, o "cold test" em solo artificialmente infestado com *F. moniliforme* e a testemunha (concentração de inóculo zero), para cultivares que não diferiram estatisticamente entre si quanto ao teste de vigor - "envelhecimento rápido".

LEGENDA:

- Teste padrão de germinação
- "Cold test" - Concentração de inóculo zero
- Teste de vigor - "envelhecimento rápido"
- "Cold test" - Concentração de inóculo 10⁶ confídios/ml



LEGENDA:





-  Teste padrão de germinação
-  Teste de vigor - "envelhecimento rápido"
-  "Cold test" - concentração de inóculo zero
-  "Cold test" - concentração de inóculo 10⁶ confídios/ml

FIGURA 2 - Comparação entre a porcentagem de germinação obtida para o teste padrão de germinação, o "cold test" em solo artificialmente infestado com *F. moniliforme* e a testemunha (concentração de inóculo zero), para cultivares que não diferiram estatisticamente entre si quanto ao teste de vigor - "envelhecimento rápido".

6 - DISCUSSÃO

Numerosos fatores governam a germinação e o desenvolvimento satisfatório de "seedling" de milho e conseqüentemente, o "stand" da cultura.

Esses fatores podem ser divididos em dois grupos: aqueles relacionados com o substrato ou o ambiente em que a germinação e os primeiros estágios do desenvolvimento dos "seedlings" se processam, incluindo patógenos, condições de fertilidade do solo, pH, etc. e aqueles relacionados diretamente com a semente. Muitos desses fatores têm sido enumerados e discutidos por vários autores (HOOKER e OICKSON, 1952 ; HOOKER, 1955).

Dessa maneira, ao se pensar em fazer qualquer tipo de pesquisa fitopatológica envolvendo a utilização de sementes, é imprescindível que se procure antes de mais nada, obter informações referentes ao estado em que as sementes se encontram, ou seja, seu potencial germinativo em condições favoráveis e o seu comportamento sob condições desfavoráveis. Essas informações são básicas, e sem elas não se pode chegar a nenhuma conclusão objetiva.

Assim, o primeiro passo tomado no presente trabalho foi determinar a capacidade germinativa das sementes através de um teste padrão de germinação, bem como o vigor das mesmas, através do teste de "envelhecimento rápido".

Estes testes revelaram que as sementes dos diferentes cultivares variaram no seu comportamento quando submetidas ao teste padrão e ao teste de vigor. Então este fato deve ser tomado como base, permitindo a comparação entre si das sementes dos cultivares que comportaram de maneira semelhante nesses testes preliminares.

6.1 - Efeito da temperatura e do substrato na germinação de dois cultivares de milho. Experimentos I e II

Com relação ao efeito de diferentes temperaturas e substratos na germinação dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, os resultados obtidos revelaram que os cultivares, quando comparados entre si, variaram

no seu comportamento quanto a germinação, nos dois experimentos. Este fato muito provavelmente, pode ser atribuído a um envelhecimento natural da semente, uma vez que o Experimento II foi realizado 70 dias após o Experimento I. Esta hipótese é consubstanciada pelas observações feitas por DUNGAN e KOEHLER (1944) e GILL e DELOUCHE (1973), que evidenciaram a importância do armazenamento conveniente das sementes, a fim de que a deterioração se processe o mais lentamente possível. Os mesmos autores correlacionaram ainda o "stand" insatisfatório de culturas originárias de sementes de baixo vigor devido à idade, com a maior predisposição aos patógenos do solo. Além disso, é necessário levar em consideração que o próprio histórico da semente, ou seja, condições climáticas durante a sua produção, tipo de colheita, secagem, umidade da semente por ocasião da colheita, etc, podem influir no vigor da mesma. Não se levando em consideração esses fatos, à primeira vista poder-se-ia afirmar erroneamente que o cultivar IAC-HMD 7974, por ter apresentado menor valor para germinação em presença de solo infestado que o cultivar CENTRALMEX, é mais susceptível do que este. No entanto, examinando os resultados do teste de vigor, verifica-se que o vigor do cultivar IAC-HMD 7974 estava mais baixo do que o do cultivar CENTRALMEX, o que não permite comparar os dois cultivares quanto à resistência. Essas observações estão de acordo com aquelas feitas por PINNEL (1949) e MOORE (1968), que comprovaram serem as sementes de milho de baixo vigor mais susceptíveis ao ataque de patógenos causadores de "damping-off".

O efeito adverso de temperaturas baixas sobre a germinação das sementes ficou evidenciado nos resultados obtidos. Este fato, já conhecido na literatura, vem reforçar a importância que se deve dar ao papel que a temperatura exerce por ocasião da germinação das sementes. Sendo os dois cultivares utilizados nos experimentos comumente plantados em larga escala no Estado de São Paulo, e considerando que temperaturas como 18-20°C são de ocorrência frequente por ocasião do plantio de milho, é provável que o rendimento das culturas, em consequência de baixos "stands", possa ser severamente afetado.

Os resultados obtidos com referência ao efeito de diferentes substratos revelaram que a germinação de sementes não tratadas com fungicida em solo naturalmente infestado, resultante do cultivo continuado de milho num mesmo terreno, pode ser seriamente prejudicada. Observações semelhantes foram feitas por DJAKAMIHARDJA *et alii* (1970) ; GILL e SINGH (1970) e SALLANS (1965) , que consideram de extrema importância a utilização de práticas culturais que visem diminuir o potencial de inóculo do solo. Desse modo, uma das medidas recomendadas seria a não utilização de plantio continuado por muito tempo num mesmo terreno.

Ainda os resultados dos Experimentos I e II revelaram que o efeito adverso da microflora patogênica do solo pode ser evitado mediante o tratamento químico das sementes. Assim, o tratamento com fungicidas pode ser recomendado como uma medida de segurança para sementes que venham a ser plantadas em solos contendo um razoável potencial de inóculo. HOPPE (1949) ; HOPPE (1958) e MOHAMED *et alii* (1968.a) observaram dados concordantes com aqueles obtidos nos testes, e recomendaram o tratamento de se-

mentes como uma medida que deve ser adotada tendo em vista aumentar as chances de uma boa germinação mesmo em presença de solo infestado.

O estudo da interação cultivares x temperaturas revelou diferenças na germinação dos dois cultivares utilizados, nas condições menos favoráveis à germinação das sementes "cold test". Esse fato pode ser explicado levando-se em consideração o menor vigor das sementes do cultivar IAC-HMD 7974, já mencionado anteriormente. LEACH (1947); HASKELL (1948) e MOHAMED *et alii* (1967) atribuem à temperatura baixa a principal causa de baixo "stand" em culturas de milho, por permitirem ao "seedling" ficar mais tempo em estágio susceptível em contacto com os fungos do solo. Provavelmente essa deve ser uma das razões pelas quais nas condições do "cold test" em solo infestado foram obtidos os menores valores para a germinação para ambos os cultivares.

A análise do efeito da interação cultivares x substratos revelou que os cultivares diferiram quanto à germinação em presença de solo naturalmente infestado. Este fato poderia ser atribuído a diferenças genéticas quanto à maior ou menor capacidade de as sementes germinarem em presença de uma microflora patogênica. No entanto, é preciso novamente lembrar que as sementes do cultivar IAC-HMD 7974 estavam com vigor mais baixo, o que não permite afirmar que o cultivar CENTRALMEX é mais resistente.

A interação substratos x temperaturas evidenciou o efeito que as diferentes temperaturas utilizadas possam ter sobre a atuação da microflora patogênica do solo e dos prováveis microorganismos veiculados pela semente. Os dados revelaram que o efeito do solo naturalmente infestado foi

mais severo a temperaturas baixas representadas pelas condições do "cold test" e 20°C . Muitos autores atribuem esse aumento da severidade da doença à grande quantidade de exudatos radiculares liberados na rizosfera das sementes quando estas são submetidas à germinação a temperaturas sub-ótimas (SCHROTH e HILDEBRAND, 1964 ; PARKINSON e PEARSON, 1965 ; VANCURA , 1967 e SCHULZ e BATEMAN, 1969). Esses exudatos, comprovadamente liberados em maiores quantidades a baixas temperaturas, aliados ao fato de as sementes germinarem lentamente nessas temperaturas desfavoráveis, e permanecendo portanto mais tempo em estágio susceptível à mercê dos patógenos presentes, ou no solo ou na rizosfera, podem ser responsáveis pelos resultados observados.

O levantamento dos microorganismos associados às sementes e "seedlings", provenientes dos Experimentos I e II aponta o gênero *Fusarium* como o mais frequentemente isolado, predominando a espécie *F. moniliforme*. Esse fungo é considerado na literatura como um dos patógenos envolvidos em "damping-off" de "seedlings" de milho. MOHAMED *et alii* (1967) ; MOHAMED *et alii* (1968.a) e FUTRELL e KILGORE (1969) atribuem a *F. moniliforme* a principal causa de baixos "stands" em culturas de milho, por causar podridões de sementes e morte de "seedlings". Sendo assim, muito provavelmente *F. moniliforme* , frequentemente isolado de sementes e "seedlings" de milho, é o principal causador de redução da porcentagem de germinação observada nos testes realizados. Os demais microorganismos isolados com certa frequência, devem estar envolvidos no complexo da doença, uma vez que são apontados na literatura como causadores de morte de "seedlings" de milho.

6.2 - Efeito de diferentes temperaturas, substratos e concentrações de inóculo de *F. moniliforme* na germinação das sementes.
Experimentos III e IV

Os substratos 1) papel toalha mais solo esterilizado e 2) papel toalha, foram utilizados considerando-se por um lado um possível efeito da solução do solo sobre o desenvolvimento do fungo, como também no desenvolvimento dos "seedlings" no primeiro substrato, ao passo que o segundo substrato serviria como testemunha para possíveis patógenos veiculados pelas sementes. O efeito para substratos não foi consistente nos dois experimentos.

O estudo do efeito de diferentes temperaturas sobre a germinação das sementes confirmou o efeito adverso que temperaturas baixas têm sobre a germinação de semente de milho.

Com relação ao efeito da concentração do inóculo, foi observado que os isolados do patógeno foram utilizados em concentrações capazes de afetar adversamente a germinação das sementes, e que portanto, os níveis de concentração do inóculo foram suficientemente altos para que o seu efeito fosse detectado. Os experimentos revelaram que existe uma tendência para aumento da severidade da doença, comprometendo seriamente a germinação das sementes, à medida em que aumenta a concentração de conídios na suspensão do inóculo. Este fato reforça as observações encontradas na literatura com respeito ao papel que o potencial de inóculo exerce sobre o complexo de doenças do tipo "damping-off" de "seedlings" de milho. LEACH (1947) aponta o potencial de inóculo, juntamente com a

temperatura, a susceptibilidade do hospedeiro e a umidade do solo como os principais fatores envolvidos nesse tipo de doença.

A interação substratos x temperaturas indicou que a temperaturas mais baixas ("coud test", 20°C) , o efeito do patógeno sobre a germinação das sementes não foi influenciado pelo substrato utilizado. Somente à temperatura de 30°C foi observado um efeito do substrato, sendo as médias obtidas quando da utilização do substrato papel toalha mais solo este rilizado sempre superiores àquelas obtidas para o substrato papel toalha. Muito provavelmente, houve neste caso um efeito benéfico do solo, em adição às condições de temperatura mais favoráveis ao desenvolvimento dos "seedlings". Esse resultado demonstra que o tipo de substrato usado também pode influir na germinação de sementes a temperaturas mais elevadas.

Na interação substratos x concentrações de inóculo foi possível observar que, para os dois substratos e nos dois experimentos os valores obtidos para a germinação nas testemunhas (concentração de inóculo igual a zero confídios/ml) , sempre diferiram dos valores obtidos para as demais concentrações, e que, com exceção de um caso, a concentração correspondente a 10^2 confídios/ml sempre diferiu daquela correspondente a 10^6 confídios/ml. Isto evidencia a possibilidade de se aumentar o rigor em testes para a seleção de "seedlings" que germinem em presença do patógeno, em ambos os tipos de substratos utilizados, à medida em que se aumenta a concentração de inóculo. No entanto, estudos futuros com relação ao melhor potencial de inóculo a ser usado num teste dessa natureza são altamente desejáveis. Isso porque deve-se levar em conta a observação feita

por HOOKER (1955) a esse respeito, quando chamou a atenção para a dificuldade de padronização de testes para esse tipo de seleção. Um teste drástico demais, poderia resultar em descarte de certos genótipos do hospedeiro, que talvez produzissem "stands" satisfatórios em solos onde a microflora fitopatogênica fosse diferente. Da mesma maneira, um teste não muito rigoroso poderia considerar como resistentes certos genótipos que, na verdade, poderiam não apresentar os resultados esperados onde ocorressem espécies patogênicas com elevado potencial de inóculo.

Quanto à interação concentrações de inóculo x temperaturas foi observado que, com exceção das concentrações de inóculo dentro da temperatura de 30°C no Experimento III, nos demais casos ficou patente que a germinação foi afetada pelas diferentes concentrações de inóculo utilizadas nas diferentes temperaturas.

Este fato pode ser, provavelmente, explicado pelas opiniões de HOOKER e DICKSON (1952) e ANDREW (1952), segundo os quais, à temperatura de 30°C, ótima para o crescimento da planta, a germinação se processa rapidamente e o "seedling" também se desenvolve a uma velocidade maior, formando mais cedo os tecidos resistentes ao ataque dos patógenos. No presente caso, um efeito atribuível ao potencial do inóculo é mascarado por um desenvolvimento rápido do hospedeiro. Assim, é interessante considerar-se que para a detecção do efeito do potencial do inóculo é importante que as plantas permaneçam durante um período mais longo num estágio de maior susceptibilidade ao patógeno.

6.3 - Comportamento de diferentes cultivares de milho germinado em presença de *F. moniliforme*. Experimento V

De modo geral foi observado que os cultivares apresentaram diferenças quanto à capacidade de germinar nas condições do "cold test" em presença do patógeno. Neste caso, uma boa germinação não reflete, necessariamente, resistência ao patógeno em questão, uma vez que o vigor das sementes influi na germinação das mesmas.

O efeito de uma possível resistência genética ao patógeno entre os diferentes cultivares, aparentemente seria representada por aqueles que apresentassem os maiores valores para a germinação, num teste comparativo. No entanto, o efeito do vigor das sementes sobre a germinação das mesmas pode mascarar a característica de uma resistência genética. Assim, é interessante confrontar o comportamento dos cultivares cujo vigor não diferiu significativamente no teste de envelhecimento rápido realizado. Esta comparação permitiu observar que os cultivares IAC-PHOENYX 1211, IAC-MAYA XII, PIRANÃO e IAC-1 XI podem ser considerados como mais resistentes que os cultivares COMPOSTO B, IAC-MAYA O₂ VI e IAC-HMD 6999 B, pois todos eles não diferiram significativamente quanto ao vigor. Da mesma maneira, pode-se considerar os cultivares COMPOSTO A e IAC-HMD 7974 como mais resistentes que os cultivares IAC-PHOENYX O₂ 66 e IAC-1 O₂ VI.

Portanto, os resultados permitem especular sobre a possibilidade de melhoramento para maior resistência a patógenos, desde que sejam feitas comparações entre as germinações observadas em testes dessa natureza levando-se em consideração o vigor das sementes.

7 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- 1 - *F. moniliforme*, o microorganismo mais frequentemente detectado em as associação com falhas na germinação de sementes de milho é um dos principais patógenos envolvidos no complexo da doença;
- 2 - Condições de temperaturas baixas, semelhantes às do "cold test" ou 20°C favorecem a ocorrência de "damping-off" de "seedlings" de milho, tanto antes como após a emergência;
- 3 - O tratamento químico das sementes com fungicida pode minimizar o efeito de patógenos causadores de "damping-off" de "seedlings" de milho, em condições favoráveis à doença;

- 4 - A concentração de inóculo de *F. moniliforme* influenciou na germinação das sementes dos cultivares testados, existindo uma tendência para aumento da severidade da doença, à medida em que se aumenta a concentração de conídios na suspensão do inóculo;
- 5 - Os cultivares testados variaram no seu comportamento em relação à capacidade de germinar em presença de *F. moniliforme*, sendo desejável levar-se em consideração o vigor das sementes, para fins de comparação entre cultivares;
- 6 - Os resultados evidenciam a possibilidade de se utilizar condições semelhantes às do "cold test" para seleção visando melhoramento para maior resistência a *F. moniliforme*.

8 - SUMMARY

A survey of the soil microflora in a composite soil sample collected from a corn field, planted several years with corn, revealed that *Fusarium moniliforme* Sheld. was the pathogen most frequently associated with the interference on corn seed germination and corn seedling development.

The effect of temperature and inoculum concentration of *Fusarium moniliforme* on the host - pathogen relationship was determined. It was observed that the interference in seed germination and seedling development was highest at a low temperature and at higher inoculum concentration.

The reaction of genetically different corn cultivars to *F. moniliforme* was also studied. It was observed that the cultivars showed differences in seed germination and seedling development when tested for *F. moniliforme* reaction under low temperature and standardized inoculum concentration. The results obtained suggest that it is possible to select corn plants for better seed germination and seedling development at a low temperature in presence of *F. moniliforme*.

9 - LITERATURA CITADA

ALESSI, J. e J. F. POWER, 1971. Corn emergence in relation to soil temperature and seedling depth. Agr. Jour. Madison, 63: 717-719.

ANDREW, R. H., 1952. Volume changes and germination of sweet corn kernels at different temperature sequences. Agr. Jour. Madison, 44: 473-476.

ANDREW, R. H., 1953. The influence of depth of planting and temperature upon stand and seedling vigor of sweet corn strains. Agr. Jour. Madison, 45: 32-35.

BARNETT, H. L., 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3^a ed. Minneapolis, Burgess Publ. Co. 241 p.

- BOOTH, C., 1971. The genus fusarium. Kew, Comm. Mycol. Inst. 237 p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, 1967. Regras para Análise de Sementes. Rio de Janeiro, ABCAR, 120 p.
- CASAGRANDE, A. A., 1970. Vigor das sementes (das plântulas). Piracicaba, ESALQ/USP, 16 p. (Seminário apresentado no curso de pós-graduação em "Produção e Tecnologia de Sementes"). Mimeografado.
- DENIS, S. J. ; C. J. SNODGRASS ; J. A. KOBURGER e E. S. ELLIOT, 1966. An azide-rose bengal medium for the isolation of *Fusarium* species from red clover roots. Phytopathol. St. Paul, 56: 584.
- DJAKAMIHARDJA, S. ; G. E. SCOTH e M. C. FUTRELL, 1970. Seedling reaction of inbreds and single crosses of maize to *Fusarium moniliforme* Pl. Dis. Repr. Beltsville, 54: 307-310.
- DICKSON, J. G. e J. R. HOLBERT, 1926. The influence of temperature upon the metabolism and expression of disease resistance in selfed lines of corn. Jour. Amer. Soc. Agr. Madison, 18: 314-322.
- DUNGAN, G. H. e B. KOEHLER, 1944. Age of seed corn in relation to seed infection and yielding capacity. Jour. Amer. Soc. Agr. Madison, 36: 436-443.
- ECKERT, J. W. e P. H. TSAO, 1962. A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. Phytopathol. St. Paul. 52: 771-777.

- EMERSON, R., 1968. Mycological organization. Mycologia. Lancaster, 50: 585-621.
- FUTRELL, M. C. e M. KILGORE, 1969. Poor stands of corn and reduction of root growth caused by *Fusarium moniliforme*. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 53: 213-215.
- GILL, N. S. e R. J. SINGH, 1970. Effect of soil substrate and retreatment on cold test responses of seed corn (*Zea mays* L.). Proc. Ass. Off. Seed Anal. Lansing, 60: 181-187.
- GILL, N. S. e J. C. DELOUCHE, 1973. Deterioration of seed corn during storage. Proc. Ass. Off. Seed Anal. Lansing, 63: 33-50.
- GOFF, J., 1971. Accelerated aging tests at work. Seedmen's Dig. 22 (10): 8.9 ; 14-27.
- HANSEN, A. J., 1960. The selective effect of the antibiotic pimaricine upon growth of several cacao fungi in vitro. Phytopathol. St. Paul, 50: 638.
- HARPER, J. L., 1954. Influence of temperature and soil water content on the seedling blight of maize. Nature, London, 27: 391-393.
- HASKELL, G. E., 1948. Effect of low temperatures on the germination of inbred lines of sweet corn. Science, New Jersey, 6: 107.
- HELMER, J. D., 1967. Predicting seed storability. Proc. Short Course for Seedsmen. Miss. Sta. Univ. 65-68.

- HOOKER, A. L. e J. G. DICKSON, 1952. Resistance to *Phytlum* manifest by excised corn embryos at low temperatures. Agr. Jour. Madison, 44: 443-447.
- HOOKER, A. L., 1955. Additional seed factors affecting stands of corn in cold soils. Agr. Jour. Madison, 47: 582-585.
- HOPPE, P. E., 1949. Differences in *Phytlum* injury to corn seedlings at hight and low temperatures. Phytopathol. St. Paul, 33: 77-84.
- HOPPE, P. E., 1953. Infections of corn Seedlings. In: Plant Disease The Yearbook of Agriculture. U.S. Govern. Print. Off. Washington, D.C. 377-380.
- HOPPE, P. E., 1956.a. Cold testing. Proceed. of Industry Research Conference. Eleventh Hybrid Corn. Ind. Res. Confer. 68-74.
- HOPPE, P. E., 1956.b. Correlation between corn germination in laboratory cold tests and stands in the field. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 40: 887-889.
- HOPPE, P. E., 1958. Correlation between laboratory cold tests and field stands of corn. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 42: 367-372.
- JOHNSON, L. F. e E. A. CURL, 1972. Methods for research on the ecology of soil borne plant pathogens. Minneapolis, Burgess Publ. Co. 247 p.
- KOEHLER, B., 1954. Some conditions influencing the results from corn seed treatment tests. Phytopathol. St. Paul, 44: 575-583.

- LEACH, L. D., 1947. Growth rates of host and pathogen as factors determining the severity of preemergence damping-off. Agr. Jour. Madison, 75: 161-179.
- Mc INOUE, K. G., 1931. The inheritance of reaction of maize to *Gibberella saubinetii*. Phytopathol. St. Paul, 21: 615-639.
- MEYERS, M. T., 1924. The influence of broken pericarp on the germination and yield of corn. Jour. Amer. Soc. Agr. Madison, 16: 540-550.
- MOHAMED, H. A. ; W. E. ASHOUR ; A. R. SIRRY e S. M. FATHI, 1967. Fungi carried by corn seed and their importance in causing corn disease in the United Arab Republic. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 51: 53-56.
- MOHAMED, H. A. ; W. E. ASHOUR ; A. R. SIRRY e S. M. FATHI, 1968.a. Factors affecting severity of seedling blight of corn in the United Arab Republic. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 52: 79-83.
- MOHAMED, H. A. ; W. E. ASHOUR ; A. R. SIRRY e S. M. FATHI, 1968.b. Fungi causing seedling blight of corn in the United Arab Republic. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 52: 84-86.
- MOORE, R. P., 1968. Merits of different vigor tests. Proc. Assoc. Off. Seed Anal. Lansing, 58: 89-94.
- NASH, S. M. e W. C. SNYDER, 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathol. St. Paul. 52: 567-572.

- PAPAVIZAS, G. C., 1967. Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of *Fusarium* from soil. Phytopathol. St. Paul, 57: 848-852.
- PARKINSON, O. e R. PEARSON, 1965. Factors affecting the stimulation of fungal development in the root region. Nature, London, 205: 205.
- PARMETER, J. R. e J. R. HOOD, 1961. The use of *Fusarium* culture filtrate media in the isolation of Fusaria from soil. Phytopathol. St. Paul 51: 164-168.
- PINNEL, E. L., 1949. Genetic and environmental factors affecting corn seed germination at low temperatures. Agr. Jour. Madison, 41: 562-568.
- RUSH, G. E. e N. P. NEAL, 1951. The effect of maturity and other factors on stands of corn at low temperatures. Agr. Jour. Madison, 43: 112-116.
- SALLANS, B. J., 1965. Root rot of cereals. Bot. Rev. New Jersey, 31: 505-536.
- SCHROTH, M. N. e D. C. HILDEBRAND, 1964. Influence of plant exudates on root infecting fungi. Ann. Rev. of Phytopathol. Palo Alto, 2: 101-132.
- SCHULZ, F. A. e D. F. BATEMAN, 1969. Temperature response of seeds during the early phases of germination and its relation to injury by *Rhizoctonia solani*. Phytopathol. St. Paul, 59: 352-355.

- SINGH, R. S. e R. J. MITCHELL, 1961. A selective method for isolation and measuring the population of *Pythium* in soil. Phytopathol. St. Paul, 51: 440-444.
- SINGH, R. S. e Y. L. NENE, 1965. Some observations on the use of malachite green and captan for determination of *Fusarium* populations in soil. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 49: 114-118.
- SMITH, O. F., 1935. The influence of low temperature in seedling development in two inbred lines of corn. Jour. Amer. Soc. Agron. Madison, 27: 467-479.
- SMITH, T. E. e J. P. BAILES, 1958. Germination tests and field stands of corn. Pl. Dis. Repr. Beltsville, 42: 734.
- SNYDER, W. C. ; S. M. NASH e E. E. TRUJILLO, 1959. Multiple clonal types of *Fusarium solani phaseoli* in field soil. Phytopathol. St. Paul, 49: 310-312.
- STONER, M. F. e R. J. COOK, 1967. Use of phytoactin in population studies of *Fusarium roseum* "Culmorum" in field soils. Phytopathol. St. Paul, 57: 102.
- TATUM, L. A. e M. S. ZUBER, 1943. Germination of maize under adverse conditions. Jour. Amer. Soc. Agr. Madison, 35: 48-59.
- TSAO, P. H., 1970. Selective media for isolation of pathogenic fungi. Ann. Review of Phytopathol. Palo Alto, 8: 157-186.

- VAARTAJA, O., 1968. *Pythium* and *Mortierella* in soils of Ontario forest nurseries. Can. Jour. Microbiol. Ottawa, 14: 265-269.
- VANCURA, F., 1967. Effect of temperature and "cold shock" on the exudation of various compounds from seeds and seedlings of maize and cucumber. Plant. and Soil. The Hague, 27: 319-328.
- WILCOXSON, R. D., 1962. Stalk rot in relation to yield of corn. Phytopathol. St. Paul, 52: 416-418.

10 - A P Ê N D I C E

TABELA 1 - Resultados obtidos para o teste padrão de germinação realizado com os cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, utilizados nos Experimentos I , II , III e IV.

Cultivar	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-HMD 7974	47	48	49	48	97
CENTRALMEX	48	49	50	49	98

TABELA 2 - Análise da variância para o teste padrão de germinação dos cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRALMEX, realizada com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares	1	0,003	0,003	1
Resíduo	6	0,015	0,003	
Total	7	0,018		

TABELA 3 - Resultados obtidos para o teste padrão de germinação realizado com os cultivares utilizados no Experimento V

Cultivar	Safra	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-MAYA XII	1974/75	49	50	49	50	99
IAC-HMD 7974	1974/75	46	49	48	46	98
PIRANÃO	1974/75	48	49	49	49	98
IAC-1 XI	1974/75	48	49	47	49	97
IAC-1 O ₂ VI	1974/75	48	46	49	49	96
IAC-PHOENYX 1211	1974/75	49	47	50	45	96
IAC-PHOENYX O ₂ 66	1974/75	46	48	48	47	95
IAC-HMD 6999 B	1974/75	49	48	50	49	95
COMPOSTO B	1974/75	50	45	47	47	95
IAC-MAYA O ₂ VI	1974/75	47	45	46	47	93
COMPOSTO A	1974/75	47	46	44	45	91

TABELA 4 - Análise da variância para o teste padrão de germinação, realizada com os dados transformados em rais quadrada, para o Experimento V

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares	10	0,365	0,030	3,75 **
Resíduo	39	0,312	0,008	
Total	49	0,677	0,013	

TABELA 5 - Resultados obtidos para o teste de vigor - "envelhecimento rápido" realizado com os cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRAL MEX, utilizados nos Experimentos I , II , III e IV

Cultivar	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-HMD 7974	36	30	26	28	60
CENTRALMEX	44	42	40	42	84

TABELA 6 - Análise da variância para o teste de vigor "envelhecimento rápido" realizado para os cultivares IAC-HMD 7974 e CENTRAL MEX com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares	1	2,154	2,154	22,44 **
Resíduo	6	0,578	0,096	
Total	7	2,732		

TABELA 7 - Resultados obtidos para o teste de vigor - "envelhecimento rápido" realizado com os cultivares utilizados no Experimento V

Cultivar	Safrá	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-MAYA XII	1974/75	35	31	36	34	82
IAC-HMD 7974	1974/75	32	33	29	30	80
PIRANÃO	1974/75	38	36	41	44	77
IAC-1 XI	1974/75	34	38	32	43	74
IAC-1 O ₂ VI	1974/75	27	30	26	24	66
IAC-PHOENYX 1211	1974/75	41	42	40	41	63
IAC-PHOENYX O ₂ 66	1974/75	36	30	25	28	61
IAC-HMD 6999 B	1974/75	32	29	30	35	61
COMPOSTO B	1974/75	36	38	43	36	80
IAC-MAYA O ₂ VI	1974/75	35	34	30	33	54
COMPOSTO A	1974/75	34	31	30	27	52

TABELA 8 - Análise da variância para o teste de vigor - "envelhecimento rápido" realizado com os dados transformados em raiz quadrada, para os cultivares utilizados no Experimento V

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares	10	10,639	0,887	11,98 **
Resíduo	39	2,897	0,074	
Total	49	13,536	0,265	

TABELA 9 - Resultados obtidos, em número de sementes germinadas por repetição e porcentagem média de germinação para o Experimento I

Cultivar	Substrato a/	Temperatura	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-HMD 7974	1	"cold test"	28	29	32	26	58
		20°C	38	44	39	47	84
		30°C	49	46	47	47	95
	2	"cold test"	45	46	48	46	93
		20°C	50	49	49	50	99
		30°C	48	48	49	50	98
	3	"cold test"	47	48	45	48	94
		20°C	50	49	49	48	98
		30°C	49	50	49	47	98
CENTRAL- MEX	1	"cold test"	36	38	34	36	72
		20°C	44	39	40	40	82
		30°C	46	48	49	48	96
	2	"cold test"	46	47	43	45	91
		20°C	50	49	49	50	99
		30°C	50	50	49	48	99
	3	"cold test"	46	47	47	46	93
		20°C	50	50	49	48	99
		30°C	49	49	49	48	98

- a/
- 1 - Papel toalha + solo naturalmente infestado
 - 2 - Papel toalha
 - 3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

TABELA 10 - Resultados obtidos em número de sementes germinadas por repetição e porcentagem média de germinação para o Experimento II

Cultivar	Substrato a/	Temperatura	Sementes germinadas por repetição				Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
IAC-HMD 7974	1	"cold test"	27	27	26	25	53
		20°C	43	40	41	39	82
		30°C	43	46	47	49	93
	2	"cold test"	46	46	47	46	93
		20°C	49	50	48	49	98
		30°C	48	49	49	47	97
	3	"cold test"	47	47	47	45	93
		20°C	49	49	48	49	98
		30°C	48	49	49	48	97
CENTRAL- MEX	1	"cold test"	39	36	37	36	74
		20°C	43	43	41	43	85
		30°C	45	47	47	49	94
	2	"cold test"	44	48	47	42	91
		20°C	49	50	49	49	99
		30°C	50	47	49	49	98
	3	"cold test"	46	46	45	47	92
		20°C	50	49	49	49	99
		30°C	50	48	50	49	99

- a/ 1 - Papel toalha + solo naturalmente infestado
 2 - Papel toalha
 3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

TABELA 11 - Análise da variância para o Experimento I realizada com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares (C)	1	0,061866	0,061866	3,80
Temperaturas (T)	2	3,670225	1,835112	112,85 **
Substratos (S)	2	5,854366	2,927183	180,01 **
C x T	2	0,132757	0,066378	4,08 *
C x S	2	0,166706	0,083353	5,13 **
T x S	4	2,812221	0,703055	43,24 **
C x T x S	4	0,495729	0,123932	7,82 **

Tratamentos	17	13,193805	0,776106	47,73 **
Resíduo	54	0,878096	0,016261	
Total	71	14,071901		

TABELA 12 - Análise da variância para o Experimento II realizada com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F	
Cultivares (C)	1	0,310232	0,310232	32,23	**
Temperaturas (T)	2	3,901868	1,950934	202,65	**
Substratos (S)	2	6,310163	3,155081	327,73	**
C x T	2	0,205308	0,102654	10,66	**
C x S	2	0,575887	0,287943	29,91	**
T x S	4	2,870424	0,717606	74,54	**
C x T x S	4	0,818033	0,204508	21,24	**

Tratamentos	17	14,991870	0,881874	91,60	**
Resíduo	54	0,519839	0,009627		
Total	71	15,511709			

TABELA 13 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação cultivares x temperaturas e aqueles devidos a cultivares para o Experimento I

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares dentro de 10°C	1	0,187444	0,187444	11,53 **
Cultivares dentro de 20°C	1	0,003726	0,003726	0,23
Cultivares dentro de 30°C	1	0,003457	0,003457	0,21
Resíduo	54	0,878096	0,016261	

TABELA 14 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação cultivares x temperaturas mais aqueles devidos a cultivares para o Experimento II

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares dentro de 10°C	1	0,477426	0,477426	49,59 **
Cultivares dentro de 20°C	1	0,024004	0,024004	2,49
Cultivares dentro de 30°C	1	0,014113	0,014113	1,47
Resíduo	54	0,519839	0,009627	

TABELA 15 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação cultivares x substratos mais aqueles devidos a cultivares para o Experimento I

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares d. substrato 1	1	0,227370	0,227370	13,98 **
Cultivares d. substrato 2	1	0,000989	0,000989	0,06
Cultivares d. substrato 3	1	0,000216	0,000216	0,01
Resíduo	54	0,878096	0,016261	

TABELA 16 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação cultivares x substratos e aqueles devidos a cultivares para o Experimento II

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares d. substrato 1	1	0,883969	0,883969	91,82 **
Cultivares d. substrato 2	1	0,000330	0,000330	0,03
Cultivares d. substrato 3	1	0,001819	0,001819	0,19
Resíduo	54	0,519839	0,009627	

TABELA 17 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação substratos x temperaturas mais aqueles devidos a substratos para o Experimento I

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substratos dentro de 10°C	2	6,729297	3,364648	206,92 **
Substratos dentro de 20°C	2	1,883496	0,941748	57,91 **
Substratos dentro de 30°C	2	0,053797	0,026898	1,65
Resíduo	54	0,878096	0,016261	

TABELA 18 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação substratos x temperaturas e aqueles devidos a substratos para o Experimento II

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substratos dentro de 10°C	2	7,420900	3,710450	385,42 **
Substratos dentro de 20°C	2	1,636095	0,818047	84,97 **
Substratos dentro de 30°C	2	0,123512	0,061796	6,42 **
Resíduo	54	0,519839	0,009627	

TABELA 19 - Microorganismos isolados de material procedentes dos testes de germinação conduzidos nas condições do "cold test" nos diferentes substratos utilizados, computados os Experimentos I e II

Microorganismos Isolados	Porcentagem de microorganismos nos substratos <u>a/</u>			Total (%)
	1	2	3	
<i>Fusarium moniliforme</i>	18,66	5,97	3,98	28,61
<i>Fusarium</i> spp	4,11	1,49	0,59	6,19
<i>Penicillium</i> spp	2,11	1,24	0,98	4,33
<i>Aspergillus</i> spp	0,87	0,75	-	1,62
<i>Helminthosporium</i> spp	0,62	0,12	-	0,74
<i>Trichoderma</i> spp	-	0,25	-	0,25
<i>Rhizoctonia</i> spp	1,77	0,25	0,25	2,27
<i>Sclerotium</i> spp	0,25	-	-	0,25
<i>Rhizopus</i> spp	0,87	1,21	0,50	2,58
<i>Mucor</i> spp	-	-	-	-
<i>Diplodina</i> spp	-	-	-	-
<i>Nigrospora</i> spp	-	-	-	-
<i>Curvularia</i> spp	-	-	-	-
<i>Diplodia</i> spp	-	-	-	-
Não identificados	0,12	-	-	0,12

a/ 1 - Substrato papel toalha mais solo naturalmente infestado
 2 - Substrato papel toalha
 3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

TABELA 20 - Microorganismos isolados de material procedente dos testes de germinação conduzidos a 20°C nos diferentes substratos, computando os Experimentos I e II

Microorganismos Isolados	Porcentagem de microorganismos nos substratos ^{a/}			Total (%)
	1	2	3	
<i>Fusarium moniliforme</i>	6,17	4,48	2,49	13,14
<i>Fusarium</i> spp	2,87	0,12	0,38	3,37
<i>Penicillium</i> spp	0,50	1,13	0,50	2,13
<i>Aspergillus</i> spp	-	2,25	-	2,25
<i>Helminthosporium</i> spp	-	0,25	-	0,25
<i>Trichoderma</i> spp	0,27	0,12	-	0,39
<i>Rhizoctonia</i> spp	-	-	-	-
<i>Sclerotium</i> spp	-	-	-	-
<i>Rhizopus</i> spp	1,62	1,49	-	3,11
<i>Mucor</i> spp	0,12	-	-	0,12
<i>Diplodina</i> spp	0,12	-	-	0,12
<i>Nigrospora</i> spp	-	0,12	-	0,12
<i>Curvularia</i> spp	-	0,25	-	0,25
<i>Diplodia</i> spp	-	-	-	-
Não identificados	-	0,25	0,12	0,37

^{a/} 1 - Substrato papel toalha + solo naturalmente infestado
2 - Substrato papel toalha
3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

TABELA 21 - Microorganismos isolados de material procedente dos testes de germinação conduzidos a 30°C nos diferentes substratos computados os Experimentos I e II

Microorganismos Isolados	Porcentagem de microorganismos nos substratos ^{a/}			Total (%)
	1	2	3	
<i>Fusarium moniliforme</i>	5,47	4,35	1,29	11,11
<i>Fusarium</i> spp	0,70	1,00	0,29	1,99
<i>Penicillium</i> spp	1,29	1,46	0,37	3,12
<i>Aspergillus</i> spp	0,62	2,61	0,12	3,35
<i>Helminthosporium</i> spp	0,25	0,25	-	0,50
<i>Trichoderma</i> spp	1,00	0,60	0,25	1,85
<i>Rhizoctonia</i> spp	-	0,25	-	0,25
<i>Sclerotium</i> spp	-	-	-	-
<i>Rhizopus</i> spp	2,11	1,87	0,16	4,14
<i>Mucor</i> spp	-	-	-	-
<i>Diplodina</i> spp	-	-	-	-
<i>Nigrospora</i> spp	-	-	-	-
<i>Curvularia</i> spp	0,12	0,50	-	0,62
<i>Diplodia</i> spp	-	-	0,12	0,12
Não identificados	-	0,25	0,12	0,37

^{a/} 1 - Substrato papel toalha + solo naturalmente infestado
 2 - Substrato papel toalha
 3 - Substrato 1 (sementes tratadas)

TABELA 22 - Microorganismos isolados nos diferentes meios de cultura nos testes de germinação conduzidos no "cold test", 20°C e 30°C , para os Experimentos I e II

Microorganismos	Porcentagem de microorganismos nos meios de cultura			
	NASH SNYDER	VAARTAJA	AGAR-ÁGUA	H ₂ O + SEMENTE DE CÂNHAMO
<i>Fusarium moniliiforme</i>	20,77	7,47	16,79	7,93
<i>Fusarium</i> spp	6,23	1,24	3,72	0,36
<i>Penicillium</i> spp	1,36	1,74	5,85	0,63
<i>Aspergillus</i> spp	0,99	0,74	4,74	0,75
<i>Helminthosporium</i> spp	0,12	0,12	1,13	0,12
<i>Trichoderma</i> spp	0,74	0,50	0,75	0,50
<i>Rhizoctonia</i> spp	1,00	1,00	0,52	-
<i>Sclerotium</i> spp	-	0,12	0,12	-
<i>Rhizopus</i> spp	0,99	2,13	3,11	3,60
<i>Mucor</i> spp	-	0,12	-	-
<i>Diplodina</i> spp	-	0,12	-	-
<i>Nigrospora</i> spp	0,12	-	-	-
<i>Curvularia</i> spp	0,25	0,25	0,37	-
<i>Diplodia</i> spp	-	-	0,12	-
Não identificados	0,25	-	0,49	0,12

TABELA 23 - Resultados em número de sementes germinadas por repetição e porcentagem média de germinação, obtidas para o Experimento III

Concentração de Inóculo (con/ml)	Temperatura	Substrato a/	Sementes germinadas por repetição			Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	
0	"cold test"	1	48	47	46	94
		2	43	44	42	86
	20°C	1	50	50	48	99
		2	48	49	49	97
	30°C	1	47	50	50	98
		2	44	48	49	94
10 ²	"cold test"	1	36	48	41	83
		2	41	37	35	75
	20°C	1	46	43	45	89
		2	45	46	45	91
	30°C	1	49	45	46	93
		2	44	45	46	90

Continua ...

TABELA 23 - Continuação

Concentração de Inóculo (con/ml)	Temperatura	Substrato a/	Sementes germinadas por repetição			Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	
10 ⁴	"cold test"	1	42	39	41	81
		2	40	40	35	77
	20°C	1	43	44	44	87
		2	44	43	46	89
	30°C	1	48	45	48	97
		2	43	36	47	84
10 ⁶	"cold test"	1	33	39	35	71
		2	36	39	38	75
	20°C	1	40	40	42	81
		2	38	42	44	83
	30°C	1	46	48	44	92
		2	41	48	40	86

a/ 1 - Papel toalha + solo esterilizado

2 - Papel toalha

TABELA 24 - Resultados obtidos em número de sementes germinadas por repetição e porcentagem média de germinação, para o Experimento IV

Concentração de Inóculo (con/ml)	Temperatura	Substrato a/	Sementes germinadas por repetição			Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	
0	"cold test"	1	48	48	47	95
		2	47	45	47	93
	20°C	1	50	49	50	99
		2	47	49	50	97
	30°C	1	45	49	49	95
		2	49	49	47	97
10 ²	"cold test"	1	45	46	46	91
		2	43	44	43	87
	20°C	1	47	45	44	91
		2	44	45	45	89
	30°C	1	48	45	46	93
		2	47	45	45	90

Continua ...

TABELA 24 - Continuação

Concentração de Inóculo (con/ml)	Temperatura	Substrato a/	Sementes germinadas por repetição			Porcentagem média de germinação
			R ₁	R ₂	R ₃	
10 ⁴	"cold test"	1	38	41	39	79
		2	43	42	42	85
	20°C	1	43	45	45	89
		2	42	45	44	87
	30°C	1	49	47	47	95
		2	40	40	46	87
10 ⁶	"cold test"	1	37	35	33	70
		2	39	40	42	81
	20°C	1	42	42	44	85
		2	40	44	41	83
	30°C	1	44	49	45	92
		2	40	46	45	87

a/ 1 - Papel toalha + solo esterilizado

2 - Papel toalha

TABELA 25 - Análise da variância para o Experimento III realizada com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substratos (S)	1	0,282918	0,282918	7,19 *
Temperaturas (T)	2	2,570518	1,285259	33,65 **
Concentrações de Inóculo (C I)	3	2,370136	0,790045	20,07 **
S x T	2	0,227525	0,113762	2,89
S x C I	3	0,102279	0,034093	0,87
T x C I	6	0,292064	0,048677	1,24
S x T X C I	6	0,254146	0,042357	1,08

Tratamentos	23	6,099496	0,265195	6,74 **
Resíduo	48	1,889531	0,039365	

Total	71	7,989027		

TABELA 26 - Análise da variância para o Experimento IV realizada com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substratos (S)	1	0,015264	0,015264	0,99
Temperaturas (T)	2	0,965635	0,482817	31,37 **
Concentrações de Inóculo (C I)	3	2,354570	0,784856	51,00 **
S x T	2	0,160989	0,080494	5,23 **
S x C I	3	0,055395	0,018465	1,20
T x C I	6	0,506496	0,084416	5,49 **
S x T x C I	6	0,431669	0,071944	4,67 **

Tratamentos	23	4,489927	0,195214	12,68 **
Resíduo	48	0,738716	0,015390	
Total	71	5,228643		

TABELA 27 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação substratos x temperaturas mais a queles referentes a substratos para o Experimento III

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substrato d. "cold test"	1	0,147894	0,147894	3,76
Substrato d. 20°C	1	0,003876	0,003876	0,10
Substrato d. 30°C	1	0,358682	0,358682	9,11 **
Resíduo	48	1,889531	0,039365	

TABELA 28 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação substratos x temperaturas mais a queles devidos a substratos para o Experimento IV

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Substratos d. "cold test"	1	0,059700	0,059700	3,88
Substratos d. 20°C	1	0,023313	0,023313	1,51
Substratos d. 30°C	1	0,093250	0,093250	6,06 *
Resíduo	48	0,738716	0,015390	

TABELA 29 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x substratos mais aqueles devidos a concentrações de inóculo do Experimento III

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Concentrações de inóculo dentro de substrato 1	3	1,536960	0,512320	13,01 **
Concentrações de inóculo dentro de substrato 2	3	0,935451	0,311817	7,92 **
Resíduo	48	1,889531	0,039365	

TABELA 30 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x substratos mais aqueles devidos a concentrações de inóculo para o Experimento IV

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Concentrações de inóculo dentro de substrato 1	3	0,957638	0,478819	31,11 **
Concentrações de inóculo dentro de substrato 2	3	0,168988	0,084494	5,49 **
Resíduo	48	0,738716	0,015390	

TABELA 31 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x temperaturas mais aqueles devidos a concentrações de inóculo para o Experimento III

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Concentrações de inóculo dentro de 10°C	3	1,334603	0,444867	11,30 **
Concentrações de inóculo dentro de 20°C	3	1,095898	0,365299	9,28 **
Concentrações de inóculo dentro de 30°C	3	0,231702	0,077234	1,96
Resíduo	48	1,889531	0,039365	

TABELA 32 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade para a interação concentrações de inóculo x temperaturas mais aqueles devidos a concentrações de inóculo para o Experimento IV

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Concentrações de inóculo dentro de 10°C	3	1,812365	0,604121	39,25 **
Concentrações de inóculo dentro de 20°C	3	0,864857	0,288285	18,73 **
Concentrações de inóculo dentro de 30°C	3	0,183847	0,061282	3,98 *
Resíduo	48	0,738716	0,015390	

TABELA 33 - Resultados em número de sementes germinadas por repetição e porcentagem média de germinação, obtidos para o Experimento V

Cultivares	Concentração de Inóculo (con/ml)							
	0				10 ⁶			
	Sementes germinadas por repetição		Porcentagem média de germinação		Sementes germinadas por repetição		Porcentagem média de germinação	
IAC-PHOENYX 1211	50	48	50	99	47	47	47	94
IAC-MAYA XII	48	49	49	97	49	45	45	93
COMPOSTO A	45	45	48	91	37	41	40	85
IAC-1 XI	46	49	48	95	44	45	44	89
PIRANÃO	50	48	50	99	48	45	45	92
IAC-1 O ₂ VI	44	46	44	89	43	41	38	81
IAC-HMD 7974	48	49	49	97	40	39	37	77
COMPOSTO B	46	46	44	92	42	43	42	78
IAC-HMD 6999 B	47	48	42	91	39	43	43	83
IAC-PHOENYX O ₂ 66	44	44	45	89	39	35	36	73
IAC-MAYA O ₂ VI	45	45	46	90	35	36	36	75

TABELA 34 - Análise da variância para o Experimento V , realizado com os dados transformados em raiz quadrada

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Cultivares (C)	10	2,769718	0,276971	21,62 **
Concentrações de Inóculo (C I)	1	2,461544	2,461544	192,16 **
C x C I	10	0,598937	0,059893	4,68 **

Tratamentos	21	5,830196	0,277628	21,67 **
Resíduo	44	0,563629	0,012810	
Total	65	6,393825		

TABELA 35 - Análise da variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação concentrações de inóculo x cultivares mais aqueles devidos a concentrações de inóculo para o Experimento V

Fontes de Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
<u>1/</u>				
C. I. d. IAC-HMD 7974	1	0,373002	0,37022	29,12 **
C. I. d. IAC-HMD 6999 B	1	0,397322	0,397322	31,02 **
C. I. d. IAC-PHOENYX 1211	1	0,042000	0,042000	3,28
C. I. d. IAC-PHOENYX O ₂ 66	1	0,547828	0,547828	42,77 **
C. I. d. IAC-MAYA XII	1	0,043690	0,043690	3,41
C. I. d. IAC-1 XI	1	0,090282	0,090282	7,05 *
C. I. d. IAC-MAYA O ₂ VI	1	0,867920	0,867920	67,75 **
C. I. d. IAC-1 O ₂ VI	1	0,142295	0,142295	11,11 **
C. I. d. PIRANÃO	1	0,087845	0,087845	6,86 *
C. I. d. COMPOSTO A	1	0,076614	0,076614	5,98 *
C. I. d. COMPOSTO B	1	0,391681	0,391681	30,58 **
Resíduo	44	0,563629	0,012810	

1/ C. I. d. = Concentração de Inóculo dentro de