

## Restrição hídrica e peliculização na microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma* spp.

Emanuele Junges\*, Bruna de Oliveira Bastos, Marcos Toebe, Juceli Muller,  
Daniele Cardoso Pedroso, Marlove Fátima Brião Muniz

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

\*Autor correspondente, e-mail: manujunges@hotmail.com

### Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da microbiolização de sementes com *Trichoderma* spp. associada às técnicas de restrição hídrica e peliculização sobre o desempenho fisiológico de sementes de milho. Os tratamentos utilizados foram: T1 - Suspensão de esporos: foi utilizado o produto comercial Agrotich® plus (0,1 g em 1 mL de água/100 sementes); T2 – Restrição hídrica: foi realizada em meio BDA + manitol (- 0,7 MPa) sobre o qual estava crescendo e esporulado o fungo *Trichoderma* spp., foram distribuídas 100 sementes desinfestadas em cada placa. Quando houve protrusão radicular na primeira semente, as demais foram retiradas e secas em ambiente de laboratório por 48 h; T3 – Peliculização: foi realizada com a adição do polímero Color Seed (50 mL kg<sup>-1</sup>) à calda de tratamento contendo *Trichoderma* spp. As sementes foram secas por 48 h em ambiente de laboratório. T4 – Restrição hídrica e peliculização: após as sementes terem sido condicionadas na presença do fungo foi realizada uma cobertura com polímero; T5 – Sementes sem tratamento. O uso da restrição hídrica proporcionou eficiente microbiolização de sementes com *Trichoderma* spp. com aumento do controle de fungos associados. A associação da restrição hídrica e da peliculização proporcionou controle de fungos associados e manteve o vigor das plântulas de milho. O uso de *Trichoderma* spp. promoveu aumento no vigor das plântulas de milho, independente da técnica de microbiolização utilizada, demonstrando os benefícios deste fungo quando aplicado às sementes de milho.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., Polímero, Osmocondicionamento, Biocontrole

### Water restriction and seed coating in the microbiolization of maize seeds with *Trichoderma* spp.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of seed microbiolization with *Trichoderma* spp. techniques associated with water restriction and film coating on the physiological performance of maize seed. The treatments were: T1 - Spore suspension: we used the commercial product Agrotich® plus (0.1 g in 1 ml water/100 seeds), T2 - Water restriction: it was performed on PDA + mannitol (- 0, 7 MPa) on which was grown and sporulated *Trichoderma* spp. disinfected seeds were distributed 100 on each plate. When was the first seed root protrusion, the others were removed and dried in a laboratory environment for 48 h, T3 - Pelliculation: performed with the addition of the polymer Color Seed (50 mL kg<sup>-1</sup>) to the pesticide treatment containing *Trichoderma* spp. The seeds were dried for 48 h in a laboratory environment. T4 - Water restriction and film coating: after the seeds were primed in the presence of the fungus was made with polymer coverage; T5 - Untreated seeds. The use of water restriction provided efficient microbiolization seeds with *Trichoderma* spp. with increased control of fungi. The association of water restriction and film coating provided control of fungi and kept the vigor of maize seedlings. The use of *Trichoderma* spp. promoted an increase in seedling vigor of maize, regardless of technique used microbiolization, demonstrating the benefits of this fungus when applied to corn seeds.

**Keywords:** *Zea mays*, Polymer, Osmoconditioning, Germination, biocontrol.

Recebido: 30 Janeiro 2013  
Aceito: 21 Maio 2013

## Introdução

As sementes podem atuar como disseminadoras de fungos, bactérias, vírus e nematóides, introduzir doenças em novas áreas, com consequências epidemiológicas. Assim, é muito importante o uso de sementes saudáveis, para que esses propágulos tenham boa capacidade germinativa e produzam plântulas vigorosas, garantindo um adequado estabelecimento da população de plantas.

A microbiolização consiste em recobrir sementes com organismos capazes de agir no controle de patógenos associados ou promover o crescimento e desenvolvimento de plântulas. Nesse sentido, a microbiolização com *Trichoderma* spp. oferece resultados promissores na manutenção da qualidade, com redução da utilização de insumos químicos, que causam malefícios para o ambiente e/ou para organismos não alvos. No entanto, os efeitos da microbiolização relatados na literatura, são variáveis, podendo estar associados às diferentes metodologias utilizadas.

O condicionamento fisiológico (restrição hídrica, hidrocondicionamento ou osmocondicionamento) vem sendo utilizado para melhorar o desempenho de sementes de diferentes espécies vegetais (Hölbig et al., 2010; Hölbig et al., 2011). Além disso, pode ser uma ferramenta para inoculação de patógenos, em estudos da interação patógeno/hospedeiro, intensificando a infecção sem comprometer as características germinativas das sementes (Deuner et al., 2011; Sousa et al., 2008). A associação do condicionamento osmótico com a microbiolização pode maximizar os benefícios de ambas as técnicas.

Porém, a peliculização de sementes, proporciona entre outros benefícios, revestimento das sementes com excelente aderência, favorecendo a adição de insumos agrícolas (Silveira, 1998), sem alterar o tamanho ou a forma e protegendo as sementes de

ataque de patógenos (Diniz et al., 2006). O uso de tecnologias como a peliculização agregam valor às sementes e possibilitam a associação com técnicas como a restrição hídrica e a microbiolização.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da microbiolização de sementes com *Trichoderma* spp. associada às técnicas de restrição hídrica e peliculização sobre o desempenho fisiológico de sementes de milho.

## Material e Métodos

Foram utilizadas sementes da variedade de milho de polinização aberta "Sertanejo", proveniente do banco de sementes da Associação dos Agricultores Guardiões de Semente de Milho Crioulo do município de Ibarama, RS. Nessas sementes, foram avaliados três métodos de microbiolização (suspensão de esporos, restrição hídrica e peliculização), para um produto biológico comercial destinado ao tratamento de sementes à base de agente fúngico (*Trichoderma* spp.).

Os tratamentos foram: Suspensão de esporos (T1): Foi produzida a suspensão de esporos de *Trichoderma* spp. a partir do produto Agrotrich® plus. Foram acrescidos 10 g desse produto em 100 mL de água destilada e esterilizada e, foi aplicado 1 mL da suspensão para cada 100 sementes. Após a microbiolização, as sementes foram colocadas para secar, sobre papel filtro, em condições de laboratório por 48 h. Restrição hídrica (T2): Inicialmente, foi determinado o restritor e o potencial hídrico ótimo para o crescimento de *Trichoderma* spp. Para a escolha do restritor, utilizou-se meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar), acrescido dos solutos manitol, NaCl e KCl, separadamente, e em diferentes potenciais hídricos: 0,0; -0,6; -0,7; -0,8 e; -0,9 MPa (Tabela 1), os quais foram vertidos em placas de petri de 7 cm (Coutinho et al., 2001).

**Tabela 1.** Crescimento micelial de *Trichoderma* spp. exposto à diferentes restritores e potenciais hídricos (MPa).

Restritor	TEST <sup>(1)</sup>	----- Manitol -----				----- KCl -----			----- NaCl -----				
Potencial	0,0	-0,6	-0,7	-0,8	-0,9	-0,6	-0,7	-0,8	-0,9	-0,6	-0,7	-0,8	-0,9
Média	31,9a <sup>(2)</sup>	31,8a	32,9a	31,0a	28,4c	32,1a	29,6b	31,3a	29,2b	29,7b	23,5d	27,6c	27,8c
CV%		4,29											

<sup>(1)</sup> TEST = Testemunha. <sup>(2)</sup> Médias com mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

No centro das placas, contendo os diferentes meios de cultura, foram repicados discos de 12 mm de diâmetro contendo micélio de *Trichoderma* spp. isolado do produto comercial Agrotich® plus. As placas foram incubadas em câmara de crescimento com fotofase de 12 h e temperatura de 25°C por cinco dias. Foi determinado o crescimento das colônias, a partir do disco de 12 mm, em quatro medidas diametralmente opostas. Foram utilizadas quatro placas por tratamento,

distribuídas em delineamento inteiramente casualizado.

Após a escolha do restritor, foi determinado o potencial hídrico ótimo para a germinação de sementes de milho. Para isso, o soluto manitol, determinado no ensaio anterior como ideal para o crescimento de *Trichoderma* spp., foi testado em diferentes potenciais hídricos (0,0; -0,6; -0,7; -0,8 e; -0,9) para verificar o efeito sobre a germinação de sementes de milho (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias das variáveis mensuradas em sementes hidrocondicionadas em meio de cultura BDA acrescido do soluto manitol em diferentes potenciais.

Tratamento (MPa)	PCO (%) <sup>(1)</sup>	GER (%)	SMO (%)	PAN (%)
0,0	10,00 b <sup>(2)</sup>	52,50 b	12,00 a	27,50 a
-0,6	18,75 a	72,00 a	13,50 a	11,00 b
-0,7	18,25 a	78,50 a	05,50 a	11,50 b
-0,8	18,75 a	78,00 a	08,00 a	09,00 b
-0,9	18,00 a	76,50 a	08,50 a	10,50 b
CV%	22,52	17,63	66,24	73,23

<sup>(1)</sup> PCO: Primeira contagem de germinação; GER: Germinação; SMO: Sementes mortas; PAN: Plântulas anormais. <sup>(2)</sup> Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em cada placa, foram colocadas 100 sementes de milho previamente desinfestadas. As sementes permaneceram incubadas em câmara de crescimento, com fotofase de 12h e temperatura de 25°C, até que houvesse protrusão radicular na primeira semente. Logo após a primeira protrusão radicular, todas as sementes foram retiradas e secas em ambiente de laboratório por 48 h, quando foi instalado o teste de germinação em rolo. Para cada potencial testado foram utilizadas 200 sementes, separadas em oito repetições de 25 sementes. Os rolos contendo as sementes foram mantidos em germinador, com fotofase de 12 h e temperatura de 25°C. A primeira contagem de germinação foi realizada quatro dias após e depois de sete dias de incubação. Foram determinados os percentuais de germinação, plântulas anormais e sementes mortas. Constatou-se com base nessas avaliações, que o melhor potencial foi de -0,7 MPa.

Assim, para a aplicação do tratamento T2, *Trichoderma* spp. foi isolado do produto comercial Agrotich® plus para o meio de cultura BDA, acrescido de soluto manitol no potencial de -0,7 MPa. As placas foram incubadas por 10 dias, para que o fungo colonizasse todo o

meio e esporulasse abundantemente. Em cada placa, foram colocadas 100 sementes de milho, previamente desinfestadas, e, em seguida incubadas, em germinador com fotofase de 12 h e temperatura de 25°C. Após 72h de incubação, a primeira semente apresentou início de protrusão radicular. As demais sementes foram removidas do meio e colocadas para secar, sobre papel filtro, em condições de laboratório por 48 h.

Peliculização (T3): Foi utilizado o polímero Collor Seed® He Vermelho, que foi aplicado conforme recomendação do fabricante, 50 mL do produto para cada 100 kg de sementes. A calda de aplicação foi preparada adicionando a quantidade de polímero, referente ao peso da amostra, em 1 mL do soluto, contendo *Trichoderma* spp., para cada 100 sementes.

Restrição hídrica e peliculização (T4): Foi composto pela microbiolização realizada por restrição hídrica, conforme descrito anteriormente para o tratamento T2. Posteriormente, as sementes foram secas, em condição ambiente, por 48 h e submetidas à peliculização, seguindo a recomendação do fabricante.

Testemunha (T5): foi composta por

sementes de milho, desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 1 min, seguido de álcool 70% por 1 min e três banhos em água destilada e esterilizada. Logo após, as sementes foram colocadas para secar em ambiente de laboratório por 48 h.

Para avaliação do desempenho das sementes, submetidas aos diferentes tratamentos, foram mensuradas as variáveis referentes à sanidade, germinação, teste de frio, testes em bandeja e canteiro e índice de velocidade de emergência.

Na avaliação da sanidade foram utilizadas 200 sementes divididas em oito repetições de 25 unidades, colocadas em caixas "gerbox", previamente desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, contendo duas folhas de papel filtro esterilizado, umedecidas com o herbicida 2,4-D a 0,5% para inibir a germinação. Após este procedimento, as sementes foram incubadas a 25°C, com fotofase de 12 h, durante cinco dias e analisadas, com o auxílio de microscópio estereoscópico e óptico. Foi realizada a observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados ao nível de gênero com o auxílio de bibliografia especializada (Barnet & Hunter, 1972), determinando-se o percentual de incidência de cada gênero fúngico.

Para o teste de germinação foram utilizadas 200 sementes em cada tratamento, divididas em oito repetições de 25 unidades, semeadas em rolo de papel filtro umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel. Os rolos, contendo as sementes, foram mantidos em germinador, a 25°C e fotofase de 12 h. Foram realizadas duas contagens, aos quatro e sete dias, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), sendo avaliadas na primeira as plântulas normais, de onde foram separadas, aleatoriamente, dez plântulas e medido o comprimento da parte aérea e da raiz e o comprimento total. Em seguida, as plântulas foram agrupadas em quatro repetições para a determinação da massa seca em estufa a 60°C por 48h. Aos sete dias de incubação, as plântulas foram classificadas em normais fortes, normais fracas, anormais e sementes mortas e obteve-se o percentual de

germinação em cada tratamento, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

No teste de frio, foram utilizadas 200 sementes por tratamento, divididas em oito repetições de 25 unidades, semeadas em rolo de papel filtro umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel, e colocadas em refrigerador a 10°C, durante cinco dias. Posteriormente, as sementes foram incubadas em germinador nas condições do teste de germinação, conforme Molina et al. (1987) e Brasil (2009).

No experimento realizado em bandeja, em cada tratamento foram semeadas quatro repetições de cinco sementes em substrato comercial. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas sempre que necessário. Aos 10 dias após a semeadura foram contabilizadas as plantas emergidas, o número de folhas, o diâmetro médio do colo, a estatura média e a massa seca média da parte aérea.

Também em casa de vegetação, em cada tratamento foram semeadas quatro repetições de 10 sementes em canteiro. Aos 10 dias após a semeadura foi contabilizado o número de plantas emergidas, o número de folhas, o diâmetro médio do colo, a estatura média e a massa seca média da parte aérea.

Posteriormente, foram realizadas contagens diárias das plântulas emergidas nas bandejas e em canteiro até obter-se número constante. Com isso, determinou-se o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plantas emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962).

Para cada variável analisada foi calculado a média, o coeficiente de variação e verificada a normalidade dos dados, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente, foi realizada a análise de variância por meio do teste F a 5% de probabilidade e as diferenças entre as médias foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade, usando o aplicativo estatístico GENES (Cruz, 2006).

## Resultados e Discussão

O crescimento micelial de *Trichoderma* spp. não foi influenciado pelo restritor manitol nos potenciais -0,6; -0,7 e; -0,8 MPa, sendo que apenas o potencial mais restritivo, de -0,9 MPa, limitou o crescimento do fungo (Tabela 1). O restritor KCl, nos potenciais -0,6 e -0,8 MPa, também não foi limitante para o crescimento de *Trichoderma* spp. Os demais potenciais de KCl, e todos os potenciais de NaCl, prejudicaram o desenvolvimento do fungo. Segundo Machado et al. (2004), a utilização de manitol nos potenciais hídricos de -0,4; -0,6; -0,8 e; -1,0 MPa, não prejudicou o crescimento micelial dos fungos *Colletotrichum gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, *Botryodiplodia theobromae* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Os potenciais -0,6; -0,7; -0,8 e -0,9 MPa de manitol foram todos semelhantes entre si e superiores à testemunha (0,0 MPa) para primeira contagem de germinação e número de sementes germinadas e apresentaram menor número de plântulas anormais (Tabela 2). Entretanto, o menor número de sementes mortas ocorreu no potencial -0,7, apesar de não ter diferido dos demais potenciais e da testemunha. Devido ao incremento de desempenho proporcionado pelos potenciais em relação à testemunha e ao menor número de sementes mortas, determinouse o potencial -0,7 MPa em meio de cultura BDA como o ideal para proceder o condicionamento osmótico de sementes de milho.

Em relação as 27 variáveis referentes à sanidade, germinação, teste de frio, testes em bandeja e canteiro e índice de velocidade de emergência, em 24 destes (88,89%), os dados seguiram a distribuição normal ( $P > 0,05$ ). Dessa forma, foi possível a realização de análises de variância e testes de comparação de médias por meio do teste de Scott-Knott, sem a necessidade de transformação de dados.

A microbiolização de *Trichoderma* spp. foi mais eficiente quando foi utilizado o método de restrição hídrica como método isolado (T2) ou associado à peliculização (T4), atingindo 100% de sementes colonizadas. Já a peliculização (T3) foi semelhante à microbiolização com suspensão de esporos (T1) (Tabela 3).

O uso da restrição hídrica como técnica

isolada proporcionou o melhor controle de *Fusarium* sp. e, quando a restrição foi associada a peliculização, a eficiência de controle foi inferior com controle similar ao obtido com a utilização da suspensão de esporos. O uso da restrição hídrica isolada e associada à peliculização também foi o melhor método de controle de *Penicillium* sp., sendo que o uso da peliculização isolada não foi eficiente e o uso da suspensão favoreceu a incidência deste patógeno. Em trabalho realizado com sementes de soja tratadas com bioprotetores, utilizando apenas suspensão de esporos, Mertz et al. (2009) observaram que o tratamento não ofereceu proteção às sementes no solo, sob períodos de estiagem.

A microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma* spp. e a técnica utilizada para esse procedimento influenciaram a germinação das sementes e o desempenho das plântulas (Tabela 3). O uso da restrição hídrica isolada reduziu o vigor das plântulas, sendo que a primeira contagem de germinação foi inferior aos demais tratamentos. Entretanto, quando a restrição hídrica foi associada à peliculização, as plântulas apresentaram parte aérea, raiz e comprimento total maiores, assim como maior acúmulo de massa seca na parte aérea e raiz do que no uso apenas do condicionamento.

Dessa forma, verificou-se que a peliculização reduziu os efeitos deletérios produzidos no condicionamento fisiológico. Resultados esses, contrários aos encontrados por Hölbig et al. (2011) em ensaios com recobrimento de sementes de cebola hidrocondicionadas, no qual, o uso de películas prejudicou o vigor das plântulas.

Quando as técnicas foram utilizadas separadamente, o desempenho das plântulas foi inferior (Tabela 3). A peliculização proporcionou maior comprimento de parte aérea do que o uso da restrição hídrica e do que o método tradicional (T1). Pereira et al. (2005) verificaram que a peliculização não afetou a qualidade fisiológica de sementes de milho e não interferiu no efeito de tratamento químico aplicado. Já Diniz et al. (2006) relatam que houve aumento na emergência e no índice de velocidade de emergência de plântulas de alface,

cujas sementes foram microbiolizadas com *Trichoderma viride* pela técnica de peliculização.

**Tabela 3.** Média geral do experimento, coeficiente de variação (CV%), p-valor do teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e média dos tratamentos de microbiolização de sementes de milho com *Trichoderma* spp.

Variável <sup>(1)</sup>	Média <sup>(2)</sup>	CV(%)	P-valor	----- Tratamentos <sup>(3)</sup> -----				
				T1	T2	T3	T4	TEST
----- Sanidade -----								
TRI (%)	70,80*	15,12	0,01	80,00 b <sup>(4)</sup>	100,00 a	72,50 b	100,00 a	1,50 c
FUS (%)	16,10*	53,51	0,31	13,00 b	1,00 c	30,00 a	11,00 b	25,50 a
PEN (%)	19,10*	56,62	0,11	41,50 a	2,00 c	22,00 b	0,00 c	30,00 b
----- Variáveis de germinação e vigor -----								
GER (%)	74,30*	11,64	0,47	81,50 a	59,50 b	87,00 a	62,50 b	81,00 a
PFO (%)	69,20*	16,69	0,66	74,00 a	54,00 b	79,50 a	62,00 b	76,50 a
PFR (%)	4,60 <sup>ns</sup>	115,73	0,04	7,50 a	5,50 a	5,00 a	0,50 a	4,50 a
PAN (%)	6,80*	75,40	0,03	2,50 b	7,50 a	3,50 b	10,00 a	10,50 a
SMO (%)	18,90*	39,21	0,36	16,50 b	32,50 a	10,00 b	27,00 a	8,50 b
PCO (%)	61,90*	19,10	0,41	62,50 a	48,00 b	74,50 a	62,00 a	62,50 a
CPA (cm)	3,26*	11,56	0,89	2,89 c	3,22 c	3,58 b	4,16 a	2,43 d
CRA (cm)	6,02*	12,72	0,65	6,91 a	5,14 b	6,33 a	7,00 a	4,68 b
CTO (cm)	9,28*	10,72	0,69	9,81 b	8,37 c	9,92 b	11,16 a	7,12 d
MPA (mg)	1,23*	12,76	0,46	1,06 b	1,22 b	1,22 b	1,80 a	0,85 c
MRA (mg)	1,34*	10,23	0,63	1,39 b	1,14 c	1,37 b	1,73 a	1,07 c
MTO (mg)	2,58*	8,29	0,53	2,45 b	2,36 b	2,60 b	3,53 a	1,92 c
TFR (%)	64,10*	16,04	0,53	69,00 a	59,50 b	72,00 a	55,00 b	65,00 a
----- Variáveis mensuradas em bandeja e canteiro -----								
EPB (%)	64,00 <sup>ns</sup>	39,11	0,41	60,00 a	75,00 a	70,00 a	65,00 a	50,00 a
NFB (un)	5,07 <sup>ns</sup>	9,69	0,66	5,00 a	5,37 a	4,98 a	4,94 a	5,07 a
DPB (mm)	6,49 <sup>ns</sup>	17,82	0,82	5,89 a	7,03 a	6,26 a	6,26 a	7,00 a
APB (cm)	34,59 <sup>ns</sup>	15,52	0,71	32,64 a	37,62 a	33,23 a	32,23 a	37,21 a
MSB (mg)	39,93 <sup>ns</sup>	34,21	0,99	31,91 a	54,35 a	32,27 a	34,83 a	46,27 a
EPC (%)	70,00 <sup>ns</sup>	21,51	0,53	82,50 a	67,50 a	77,50 a	57,50 a	65,00 a
NFC (un)	5,13 <sup>ns</sup>	5,93	0,84	5,15 a	5,35 a	5,17 a	5,08 a	4,88 a
DPC (mm)	5,19 <sup>ns</sup>	10,75	0,94	5,06 a	5,30 a	4,98 a	5,32 a	5,28 a
APC (cm)	36,06 <sup>ns</sup>	11,08	0,87	37,32 a	37,28 a	34,81 a	35,84 a	35,04 a
MSC (mg)	35,76 <sup>ns</sup>	21,27	0,99	35,28 a	37,07 a	34,19 a	38,02 a	34,23 a
----- Índice de velocidade de emergência -----								
IVE	54,42 <sup>ns</sup>	20,11	0,77	59,30 a	53,41 a	55,16 a	58,62 a	45,59 a

<sup>(1)</sup> TRI: *Trichoderma* spp.; FUS: *Fusarium* spp.; PEN: *Penicillium* spp.; GER: Germinação; PFO: Plântulas fortes; PFR: Plântulas fracas; PAN: Plântulas anormais; SMO: Sementes mortas; PCO: Primeira contagem de germinação; CPA: Comprimento de parte aérea; CRA: Comprimento de raiz; CTO: Comprimento total; MPA: Massa seca de parte aérea; MRA: Massa seca de raiz; MTO: Massa seca total; TFR: Teste de frio; EPB: Emergência das plantas em bandeja; NFB: Número médio de folhas das plantas em bandeja; DPB: Diâmetro do colo das plantas em bandeja; APB: Estatura das plantas em bandeja; MSB: Massa seca das plantas em bandeja; EPC: Emergência das plantas em canteiro; NFC: Número médio de folhas das plantas em canteiro; DPC: Diâmetro do colo das plantas; APC: Estatura das plantas em canteiro; MSC: Massa seca das plantas em canteiro. <sup>(2)</sup> \* Média geral do experimento com diferença significativa entre tratamentos, pelo teste F a 5% de probabilidade. <sup>(3)</sup> Não significativa. <sup>(4)</sup> Tratamentos: T1 = Aplicação de *Trichoderma* spp.; T2 = Aplicação de *Trichoderma* spp. com restrição hídrica (Manitol -0,7 MPa); T3 = Aplicação de *Trichoderma* spp. com peliculização; T4 = Aplicação de *Trichoderma* spp. com restrição hídrica e peliculização e; TEST = Testemunha sem aplicação de *Trichoderma* spp. e sem restrição hídrica e peliculização. <sup>(5)</sup> Médias com mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em relação ao comprimento radicular e total e massa seca de raízes, a restrição hídrica foi o método que apresentou os menores crescimentos, próximos aos observados na condição testemunha (Tabela 3). Esses resultados são distintos dos encontrados por

Hölbig et al. (2011), que trabalhando com hidrocondicionamento de sementes cebola, obtiveram maior desenvolvimento das plântulas e acúmulo de fitomassa fresca e seca, não sendo influenciado pela presença de polímero ou de fungicida. No entanto, a espécie estudada por

Hölbig et al. (2011) apresenta características botânicas e morfológicas da semente diferentes em relação às sementes de milho do presente estudo.

A intensa colonização de *Trichoderma* spp. nas sementes de milho obtida pela microbiolização através da restrição hídrica pode ser a possível causa da redução na germinação e no vigor das plântulas. Machado et al. (2004) verificaram que a inoculação de patógenos em sementes de algodão com potenciais acima de -0,6 MPa provocaram a morte das sementes, provavelmente como consequência do maior nível de potencial de inóculo determinado pelo maior tempo de exposição das sementes aos patógenos. Entretanto a associação da restrição hídrica com a peliculização reduziu os efeitos negativos, mantendo os benefícios da microbiolização com *Trichoderma* spp. sem comprometer a germinação e o vigor das plântulas.

No tratamento testemunha, cujas sementes não foram microbiolizadas com *Trichoderma* spp., as plântulas apresentaram comprimento de parte aérea e total menores e menor acúmulo de massa seca (Tabela 3). Este efeito evidencia a existência de efeitos benéficos proporcionados pelo fungo às plântulas de milho, concordando com Resende et al. (2004), que verificaram que sementes de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum* resultaram em plantas com maior acúmulo de matéria seca nas raízes. Para as variáveis plântulas fortes, plântulas fracas, sementes mortas, germinação e teste de frio o uso da restrição hídrica isolada ou associada à peliculização não promoveu incremento no desempenho, sendo semelhante à testemunha. Nos ensaios conduzidos em bandejas e em canteiro não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis analisadas.

### Conclusões

O meio de cultura BDA (batata; dextrose; ágar) acrescido do restritor hídrico manitol nos potenciais -0,6; -0,7 e -0,8 MPa não interfere no crescimento de *Trichoderma* spp.

O uso da técnica de restrição hídrica proporcionou eficiente microbiolização de

sementes com *Trichoderma* spp., e promoveu aumento do controle de fungos associados às semente.

*Trichoderma* spp. aumentou o vigor de plântulas de milho, independente da técnica de microbiolização utilizada.

A associação da restrição hídrica com a peliculização proporcionou controle de patógenos associados às sementes e manteve o vigor das plântulas de milho.

### Referências

- Barnet, H.L., Hunter, B.B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3 ed. Minneapolis: Burgess. 241 p.
- Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2009. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNTA/DNDV/CLAV. 398 p.
- Coutinho, W.M., Machado J.C., Vieira, M.G.G.C., Guimarães, R.M., Ferreira, D.F. 2001. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. *Revista Brasileira de Sementes* 23 (2): 127-135.
- Cruz, C.D. 2006. *Programa genes: estatística experimental e matrizes*. Viçosa: UFV. 285 p.
- Deuner, C.C., Souza, R.M., Ishida, A.K.N., Zacaroni, A.B., Von Pinho, É.V.R., Machado, J.C., Camera, J.N. 2011. Inoculação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijão por meio da técnica de condicionamento fisiológico. *Revista Brasileira de Sementes* 33 (1): 09-20.
- Diniz, K.A., Oliveira, J.A., Guimarães, R.M., Carvalho, M.L.M., Machado, J.C. 2006. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. *Revista Brasileira de Sementes* 28 (3): 37-43.
- Holbig, L.S., Baudet, L., Villela, F.A., Cavalheiro, V. 2010. Recobrimento de sementes de cenoura osmocondicionadas. *Revista Brasileira de Sementes*, 32 (4): 22-28.
- Holbig, L.S., Baudet, L., Villela, F.A. 2011. Hidrocondicionamento de sementes de cebola. *Revista Brasileira de Sementes* 33 (1): 171-176.
- Machado, J.C., Oliveira, J.A., Vieira, M.G.G.C., Alves, M.C. 2004. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). *Revista Brasileira de Sementes* 26 (1): 62-67.

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science* 2 (1): p.176-177.

Mertz, L.M., Henning, F.A., Zimmer, P.D. 2009. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. *Ciência Rural*, 39 (1): 13-18.

Molina, J.C., Irigon, D.L., Zonta, E.P. 1987. Comparação entre metodologias do teste de frio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). *Revista Brasileira de Sementes* 9 (3): 77-85.

Pereira, C.E., Oliveira, J.A., Evangelista, J.R.E. 2005. Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas associadas a polímeros durante o armazenamento. *Ciência e Agrotecnologia* 29 (6): 1201-1208.

Resende, M.L., Oliveira, J.A., Guimarães, R.M., Von Pinho, R.G., Vieira, A.R. 2004. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. *Ciência e Agrotecnologia* 28 (4): 793-798.

Silveira, S. 1998. Recobertura como medida para proteção da semente. *Seed News* (5): 34-35.

Sousa, M.V., Machado, J.C., Pfenning, L.H., Kawasaki, V.H., Araújo, D.V., Silva, A.A., Martini Neto, A. 2008. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. *Tropical Plant Pathology* 33 (1): 41-48.