

Efeito de Solventes Orgânicos Usados como Veículos de Fungicidas no Controle *In Vitro* e *In Vivo* da Incidência e da Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* em Sementes de Cevada*

Javier Toledo Barba¹, Erlei M. Reis² & Carlos A. Forcelini²

¹Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT), Santa Cruz, Bolívia; ²Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Fitopatologia, Universidade de Passo Fundo, Cx. Postal 611, 99001-970, Passo Fundo, RS

(Aceito para publicação em 28/01/2003)

Autor para correspondência: Erlei Melo Reis

BARBA, J.T., REIS, E.M. & FORCELINI, C.A. Efeito de solventes orgânicos usados como veículos de fungicidas no controle *in vitro* e *in vivo* da incidência e da transmissão de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. Fitopatologia Brasileira 28:136-142. 2003.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi comparar e avaliar, *in vitro* e *in vivo*, o efeito de solventes orgânicos utilizados como veículos de fungicidas na erradicação do fungo em sementes de cevada. Foram empregados o monoetilenoglicol (MEG) e o propilenoglicol (PPG), ambos a 0,5, 1 e 2%. Os fungicidas testados foram a iminocadina, a iprodiona, o triadimenol, o triticonazol, o flutriafol e o difenoconazol. A incidência foi determinada pela ocorrência de *B. sorokiniana* em sementes plaquadas em meio seletivo. A erradicação foi obtida nos tratamentos com iminocadina + MEG; iminocadina + PPG (a 1 e 2%) e iprodiona + PPG (2%). A eficiência dos demais fungicidas foi melhorada com o emprego dos solventes orgânicos, mas sem alcançar a erradicação do fungo.

In vivo na testemunha foram registrados níveis de transmissão de 89,7% para o coleótilo e de 12,3% para a plúmula. Diferentemente dos dados obtidos *in vitro*, o emprego do PPG influenciou muito pouco no controle da transmissão, pois os fungicidas comportaram-se satisfatoriamente quando misturados com água. Os fungicidas iminocadina e difenoconazol foram 100% efetivos em evitar a transmissão do fungo das sementes para os coleótilos. Os solventes orgânicos mostraram potencialidade para melhorar a eficiência da maioria dos fungicidas testados *in vitro*, aspecto que não foi corroborado *in vivo*.

Palavras-chave adicionais: *Hordeum vulgare*, patologia de sementes, monoetilenoglicol, propilenoglicol

ABSTRACT

Effect of organic solvents used as vehicles for fungicides on the *in vitro* and *in vivo* control of incidence and transmission of *Bipolaris sorokiniana* in barley seeds

An important pathogenic feature of the fungus *Bipolaris sorokiniana* is its capacity to be transmitted through barley (*Hordeum vulgare*) seeds, sometimes in levels up to 100%, which turns fungus eradication very difficult with the available fungicides. As an attempt to improve the control of the seed-borne fungus inoculum, two organic solvents (monoethyleneglycol – MEG and propyleneglycol – PPG, both at 0,5, 1, and 2%) were tested as vehicle for fungicides (iminocadine, iprodione, triadimenol, triticonazol, flutriafol, and

difenoconazol) used for seed dressing. *In vitro* fungus eradication was obtained with iminocadine + MEG, iminocadine + PPG (at 1 and 2%), and iprodione + PPG (2%). The organic solvents also improved the other fungicides efficacy, but they did not reach a 100% control. The *in vivo* (growth chamber adjusted to 25 ± 2 °C and 80 – 95% RH) fungus transmission was 89,7% to coleoptiles and 12,3% to plumules. All fungicides reduced this process by more than 90% and the use of PPG did not improve fungicide performance significantly. Iminocadine and difenoconazol completely inhibited the fungus transmission to coleoptiles. In conclusion, the positive *in vitro* effects of the organic solvents were not confirmed *in vivo*.

INTRODUÇÃO

A transmissão de patógenos por sementes é um mecanismo eficiente pelo qual os fitopatógenos são introduzidos em novas áreas de cultivo, disseminados a longas distâncias, selecionados e disseminados como raças específicas a determinados hospedeiros e distribuídos através da população de plantas como focos de inóculo primário (Baker & Smith, 1966; Tanaka & Machado, 1985).

Cerca de 48 patógenos já foram relatados no mundo associados a sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.), incluindo não apenas fungos, mas também bactérias e vírus (Richardson, 1979). No Brasil, existe uma grande flutuação na prevalência dos patógenos nas sementes de cevada, de acordo com as regiões e as safras agrícolas. De modo geral, *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechs. & Dastur [*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.] e *Pyrenophora teres* (Died.) Drech. [*Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.] são os organismos de maior ocorrência nos grãos de cevada (Diehl & Minella, 1985).

Em geral, os danos produzidos por *B. sorokiniana* nas

*Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade de Passo Fundo (2001).

sementes de cevada traduzem-se na diminuição da germinação, redução no rendimento e na qualidade dos grãos e do malte; além disso, o fato de ter a capacidade de infetar e ser transmitido pela semente torna o fungo de importância potencial para a cultura da cevada, sobretudo quando as condições ambientais se apresentam favoráveis ao desenvolvimento da doença.

No trigo (*Triticum aestivum* L.), estudos feitos sobre a eficiência de transmissão desse fungo relatam valores de até 88% ao coleóptilo (Reis & Forcelini, 1993) e 38% à plúmula (Toledo *et al.*, 1996). Em consequência, devido à elevada eficiência da transmissão que *B. sorokiniana* apresenta, Reis (1987) considera que o controle desse fungo deve ser orientado à erradicação na semente, a fim de reduzir o inóculo primário na lavoura. Porém, a constatação de lotes de sementes de cevada altamente infetadas por este fungo, com incidências próximas a 100%, tornam os fungicidas existentes no mercado incapazes de erradicar esses altos níveis de infecção e de impedir a passagem do fungo para a parte aérea da planta.

Um dos avanços no tratamento químico de sementes refere-se às possibilidades de se utilizar solventes orgânicos (Menten, 1996). Segundo Dhingra & Muchovej (1980), o seu uso apresenta várias vantagens sobre os métodos convencionais, tais como: a) as sementes permanecem secas, não necessitando de nova secagem; b) não estimula o processo da germinação; c) evita a imbibição e o aumento de volume das sementes (inchaço) e, o mais importante, d) favorece a penetração de fungicidas na semente, o que evita a remoção por manipulação e a sua diluição em solos muito úmidos.

O tratamento de sementes com solventes orgânicos tem sido recomendado para sementes de oleaginosas e para sementes de hortaliças (Dhingra & Muchovej, 1980).

O controle de fungos de sementes de cereais através do uso de fungicidas veiculados por solventes orgânicos tem sido pouco ou escassamente investigado no mundo. Vidhyasekaran (1980), em trabalhos de controle químico de *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram. & Jain., em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), conseguiu erradicar o fungo de todas as partes da semente através da guazatina + diclorometano, quando essas foram imersas na mistura pelo tempo de uma hora. No Brasil, Purchio & Muchovej (1990) relatam que as misturas de captam + benzeno e triadimenol + acetona podem reduzir significativamente a percentagem de *B. sorokiniana* em sementes de trigo, porém nenhuma das combinações testadas (fungicida + solvente) por esses autores logrou a erradicação do fungo-alvo de controle.

Nesse sentido, o presente trabalho objetivou avaliar *in vitro* e *in vivo* o efeito de solventes orgânicos utilizados como veículos de fungicidas na erradicação de *B. sorokiniana* em sementes de cevada.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido nas dependências da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo - RS no período de junho/2000

a fevereiro/2001.

Teste em laboratório *in vitro*

Os fungicidas testados foram: iminoctadina 20% (70 g i.a./100 kg sementes), iprodiona 50% (50 g i.a./100 kg), triadimenol 15% (40 g i.a./100 kg), triticonazol 20% (45 g i.a./100 kg), flutriafol 2,5% (7,5 g i.a./100 kg) e difenoconazol 15% (30 g i.a./100 kg). Os solventes orgânicos utilizados foram: monoetilenoglicol (MEG) e propilenoglicol (PPG), ambos nos volumes de 500, 1.000 e 2.000 ml/100 kg sementes (0,5, 1 e 2%), comparados com água (2000 ml/100 kg sementes) e uma testemunha (semente misturada com água). Foram utilizadas sementes da cultivar cevada BR 2, com incidência aproximada de *B. sorokiniana* de 58%. Cada fungicida constituiu um ensaio com oito tratamentos.

Para cada tratamento, 100 g de sementes foram pesadas, acondicionadas em frascos de Erlenmeyer de 500 ml de volume, acrescidas do fungicida + solvente (previamente misturados num vortex por espaço de 30 a 60 s) e agitadas durante 5 min até conseguir uma boa cobertura da semente. A seguir, foram distribuídas 400 sementes (unidade experimental constituída por dez placas de Petri com dez sementes cada uma e quatro repetições) em meio seletivo de Reis (Reis, 1983). As sementes foram incubadas em sala de crescimento sob fotoperíodo de 12 h a temperatura de 25 ± 2 °C, durante dez dias. Decorridos 11 dias do plaqueamento, as sementes foram examinadas sob microscópio estereoscópico, com magnitude de 40×, para a observação da frutificação de *B. sorokiniana*. Considerou-se infetada a semente sobre a qual o fungo produziu, no mínimo, um conidióforo com um conídio.

O delineamento experimental foi de parcelas completamente casualizadas. Os valores obtidos (percentagem de incidência do fungo) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas mediante o teste de Tukey ($P > 0.05$). Previamente à análise de variância, os valores foram submetidos à análise de normalidade.

Teste em câmara climatizada *in vivo*

Efeito dos solventes orgânicos na germinação: Com a finalidade de detectar provável efeito fitotóxico dos solventes orgânicos na germinação e emergência das plântulas, executou-se um ensaio no qual foram comparados três tratamentos: semente + água, semente + MEG e semente + PPG. Cada solvente foi utilizado no volume de 2.000 ml por 100 kg de sementes. A metodologia de tratamento das sementes foi idêntica ao do ensaio anterior. Em cada unidade experimental foram semeadas 50 sementes. O delineamento experimental foi de tratamentos completamente casualizados, com oito repetições. A avaliação do número de plântulas emergidas foi realizada aos 15 dias após da semeadura.

Os dados obtidos foram expressos em percentagem de plantas emersas e submetidos à análise de variância ($P < 0,05$), comparando-se as médias pelo teste de Tukey (5%). Previamente à análise de variância, os valores foram submetidos à análise de normalidade.

Transmissão e controle: O ensaio foi conduzido em função dos resultados obtidos no Experimento 1, no qual foram comparados 13 tratamentos, constituídos pelos seis fungicidas testados nas doses usadas *in vitro*, cada um deles misturado com água e com PPG, mais uma testemunha. Utilizaram-se sementes de cevada, da cultivar BR-2, naturalmente infetadas com *B. sorokiniana* (aproximadamente 41%). O tratamento fungicida foi feito de forma idêntica àquela descrita no ensaio *in vitro*.

No ensaio *in vivo*, a unidade experimental foi constituída de uma moldura de madeira de 41 × 28 × 10 cm de altura, encaixada numa bandeja de alumínio de 46 × 31 × 5 cm de altura, contendo areia + solo de horta (3:1), com pH corrigido para 6,0. A areia empregada possuía uma concentração de 6 ppm de manganês. O substrato foi esterilizado em duas oportunidades, em autoclave a 121 °C e 1,5 atmosferas, por um período de 45 min. O substrato foi irrigado 24 h antes da semeadura com água de torneira + adubo foliar (1 ml/l de água). Em cada caixa foram semeadas 100 sementes a 2,5 cm de profundidade do solo.

As caixas foram mantidas sob condições de câmara climatizada, com temperatura (25 ± 2 °C) e luminosidade (fotoperíodo de 12 h) controladas. A umidade relativa (80 – 95%) foi monitorada através de termohigrógrafo. A umidade do solo foi mantida mediante irrigação periódica para manutenção da capacidade de campo. A irrigação foi feita pela deposição da água no fundo da bandeja. Empregou-se o delineamento experimental de tratamentos completamente casualizados com quatro repetições.

Na avaliação da transmissão sintomática após a emergência das plântulas (três a quatro dias após a semeadura), os coleóptilos e plúmulas foram examinados a cada cinco dias, sendo marcados com um palito de dente aqueles que apresentaram lesões pardas em plúmulas, assim como as plântulas que morreram prematuramente. Em alguns casos, foram feitos isolamentos das plântulas mortas no aparecimento desses sintomas para se determinar o agente causal. Decorridos 35 dias após a semeadura, as extremidades apicais dos coleóptilos de cada uma das plântulas foram removidas e cortadas a 1-1,5 cm acima do nível do solo. Os segmentos cortados foram plaqueados imediatamente e sem desinfestação em meio de cultura seletivo (Reis, 1983). Os coleóptilos isolados foram classificados e separados em sintomáticos e assintomáticos. As placas contendo o meio e os coleóptilos foram mantidos por dez dias em sala de crescimento, com fotoperíodo de 12 h. Considerou-se infetado o coleóptilo sobre o qual ocorreu a esporulação do fungo, em exame sob microscópio estereoscópico (50 ×). De igual modo, foram feitos isolamentos a partir das lesões em plúmulas pelo seu plaqueamento em meio seletivo para confirmar a presença do fungo-alvo deste estudo.

Os dados obtidos foram expressos em percentagem de coleóptilos infetados (sintomáticos + assintomáticos). A transmissão (%) foi calculada de acordo com Goulart & Paiva (1990). Com os dados gerados, calculou-se o controle com base na redução da transmissão (%) proporcionada pelos fungicidas em relação à testemunha não tratada.

Finalmente, os valores obtidos (*in vitro* e *in vivo*) foram submetidos à análise de variância ($P < 0,05$), comparando-se as médias pelo teste de Scott & Knott (5%). Previamente à análise de variância, os dados foram transformados para arco seno [$\sqrt{(x + 1)/100}$]. Outros dados obtidos aos 35 dias após da semeadura foram: plântulas emergidas (%) e plântulas mortas (%). Dessas avaliações, apenas a primeira foi analisada estatisticamente, sem necessidade de transformação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Demonstrou-se o efeito significativo ($P < 0,05$) do tratamento de sementes de cevada com as diferentes combinações fungicida + solvente na incidência e na eficiência no controle de *B. sorokiniana* (Tabelas 1 e 2). Em geral, a dose alta (2 l/100 kg sementes) dos solventes testados melhorou substancialmente a eficiência de controle da maioria dos fungicidas.

Os resultados mostraram haver um efeito mínimo ou quase nulo dos solventes orgânicos na melhora da eficiência de controle do fungicida iminocadina, que, em mistura com água, evidenciou controle próximo a 100%. Porém, quando o fungicida foi misturado com as doses superiores dos solventes testados (1 e 2 l), o fungo foi erradicado das sementes.

Com os demais fungicidas, o efeito dos solventes orgânicos foi variável, mas sempre com a tendência de melhorar sua eficiência, sobretudo quando foram usadas as doses mais altas do solvente. Em média, a dose de 1 l proporcionou melhor eficiência do que quando misturados à água, 97 e 133%, quando misturados com MEG e PPG; já a dose mais alta (2 l) melhorou ainda mais a eficiência dos mesmos, em 192 e 201%, respectivamente.

Em relação ao desempenho dos fungicidas (excetuando a iminocadina), é importante salientar que o único produto que erradicou *B. sorokiniana* das sementes de cevada foi iprodiona quando misturado com 2 l de PPG; mesmo que junto ao flutriafol, foram os fungicidas que evidenciaram os menores incrementos na eficiência de controle ao serem misturados com os solventes orgânicos testados, pois, na mistura com água, já apresentavam controle superiores a 70%. Controle superior a 90% foi obtido com os fungicidas flutriafol e difenoconazole quando misturados à dose alta de PPG, principalmente. Um outro aspecto que deve ser salientado, é o fato de a combinação fungicida + água, nos produtos triadimenol, triticonazol e difenoconazol, ter determinado níveis de controle mais baixos (< 21%). Por outro lado, a eficiência foi melhorada substancialmente com o uso da dose alta dos solventes (média: 298% para MEG e 312% para PPG), sendo que a melhor resposta foi obtida com o difenoconazol, com incrementos de 372 (+ MEG) e 417% (+ PPG).

O efeito do tratamento de sementes com fungicida + água e fungicida + PPG (Tabela 3) demonstrou que os tratamentos testados mostraram diferença significativa ($P < 0,05$) entre si. Dentre a combinação fungicida + água, destacou-se o fungicida iminocadina, sendo o único que

TABELA 1 - Incidência (*in vitro*) de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada (*Hordeum vulgare*) tratadas com fungicidas + solventes orgânicos

Solvente ou veículo	Dose ¹	Fungicidas ²					
		1 ³	2	3	4	5	6
		INCIDÊNCIA (%)					
Água	2,0	0,3	14,5 bc	50,5 ab	50,5 bc	16,5 bc	38,5 b
MEG ⁵	0,5	0,3	18,5 b ⁴	48,8 ab	54,0 ab	16,5 bc	29,8 c
MEG	1,0	0,0	4,3 d	36,8 bcd	39,8 cd	11,3 c	19,0 d
MEG	2,0	0,0	0,3 d	21,0 d	20,3 e	3,8 d	6,8 ef
PPG ⁵	0,5	0,3	11,3 c	47,3 abc	52,0 abc	19,8 b	36,5 bc
PPG	1,0	0,0	4,3 d	32,0 cd	30,3 de	12,3 c	13,8 de
PPG	2,0	0,0	0,0 d	21,3 d	20,5 e	3,0 d	2,5 f
Testemunha	----	57,3	53,0 a	60,5 a	63,8 a	61,3 a	47,0 a
CV (%)			18,03	17,80	13,12	15,26	13,25
FC			212,2**	16,9**	36,2**	179,9**	100,8**

(1) l/100 kg de sementes.

(2) 1. iminocadina; 2. iprodiona; 3. triadimenol; 4. triticonazole; 5. flutriafol; 6. difenoconazole.

(3) Cada fungicida representa um ensaio com oito tratamentos, médias comparadas na vertical.

(4) Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

(5) MEG = monoetilenoglicol; PPG = propilenoglicol.

Nota: O ensaio do fungicida iminocadina não foi analisado estatisticamente por não apresentar distribuição normal.**TABELA 2** - Controle de *Bipolaris sorokiniana* (*in vitro*) pelo tratamento de sementes de cevada (*Hordeum vulgare*) com fungicida + solventes orgânico

Solvente ou veículo	Dose ¹	Fungicidas ²					
		1 ³	2	3	4	5	6
		CONTROLE (%)					
Água	2,0	99,5	72,6	16,5	20,9	73,1	18,1
MEG ⁴	0,5	99,5	66,1	19,3	15,4	73,1	36,6
MEG	1,0	100,0	91,9	39,2	37,6	81,6	59,6
MEG	2,0	100,0	99,4	65,3	68,2	93,8	85,5
PPG ⁴	0,5	99,5	78,7	21,8	18,5	67,7	22,3
PPG	1,0	100,0	91,9	47,1	52,5	79,9	70,6
PPG	2,0	100,0	100,0	64,8	67,9	95,1	93,6

(1) l/100 kg de sementes.

(2) 1. iminocadina; 2. iprodiona; 3. triadimenol; 4. triticonazole; 5. flutriafol; 6. difenoconazole.

(3) Cada fungicida representa um ensaio com oito tratamentos, médias comparadas na vertical.

(4) MEG = monoetilenoglicol; PPG = propilenoglicol.

erradicou *B. sorokiniana* das sementes. Os fungicidas iprodiona e flutriafol ocuparam um segundo grupo, com controles de 83,5 e 87,0%, respectivamente, ao passo que o triadimenol, o triticonazol e o difenoconazol evidenciaram o mais baixo nível de controle (< 50%). Dentro das combinações fungicida + PPG, todas se mostraram estatisticamente similares, sendo que iminocadina, iprodiona e flutriafol foram as que conseguiram erradicar o fungo da semente. O restante dos tratamentos apresentou controle superior a 95%. Em média, o uso do PPG melhorou significativamente a eficiência dos fungicidas testados, em 84,2%, sem considerar a iminocadina. Esses níveis de controle são confirmados pelos dados obtidos no primeiro ensaio, no qual os fungicidas triadimenol (126%), triticonazol (100%) e, principalmente, difenoconazol (160%) foram os mais favorecidos pela mistura

com o solvente.

A análise de variância evidenciou não existir diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos testados. No tratamento 1 (semente + água), obteve-se o valor mais alto, com 87,8%; seguido pelo tratamento 3 (semente + PPG), com 83,3%, e ocupando o último lugar o tratamento 2 (semente + MEG), com 81,3%.

Para os dados de percentagem de emergência, infecção, transmissão e eficiência de controle (Tabela 3) registraram-se diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos testados.

Em relação à emergência de plântulas, quase todos os tratamentos mostraram um comportamento similar, sendo o tratamento 10 (triadimenol + PPG) o único estatisticamente inferior aos restantes.

TABELA 3 - Controle *in vitro* e *in vivo* da incidência e da transmissão de *Bipolaris sorokiniana* mediante o tratamento de sementes de cevada (*Hordeum vulgare*) com fungicida + solvente orgânico (PPG)

Tratamento	<i>In vitro</i>		<i>In vivo</i>			
	Incidência (%)	Controle (%)	Emergência (%)	Coleóptilos infetados (%) ¹	Transmissão (%) ¹	Controle transmissão (%)
Testemunha	40,7 a	0,0	89,0 a	36,5 a	89,68 a	0,0
Iminoctadina + água	0,0 d ²	100,0	88,0 a	0,0 d	0,00 d	100,0
Iprodinona + água	6,7 c	83,5	88,0 a	0,5 d	1,23 d	98,6
Triadimenol + água	23,3 b	42,8	86,0 a	11,5 b	28,26 b	68,5
Triticonazo e + água	20,7 b	49,1	88,0 a	2,5 c	6,14 c	93,2
Flutriafol + água	5,3 c	87,0	86,0 a	2,0 c	4,91 c	94,5
Difeno conazol + água	25,3 b	37,8	93,5 a	0,0 d	0,00 d	100,0
Iminoctadina + PPG	0,0 d	100,0	83,0 a	0,0 d	0,00 d	100,0
Irodiona + PPG	0,0 d	100,0	87,0 a	0,5 d	1,23 d	98,6
Triadimenol + PPG	1,3 d	96,8	72,0 b	2,0 c	4,91 c	94,5
Triticonazol + PPG	0,7 d	98,3	84,5 a	0,5 d	1,23 d	98,6
Flutriafol + PPG	0,0 d	100,0	87,0 a	1,5 c	3,69 c	95,9
Difenoconazol + PPG	0,7 d	98,3	89,5 a	0,0 d	0,00 d	100,0
FC	103,08 **	--	5,03 **	59,00 **	58,37 **	--
CV(%)	13,19	--	5,14	21,91	31,42	--

(1) Dados transformados para arco seno $[\sqrt{(x+1)/100}]$

(2) Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade

Trinta e cinco dias após a semeadura, os tratamentos mostraram comportamento variável, registrando-se na testemunha uma taxa de transmissão próxima a 90%. Dentre as combinações, o tratamento 3 (triadimenol + água) situou-se num segundo grupo, depois da testemunha, com 28,3% de transmissão, situação que foi reduzida até 4,91% com o emprego do PPG. Num terceiro grupo, situaram-se os tratamentos 4 (triticonazol + água) e 5 (flutriafol + água), sendo que só o flutriafol não sofreu nenhuma melhora quando misturado ao PPG. Por último, os tratamentos 1 (iminoctadina + água), 2 (iprodiona + água), 6 (difenoconazol + água), 8 (iminoctadina + PPG), 9 (iprodiona + PPG), 11 (triticonazol + PPG) e 13 (difenoconazol + PPG) evidenciaram o melhor comportamento (estatisticamente semelhantes), com transmissão que oscilou entre zero e 1,23%. Entre eles, os fungicidas iminocadina e difenoconazol, em combinação com água ou com PPG, foram os que impediram totalmente a transmissão do fungo aos coleóptilos (100% de controle). Em geral, os resultados obtidos *in vivo* mostram que o emprego do PPG melhorou pouco a eficiência de controle dos fungicidas (média de 9%, sem levar em conta a iminocadina), pois, por si só, em mistura com água, foram capazes de reduzir a eficiência da passagem do fungo para os órgãos aéreos. Porém, é evidente que o fungicida triadimenol foi o mais favorecido, com 38% de aumento na sua eficiência; ao contrário, sua mistura com PPG reduziu significativamente a germinação das sementes.

A metodologia permitiu quantificar o potencial de transmissão de *B. sorokiniana* das sementes às plúmulas e folhas primárias, sendo a eficiência da transmissão, na testemunha, de até 20% (média: 12%). O único tratamento com fungicida no qual ainda houve a transmissão do fungo a esses órgãos foi o triadimenol com 3,7 (+ água) e 2,5% (+ PPG).

Segundo Reis & Forcelini (1993), a presença dos

patógenos necrotróficos na semente de cereais de inverno tem assegurado uma convivência indefinida daqueles com o hospedeiro, o que ocorre porque a maioria dos métodos de controle recomendados não é eficiente na sua erradicação. Por isso, existe a necessidade de se selecionar ou desenvolver métodos eficientes na erradicação desses patógenos, tarefa que não é fácil, segundo os autores. Os resultados obtidos nos testes de laboratório (*in vitro*) confirmam essa afirmação, pois, apesar de se ter melhorado a eficiência da maioria dos fungicidas testados mediante o emprego de solventes orgânicos, em substituição à água, a erradicação de *B. sorokiniana* das sementes de cevada só foi possível com os fungicidas iminocadina e iprodiona. Estudos realizados por Vidhyasekaran (1980), nos quais se objetivou melhorar a eficiência dos fungicidas na erradicação de *D. oryzae* em sementes de arroz, demonstraram que o único fungicida que conseguiu atingir esse objetivo foi a guazatina, em combinação com o diclorometano, e quando as sementes foram imersas na solução por 1 h. Por outro lado, Purchio & Muchovej (1990) reportaram que a eficiência de alguns fungicidas no controle de *B. sorokiniana* em sementes de trigo foi incrementada com o emprego de solventes orgânicos.

Nenhum dos solventes orgânicos empregados (dose: 2 l/100 kg sementes) afetou significativamente a germinação e a emergência das plântulas. Estudos desenvolvidos por Purchio & Muchovej (1990) concluíram, de igual modo, que os solventes benzeno, diclorometano e tetracloreto de carbono não exerceram nenhum efeito negativo sobre a germinação das sementes de trigo, ao passo que, quando foram imersas em acetona ou etanol, os efeitos deletérios na germinação foram evidentes, sobretudo quando foi empregado o etanol. Por outro lado, Braccini *et al.* (1996), em estudos objetivando avaliar o efeito do estresse hídrico induzido por soluções de

cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol sobre a germinação e vigor de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], determinaram que as características avaliadas podem ser severamente afetadas à medida que a concentração das soluções osmóticas aumenta, sendo mais adversas com o polietilenoglicol. Em vista dessa conclusão, é importante salientar que, em estudos preliminares, mas sem repetições, foi possível observar reduções de até 50% na emergência de plântulas de cevada quando a semente foi misturada com MEG a 2% e armazenada por mais de dez dias antes da semeadura. Essa situação não se evidenciou com o PPG, razão pela qual este foi escolhido para realizar o ensaio de transmissão e de controle. Além disso, em observações realizadas nos ensaios de laboratório (*in vitro*), o efeito sobre a germinação das sementes foi também constatado, principalmente quando armazenadas por cinco a 14 dias. Os resultados obtidos no presente ensaio não refletem o exposto anteriormente talvez porque a semente empregada tenha sido semeada 24 a 30 h após o tratamento com o MEG.

Os resultados de transmissão obtidos na testemunha (89,7%) demonstram a elevada capacidade que tem *B. sorokiniana* de passar da semente para o coleóptilo de plântulas de cevada, fato já reportado em trigo por Forcelini (1992), Reis & Forcelini (1993), Toledo *et al.* (1996), entre outros. Tal capacidade foi favorecida pelas condições proporcionadas, 25 ± 2 °C e 80 a 95% de UR, como afirmam Couture & Sutton (1978), Dehne & Oerke (1985) e Luz & Bergstrom (1986). Quanto à eficiência de controle registrada *in vitro*, onde as combinações fungicidas + PPG melhoraram significativamente a eficiência dos produtos, essas vantagens não se manifestaram *in vivo*, à exceção do triadimenol. Os resultados obtidos mostram que, em alguns casos, não é preciso erradicar o fungo da semente para evitar a sua passagem para os órgãos aéreos da planta, como aconteceu com o difenoconazole, o qual, ao que parece, graças a sua condição sistêmica e a sua fungitoxicidade, não necessitou do emprego do PPG para impedir a transmissão de *B. sorokiniana*, ainda com níveis aparentes de infecção relativamente altos (*in vitro*). Comportamento semelhante manifestaram os demais fungicidas sistêmicos, situação que também foi observada por Forcelini (1992). Em geral, os fungicidas testados (exceto o triadimenol) apresentaram baixas eficiências de transmissão do fungo (controle > 90%) ainda em condições normais (+ água), contrastando com as incidências elevadas alcançadas *in vitro*. No caso da iminocadina, a sua elevada eficiência registrada *in vitro* foi fortemente corroborada *in vivo*. O fungicida iprodiona não evitou completamente a passagem do fungo aos órgãos aéreos (98,6% de controle), ao que parece devido à condição de fungicida protetor, apesar de a sua atividade sistêmica (basipetal e acropetal) ter sido reportada em plantas de *Poa* sp. (Danneberger & Vargas, 1982). No caso particular do flutriafol, a capacidade de erradicação registrada *in vitro* não foi refletida *in vivo*, situação que também foi reportada por Forcelini (1992) em lotes de sementes com incidência superior a 40%.

Sobre a necessidade de erradicação dos patógenos das

sementes, Menten (1996) relata que a simples constatação da presença de um microorganismo, mesmo que patogênico, em determinada semente não é suficiente para garantir a passagem do patógeno para a plântula proveniente da semente infetada. Entretanto, para esse autor, a associação patógeno-semente indica o potencial de transmissão e o conseqüente estabelecimento da doença por ocasião da semeadura no campo se as demais condições do ambiente forem favoráveis.

Tratando-se de um patógeno que afeta a germinação das sementes, o controle de *B. sorokiniana* através do uso de fungicidas pode resultar em incrementos no percentual de emergência das plântulas no campo (Barros & Salgado, 1983; Barros *et al.*, 1983; Lasca *et al.*, 1985). Nesse sentido, em função dos resultados obtidos neste ensaio, é possível deduzir que o tratamento de sementes com o emprego de solventes orgânicos permite diminuir significativamente a incidência do fungo nas sementes (*in vitro*), mas não afeta significativamente a percentagem de emergência das plântulas. Forcelini (1992) observou que a emergência de plântulas de trigo foi influenciada positivamente à medida que a semente apresentava menor incidência do fungo (< 50%), aspecto que, na maioria dos casos, foi melhorado com o tratamento das sementes através do uso de fungicidas. Outros trabalhos realizados por Barros & Salgado (1983), Barros *et al.* (1983) e Lasca *et al.* (1985) destacam o benefício do tratamento de sementes sobre a emergência de plântulas de trigo. Contudo, Forcelini (1992) manifesta que os incrementos na emergência são, geralmente, significativos nos lotes com menor incidência do fungo, pois sementes já debilitadas pelo patógeno não são recuperadas pelo tratamento. Nesse sentido, considerando a incidência da semente empregada neste experimento (< 50%), deduz-se que esse foi o motivo da ausência de diferenças entre os tratamentos. A combinação triadimenol + PPG foi o único tratamento estatisticamente inferior aos demais. Reis (1987) relata que o fungicida triadimenol pode retardar a velocidade de emergência, reduzir o crescimento inicial das plântulas e provocar o encurtamento do entrenó subcoronal, efeitos fitotóxicos que, possivelmente, foram acentuados pela mescla, reduzindo, dessa maneira, o número de plântulas emergidas.

Segundo Forcelini (1992), se o objetivo do tratamento de sementes fosse simplesmente elevar a germinação, todas as sementes com incidência inferior a 50% não necessitariam ser tratadas. O autor, ao analisar o papel epidemiológico da semente na formação de focos primários de infecção na lavoura, concluiu que se o objetivo do tratamento de semente é só o incremento da emergência, e não a redução do nível de incidência do patógeno, um imenso inóculo inicial na lavoura não seria alvo do tratamento. Por essa razão, Reis *et al.* (1988) salientam que a melhoria da qualidade fisiológica das sementes poderá ser conseqüência, mas não o objetivo do tratamento de sementes. Contudo, o estabelecimento de padrões para o tratamento de sementes não deveria considerar o efeito do patógeno sobre a emergência, mas, sim, o papel epidemiológico do inóculo presente na semente (Forcelini, 1992).

Finalmente, do presente trabalho conclui-se que a erradicação *in vitro* de *B. sorokiniana* da semente de cevada é difícil de ser alcançada e nem sempre necessária, uma vez que a simples presença do fungo na semente (especialmente quando tratada com fungicida) não garante a sua transmissão para os órgãos aéreos de plântulas de cevada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, K.F. & SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 3:311-334. 1966.
- BARROS, B.C. & SALGADO, C.L. Efeito do tratamento de sementes de trigo sobre a emergência e rendimento de grãos. *Summa Phytopathologica* 9:128-139. 1983.
- BARROS, B.C., SALGADO, C.L. & LASCA, C.C. Ação de fungicidas *in vitro* sobre a germinação e microflora de sementes de trigo. *Summa Phytopathologica* 9:118-127. 1983.
- BRACCINI, A. de L., RUIZ, H.A. BRACCINI, M. do C.L. & REIS, M.S. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. *Revista Brasileira de Sementes* 18:10-16. 1996.
- COUTURE, L. & SUTTON, J.C. Relation of weather variables and host factors to incidence of airborne spores of *Bipolaris sorokiniana*. *Canadian Journal of Botany* 56:2162-2170. 1978.
- DANNEBERGER, T.K. & VARGAS, J.M. Jr. Systemic activity of iprodione in *Poa annua* postinfection activity for *Drechslera sorokiniana* leaf spot management. *Plant Disease* 66:914-915. 1982.
- DEHNE, H.W. & OERKE, E. C. Investigations on the occurrence of *Cochliobolus sativus* on barley and wheat. I. Influence of pathogen, host plant and environment on infection and damage. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 92:270-280. 1985.
- DIEHL, J.A. & MINELLA, E. Flora fitopatogênica associada a sementes de cevada no Rio Grande do Sul, 1982-83. *Fitopatologia Brasileira* 10:443-446. 1985.
- DHINGRA, O.D. & MUCHOVEJ, J.J. Dichloromethane, trichloromethane and carbontetrachloride as solvents for bean seed treatment with systemic fungicides. *Seed Science and Technology* 8:77-83. 1980.
- FORCELINI, C.A. Incidência, transmissão e controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo (Tese de Mestrado). Piracicaba, SP. ESALQ. 1992.
- GOULART, A.C.P. & PAIVA, F. de A. Transmissão de *Pyricularia oryzae* através de sementes de trigo (*Triticum aestivum*). *Fitopatologia Brasileira* 15:359-362. 1990.
- LASCA, C.C., BARROS, B.C. & CASTRO, J.L. Danos à cultura do trigo ocasionados por *Helminthosporium sativum* veiculado por sementes. *Summa Phytopathologica* 12:17. 1985. (Resumo)
- LUZ, W.C. da & BERGSTROM, G.C. Temperature-sensitive development of spot blotch in spring wheat cultivars differing in resistance. *Fitopatologia Brasileira* 11:197-204. 1986.
- MENTEN, J.O.M. Tratamento de sementes. In Soave, J., Oliveira, M.R.M. & Menten, J.O.M. (Ed.). *Tratamento químico de sementes*. Anais, 4^o Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. Gramado, RS. 1996. pp.3-23.
- PURCHIO, A.F. & MUCHOVEJ, J.J. Organic solvents as vehicles of fungicides in seeds of wheat. *Fitopatologia Brasileira* 15:226-228. 1990.
- REIS, E.M. Patologia de sementes de cereais de inverno. São Paulo, SP. CNDA. 1987.
- REIS, E.M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. *Plant Disease* 67:68-70. 1983.
- REIS, E.M. & FORCELINI, C.A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopatologia Brasileira* 18:76-81. 1993.
- REIS, E.M., PICININI, E.C. & FERNANDES, J.M.C. Estratégias para o controle de doenças do trigo. Embrapa-CNPT. Passo Fundo, RS. 1988.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3rd ed. CAB. 1979.
- TANAKA, M.A.S. & MACHADO, J.C. Patologia de sementes. *Informe Agropecuário* 11:40-46. 1985.
- TOLEDO, J., ROCA, R.H. & ESCÓBAR, R.E. Transmisión, persistencia y control químico de *Bipolaris sorokiniana* causante de la punta negra del grano en trigo. CIAT. Informe Técnico. Proyecto de Investigación Trigo. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. 1996. pp.87-106.
- VIDHYASEKARAN, P. The use of dichloromethane to incorporate fungicides into rice seeds for control of *Drechslera oryzae*. *Seed Science and Technology* 8:357-362. 1980.