

Tratamento fungicida de sementes de milho e metodologias para a condução do teste de frio

Luciane Minothara A. Pereira¹
Roberval Daiton Vieira¹
Rita de Cássia Panizzi²
Mirian Gotardo³

RESUMO

O tratamento de sementes de milho, com fungicidas, é uma prática amplamente reconhecida como importante pelo agricultor e, paralelamente, a avaliação do vigor das mesmas já é reconhecida como necessária para assegurar a obtenção de estandes adequados de plantas em campo. O trabalho teve por objetivos: 1) verificar a eficiência do tratamento químico de sementes de milho, com diferentes produtos; 2) comparar o resultado de vigor obtido pelo teste de frio com a emergência de plântulas em campo e 3) testar diferentes métodos para o teste de frio, visando maior praticidade em sua condução. Para os tratamentos fungicidas utilizaram-se captan, metalaxyl, thiabendazole, fludioxonil e azoxystrobin. Foram comparados diferentes métodos para o teste de frio, sendo eles: o tradicional em caixa com terra, o do rolo de papel com terra e o da bandeja. A emergência de plântulas em campo foi conduzida em duas épocas diferentes. Os experimentos seguiram o delineamento em blocos casualizados. Para os dois lotes, as sementes não tratadas sempre apresentaram os piores resultados, quando comparadas com as tratadas, embora não seja possível afirmar qual fungicida foi mais eficiente. Com relação aos métodos, o da bandeja foi estatisticamente diferente dos demais, embora tenha existido correlação positiva e altamente significativa dos três métodos utilizados com as duas épocas de emergência de plântulas em campo. Pelos resultados obtidos e pelas condições nas quais foram realizados os testes, foi possível concluir que: é essencial o tratamento fungicida em sementes de milho, principalmente quando se trabalha com sementes de menor vigor e, é viável o uso do método da bandeja para a realização do teste de frio, particularmente no que diz respeito à confiabilidade dos resultados obtidos.

Palavras-chave: vigor, potencial fisiológico, *Zea mays L.*

ABSTRACT

Fungicide treatment of corn seeds and procedures for the cold test

Fungicide treatment of corn seeds is widely recognized as an important agricultural practice by plant growers and the evaluation of seed vigor is already recognized as necessary to obtain adequate plant population in field. The aims of this work were: 1) verify corn seeds chemical treatment efficiency using different products; 2) compare vigor results obtained through cold test and seedling field emergence, and 3) test different methods for cold test, seeking a more practical handling. Fungicide treatments were carried out with captan, metalaxyl, thiabendazole, fludioxonil and azoxystrobin. Three different methods for cold test were compared: the traditional box, rolled towel and tray. Seedling field emergence was conducted in two dates. The experiment was arranged in a complete randomized block design. Results of untreated seeds were always worse than the treated ones, but we cannot affirm which fungicide was more

¹Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal / SP. rdvieira@fcav.unesp.br

² Departamento de Fitossanidade, UNESP, CEP 14884-900, Jaboticabal / SP.

³ Agronomia, ILES/ULBRA, CEP 75523-200 Itumbiara, GO

efficient. The tray method was statistically different from the others, although there was a positive and widely significant correlation of the three methods used with the two dates of field emergence. The results led to the conclusion that is essential to carry out the fungicide treatment, mainly when working with less vigorous seeds and that the use of the tray method for cold tests is viable regarding the reliability of results.

Key words: vigor, physiological potential, *Zea mays* L.

INTRODUÇÃO

O mercado de sementes de milho vive momento de grande competição e, para que as companhias possam assegurar-se da qualidade de suas sementes faz-se necessária, dentro do programa de controle de qualidade, a adoção de testes de vigor, procurando sempre torná-los mais abrangentes e de mais fácil manuseio.

O teste de frio é um dos mais antigos testes de vigor. Foi desenvolvido em 1920 como um método para estudar a relação entre a temperatura e as doenças nas plântulas de milho (*Zea mays* L.) (Dickson & Holbert, 1926). Flor (1930) estudou os efeitos da variação da temperatura e umidade do solo com a emergência de plântulas em campo em solos infestados com *Pythium*. As maiores dificuldades de uso do teste de frio estão relacionadas ao volume de terra e a impossibilidade de se trabalhar com terra das regiões produtoras. Durante as três últimas décadas as pesquisas com o teste de frio enfocaram o controle de fatores ambientais para torná-lo mais reproduzível (Bruggink *et al.*, 1991; Garzonio & Larsen, 1981; Hooks & Zuber, 1963; Nijenstein, 1988).

AAOSA (2002) e Hampton & TeKrony (1995) listam três métodos para a condução do teste de frio: o método da caixa, originalmente descrito por Rice, citado por Woltz *et al.* (1998), o do rolo de papel, primeiramente descrito por Hoppe, citado por Woltz *et al.* (1998) e modificado por Fiala (1987) e o método da bandeja, descrito por Burris & Navaratil (1979).

Segundo Caseiro & Marcos Filho (2002) o método da caixa com terra encontra sérios entraves à padronização, pois requer o uso de grande quantidade de substrato, quando comparado com outros procedimentos alternativos. A mistura areia/terra na proporção de 2:1 ou 3:1, geralmente é colocada em caixas plásticas (47 x 30 x 11 cm), ocupando volume de, aproximadamente, 12.000 cm³ e com peso em torno de 16 kg. Desta forma, além da desuniformidade causada pela origem da terra, surgem também problemas causados pela distribuição não homogênea de água no substrato, pelo período necessário para o substrato atingir a temperatura desejada (10°C) e, também, pelo manuseio das caixas, que apresentam peso relativamente elevado. Tais fatores podem influenciar o desempenho das sementes no teste de frio, dificultando a confiabilidade e reprodutibilidade do procedimento.

Alguns autores pesquisaram modificações no procedimento do teste de frio, como Hoppe, citado por Woltz *et al.* (1998), utilizando-se do rolo de papel toalha e Desai & Reddy (1958), ou utilizando substrato inerte, como a vermiculita, inoculada com *Pythium*.

O teste de frio também tem sido usado para avaliar a eficácia do tratamento fungicida em sementes. A utilização de tratamento químico em sementes de milho visa, principalmente, a proteção contra microrganismos de solo causadores de podridões. Nesses casos, encontram-se as espécies do gênero *Pythium* que vivem saprofiticamente associadas à matéria orgânica e têm seu desenvolvimento favorecido em condições de alta umidade do solo (Balmer, 1980) e temperaturas amenas (Pereira, 1991). Mas também, contra aqueles fungos, tidos como de armazenamento, tais como *Fusarium moniliforme*; *Cephalosporium* spp.; *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. (Pereira, 1986; 1991).

O uso de amplo espectro de fungicidas para tratamento de sementes de milho tem proporcionado aumento na qualidade, avaliada pelo teste de frio. Garzonio & Larsen (1981) e Bruggink *et al.* (1991) relataram aumentos significativos no vigor (teste de frio) quando comparam sementes de milho tratadas com captan com aquelas não tratadas. Crosier (1957) encontrou que 23 de 24 fungicidas testados proporcionaram aumentos no vigor de sementes de milho pelo teste de frio em pelo menos 20, 24 e 5 pontos percentuais, utilizando-se, respectivamente, o método da caixa, o do rolo de papel e o método de terra encharcada. Sementes de milho tratadas com fungicidas podem aumentar o vigor pelo teste de frio em até 70 pontos percentuais em terra não esterilizada. Em terra estéril, entretanto, a performance das sementes não tratadas é melhor que das tratadas (Ader & Fuchs, 1978). Por outro lado, Galli *et al.*, (2000) avaliando o efeito do tratamento químico com captan sobre o vigor de dois lotes sementes de milho híbrido verificaram que os resultados dos testes de condutividade elétrica e de frio apresentaram diferença apenas entre os híbridos, não sendo observado o efeito ou não do tratamento fungicida.

O presente trabalho teve por objetivos: 1) verificar a eficiência do tratamento químico de sementes de milho, com diferentes produtos; 2) comparar o resultado de vi-

gor obtido pelo teste de frio com a emergência de plântulas em campo e 3) testar diferentes metodologias para o teste de frio, visando maior praticidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de análise de sementes do Depto. de Produção Vegetal, Unesp, Campus de Jaboticabal.

Inicialmente trabalhou-se com seis lotes de sementes de milho híbrido cedidos pela empresa Dow AgroScience Sementes, denominados de: lote 1, híbrido 8452 proveniente de Cravinhos - SP; lote 2, híbrido 8452 proveniente de Janaúba - MG, e, lotes 3, 4, 5 e 6, correspondendo respectivamente aos híbridos 8440 I, 8440 II e 8392 de São Paulo e 8392 de Paracatu - MG.

As sementes dos seis lotes recebidos foram submetidas às avaliações preliminares em laboratório, onde foram determinados, o teor de água (Brasil, 1992) inicial e após o envelhecimento das sementes, a germinação padrão (Brasil, 1992), o vigor pelo teste de envelhecimento acelerado (Bittencourt & Vieira, 2006; Woltz & TeKrony, 2001) e a sanidade das sementes, pelo método do papel de filtro com congelamento. Como apenas o lote 1 diferiu dos demais quanto ao vigor, na etapa seguinte do trabalho foram usados somente dois lotes, 1 e 2, por apresentarem germinação semelhante e diferença no nível de vigor (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos utilizados no tratamento químico de dois lotes de sementes de milho híbrido e suas respectivas doses

Tratamentos	Dose (mg/kg)
Testemunha	0
Captan	750
Metalaxyl	20
Thiabendazole	300
Fludioxonil	150
Azoxystrobin	100

Tabela 2. Teor de água, da germinação (TPG) e do vigor, avaliados pelo teste de envelhecimento acelerado (EA), em sementes de seis lotes de milho híbrido

Lotes	Teor de água*		Germinação**	
	Inicial	Após EA	TPG	EA
	%		%	
1	11,3	25,9	97 a	90 b!
2	9,6	25,5	100 a	100 a
3	10,8	24,4	100 a	98 a
4	10,3	24,8	100 a	99 a
5	10,6	23,7	100 a	96 a
6	10,3	23,9	99 a	97 a

* Teor de água inicial e após o envelhecimento acelerado (EA) das sementes. Dados não analisados estatisticamente.

** TPG = teste padrão de germinação e EA = envelhecimento acelerado

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

No laboratório, as sementes dos dois lotes selecionados (1 e 2) foram, então, submetidas ao teste de sanidade e, depois de tratadas com fungicidas (Tabela 2), aos testes de frio e de emergência de plântulas em campo conforme metodologias descritas a seguir.

Teste de Sanidade de sementes - Método do papel de filtro com congelamento

Foram analisadas 200 sementes por tratamento, sendo as mesmas distribuídas em 20 repetições de 10 sementes. Estas foram colocadas em placas de Petri, contendo papel de filtro, umedecido com água destilada e esterilizada. Inicialmente foram incubadas à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 h, posteriormente transferidas para freezer a -20°C por mais 24 h. Em seguida retornaram à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ até completar sete dias, sob regime alternado de 12 h de luz e 12 h de escuro. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes infectadas (Lucca Filho, 1987).

Todos os procedimentos utilizados para a condução do teste de frio foram realizados com quatro repetições de 50 sementes cada uma (AOSA, 2002).

Teste de frio - Método da caixa com terra

Como substrato foi utilizada uma mistura de 2/3 de areia e 1/3 de terra, tendo esta sido coletada da camada arável de área antes cultivada com milho. O substrato foi colocado em caixas plásticas com dimensões de 26 cm de comprimento x 16 cm de largura x 8,5 cm de altura, e semeado com sementes previamente tratadas. As sementes foram cobertas com camada de aproximadamente 3 cm do mesmo substrato. A irrigação foi feita ajustando-se a umidade do substrato para 70% da sua capacidade de retenção (Brasil, 1992). As caixas foram tampadas e colocadas em câmara fria, regulada à temperatura de 10°C , durante sete dias. Após esse período, o material foi retirado e mantido à temperatura ambiente ($25 \text{ a } 30^\circ\text{C}$) por cinco dias, quando então procedeu-se a contagem das plântulas normais (Caseiro & Marcos Filho, 2002; Cicero & Vieira, 1994 Hampton & TeKrony, 1995).

Teste de frio – Método da bandeja

Foram utilizadas bandejas plásticas, marca Plasvale (ref. 509), como recipientes. No fundo das bandejas foi utilizado, como substrato, uma folha de papel “Kimpak” (40 x 60 x 0,5 cm). Essa folha (material celulósico) foi molhada com 500 mL de água desionizada (AOSA, 2002). Em cada bandeja foram semeadas duas amostras de 50 sementes, cobertas com 240 mL da mesma mistura de terra/areia, usada no método tradicional. Após a semeadura as bandejas foram colocadas em suporte móvel contendo prateleiras espaçadas de 8 cm e levadas à câmara fria a 10° C por sete dias. Decorrido esse período, foram mantidas à temperatura ambiente (25 a 30° C), por cinco dias, sendo avaliado o número de plântulas normais (AOSA, 2002; Cicero & Vieira, 1994 Hampton & TeKrony, 1995).

Teste de frio – Método do rolo de papel com terra

Amostras de 50 sementes foram distribuídas em duas folhas de papel toalha (tipo germitest), umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso e cobertas com fina camada da mesma mistura terra/areia (50 mL). Foram cobertas com uma terceira folha de papel toalha e enroladas. Os rolos de papel foram colocados no interior de caixas plásticas tampadas e, mantidas em câmara fria a 10° C durante sete dias. Após esse período o material foi mantido à temperatura de 27° C por cinco dias, quando então foi feita a avaliação das plântulas normais (AOSA, 2002; Cicero & Vieira, 1994; Hampton & TeKrony, 1995).

Teste de emergência de plântulas em campo

O teste de emergência em campo foi realizado em duas épocas de semeadura: 31 de março e 14 de julho de 1998. Esse teste consistiu de três blocos de 25 x 30 m, divididos em sulcos de 5 m de comprimento e espaçados de 40 cm. As semeaduras foram feitas de acordo com sorteio prévio dos tratamentos. Após a semeadura, os sulcos foram cobertos e irrigados uniformemente, operação essa repetida sempre que necessário. A contagem das plântulas emergidas foi realizada aos 14 dias após a semeadura (Nakagawa, 1994).

As diversas características estudadas foram analisadas seguindo o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições por lote em todas as avaliações. Para análise estatística foram utilizados os esquemas fatoriais 2x3x6 (2 níveis de vigor, 3 métodos para o teste de frio e 6 tratamentos fungicidas) e 2x6 (2 épocas de emergência de plântulas em campo e 6 tratamentos fungicidas) (Banzato & Kronka, 1995). Foram feitas análises de correlação linear simples entre os três métodos para a execução do teste de frio e as duas épocas de emergência de plântulas em campo, e anotados os níveis de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos dados da Tabela 1 verifica-se que dentre os seis lotes avaliados, todos apresentaram valores de porcentagem de germinação semelhantes. No que diz respeito ao vigor apenas o lote 1 diferiu dos demais.

Embora o lote 1 tenha apresentado menor vigor, avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado (90%), estatisticamente inferior aos demais, todos os lotes apresentaram ótima qualidade fisiológica, quando se analisou os dados do teste de germinação (Tabela 1).

Os lotes 1 e 2 apresentaram o fungo *F. moniliforme* na proporção de 13,4 e 0,6%, respectivamente (Tabela 3). Este fungo sobrevive no interior das sementes podendo causar podridão e morte das plântulas, o que pode ter ocasionado queda do vigor do lote 1 em relação aos demais, uma vez que Fialho *et al.* (1997) observaram diminuição de vigor em lotes contaminados por este patógeno. Por outro lado, Pinto (1992), não encontrou relação entre a presença do *F. moniliforme* e a redução da germinação.

Outro aspecto importante e que deve ser considerado diz respeito ao *Pythium*. Sabe-se que para a cultura do milho este é um dos fungos de solo de maior importância, uma vez que é responsável por podridões de sementes e morte de plântulas em pré e pós-emergência. As espécies desse gênero vivem saprofiticamente associadas à matéria orgânica e têm seu desenvolvimento favorecido em condições de alta umidade do solo (Balmer,

Tabela 3. Porcentagem de incidência de fungos em sementes de seis lotes comerciais de milho híbrido, produzidos em diferentes regiões do país

Lotes	Fungos					
	1	2	3	4	5	6
<i>Fusarium</i> sp.	52,8	45,4	11,5	23,5	20,0	16,8
<i>F. moniliforme</i>	13,4	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium</i>	10,4	7,4	61,2	54,4	46,1	48,9
<i>Cladosporium</i>	3,5	5,5	0,0	1,8	0,6	3,7
<i>Cephalosporium</i>	8,2	25,2	15,1	11,5	31,9	29,1
<i>Rhizopus</i>	9,1	10,4	6,1	0,0	0,0	0,6
<i>Aspergillus</i>	9,1	10,4	6,1	0,0	0,0	0,6

1980) e de temperaturas amenas (Pereira, 1986). O teste de frio proporciona as condições ideais para o desenvolvimento desse fungo.

Por meio da Tabela 4 pode-se observar que os fungicidas utilizados, de maneira geral, foram eficientes no que se diz respeito ao aumento da germinação das sementes.

O uso de fungicidas de amplo espectro para tratamento de sementes tem proporcionado aumento no vigor de sementes de milho avaliadas pelo teste de frio (Thomson, 1990 citado por TeKrony & Woltz, 1997). Resultados semelhantes foram encontrados por Garzonio & Larsen (1981) e Bruggink *et al.* (1991), os quais trabalhando com sementes de milho, verificaram que quando estas foram tratadas com captan, antes do teste de frio e comparadas com sementes não tratadas, obtiveram-se aumentos significativos no vigor correspondentes a 75 (em nove lotes de sementes) e 24 (em seis lotes) pontos percentuais, respectivamente. Crosier (1957) observou que 23 dos 24 fungicidas testados aumentaram o vigor de sementes de milho (teste de frio) em pelo menos 20 pontos percentuais, utilizando-se do método da caixa, 24 usando-se rolo de papel e 5 o método de terra encharcada.

Com o objetivo de estudar o efeito da combinação de inseticidas e de fungicidas sobre a conservação de sementes de milho durante o armazenamento, Fessel *et al.* (2003) verificaram desempenho semelhante entre os lotes no início do armazenamento. Contudo, a partir de seis meses de armazenamento, as respostas aos tratamentos passaram a diferenciar-se e, ao final de 12 meses as sementes submetidas aos tratamentos químicos com maiores doses apresentaram desempenho inferior às demais. Os autores concluíram que os tratamentos químicos aplicados a sementes de milho tendem a gerar efeitos latentes

desfavoráveis ao desempenho com o aumento das doses, intensificados com o prolongamento do período de armazenamento.

De acordo com os resultados da Tabela 4, para o lote de menor vigor (lote 1) o captan apresentou maior eficiência, propiciando o melhor desempenho. Entretanto, para o de maior vigor (lote 2), embora o melhor desempenho tenha ocorrido também com o captan, este não diferiu estatisticamente do metalaxyl, thiabendazole e azoxystrobin, que apresentaram desempenhos semelhantes. Essa superioridade do captan deve ter ocorrido em função de seu largo espectro, controlando patógenos como *Pythium* sp., *Fusarium* sp. e muitos outros fungos de armazenamento (Thomson, 1990 citado por TeKrony & Woltz, (1997). Contrariando esses dados, Galli *et al.* (2000) não encontraram diferenças nos resultados dos testes de frio e de condutividade elétrica entre sementes de milho tratadas e não tratadas com captan.

Por outro lado, esses resultados confirmam relatos de alguns autores (Menten, 1991; Von Pinho *et al.*, 1995) que acreditam que a inexistência de diferenças maiores entre tratamentos seja devida ao vigor do lote. As respostas mais evidentes ao tratamento químico são observadas nos lotes de médio vigor.

Com relação ao teste de emergência de plântulas em campo (Tabelas 5), os resultados foram semelhantes para as duas épocas e não houve interação entre os lotes e os tratamentos fungicidas. Dessa forma pode-se dizer que os fungicidas atuaram de maneira semelhante para os dois lotes, independentemente do nível de vigor. Diante desses resultados, torna-se clara a necessidade do tratamento químico das sementes, principalmente para lotes de menor vigor, embora neste trabalho não tenha sido possível dizer qual foi o fungicida mais eficaz, pois embora tenha havido diferença estatística, os valores foram muito semelhantes do ponto de vista prático.

Para ambos os lotes, houve diferença entre os três métodos adotados para a condução do teste de frio (Tabela 6). Essa diferença, embora pequena, foi significativa ao nível de 5% de probabilidade, tendo o método da bandeja apresentado os maiores valores, independentemente do tratamento de sementes utilizado. É importante salientar que apesar de terem ocorrido variações quanto aos métodos utilizados para a condução do teste de frio, os três métodos foram sensíveis para identificar diferenças de vigor entre as sementes de diferentes lotes com germinação inicial, avaliada pelo TPG, alta e semelhante. TeKrony & Woltz (1997) avaliaram quatro métodos para a condução do teste de frio e encontraram pouco ou nenhum efeito desses métodos na germinação de sementes tratadas e não tratadas. Burris & Navaratil

Tabela 4. Vigor de sementes de milho, avaliado pelo teste de frio, em função da interação entre dois lotes e seis tratamentos fungicidas

Tratamentos fungicidas	Lotes*	
	1	2
	%	
Sem tratamento	85,5 Bc	94,4 Ab!
Captan	94,7 Ba	98,6 Aa
Metalaxyl	92,0 Bb	97,6 Aa
Thiabendazole	91,3 Bb	97,4 Aa
Fludioxonil	91,8 Bb	92,8 Ac
Azoxystrobin	91,8 Bb	97,6 Aa
C.V. (%) = 0,80		

*1 e 2 - Híbridos 8452, produzidos em Cravinhos, SP, e Janaúba, MG, respectivamente.

!Medias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 5. Eficiência do tratamento fungicida no vigor de sementes de milho avaliado pela primeira (EC1) e segunda (EC2) épocas de emergência de plântulas em campo

Tratamento Fungicida	Lotes*				Médias**	
	1		2		EC1	EC2
	EC1	EC2	EC1	EC2		
%						
Sem tratamento	80,7	81,0	84,7	84,3	82,7 c	82,7 c
Captan	88,7	89,0	93,3	93,3	91,0 a	91,2 a
Metalaxyl	88,0	88,3	92,3	92,7	90,2 ab	90,5 ab
Thiabendazole	87,0	87,7	92,0	92,3	89,5 b	90,0 b
Fludioxonil	88,3	88,7	92,3	92,0	90,3 ab	90,3 ab
Azoxystrobin	87,7	87,7	91,7	92,3	89,7 b	90,0 b
Médias	86,7 B	87,1 B	91,1 A	91,2 A		

C.V. (%) = 0,66

*1 e 2 - Híbridos 8452, produzidos em Cravinhos, SP, e Janaúba, MG, respectivamente.

** Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem, estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6. Valores de vigor das sementes para a interação entre três métodos do teste de frio e dois lotes de milho híbrido

Lotes*	Bandeja	Caixa c/ terra	Rolo de papel c/ terra	Média**
				%
1	91,9 Ab	91,2 Bb	90,6 Bb	91,2 b
2	97,5 Aa	96,3 Ba	96,7 Ba	96,9 a
Média	94,7 A	93,8 B	93,7 B	—

C.V. (%) = 0,80

*1 e 2 - Híbridos 8452, produzidos em Cravinhos, SP, e Janaúba, MG, respectivamente.

** Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

(1979) constataram que para 54 lotes de sementes, ocorreram diferenças entre 11 métodos para a condução do teste de frio, quando esses foram avaliados por laboratórios distintos. Essas diferenças, provavelmente, ocorreram porque os laboratórios não utilizam a mesma terra na condução dos testes. Quando os procedimentos da bandeja, da caixa com terra e do rolo de papel com terra foram conduzidos no mesmo laboratório, com a mesma terra como fonte de inóculo, não foram constatadas diferenças na germinação entre esses métodos para a condução do teste de frio.

Para Caseiro & Marcos Filho (2002) que compararam vários procedimentos para condução do teste de frio, de modo geral, o procedimento habitualmente utilizado no Brasil envolvendo o uso de substrato umedecido, sem pré-resfriamento, em caixas empilhadas, não foi eficiente na separação de lotes. Segundo esses autores o procedimento permitiu a estratificação da temperatura do substrato entre as caixas e, maior desuniformidade na percentagem de plântulas emergidas. Por outro lado, o

uso de substrato e água pré-resfriados a 10 °C, com as caixas dispostas horizontalmente, permitiu maior uniformidade para o teste de frio, com obtenção de resultados mais consistentes e próximos da padronização.

Os três procedimentos avaliados apresentaram correlação positiva e altamente significativa com as duas épocas de emergência de plântulas em campo, para os dois lotes estudados (Tabela 7). Esses resultados corroboram outros encontrados na literatura, em que se tenta equiparar o desempenho do teste de frio com o potencial de emergência de plântulas em campo. Tem-se verificado relação significativa entre essas variáveis. Burris & Navaratil (1979) encontraram correlações significativas entre as cinco épocas de semeadura do teste de emergência de plântulas em campo com 11 procedimentos para a condução do teste de frio.

A condução do teste de frio em rolo de papel e em bandeja tiveram boa correlação com a emergência de plântulas em campo para 10 lotes de sementes, enquanto o método da caixa não apresentou boa relação (Knapp, 1990). Bruggink *et al.* (1991) relataram correlação significativa para três métodos do teste de frio, e sete épocas de

Tabela 7. Coeficientes de correlação linear ("r") entre os diferentes métodos utilizados para o teste de frio de dois lotes de sementes de milho híbrido com a primeira (EC1) e segunda (EC2) épocas de emergência de plântulas em campo

Metodologias para o Teste de Frio	Valores de "r"***			
	1		2	
	EC1	EC2	EC1	EC2
Bandeja	0,91**	0,92**	0,88**	0,92**
Caixa com terra	0,88**	0,90**	0,90**	0,96**
Rolo de papel com terra	0,89**	0,91**	0,97**	0,96**

*1 e 2 - Híbridos 8452, produzidos em Cravinhos, SP, e Janaúba, MG, respectivamente.

emergência de plântulas em campo para 16 lotes de sementes. Também, Garzonio & Larsen (1981) encontraram correlação positiva e altamente significativa entre dois procedimentos para o teste de frio e a emergência de plântulas em campo.

O presente trabalho não teve por finalidade indicar qual dos métodos avaliados é o melhor para determinar o vigor de sementes de milho, pois tanto a AOSA (2002) quanto Hampton & TeKrony (1995) sugerem dois métodos principais (bandeja e rolo de papel com terra) e um alternativo (caixa com terra) para a condução do teste de frio, e os resultados obtidos neste trabalho ratificam estas sugestões. Porém, aqui no Brasil, os laboratórios de análise, inclusive os das empresas produtoras de sementes, na maioria das vezes adotam apenas o método da caixa com terra, procedimento esse que acarreta como desvantagem a necessidade de armazenamento de grande volume de terra, requerendo ainda maior espaço físico para guardá-la, bem como para a própria condução do teste, uma vez que este é realizado em uma gama considerável de lotes de cada vez. Já o método da bandeja vem suprir a carência de espaço físico, pois nesse procedimento é utilizada apenas pequena, porém uniforme, camada de terra, requecendo-se assim, menor área para armazená-la. É uma metodologia que tem condições de prover umidade uniforme no substrato durante o teste, o que o torna realizável.

Com relação ao método do rolo de papel com terra, apesar de também exigir pequena quantidade da mesma e requerer pouco espaço físico, a avaliação das plântulas normais torna-se pouco prático, uma vez que elas encontram-se envoltas por terra no interior do rolo de papel, dificultando, muitas vezes, a avaliação.

É evidente que de uma maneira ou de outra, os laboratórios que utilizam o teste de frio como rotina, principalmente, os das empresas produtoras de sementes, estão adaptados para o procedimento que vem utilizando. Porém existe um consenso sobre os problemas e dificuldades acarretados por esse método. Portanto, cabe aos laboratórios a iniciativa de adaptarem-se e treinarem seus laboratoristas para uma nova técnica, de acordo com suas prioridades.

CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos e condições nas quais foram realizados os testes, concluiu-se que: é essencial o tratamento fungicida em sementes de milho, principalmente quando se trabalha com sementes de menor vigor e, é viável o uso do método da bandeja para a realização do teste de frio, particularmente no que se diz respeito à confiabilidade dos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

- Ader F & Fuchs H (1978) Some notes on the significance of soil as the substrate in cold test of maize. *Seed Science and Technology*, 6:877-893.
- Association of Official Seed Analysts - AOSA (2002) Seed vigor testing handbook. Lincoln, AOSA. 105p. (Contribution, 32).
- Balmer E (1980) Doenças do milho. In: Galli F (coord.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. p.371-91.
- Banzato DA & Kronka SN (1995) Experimentação agrícola. 3 ed. Jaboticabal, Funep. 247p.
- Bittencourt SRM & Vieira RD (2006) Temperatura e período de exposição de sementes de milho no teste de envelhecimento acelerado. *Revista Brasileira de Sementes*, 28:161-168.
- Brasil. Ministério da Agricultura (1992) Regras para análise de sementes. Brasília, DNDV/CLAV. 365p.
- Bruggink H, Kraak HL & Bekendam J (1991) Some factors affecting maize (*Zea mays* L.) cold tests results. *Seed Science and Technology*, 19:15-23.
- Burris JS & Navaratil RJ (1979) Relationship between laboratory cold test methods and field emergence in maize imbeds. *Agronomy Journal*, 71: 985-988.
- Caseiro RF & Marcos Filho J (2002) Procedimentos para condução do teste de frio em sementes de milho, pré-resfriamento e distribuição do substrato no interior da câmara fria. *Revista Brasileira de Sementes*, 24: 6-11.
- Cicero SM & Vieira RD (1994) Teste de frio. In Vieira RD & Carvalho NM (ed) Teste de vigor em Sementes. Jaboticabal, Funep/Unesp. p.151-164.
- Crosier WF (1957) Fungi involved and methods of conducting cold tests. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 47:185-190.
- Desai MV & Reddy CS (1958) Toward a uniform seed corn cold test. *Phytopathology*, 48:386-387.
- Dickson JG & Holbert JR (1926) The influence of temperature upon the metabolism and expression of disease resistance of selfed lines of corn. *Journal of the American Society of Agronomy*, 18:314-312.
- Fessel SA, Mendonça EAF, Carvalho NM & Vieira RD (2003) Efeito do tratamento químico sobre a conservação de sementes de milho durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, 25:25-28.
- Fiala F (1987) Report of the vigour test Committee, 1983-1986. *Seed Science and Technology*, 15:507-522.
- Fialho WFB, Goulart ACP, Paiva FA & Bachi LA (1997) Efeito do período de armazenamento na sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho. In: 10º Congresso Brasileiro de sementes. Brasília. Anais, Abrates. p.138
- Flor HH (1930) Relation of environmental factors to growth and pathogenicity of *Pythium* isolated from roots of sugar cane. *Phytopathology*, 20:319 - 318.
- Galli JA, Fessel AS, Sader R, Panizzi RC & Costa PRR (2000) Influência do tratamento químico na população de fungos, na germinação e no vigor de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, 22:245-249.
- Garzonio DM & Larsen AL (1981) A comparative study between field soil and perlite infested with *Pythium* as media for the corn (*Zea Mays* L.) cold test. *Journal of Seed Technology*, 6:50-58.
- Hampton JG & TeKrony DM (1995) Handbook of vigour test methods. Zurich, ISTA. 117p.

- Hooks JA & Zuber MS (1963) Effects of soil and soil moisture levels on cold test germination of corn. *Agronomy Journal*, 55:453-455.
- Knapp AD (1990) AOSA Vigor research subcommittee report - cold test methodology. *Association of Official Seed Analysts Newsletter*, 64:84-93.
- Lucca Filho OA (1987) Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: Soave J & Wetzel MMVS (ed) *Patologia de sementes*. Campinas, Fundação Cargill. p. 276-298.
- Menten JOM (1991) Importância do tratamento de sementes. In: Menten JOM (ed) *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. Piracicaba, Esalq/Fealq. p. 203-24.
- Nakagawa J (1994) Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas In: Vieira RD & Carvalho NM (ed) *Teste de vigor em Sementes*. Jaboticabal, Funep p. 49-85.
- Nijënstein JH (1988) Effects of soil moisture content and crop rotation on cold test germination of corn (*Zea Mays L.*). *Journal of Seed Technology*, 12:99-106.
- Pereira OAP (1986) Tratamento de sementes de milho. In: 2º *Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes*, Campinas. Anais, Fundação Cargill. p. 145-148.
- Pereira OAP (1991) Importância do tratamento de sementes. In: Menten JOM (ed) *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. Piracicaba, Esalq/Fealq. p.271-80.
- Pinto NFJA (1992) Patogenicidade de fungos de solo em sementes de milho. In EMBRAPA. Centro nacional de pesquisa de milho e sorgo. *Relatório Técnico Anual 1988-1991*. Sete Lagoas, EMBRAPA. p. 121-122.
- TeKrony DM & Woltz JM (1997) Standartization of the cold test for corn seed. *Proceedings of the 52nd Annual Corn and Sorghum Research Conference*, Lexington 52:207-227.
- Von Pinho EVR, Cavariani C, Alexandre AD, Menten JOM & Moraes MHD. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, 17:23-28.
- Woltz JM & TeKrony DM (2001) Accelerated aging test for corn seed. *Seed Technology*, 23:21-34.
- Woltz JM, TeKrony DM, LI DB & Vincelli P (1998) Corn cold test germination as influenced by soil moisture, temperature and pathogens. *Seed Technology*, 20:56-70.