

Efecto de fungicidas sobre las características fisiológicas y sanitarias de semillas de arroz durante el almacenamiento

Effect of fungicides on physiology and health characteristics of rice seeds during storage

M. Morales, H. Moratinos, T. Gonzalez y P. Madriz

UCV. Facultad de Agronomía. Instituto de Agronomía, Maracay. Aragua.

Resumen

Para evaluar el efecto de dos fungicidas sobre la calidad fisiológica y sanitaria de semillas de arroz, de las variedades Cimarrón y FONAIAP 1, bajo condiciones de almacenamiento, fueron conducidos experimentos en laboratorio y campo. Se trataron muestras de semillas de cada variedad con los fungicidas fludioxonil 2 L.Tm⁻¹ de semillas (25 g i.a.L⁻¹); carboxin+ thiram 250 mL.100 kg⁻¹ (200 g i.a.L⁻¹) y como testigo se usó agua destilada. Dichas muestras se almacenaron bajo condiciones de 11°C y 76% humedad relativa (RH) durante 240 días. Las variables fueron medidas en un diseño de experimentos completamente aleatorizado, en un arreglo factorial formado por variedad a dos niveles (Cimarrón y FONAIAP 1), fungicida con tres niveles (fludioxonil, carboxin+thiram y testigo tratado con agua) y días de almacenamiento con 12 niveles (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días), con cuatro repeticiones. Se estimaron los porcentajes de germinación y de vigor por varias metodologías. Se determinó además, la incidencia de hongos, a través del método de papa dextrosa agar. Se encontró que la biomasa seca del epicótilo de las plántulas tratadas con fludioxonil fue superior a las tratadas con carboxin+thiram y el testigo. Las semillas tratadas con fludioxonil y carboxin+thiram presentaron menor incidencia del hongo *Fusarium moniliforme* que las semillas no tratadas. Durante el tiempo de almacenamiento, la germinación de las semillas fue mayor a 80%. El tratamiento de las semillas de arroz con fungicidas no afectó la calidad fisiológica y mejoró la sanitaria.

Palabras clave: *Oryza sativa*, variedades, fludioxonil, carboxin+thiram, hongos.

Abstract

Laboratory and field test were conducted in order to evaluate the effect of two fungicides on physiology and health quality of Cimarron and FONAIAP 1 rice seeds varieties, under storage conditions. Samples of each cultivar were treated with fludioxonil at 2 L.Tm⁻¹ of seed (25 g a.i.L⁻¹), carboxin+thiram at 250 mL.100 kg⁻¹ of seed (200 g a.i.L⁻¹) and untreated control with distilled sterile water was used. The samples were storage at 11°C and 75% relative humidity (RH) during 240 days. The variables were measured in a completely randomized design, with four replications in split plot design: where varieties were at two levels (Cimarrón and FONAIAP 1), the fungicides at three levels (fludioxonil, carboxin+thiram and the untreated control with distilled water) and twelve levels of storage (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days). There were estimated germination percentage and vigor throughout several methodologies. In addition it was determined the seed fungal incidence with agar plate (potato-dextrosa-agar) method. The epicotyl dry biomass of seedling treated with fludioxonil was higher than those treated with carboxin+thiram and untreated control. The seeds treated with fludioxonil and carboxin+thiram presented lower incidence of *Fusarium moniliforme* than untreated seeds. During storage conditions, the seed germination was greater than 80%. Among seeds treated with fludioxonil and carboxin+thiram, the incidence of *Fusarium moniliforme* decreased. The treatment of rice seeds with fungicides did not affect their physiology and increased health quality.

Key words: *Oryza sativa*, cultivars, carboxin+thiram, fludioxonil, fungi.

Introducción

El arroz es uno de los cultivos alimenticios más importantes en Venezuela y el mundo. Su producción es afectada por varios factores, entre los que destaca la presencia de patógenos en las semillas, lo cual causa daños y reducciones en la calidad fisiológica y producción del cultivo (Delgado *et al.*, 2002, Pineda *et al.*, 2007). El tratamiento de las semillas con fungicidas tiene como fin desinfectarlas y protegerlas de patógenos presentes en ellas o en el suelo, estimular la emergencia, el crecimiento de plántulas vigorosas y, en consecuencia, la formación de una población de plantas adultas productivas (Quirós and Carrillo, 2009).

Introduction

Rice is one of the most important food crops in Venezuela and worldwide. Its production is affected by different factors, among which is the pathogen presence in seeds, which causes damages and reductions on the physiological quality and crop production (Delgado *et al.*, 2002, Pineda *et al.*, 2007). The treatment of seeds with fungicides has as purpose to disinfect the seeds and protect them from pathogens present either on the seeds or in the soil, also, to stimulate the emergency, the growth of vigorous seedlings and consequently, the formation of a population of adult productive plants (Quirós and Carrillo, 2009).

Se ha indicado que el almacenamiento de las semillas por largos periodos de tiempo es una forma de control de enfermedades fungosas, por inactividad del hongo. No obstante, esto no se cumple para algunos como es el caso de *Bipolaris oryzae* (Ojeda y Subero, 2004); por lo tanto, se hacen necesario de otros métodos de control como el químico.

Los fungicidas pueden actuar como preventivos, curativos y/o erradicantes; asimismo, se pueden aplicar, según el caso, antes o después de que ocurra la infección (Muñoz y Gamboa, 1998).

En el mercado de agroquímicos venezolano, existen fungicidas de uso frecuente en el tratamiento de semillas en varios cultivos, como la mezcla formulada de carboxin+thiram (Vitavax 200®), cuya acción es de contacto y sistémica, el cual se usa sólo o en combinación con protectores y/o soluciones sintéticas, para el control y/o prevención del desarrollo de enfermedades causadas por hongos que atacan las semillas y plántulas. Entre los organismos que controla se encuentran: *Rizoctonia* sp., *Phytlum* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Bypolaris oryzae*, *Antracnosis* sp., y *Rosellinia* sp. (Arsego et al., 2006).

Otros fungicidas de introducción más reciente como el fludioxonil (Celest®), perteneciente a la clase química fenilpirrol, ha sido desarrollado para prolongar el período de control del tratamiento químico en la semilla. Este es un antibiótico producido por varias especies de *Pseudomonas* y posee amplio espectro de control de patógenos, especialmente hongos Ascomycetos y Deuteromicetos. El

It has been said that the storage of seed for long periods of time is a way to control fungi diseases by inactivity of the fungus. Nevertheless, this is not fulfilled in all the cases, as in *Bipolaris oryzae* (Ojeda and Subero, 2004); therefore, it is necessary to implement other control methods, such as the chemical.

Fungicides may act as preventive, curative and/or eradicate; likewise, can be applied according to the case, before or after the infection happens (Muñoz and Gamboa, 1998).

In the Venezuelan agrochemical market, there are frequent-use fungicides in the treatment of seeds in different crops, as the mix formulated by carboxin+thiram (Vitavax 200®), which has a contact and systemic action, and is used alone or in combination with protectors and/or synthetic solutions for the control and/or prevention of the development of diseases caused by fungi that attack the seeds and seedlings. Among these controlling organisms are: *Rizoctonia* sp., *Phytlum* sp., *Fusarium* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerotinia* sp., *Bypolaris oryzae*, *Antracnosis* sp., and *Rosellinia* sp. (Arsego et al., 2006).

Other more recent introductory fungicides such as fludioxonil (Celest®), belonging to the chemical type phenylpyrroles, has been developed to extend the control period of the chemical treatment in the seed. This is an antibiotic produced by different species of *Pseudomonas* and has a wide control spectrum of pathogens, specially Ascomycete and Deuteromycetes fungi. The action

modo de acción del fludioxonil está relacionado con el proceso de transporte de la membrana celular (Hilber *et al.*, 1995).

Muchos hongos, especialmente aquellos pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, afectan las semillas durante el almacenamiento, debido a que estos agentes patógenos están adaptados a vivir en sustratos en equilibrio con humedades relativas del aire, que oscilan entre 65 y 90% (Pacheco, 1988).

Con base a lo referido, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos fungicidas (fludioxonil y carboxin+thiram), sobre la calidad fisiológica y sanitaria de semillas de arroz, de las variedades Cimarrón y FONAIAP 1, bajo condiciones de almacenamiento.

Material es y métodos

El trabajo fue conducido en los laboratorios de semillas, patología de semillas y microbiología y en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Las variedades de arroz utilizadas fueron Cimarrón y FONAIAP 1. Los productos químicos empleados para la evaluación fueron los fungicidas fludioxonil (Celest[®]), 2 L.Tm⁻¹ de semillas, (25 g i.a.L⁻¹ y carboxin + thiram, (Vitavax 200[®]), a una dosis de 250 mL.100 kg⁻¹ (200 g i.a.L⁻¹). Como testigo se usó agua destilada. Antes de aplicar los tratamientos, se tomaron 33 kg de semillas de cada variedad, las cuales se fraccionaron en tres muestras de 11 kg cada

process of fludioxonil is related to the transportation process of the cellular membrane (Hilber *et al.*, 1995).

Many fungi, especially those belonging to the genres *Aspergillus* and *Penicillium*, affect the seeds during storing, since these pathogen agents are adapted to live in equilibrium substrates with relative humidity of the air, which oscillates from 65 to 90% (Pacheco, 1988).

Based on the latter, the aim of this research was to evaluate the effect of two fungicides (fludioxonil and carboxin+thiram) on the physiologic and sanitary quality of rice seeds of Cimarrón and FONAIAP 1 varieties, under storing conditions.

Materials and methods

The research was carried out in seeds, seeds' pathology and microbiology Laboratories and on the Experimental Field of the Agronomy Faculty, at Universidad Central de Venezuela, Maracay, Aragua state, Venezuela.

The rice varieties used were Cimarrón and FONAIAP 1. The chemical products employed for the evaluation were the fungicides fludioxonil (Celest[®], 2 L.Tm⁻¹ of seeds, (25 g i.a.L⁻¹ and carboxin + thiram, (Vitavax 200[®]), at a dose of 250 mL.100 kg⁻¹ (200 g i.a.L⁻¹). As witness was used distilled water. Before applying the treatments, were taken 33 kg of seeds of each variety, which were fractioned in three samples of 11 kg each. The 11-kg treated and non treated samples with fungicides were sub divided in samples of 1 kg each, and put on paper bags, then closed and stored on a cellar,

una. Las muestras de 11 kg tratadas y no tratadas con los fungicidas fueron subdivididas en muestras de un kg cada uno, colocadas en bolsas de papel debidamente cerradas y almacenadas en una cava, bajo condiciones controladas de 11°C y 76% de HR desde los 5 hasta 240 días. Para evaluar el efecto de la aplicación de los fungicidas durante el almacenamiento, las variables medidas fueron evaluadas en un diseño de experimento completamente aleatorizado, en un arreglo factorial, donde los factores y niveles de estudio fueron: variedad a dos niveles (Cimarrón y FONAIAP 1), fungicida a tres niveles (fludioxonil, carboxin+thiram y el testigo (agua)) y los días de almacenamiento (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 días), con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 100 semillas.

Determinación de la germinación

Se utilizó la prueba de germinación estándar (ISTA, 1993), para todas las fechas de evaluación. Una vez retiradas de almacenamiento, se colocaron a pre germinar las semillas en agua destilada por un período de 24 horas. La prueba de germinación se realizó colocando en el fondo de cada envase una malla de 15 cm x 10 cm a una altura de 2 cm, se cubrió con dos capas de papel absorbente y sobre ellas se sembraron las semillas. Luego los envases y bandejas fueron llevados a un cuarto de germinación con temperatura media de 27°C y 90% HR. El primero y segundo conteo de plántulas normales se efectuó a los 7 y 14 días después de la siembra (dds), respectivamente.

under controlled conditions of 11°C and 76% of HR from 5 to 240 days. To evaluate the application effect of fungicides during storing, the variables measures were evaluated on a split plot randomized experimental design, where the factors and levels were: variety at two levels (Cimarrón and FONAIAP 1), fungicide at three levels (fludioxonil, carboxin+thiram and the witness (water)) and the storing days (5, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 days) with four replications. The experimental unit was constitutes by 100 seeds.

Germination determination

The standard germination test was used (ISTA, 1993) for all the evaluation dates. Once removed from the storage, the seeds were sat to pre-germinate in distilled water for 24 hours. The germination test was done putting in the bottom of each jar a net of 15 cm x 10 cm at a height of 2 cm, and covered with two layers of absorbent paper and on these were cropped the seeds. Later, the jars and trays were taken to a germination room with mean temperature of 27°C and 90% HR. The first and second count of normal seedlings was done 7 and 14 days after the sow (dds), respectively

Vigor determination

On this test varied the number of seeds per experimental unit, as detailed on each of the following methods:

A. Grow and evaluation of seedlings (Perry, 1977)

On this test official germination paper towels with distilled water were used (38.3 cm x 25.7 cm). 25 pre-germinated seeds were used and sowed

Determinación de vigor

En esta prueba se varió el número de semillas por unidad experimental, como se detalla en cada uno de los siguientes métodos:

A. Crecimiento y evaluación de plántulas (Perry, 1977)

En esta prueba se usaron toallas de papel oficial de germinación (38,3 cm x 25,7 cm), humedecidos con agua destilada. Se utilizaron 25 semillas pre germinadas y se sembraron colocándolas sobre una línea recta horizontal a 6,5 cm, aproximadamente, del borde superior del papel. Se cubrieron con otra toalla del mismo papel, se enrollaron en forma de cilindro, para constituir la "muñeca", y se dobló la parte inferior hacia arriba (2 a 3 cm aproximadamente), sujetando los cilindros en pareja con una goma elástica. Seguidamente, se colocaron en posición vertical en envases que fueron llevados a un cuarto de germinación, a una temperatura de 27°C y 90% de HR, aproximadamente.

Las variables medidas fueron:

1) Número de plántulas normales: expresado en porcentaje, siete días después de la siembra (dds).

2) Longitud de la parte aérea, desde la base del epicótilo hasta el extremo superior de la hoja más larga (cm) a los siete y 14 dds.

3) Longitud de la radícula (cm): se midió desde la base del epicótilo hasta el extremo de la radícula a los siete y 14 dds.

4) Biomasa seca de la parte aérea (mg) a los siete y 14 dds.

5) Biomasa seca de la parte radical (mg) a los siete y 14 dds.

B. Envejecimiento acelerado

El método empleado fue el propuesto por Delouche y Baskin (1973). Se uti-

putting them on a horizontal straight line at 6.5 cm approximately, from the superior border of the paper. Were covered with another towel of the same paper, rolled in a cylinder shape, and the inferior part was folded up (2 to 3 cm approximately), holding the cylinders in pairs with a plastic band. Later, were put vertically in containers and taken to the germination room at a temperature of 27°C and 90% of HR, approximately.

The variables measured were:

1) Number of normal seedlings: expressed in percentage, seven days after the sow (dds).

2) Longitude of the aerial part from the epicotyls to the superior extreme of the longest leave (cm) within 7 and 14 dds.

3) Longitude of the radicle (cm): it was measured from the epicotyl's base to the extreme of the radicle in 7 and 14 dds.

4) Dry biomass of the aerial part (mg) at 7 and 14 dds.

5) Dry biomass of the radical part (mg) at 7 and 14 dds.

B. Accelerated ageing

The method employed was proposed by Delouche and Baskin (1973). 100 seeds were used by experimental unit, and each seed was submitted to caloric stress of 42°C and 100% of HR for 96 hours. Each experimental unit was put on a jar with 300 mL of distilled water, on which was introduced a wire foundation which worked as a support for the bag that had the seeds, so these were not in contact to the liquid. Later, the jars were hermetically closed to avoid any humidity escape and were put on a stove. After this test, seeds were put

lizaron 100 semillas por unidad experimental y cada una fue sometida a estrés calórico de 42°C y 100% de HR, durante 96 horas. Se colocó cada unidad experimental en un frasco con 300 mL de agua destilada, dentro del cual se introdujo una base enrejada de alambre, que servía de soporte a la bolsa de tul que contenía las semillas, de manera que éstas no estuvieran en contacto con el líquido. Posteriormente los frascos se taparon herméticamente para evitar fugas de humedad y fueron colocados dentro de la estufa. Concluida la prueba, las semillas se colocaron a germinar usando la prueba de germinación estándar y se evaluaron a los siete y 14 dds.

C. Emergencia en campo

Previo a esta prueba, las semillas fueron colocadas a pre germinar en placas de petri con agua destilada, durante 24 horas. La prueba de campo se realizó en un cantero de 1,2 m x 16 m, el cual se preparó mediante cuatro pases de rotocultor. Además, se aplicó dazomet (Basamid®), a razón de 20 g.m⁻², esparcido uniformemente. La unidad experimental estuvo conformada por tres hilos sembrados a 0,15 m entre ellos y constituyendo parcelas de 0,54 m²; cada hilera se sembró a chorro corrido con 2,25 g de semillas, el equivalente a 125 kg.ha⁻¹.

La emergencia de las plántulas se estimó mediante el conteo de las plántulas emergidas a los 14 y 21 dds. En la última evaluación, se seleccionaron al azar 10 plántulas por unidad experimental, para evaluar biomasa seca del epicótilo.

Determinación de la incidencia de hongos

Se detectaron los hongos presentes en las semillas evaluadas utilizan-

do a germinar usando el método estándar de germinación y se evaluó dentro de 7 y 14 dds.

C. Emergencia en el campo

Prior to this test, seeds were sown to pre-germinate in petri plates with distilled water for 24 hours. The field's test was done on a 1.2 m x 16m stonemason, which was prepared passing it four times through the rolling cultivator. Also, was applied dazomet (Basamid®), at a reason of 20 g.m⁻², scattered uniformly. The experimental unit was formed by three lines sowed at 0.15 m between them and constituting plots of 0.54 m²; each row was sowed with 2.25 g of seeds, equal to 125 kg.ha⁻¹.

The emergency of seedlings estimated counting the emerged plants within 14 and 21 dds. In the last evaluation, 10 seedlings were randomly selected per experimental unit to evaluate the dry biomass of the epicotyls.

Incidence determination of fungi

The fungi presented on the evaluated seeds were detected using the dextrose papa agar method (PDA). Before the evaluation of the treated seeds, was determined the incidence of fungi using the absorbent paper (PA). For PA, each experimental unit was formed by 100 seeds and four replications, while, for the PDA method the experimental unit was of 25 seeds. The presence of fungi was evaluated within 60 and 240 days of storage for PA and in 60 and 90 days in PDA (ISTA, 1993).

On the PDA method, were used 10-cm diameter petri plates with PDA, were sowed the disinfected seeds with

do el método de papa dextrosa agar (PDA). Antes de la evaluación de las semillas tratadas, se determinó la incidencia de hongos mediante el método de papel absorbente (PA). Para PA, cada unidad experimental estaba conformada por 100 semillas y cuatro repeticiones, mientras que para el método PDA la unidad experimental fue de 25 semillas. La presencia de los hongos se evaluó a los 60 y 240 días de almacenamiento para PA y a los 60 días y 90 días en PDA (ISTA, 1993).

En el método de PDA se utilizaron placas de petri de 10 cm de diámetro con PDA, se sembraron las semillas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% por 30 s y seguidamente fueron colocadas en un lugar iluminado con fotoperiodo de 12 horas luz, por siete días, para después identificar los hongos por el crecimiento de sus colonias, con la ayuda de un microscopio y lupa estereoscópica. En ambos métodos los resultados fueron expresados en porcentaje de incidencia de hongos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza por el procedimiento PROC GML del programa estadístico SAS (2005). Cuando se presentaron datos perdidos para algunas observaciones de germinación o vigor, tanto de campo como en el laboratorio, los resultados fueron ajustados a los rangos de tolerancia y desviaciones máximas permitidas entre observaciones, como lo señalan las reglas de la A.O.S.A (1965). Se realizó para cada una de las variables, un análisis de varianza combinado, considerando cada uno de los factores evaluados. En aquellos casos en los que hubo interacción significativa entre

sodium hypochlorite at 2% for 30s and were put on an illuminated place with 12-hour-light photoperiod for seven days, subsequently, were identified the fungi by the growth of their colonies with the help of a microscope and stereoscope magnifier glass. In both methods, the results were expressed in incidence percentage of fungi.

Statistical analysis

The obtained results were submitted to variance analysis for the PROC GML procedure of the statistical program SAS (2005). The data was adjusted to the tolerance ranks and maximum allowed deviations between observations, as mentioned by the initials A.O.S.A (1965) when lost data was presented for some germination or vigor observations, in both the field and laboratory. For each of the variables, a combined variance analysis was done considering each of the evaluated factors. In those cases where there was significant interaction among factors, the results are presented using a double-entrance table. When there were significant differences for the simple effects, the Multiple Mean Rank Duncan Test was used.

Results and discussion

Determination of the germination

On the variance analysis resulted that double interactions (Days*Fungicide and variety*Fungicide) were highly significant. It was found that during the 240 storing days the germination values of the witness were statistically similar to the fungicide treatments, thus, was inferred that the fungicide

factores, se presentan los resultados mediante cuadros de doble entrada. Cuando hubo diferencias significativas, para los efectos simples, se realizó la Prueba de Medias de Rango Múltiple de Duncan.

Resultados y discusión

Determinación de germinación

En el análisis de varianza resultó que las interacciones dobles (Días*Fungicida y Variedad*Fungicida) fueron altamente significativas. Se encontró que durante los 240 días de almacenamiento los valores de germinación del testigo fueron estadísticamente similares a los de los tratamientos fungicidas; por lo cual, se infirió que los tratamientos fungicidas no mejoraron la germinación. En general, el porcentaje promedio de germinación estuvo por encima de 80%, valor mínimo de comercialización requerido para la semilla de arroz clase certificada en Venezuela (FONAIAP-SENASEM, 1995). Estos resultados coincidieron con los obtenidos por Azizul *et al.* (1973), quienes concluyeron que el deterioro de las semillas de arroz no se reflejó en la disminución del porcentaje de germinación, ya que la pérdida de la viabilidad fue la consecuencia final del deterioro. Las semillas de arroz de alto vigor presentaron pequeñas respuestas a los tratamientos con fungicidas.

Para la interacción Variedad*Fungicida la respuesta de las semillas no tratadas y tratadas con fludioxonil y carboxin+thiram de Cimarrón siempre fue su germinación superior (90, 93, 93%) con respecto a la

treatments did not improve the germination. In general, the average germination percentage was over 80%, minimum commercialization value required for rice's seed in Venezuela (FONAIAP-SENASEM, 1995). These results agree to those obtained by Azizul *et al.*, (1973), who concluded that the deterioration of the rice seeds was not shown on the reduction of the germination percentage, since the viability lost was the final consequence of the deterioration. High-vigor rice seeds presented little responses to the treatments with fungicides.

For the interaction variety*Fungicide, the response of the untreated and treated Cimarrón seeds with fludioxonil and carboxin+thiram, the germination was always superior (90, 93, 93%) regarding the variety FONAIAP 1 (85, 84, 88%) respectively.

Vigor determination

The vigor results evaluated on the first germination counting of rice seeds during storing (table 1) showed a differential response of treatments in relation to the vigor lost in the time. It was found that the vigor percentage for treated and untreated seeds with Carboxin+Thiram presented a reduction, while seeds treated with Fludioxonil kept their vigor. Some authors (Delouche, 1968; Azizul, 1973; Delouche and Baskin, 1973) agreed affirming that the deterioration of the seed during storing was more evident in the vigor lost than in the germination. These results were similar to those found on this research, except for the vigor percentage of seeds treated with fludioxonil; which allows inferring that this fungicide had a

variedad FONAIAP 1 (85, 84, 88%), respectivamente.

Determinación de vigor

Los resultados de vigor, evaluados mediante el primer conteo de la germinación de semillas de arroz durante almacenamiento (cuadro 1), mostraron una respuesta diferencial de los tratamientos en cuanto a la pérdida de vigor en el tiempo. Se encontró que el porcentaje de vigor para las semillas no tratadas y las tratadas con Carboxin +Thiram presentaron una disminución, mientras que las semillas tratadas con Fludioxonil mantuvieron su vigor. Varios autores (Delouche, 1968; Azizul, 1973; Delouche y Baskin, 1973) coincidieron en afirmar que el deterioro de la semilla durante el almacenamiento, se hizo más evidente en la pérdida del vigor que en la germinación. Estos resultados fueron similares con los encontrados en esta investigación, excepto para los porcentajes de vigor de las semillas tratadas con fludioxinil; lo que permite inferir que este fungicida, tuvo un efecto positivo en el mantenimiento de vigor de la semilla durante el almacenamiento.

Con respecto a la interacción Variedad*Fungicida con relación al vigor de las semillas, por el método señalado anteriormente, al igual que para la germinación, se encontró que la variedad Cimarrón fue superior a FONAIAP 1. Si se considera que el vigor de la semilla depende de la capacidad genética de la variedad, del manejo adecuado en campo y del almacenamiento (González *et al.*, 2007), se infirió que el mejor comportamiento de vigor exhibido por Cimarrón se debió probablemente a la genética del mate-

positive effect in the vigor maintenance of the seed during storing.

Regarding the interaction variety*fungicide in relation to the seeds' vigor by the method mentioned before, as well as for the germination, was found that the Cimarrón variety was superior to FONAIAP 1. If is considered that the seed's vigor depends on the genetic capacity of the variety, the adequate handle in the field and the storing (González *et al.*, 2007), it was inferred that the best vigor behavior exhibited by Cimarrón was probably due to the genetic of the material and/or a more adequate handle of the seed in the field.

A. Vigor determination after the longitude (cm) of the epicotyl and the radicle.

1) Longitude (cm) of the epicotyls and the radicle within 7 dds.

For determining the vigor measured through the longitude of the epicotyls and the radicle within 7 dds, was found that there were not statistical differences among treatments with fungicides and untreated seeds. Likewise, was not observed a significant deterioration of the field's longitude. The average longitude (cm) of the epicotyls and the radicle within seven dds was from 4.83 and 12.38, respectively.

2) Longitude (cm) of the epicotyl and the radicle within 14 dds.

It was observed that the radicle started to decrease (with a reduction of 1 cm approximately) from 90 to 180 days of the seed's storage, with significant statistical differences (table 2). This reduction was probably due to the deterioration or lost effect of the seed's vigor, agreeing these results to

Cuadro 1. Efecto de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el porcentaje de vigor, evaluado mediante el primer conteo de la germinación de semillas de arroz en almacenamiento.

Table 1. Effect of fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram on the vigor percentage, evaluated during the first counting of the germination of rice seeds during storing.

	Días de almacenamiento									
	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Testigo	94 ^a	98 ^a	88 ^{ab}	75 ^{bc}	80 ^b	88 ^a	79 ^a	88 ^a	82 ^a	86 ^{ab}
Fludioxonil	85 ^b	92 ^a	92 ^a	77 ^b	85 ^{ab}	89 ^a	75 ^a	89 ^a	87 ^a	89 ^{ab}
Carboxin+Thiram	98 ^a	89 ^{bc}	93 ^a	88 ^a	87 ^a	90 ^a	78 ^a	91 ^a	87 ^a	89 ^{ab}

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

rial y/o a un manejo más adecuado de la semilla a nivel campo.

A. Determinación de vigor a partir de la longitud (cm) del epicótilo y radícula.

1) Longitud (cm) del epicótilo y radícula a los siete dds.

Para la determinación del vigor medido a través de la longitud del epicótilo y radícula a los siete dds, se encontró que no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos con fungicidas y las semillas no tratadas. De igual forma no se evidenció un deterioro significativo, de dichas longitudes en el tiempo. La longitud promedio (cm) del epicótilo y radícula a los 7dds estuvo entre 4,83 y 12,38, respectivamente.

2) Longitud (cm) del epicótilo y radícula a los 14 dds.

Se observó que la radícula comenzó a decrecer (con una disminución de 1 cm aproximadamente) desde los 90 hasta los 180 días de almacenamiento de las semillas, con diferencias estadísticamente significativas (cuadro 2). Esta disminución se debió posiblemente al efecto del deterioro o pérdida de vigor de las semillas, coincidiendo con los resultados obtenidos por Abba y Lovato (1999), quienes encontraron que la regresión del índice de longitud de la radícula sobre el tiempo de almacenamiento decreció con el incremento del número de días transcurridos. En este mismo orden de ideas, varios autores (Pérez y Martínez, 1994; Cruz *et al.*, 1995) evidenciaron que la edad de la semilla, indujo a alteraciones progresivas e irreversibles en diferentes niveles metabólicos (bioquímicos, fisiológicos y moleculares); los cuales menoscabaron la capacidad fisiológica

the ones obtained by Abba and Lovato (1999), who found that the longitude index regression of the radicle on the storing time decreased with the increment of the number of days. In the same order of ideas, some authors (Pérez and Martínez, 1994; Cruz *et al.*, 1995) evidenced that the seed's age induced progressive and irreversible alterations in different metabolic levels (biochemical, physiological and molecular), which reduced the physiological capacity of the seeds to germinate and even, eliminate all signs of metabolic activity.

3) Dry biomass of the epicotyl and the radicle

The vigor expressed as dry biomass of the radicle did not show differences among the fungicides (non presented data). There were only found significant differences in the dry biomass of the epicotyls (table 3) of the seeds treated with fludioxonil, in relation to the seeds treated with carboxin+thiram and the untreated. These results counterpart to those presented by Pereira *et al.*, (2007), who found that fludioxonil had a positive effect on the increment of the radical surface and little effect on the aerial part of sweet potato plants (*Ipomoea batatas* L. Lam).

B. Accelerated ageing.

The germination of seeds submitted to accelerated ageing treated with fungicides resulted statistically different than the untreated until 120 days of storage (table 4). Additionally, it was found that the germination with Carboxin+Thiram was superior to the one with fludioxonil during the same period. These results agree to those reported by Arsego *et*

Cuadro 2. Vigor de semillas expresado en función de la longitud (cm) del epicótilo y de la radícula a los 14 días de plántulas de arroz, de las semillas tratadas y no tratadas, en condiciones de almacenamiento.

Table 2. Seeds vigor expressed in function of the longitude (cm) of the epicotyl and the radicle within 14 dds in rice seedlings, treated and untreated seeds in storing conditions.

	Días de almacenamiento									
	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240
Epicótilo	9,58b	9,88b	9,62b	9,66b	9,97b	9,75b	8,80c	8,61c	8,90c	10,76a
Radícula	14,38a	13,43b	14,33a	13,97a	13,36b	13,14b	12,05c	13,03b	14,04a	13,36b

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

de las semillas para germinar e incluso eliminaron todo signo de actividad metabólica.

3) Biomasa seca del epicótilo y radícula

El vigor expresado como biomasa seca de la radícula, no mostró diferencias entre los fungicidas (datos no presentados). Sólo se encontró diferencias significativas en la biomasa seca del epicótilo (cuadro 3), de las semillas tratadas con fludioxonil, en relación a las semillas tratadas con carboxin+thiram y a las no tratadas. Estos resultados se contraponen con los presentados por Pereira *et al.* (2007), quienes encontraron que fludioxonil, tuvo un efecto positivo en el aumento de la superficie radical y poco sobre la parte aérea de plantas de batata (*Ipomoea batatas* L. Lam).

B. Envejecimiento acelerado

La germinación de las semillas sometidas a envejecimiento acelerado que fueron tratadas con fungicidas, resultaron estadísticamente diferentes de las no tratadas hasta los 120 días

al. (2006) and Schuch *et al.*, (2006) who found that controlling fungi on the seed improved the vigor of these.

C. Emergency in the field.

None differences were observed between the fungicides evaluated on this research, which seems to be a similar behavior than the reported by Bradley *et al.*, (2007) in applications of *Linum usitatissimum* seeds in USA (Dakota), instead, Falloon *et al.*, (2000) indicated that the employment of fludioxonil in peas seeds (*Pisum sativum*) improved the establishment in 170% in relation to the untreated seeds. The emergency percentage reduced from 77% (30 dds) to 75% (120 dds), 71% (150 dd) and 72% (210 dds), where was observed that, at the same time in the evaluation of vigor in the laboratory was produced a fall in the emergency percentage at the time that passed the storing days of the seeds, differentiating statistically through the Duncan Mean test. The variety Cimarrón (76% of emergency) resulted to be superior in the seedling

Cuadro 3. Efecto promedio de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el vigor, expresado en función de la Biomasa seca (g) del epicótilo (BSE) de plántulas de arroz.

Table 3. Average effect of fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram on the vigor, expressed in function of the dry biomass (g) of the epicotyl (BSE) of rice seedlings.

Tratamientos	Biomasa seca de epicótilo (BSE)
Fludioxonil	4,30a
Carboxim+Thiram	4,09b
No tratada	4,13b

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

de almacenamiento (cuadro 4). Adicionalmente se encontró que la germinación con Carboxin+Thiram fue superior a la de fludioxonil, durante el mismo periodo. Estos resultados coinciden con los reportados por Arsego *et al.* (2006) y Schuch *et al.* (2006), quienes encontraron que controlando hongos en la semilla, mejoró el vigor de las mismas.

C. Emergencia en campo

No se observó diferencias entre los fungicidas evaluados en esta prueba, comportamiento similar fue señalado por Bradley *et al.* (2007) en aplicaciones a semillas de *Linum usitatissimum* en USA (Dakota); en cambio, Falloon *et al.* (2000), indicaron que el empleo del fludioxonil en semillas de arvejas (*Pisum sativum*) mejoró el establecimiento en 170% en relación a las semillas no tratadas. El porcentaje de emergencia disminuyó desde 77% (30 dds) a 75% (120 dds), 71% (150 dds) y 72% (210 dds), donde se observó que, al igual que en la eva-

percentage emerged in the field than in the variety FONAIAP 1 (69%).

In relation to the dry biomass of seedlings emerged in the field, the FONAIAP 1 variety (18.09 g) resulted statistically superior in the dry biomass of the epicotyls, in relation to Cimarrón (13.07 g).

Fungi presented in the seeds during the storing time

1. Absorbing paper method

For the varieties FONAIAP 1 and Cimarrón evaluated from day zero of storing, did not present significant relevant differences in the incidence of fungi on the seeds. Fungi that were found on the rice variety were : *Bypolaris oryzae*, *Aspergillus flavus*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp. and *Fusarium moniliforme*, which corresponded to the ones found on rice researches carried out in the country (Delgado *et al.*, 2002; Ojeda and Subero, 2004; Pineda *et al.*, 2007).

Cuadro 4. Efecto de los fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram sobre el vigor (%) de las semillas envejecidas de arroz, en condiciones de almacenamiento.

Table 4. Fungicides effect Fludioxonil and Carboxim+Thiram on the vigor (%) of rice aged seeds in storing conditions.

	Días de almacenamiento						
	30	90	120	150	180	210	240
Testigo	74 ^{bc}	81 ^b	83 ^{bc}	86 ^a	83 ^a	84 ^b	80 ^{ab}
Fludioxonil	85 ^a	85 ^b	90 ^a	87 ^a	86 ^a	87 ^{ab}	76 ^b
Carboxin+Thiram	78 ^b	91 ^a	89 ^a	89 ^a	88 ^a	90 ^a	85 ^a

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

luación del vigor en laboratorio, se produjo una caída del porcentaje de emergencia a medida que transcurrieron los días de almacenamiento de las semillas, diferenciándose, estadísticamente, a través de la prueba de Medias de Duncan. La variedad Cimarrón (76% de emergencia) resultó superior en el porcentaje de plántulas emergidas en campo que la variedad FONAIAP 1 (69%).

En relación a la biomasa seca de las plántulas emergidas en campo, la variedad FONAIAP 1

(18,09 g) resultó estadísticamente superior en la biomasa seca del epicótilo, con respecto a Cimarrón (13,07 g).

Hongos presentes en las semillas durante el tiempo de almacenamiento

1. Método del papel absorbente

Para las variedades FONAIAP 1 y Cimarrón evaluadas a los cero días de almacenamiento, no se presentaron diferencias significativas relevantes en la incidencia de hongos sobre las semillas. Los hongos que se presentaron en las variedades de arroz fueron: *Byopolaris oryzae*, *Aspergillus flavus*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Rhizopus* sp. y *Fusarium moniliforme*, los cuales se correspondieron a los encontrados en otras investigaciones de arroz en el país (Delgado *et al.*, 2002; Ojeda y Subero, 2004; Pineda *et al.*, 2007).

El porcentaje de hongos presentes en las semillas de arroz con y sin tratamiento químico, mostraron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 5). Los dos fungicidas Fludioxonil y Carboxin+Thiram presentaron un comportamiento similar

The fungi percentage presented in the rice seeds with and without chemical treatment, showed statistical significant differences (table 5). Both fungicides Fludioxonil and Carboxin+Thiram presented a similar behavior in the control of fungi. Also, with this test was detected that both fungicides controlled the fungus *F. moniliforme*, which incidence was 1 and 2% respectively. Untreated seeds had 10% of fungi incidence (table 6). These results were in conformity to the ones obtained by different authors (Pinto, 1998; Texeira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 1993), who concluded that seeds treated with chemical and biological products presented a better physiological and sanitary quality in relation to the untreated seeds.

2. Potato dextrose agar method

The averages for the fungi incidence on the treated and untreated seeds with fungicides evaluated within 60 and 90 days, presented a higher fungi percentage in the witness seeds in relation to the ones treated with the fungicides. It was also determined that the percentage of *F. moniliforme* reduced its incidence in the time. On the opposite, *A. flavus* increased in seeds treated with Carboxin + Thiram and in the witness. This may had been that was considered a fungus which development happened under storing conditions. In seeds treated with Fludioxonil, the incidence of *A. flavus* did not increase (table 5). In general, it was observed that seeds treated chemically presented lower incidence in fungi and better behavior, these results agree to the ones reported by Arsego *et al.* (2006).

The incidence percentage in plants, compared to the inoculums

Cuadro 5. Porcentaje de hongos presentes en semillas tratadas y no tratadas a los 60 y 90 días de almacenamiento (da), evaluado por el método de papa dextrosa agar.

Table 5. Fungi percentage presented in treated and untreated seeds within 60 and 90 days of storing (da), evaluated using the potato dextrose agar method.

Tratamientos	60 días			90 días		
	Testigo	Fludioxonil	Carboxin+Thiram	Testigo	Fludioxonil	Carboxin+Thiram
Hongos						
<i>Aspergillus flavus</i>	4 ^a	1 ^b	6 ^a	9 ^b	1 ^c	27 ^a
<i>Curvularia</i> sp	19 ^a	3 ^b	7 ^b	23 ^a	1 ^b	4 ^b
<i>Fusarium moniliforme</i>	12 ^a	7 ^b	5 ^b	2 ^a	1 ^a	1 ^a

Valores con iguales letras no difieren estadísticamente al 5% de probabilidad según las Pruebas de medias de Rangos Múltiples de Duncan.

en el control de los hongos. Además, con esta prueba se detectó que ambos fungicidas controlaron el hongo *F. moniliforme*, cuya incidencia fue 1 y 2%, respectivamente. Entre tanto, las semillas sin tratamiento presentaron un 10% de incidencia del hongo (cuadro 6). Estos resultados estuvieron en conformidad con los obtenidos por diversos autores (Pinto, 1998; Teixeira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 1993), quienes concluyeron que las semillas tratadas con productos químicos y biológicos presentaron una mejor calidad fisiológica y sanitaria en relación a las semillas no tratadas.

2. Método de papa dextrosa agar

Los promedios para la incidencia de hongos sobre las semillas de arroz tratadas y no tratadas con los fungicidas, evaluadas a los 60 y 90 días, presentaron un mayor porcentaje de hongos en las semillas testigo con respecto a las que fueron tratadas con los fungicidas. También se determinó que el porcentaje de *F. moniliforme* disminuyó su incidencia en el tiempo. Por el contrario, *A. flavus* aumentó en las semillas tratadas con Carboxin + Thiram y en el testigo. Esto posiblemente se debió a que se consideró un hongo cuyo desarrollo se dio bajo condiciones de almacenamiento. En las semillas tratadas con Fludioxonil, la incidencia de *A. flavus* no se incrementó (cuadro 5). En general, se observó que las semillas tratadas químicamente presentaron menor incidencia de hongos y mejor comportamiento, estos resultados coincidieron con los reportados por Arsego *et al.* (2006).

El porcentaje de incidencia en las plantas, comparado con el nivel de inóculo en la semilla certificada fue re-

lativamente bajo, pero ese nivel de inóculo de *D. oryzae* en la semilla mayor a 0,1% y de *C. oryzae* mayor a 1% pudo potencialmente producir infección en las plantas tal como se concluyó en el trabajo de Pineda *et al.* (2007).

Conclusions

The seeds treatment with fludioxonil increased the dry biomass of the epicotyl or rice seedlings.

The treatment of rice seeds with fungicides fludioxonil or carboxin+thiram reduced the incidence of the fungus *F. moniliforme*, thus, it did not affect the physiological quality and improved the health of these.

The evaluated fungi with higher incidence in seeds without chemical treatments were: *Curvularia* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris oryzae* and *A. flavus*. The incidence of such fungi reduced by the seeds treatment with the two fungicides employed.

End of english version

lativamente bajo, pero ese nivel de inóculo de *D. oryzae* en la semilla mayor a 0,1% y de *C. oryzae* mayor a 1% pudo potencialmente producir infección en las plantas tal como se concluyó en el trabajo de Pineda *et al.* (2007).

Conclusiones

El tratamiento de semillas con fludioxonil incrementó la biomasa seca del epicótilo de plántulas de arroz.

El tratamiento de las semillas de arroz con los fungicidas fludioxonil o carboxin+thiram disminuyó la incidencia del hongo *F. moniliforme*, por lo que no afectó la calidad fisiológica y mejoró la sanidad de las mismas.

Los hongos de mayor incidencia en las semillas sin tratamiento químico evaluados fueron: *Curvularia* sp., *Rhizopus* sp., *Bipolaris oryzae* y *A. flavus*. La incidencia de dichos hongos fue disminuida por el tratamiento de las semillas con los dos fungicidas empleados.

Literatura citada

- Abba, E., y A. Lovato. 1999. Effect of seed storage temperature and relative humidity on maize (*Zea mays* L.) seed viability and vigour. *Seed Sci. & Technol.* 27:101-114.
- Arsego, O., L. Baudet, A. Amaral D.S., L. Holbig y F. Peske. 2006. Recobrimiento de sementes de arroz irrigado com ácido giberélico, fungicidas e polímero. *Revista Brasileira de Sementes* 28(2):201-206.
- Association of Official Seed Analysis (A.O.S.A.). 1965. Rules for Testing Seeds. *Proc. Assoc. Off. Seed Anal.* 2(54):10.
- Azizul, I., J. Delouche y C. Baskin. 1973. *Proc. Association of Official Seed Analysts.* 63:155-159.
- Bradley, C., S. Halley y R. Henson. 2007. Evaluation of fungicides seed treatments on flax cultivars differing in seed color. *Industrial Crops and Products.* 24:301-304.
- Cruz, G.F., V.A. González-H., J. Molina M. y J.M. Vázquez R. 1995. Seed deterioration and respiration as related to DNA metabolism in germinating maize. *Seed Sci. & Technol.* 23:477-486.
- Delgado, M., A. Ortiz D., Y. Guevara y L. Subero. 2002. Evaluación sanitaria de semillas de cuatro variedades de arroz en Venezuela. *Agronomía Tropical* 52(2):223-234.
- Delouche, J. y C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. & Technol.* 1:427-452.
- Delouche, J. 1968. Precepts for seed storage. *Proceedings. State College. Mississippi State University.* P. 81-119.
- FONAIAP-SENASEM. 1995. Reglamento General de Semillas. SENASEM. Maracay. Estado Aragua, Venezuela. 35 p.
- Falloon, R.E., G. Follas, R. Butler y D. Goulden. 2000. Resistance in *Peronospora viciae* to phenylamide fungicides: reduced efficacy of seed treatment of pea (*Pisum sativum*) and assessment of alternatives. *Crop Protection* 19(5):313-325.
- González, T., E. Monteverde, C. Marin. y P. Madriz, 2007. Comparación de tres métodos para estimar estabilidad del rendimiento en nueve variedades de algodón. *Interciencia* 32(005):344-348.
- Hilber, U., J. Schwinn y H. Schüepp. 1995. Comparative resistance patterns of fludioxonil and vinclozolin in *Botryotinia fuckeliana*. *Journal of Phytopathology* 143(7):385-448.
- International Seed Testing Association. (I.S.T.A). 1993. *Seed Sci. & Technol.* 21, Supplement 288 p.
- Pérez, F.G. y J.B. Martínez 1994. Introducción a la Fisiología Vegetal. Mundi-Prensa. México. 250 p.
- Muñoz, J. y M. Gamboa. 1998. Introducción al manejo integrado de enfermedades fungosas en arroz. *Agroisleña.* pp. 88-89.
- Ojeda H. y A.Y.L.J. Subero. 2004. Ubicación, sobrevivencia y transmisión de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Schoem, en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev. Fac. Agron. (UCV, Maracay)* 30(1):27-37.

- Oliveira, V. de, J. Machado, M. Guimaraes y A. Ferreira. 1993. Efeito de aplicacoes fungicidas na sementes e parte aérea da planta sobre a producao, qualidade fisiologica e sanitaria das sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) Ciencia e Practica. Brasil 17 (2):134-140.
- Pacheco, C. 1988. Importancia de la patología de semillas para los programas de semillas. IX Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines p. 20-30.
- Pereira, M.A., F.M.L, Silva, R.M. Duarte, P.R.C. Castro. 2007. Efeito de Tiametoxam e Fludioxonil no comprimento das raízes da batata. En: Encontro Nacional de Produção e Abastecimento de Batata, 13. Resumos. Holambra, ENPAB (CD-ROM).
- Perry, D. 1977. Ensayo de crecimiento y evaluación de plántulas. Manual de ensayos de vigor. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Instituto nacional de semillas y plantas de vivero. Madrid. 56 p.
- Pineda, J.B., O. Colmenarez, N. Méndez y L. Gutiérrez. 2007. Niveles de inóculo de hongos fitopatógenos asociados a la semilla de arroz (*Oryza sativa*). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 24 (3):481-500.
- Pinto, N. y F.J. Da. 1998. Fungicide selection for maize (*Zea mays* L.) Seed Treatment. Summa phytopathologica 24:22-25.
- Quirós, W. y O. Carrillo. 2009. Importancia del insumo semilla de buena calidad. Edición oficina nacional de semilla. San José-Costa Rica. 25 p.
- SAS Institute. 2005. The SAS system for windows Release 9.1, SAS Inst., Cary, NC.
- Schuch, J., O. Lucca Filho, S.T. Peske, L. Dutra, M. Brancão, M. Rosenthal. 2006. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de arroz com diferentes graus de umidade e tratadas com fungicida. Rev. Bras.Sementes 28(1):45-53.
- Texeira, H., J. Machado y M. Carvalho. 1997. Avalicao dos efeitos do tratamento químico e biológico na transmissao de (*Colletotrichum gossypii* South.) em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Ciencia e Agrotecnología. Lavras, Brasil. 4(21):413-418.