

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS – AGRONOMIA

VIABILIDADE DO GRÃO DE PÓLEN, FISIOLOGIA E
PRODUÇÃO DE PLANTAS DE MILHO SOB EFEITO DE
PIRACLOSTROBINA + EPOXICONAZOL

Autora: Verônica Barbosa Junqueira
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

RIO VERDE - GO
Fevereiro – 2016

INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS - AGRONOMIA

VIABILIDADE DO GRÃO DE PÓLEN, FISIOLOGIA E
PRODUÇÃO DE PLANTAS DE MILHO SOB EFEITO DE
PIRACLOSTROBINA + EPOXICONAZOL

Autora: Verônica Barbosa Junqueira
Orientador: DSc. Alan Carlos Costa

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, Linha de pesquisa em fisiologia, bioquímica e pós-colheita de produtos vegetais.

RIO VERDE - GO
Fevereiro – 2016

J95v Junqueira, Verônica Barbosa
Viabilidade do grão de pólen, fisiologia e produção de plantas de milho sob efeito de piraclostrobina + epoxiconazol / Verônica Barbosa Junqueira. -- Rio Verde.-- 2016.
38 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, 2016.
Orientador: Dr. Alan Carlos Costa.

Bibliografia

1. Controle químico, 2. *Zea mays* L., 3. Estrobilurina, 4. Triazol. I. Título. II. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde.

CDD: 633.15

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS-AGRONOMIA**

**VIABILIDADE DO GRÃO DE PÓLEN, FISIOLOGIA E
PRODUÇÃO DE PLANTAS DE MILHO SOB EFEITO DE
PIRACLOSTROBINA + EPOXICONAZOL**

Autora: Verônica Barbosa Junqueira
Orientador: Alan Carlos Costa

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de
Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em 29 de fevereiro de 2016.

Profª. Dra. Tatiana Boff
Avaliadora externa
IF Triângulo Mineiro – Câmpus Uberlândia

Profª. Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça
Avaliadora interna
IF Goiano – Câmpus Rio Verde

Dra. Caroline Müller
Avaliadora interna
PNPD/CAPES-IF Goiano – Câmpus Rio Verde

Prof. Dr. Alan Carlos Costa
Presidente da banca
IF Goiano – Câmpus Rio Verde

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me abençoado durante toda a minha vida e me capacitado para atingir meus objetivos.

À minha filha Alice e meu sobrinho Joaquim, aqueles que me mostram todos os dias o que realmente é importante na vida.

Ao meu esposo Rogério, meu companheiro de todas as horas, que teve que me aturar durante a confecção deste trabalho e me ajuda em todas as horas em que mais necessito, me apoia e me conforta. Muito obrigada, meu amor!

Aos meus pais, por serem os maiores incentivadores de tudo o que faço e por serem aqueles que sempre me deram amor, carinho, ótimos exemplos e se dedicaram a vida toda a oferecer uma boa educação às suas filhas.

Às minhas irmãs Nathália Barbosa Junqueira e Jordanna Barbosa Junqueira, minhas maiores amigas de toda a vida, pela paciência, ajuda e carinho.

Aos meus sogros, Paulo Oliveira e Nilvanda Teixeira, e meus cunhados, Renato e Aline, pelo apoio nos momentos necessários.

Ao meu orientador Alan Carlos Costa, pela orientação e ensinamentos durante o mestrado.

À professora Tatiana Boff, minha orientadora da iniciação científica e coorientadora no mestrado, pelas ideias, apoio e por ter me mostrado que o papel de um professor vai muito além dos aprendizados científicos.

À Caroline Müller, além de pós-doutoranda do laboratório, minha amiga, que incansavelmente me auxiliou em todas as fases deste trabalho, além de me acompanhar nas horas de descanso.

Às minhas amigas do coração, Ana Carolina Pacheco e Larissa Pacheco, que fiz durante o mestrado, e à minha amiga de longa data Jackellyne Bruna, pelos almoços,

sobremesas, fondues e comidas em geral, além de todos os momentos juntas, estudando e fazendo festa.

À professora Maria Andreia, que sempre esteve disponível para me auxiliar nas dúvidas e execução deste trabalho.

Aos amigos Ailton Crispim, Demily Lima, Erick, Fábila Barbosa, Gabriel Almeida, Jônatas Castro, Kelly Telles, Luciana Minervina, Marília Assis, Márcio Rosa, Priscila Batista, Roberto Vital, Robson de Oliveira, Sueisla Lopes, Thales Amaral e Yasmin Barros, do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, pela ajuda durante a condução dos experimentos e pelos agradáveis momentos de descontração.

À Capes, pelo financiamento da bolsa de mestrado.

Ao CNPq, Capes e Fapeg, pelo financiamento da estrutura e equipamentos utilizados na realização deste trabalho.

Ao Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, por terem me proporcionado a oportunidade de me especializar.

Enfim, agradeço a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA DA AUTORA

VERÔNICA BARBOSA JUNQUEIRA, filha de Lucas Nunes Junqueira e Lucilene Silveira Barbosa Junqueira, nasceu no dia 11 de setembro de 1991, na cidade de Santa Helena de Goiás.

Em janeiro de 2009, ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – Goiás, graduando-se em novembro de 2013.

Em março de 2014, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, sob a orientação do Professor Alan Carlos Costa.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	IX
RESUMO	X
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Material Vegetal e Condições de Cultivo.....	5
3.2. Avaliações Fisiológicas	6
3.2.1. Trocas Gasosas	6
3.2.2. Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	6
3.3. Análises Citogenéticas	7
3.4. Viabilidade de Grãos de Pólen	7
3.5. Germinação de Grãos de Pólen	8
3.6. Massa de cem (100) grãos	8
3.7. Análises Estatísticas	9
4. RESULTADOS	10
5. DISCUSSÃO.....	15
6. CONCLUSÕES.....	20
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), relação entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a), transpiração (E) e respiração no escuro (R_E) de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas, após cinco dias de exposição aos tratamentos..... 11
- Tabela 2.** Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), taxa aparente de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico efetivo do FSII (Y_{II}) e dissipação não fotoquímica (NPQ) de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas, após cinco dias de exposição aos tratamentos. 11
- Tabela 3.** Viabilidade e germinação de grãos de pólen de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas..... 13
- Tabela 4.** Massa de cem grãos de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas. 14

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases meióticas de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (*a – e*) e no controle (*f*), no estágio de desenvolvimento fenológico V10. *a*) Metáfase I; *b*) Anáfase I; *c*) Metáfase II; *d*) Anáfase II, *e*) Telófase II e *f*) Anáfase II no controle. Barra = 50 μm 12

Figura 2. Viabilidade (*a e b*) e germinação (*c e d*) de grãos de pólen em plantas de milho controle (*a e c*) e tratadas com piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) (*b e d*). Setas azuis indicam grãos de pólen viáveis (*a e b*) ou germinados (*c e d*); setas vermelhas indicam grãos de pólen inviáveis (*a e b*) ou não germinados (*c e d*). Barra = 2 μm 13

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES

<i>A</i>	Taxa fotossintética	($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
C_i/C_a	Relação entre concentração interna e externa de CO_2	
DAA	Dias após a aplicação	
<i>E</i>	Taxa transpiratória	($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
E1	Época 1	
E2	Época 2	
E3	Época 3	
<i>ETR</i>	Taxa relativa de transporte de elétrons	
FSII	Fotossistema II	
F_v/F_m	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	
<i>g_s</i>	Condutância estomática	($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
IRGA	Analisador de gases no infravermelho	
<i>NPQ</i>	Coefficiente de extinção não fotoquímica	
P+E	Piraclostrobina + Epoxiconazol	
<i>PAR</i>	Radiação fotossinteticamente ativa	($\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
R_E	Respiração no escuro	($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Y_{II}	Rendimento quântico efetivo do fotossistema II	

RESUMO

JUNQUEIRA, V. B. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – GO, Fevereiro de 2016. **Viabilidade do grão de pólen, fisiologia e produção de plantas de milho sob efeito de piraclostrobina + epoxiconazol.** Orientador: DSc. Alan Carlos Costa. Coorientadora: DSc. Tatiana Boff.

O uso de fungicidas na cultura do milho tem sido mais frequente em função da maior incidência de doenças e também dos possíveis benefícios fisiológicos que alguns destes produtos podem ocasionar. No entanto, alguns destes produtos, como os dos grupos químicos dos triazóis e das estrobilurinas, podem também interferir negativamente em processos fisiológicos e na formação de órgãos reprodutivos. Desta forma, é necessário um melhor entendimento sobre como esses produtos agem sobre plantas em diferentes estádios fenológicos sem pressão de doença, para que haja melhor aproveitamento do produto, reduzindo perdas e maximizando a produção. Com isso, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito do fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E), em diferentes estádios fenológicos, na meiose, viabilidade e germinação de grãos de pólen, fisiologia e produção de plantas de milho na ausência de doenças. Foi desenvolvido um experimento com o híbrido DKB390 PROII (Monsanto) e a aplicação de P+E na dose comercial e um controle sem aplicação, em 3 épocas diferentes (E1 – V10; E2 – V14; E3 – R1), com 5 repetições. Foram avaliadas as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, viabilidade e germinação de grãos de pólen e massa de cem grãos. Nas plantas da Época 1, as anteras foram coletadas e fixadas 24 h após a aplicação do fungicida, para análises citogenéticas. O fungicida piraclostrobina + epoxiconazol reduziu a viabilidade dos grãos de pólen (1,4 %), porém não foi suficiente para causar perdas na produção. Além disso, não foram observadas diferenças em nenhuma das

outras variáveis avaliadas, sugerindo que o fungicida piraclostrobina + epoxiconazol, na dose comercial e nas épocas testadas, não promove efeitos tóxicos, tampouco benefícios fisiológicos em plantas de milho do híbrido DKB390 PRO II, cultivadas em ambiente controlado.

Palavras-chave: controle químico, *Zea mays* L., estrobilurina, triazol.

ABSTRACT

JUNQUEIRA, V. B. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde – GO, February, 2016. **Pollen grain viability, physiology and production of maize plants under pyraclostrobin + epoxiconazole effects.** Advisor: DSc. Alan Carlos Costa. Co-Advisor: DSc. Tatiana Boff.

The use of fungicides in corn has been more frequent due to an increase in the incidence of diseases and also the possible physiological benefits that some of these products may cause. However, some of these products, such the ones that belong to strobilurin and triazole chemical groups, may also interfere with physiological processes and formation of reproductive organs. Therefore, it is necessary a better understanding of the mode of action of these products on plants at different growth stages, so that it is possible to have better benefit from the product, reducing losses and maximizing production. The aim of this research was to evaluate the effect of the fungicide pyraclostrobin + epoxiconazole (P + E), at different growth stages, on meiosis, pollen grain viability and germination, physiology and production of maize plants in the absence of diseases. An experiment was carried out with the hybrid DKB390 PROII and the application of pyraclostrobin + epoxiconazole at the recommended dose and an untreated control, at 3 different timings (S1 - V10; S2 - V14; S3 - R1), with 5 replications. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, viability and germination of pollen grains and hundred grain weight were evaluated. Anthers were collected from plants of S1 for cytogenetic analysis. The fungicide pyraclostrobin + epoxiconazole reduced the viability of pollen grains (1.4%), but it was not enough to reduce production. Moreover, there were not observed differences in any of the other parameters analyzed, suggesting that P+E, at the recommended dose and the tested stages, does not cause toxic effects, either

physiological benefits on maize hybrid DKB390 PRO II, grown in controlled environment.

Keywords: chemical control, *Zea mays L.*, strobilurin, triazole.

VIABILIDADE DO GRÃO DE PÓLEN, FISIOLOGIA E PRODUÇÃO DE PLANTAS DE MILHO SOB EFEITO DE PIRACLOSTROBINA + EPOXICONAZOL.

(Normas de acordo com a revista *Pesticide Biochemistry and Physiology*)

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas do mundo, sendo utilizado para alimentação humana e animal, além de ser matéria-prima para produtos como borracha, plástico, biodiesel e tecidos [1]. Na safra de 2014/2015, foi produzida mais de 1 bilhão de toneladas deste cereal no mundo, sendo os maiores produtores os Estados Unidos (361,1 milhões de toneladas - 35,8 %), a China (215,7 – 21,4 %) e o Brasil (85,0 – 8,4 %) [2].

O milho é uma planta de metabolismo C₄, de elevado potencial produtivo. No entanto, o manejo inadequado da cultura não permite que esta capacidade produtiva seja expressa no campo. Por isso, a produtividade de milho (em média 5 ton.ha⁻¹ no Brasil) tem sido consideravelmente inferior ao seu potencial, que atinge a 14 ton.ha⁻¹ em locais com sistemas de produção mais aprimorado [3].

Um dos principais fatores que contribuem para a redução da produtividade da cultura do milho é a incidência de doenças, aliada a seu manejo inadequado [4]. O

aumento das doenças do milho no Brasil é consequência da evolução do sistema de produção da cultura, que trouxe modificações como a ampliação das épocas de plantio, o sistema de plantio direto e o aumento no uso da irrigação [5]. Por este motivo, o uso de fungicidas tem aumentado em vários países, no propósito de controlar doenças e manter a produtividade [6].

Os fungicidas mais utilizados para aplicação foliar na cultura do milho pertencem aos grupos químicos dos triazóis e das estrobilurinas. No Brasil, existem 62 produtos comerciais registrados para o controle de doença na cultura do milho, dos quais 70% pertencem aos grupos dos triazóis e das estrobilurinas, formulados isoladamente ou combinados [7]. Os triazóis atuam inibindo a síntese de ergosterol, um lipídeo presente na membrana dos fungos [8] e [9], que exerce função semelhante à dos fitoesteróis [10]. Já as estrobilurinas têm como modo de ação o bloqueio da cadeia mitocondrial de transporte de elétrons ao nível do complexo III [11] e [12]. Quando aplicados nas plantas, estes fungicidas podem causar efeitos adicionais ao do controle dos patógenos, por interferir em processos semelhantes que ocorrem nos vegetais, podendo gerar alterações negativas [13] ou benéficas [6].

Um fator que deve ser considerado ao aplicar fungicidas no milho é a possibilidade de efeitos fitotóxicos destes produtos. Segundo Petit et al. [14], o uso de fungicidas pode resultar na perturbação do desenvolvimento de órgãos reprodutivos e redução do crescimento de plantas. Os triazóis, por exemplo, podem promover alterações no transporte de elétrons no cloroplasto e na síntese de fitoesteróis, como observado em plantas de *Gallium aparine* [13], o que pode estar relacionado com a inviabilidade de grãos de pólen [15]. Anomalias ocasionadas durante a meiose também são descritas por interferirem na viabilidade de grãos de pólen de diversas espécies [16]. No entanto, são escassas as informações sobre a atuação de fungicidas na divisão celular em plantas de milho. As estrobilurinas, por outro lado, podem causar efeitos de redução da taxa respiratória nas plantas, o que está relacionado com seu mecanismo de ação nos fungos [12]. Outra possibilidade de efeito de fungicidas nas plantas é o da promoção do crescimento, o chamado efeito fisiológico [17]. Estes efeitos são atribuídos a fungicidas que melhoram a fisiologia da planta em aspectos como taxa fotossintética, sistema antioxidante, metabolismo do nitrogênio, biometria e produtividade de grãos, mesmo na ausência de doenças [18] e [6]. As estrobilurinas são conhecidas por causar efeitos fisiológicos em culturas em geral. De acordo com [19],

estes produtos podem ocasionar um potencial aumento de produtividade em plantas de milho, mesmo na ausência de doenças. Já os triazóis têm sido descritos por promover respostas de pré-indução de resistência a estresses abióticos, como a seca [20].

A divulgação dos efeitos fisiológicos tem levado produtores a utilizar fungicidas destes grupos químicos mesmo com baixa ou nenhuma ocorrência de doenças, por acreditarem na possibilidade do aumento na produção. No entanto, Paul et al. [21] sugerem que a aplicação foliar de fungicidas na cultura do milho raramente resulta em benefício econômico quando a severidade das doenças é baixa e a expectativa de produtividade é alta.

Para se decidir sobre a aplicação de um fungicida na cultura do milho, devem ser levados em conta o estágio de desenvolvimento, condições ambientais, presença de inóculo, suscetibilidade do cultivar e severidade da doença [22]. Ainda é importante ressaltar que o retorno econômico não depende apenas do incremento na produção, mas também do custo da aplicação dos produtos, o qual envolve o valor do produto comercial e da sua aplicação, além do preço de mercado do milho [21] e [23].

A melhor época de aplicação de fungicidas no milho precisa ser mais bem compreendida, para que sejam maximizados a produção de grãos e o rendimento econômico, não apenas considerando o controle das doenças, mas também os possíveis benefícios fisiológicos ou efeitos fitotóxicos. Neste sentido, testou-se a hipótese de que o fungicida piraclostrobina + epoxiconazol, na dose comercial, pode afetar o desenvolvimento reprodutivo de plantas de milho, podendo esses efeitos tóxicos ser minimizados se conhecidos os estádios fenológicos mais sensíveis ao produto.

2. OBJETIVOS

Objetivou-se avaliar o efeito do fungicida piraclostrobina + epoxiconazol aplicado, na dose comercial, em diferentes fases do desenvolvimento dos grãos de pólen de plantas de milho, por meio de análises, fisiológicas, citogenéticas e de produção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Vegetal e Condições de Cultivo

O experimento foi conduzido na Casa de Vegetação Climatizada do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde. Sementes de milho do híbrido DKB390 PRO II (Monsanto) foram plantadas em vasos de polietileno, contendo 18 L de substrato. O substrato foi preparado com base numa mistura de solo do tipo Latossolo Vermelho Distroférico típico e areia, na proporção de 2:1, que foi adubado via fertirrigação, conforme a análise química do solo e recomendação para alta produtividade da cultura do milho [24]. O experimento ocorreu nos meses de outubro de 2015 a fevereiro de 2016. Foram semeadas 10 sementes por vaso, e após a germinação foi feito um desbaste, mantendo uma planta por vaso, correspondendo a uma unidade experimental. Todas as plantas foram mantidas na capacidade de campo e na ausência de doenças e pragas durante todo o ciclo.

Os tratamentos consistiram da aplicação do fungicida Opera[®] (piraclostrobina 133 g.L⁻¹+ epoxiconazol 50 g.L⁻¹) com óleo mineral recomendado, na dose comercial (750 mL p.c.ha⁻¹) e do controle (sem fungicida) nos estádios fenológicos V10 (E1), que corresponde a 10 folhas completamente expandidas, V14 (E2), em que havia 14 folhas completamente expandidas e R1 (E3), que corresponde ao florescimento, ou abertura das anteras. A aplicação do fungicida foi feita com um pulverizador costal, propelido a gás carbônico, com barra contendo quatro bicos tipo leque XR 110.02, distanciados 0,5 m entre si, calibrado para um volume de calda de 200 L.ha⁻¹, conforme recomendação para o controle de doenças na cultura do milho. A aspersão foi feita diretamente sobre

as plantas, mantendo-se a barra a 0,4 m de altura do topo das plantas. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2 (doses) x 3 (épocas), com cinco repetições, totalizando 30 unidades experimentais.

3.2. Avaliações Fisiológicas

3.2.1. Trocas Gasosas

As trocas gasosas das plantas de milho foram mensuradas aos cinco dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos para estimar as variáveis taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), relação entre a concentração interna e a externa de CO_2 (C_i/C_a) e a respiração no escuro (R_E , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As medições foram feitas com um analisador de gases infravermelho portátil (IRGA, modelo LI-6400XTR, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA). Foi avaliada a região central da 10ª folha na Época 1 e da folha que envolve a primeira espiga nas Épocas 2 e 3 (10ª ou 11ª folha). As medições de A , g_s , E e C_i/C_a foram feitas entre 9 h e 11 h da manhã, utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração atmosf\u00e9rica de CO_2 (C_a) ($400 \pm 25 \mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura ($25,8 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) e umidade ($74 \pm 12 \%$) ambientes. Para as avalia\u00e7\u00f5es de R_E , as folhas foram cobertas para garantir pelo menos 5 h de escuro, e a leitura feita ap\u00f3s as 22 h. A respira\u00e7\u00e3o foi avaliada na noite anterior \u00e0s avalia\u00e7\u00f5es fotossint\u00e9ticas.

3.2.2. Fluoresc\u00eancia da Clorofila a

As vari\u00e1veis de fluoresc\u00eancia da clorofila a foram obtidas aos 5 dias ap\u00f3s a aplica\u00e7\u00e3o dos tratamentos, com o aux\u00edlio do IRGA, na mesma \u00e1rea da folha em que foram feitas as medi\u00e7\u00f5es das trocas gasosas. Para as avalia\u00e7\u00f5es, as folhas foram adaptadas ao escuro para que os centros de rea\u00e7\u00e3o estivessem completamente abertos (todos os aceptores prim\u00e1rios oxidados) com perda de calor m\u00ednima. As vari\u00e1veis de indu\u00e7\u00e3o da fluoresc\u00eancia obtidas foram: fluoresc\u00eancia inicial (F_0) e fluoresc\u00eancia m\u00e1xima (F_m). Considerando esses valores, foi obtido o rendimento qu\u00e2ntico potencial do fotossistema II (FSII), $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ [24] (Genty et al., 1989). Os par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia da clorofila a do escuro foram avaliados juntamente com a taxa respirat\u00f3ria. As vari\u00e1veis da fase lenta de indu\u00e7\u00e3o da fluoresc\u00eancia foram obtidas

sequencialmente com a aplicação de uma iluminação actínica e um pulso de luz actínica saturante para a determinação das variáveis fluorescência em amostra adaptada à luz antes do pulso de saturação (F) e fluorescência máxima em amostra adaptada à luz (F_m'). Tendo como referência esses parâmetros, foi possível calcular a fluorescência mínima do tecido vegetal iluminado, $F_0' = F_0 / [((F_m - F_0) / F_m) + (F_0 / F_m')]$ [26]. O rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no FSII, $Y_{II} = (F_m' - F) / F_m'$ foi calculado de acordo com Genty et al. [25]. O Y_{II} foi utilizado ainda para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons, $ETR = Y_{II} \cdot PAR \cdot Abs_{leaf} \cdot 0,5$ [27], em que PAR é o fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; Abs_{leaf} é a fração de luz incidente absorvida pelas folhas; e 0,5 é o valor correspondente à fração de energia de excitação distribuída para o FSII [28]. O coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) foi calculado como $NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$ [29].

3.3. Análises Citogenéticas

As fases meióticas foram avaliadas na E1 (estádio V10), estágio em que estavam ocorrendo as divisões celulares no pendão. Nas épocas seguintes (E2 e E3), os grãos de pólen já haviam sido formados, não sendo possível observar a meiose. Cerca de 10 botões florais jovens por planta foram coletados 24 h após a aplicação do fungicida P+E, os quais foram fixados em solução de metanol:ácido acético (3:1). A solução foi trocada 3 vezes, em intervalos de 10 minutos, e o material armazenado a -20 °C até o momento das análises. Para a preparação das lâminas, as anteras foram retiradas e lavadas em água destilada e, em seguida, hidrolisadas em HCl 5 M por cerca de 10 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, repetiu-se a lavagem das anteras em água destilada, e as lâminas foram preparadas pela maceração de duas anteras em orceína acética 2 %. O material foi coberto com lamínula e analisado em microscópio biológico binocular (Leica, modelo DM500) com câmera de vídeo digital (Leica, modelo ICC50).

3.4. Viabilidade de Grãos de Pólen

A coleta dos botões florais para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen foi feita no estágio R1 para todos os tratamentos, independentemente da época de aplicação do fungicida, para evitar erros relacionados à diferença de idade entre as

plantas. Cerca de 20 botões florais foram coletados e fixados em solução de metanol: ácido acético (3:1) e armazenados em freezer a -20 °C.

A avaliação dos possíveis efeitos do fungicida sobre a fertilidade do pólen foi estimada pela contagem de grãos de pólen maduros por planta. Foram confeccionadas lâminas macerando anteras de dois botões florais em carmim acético 1 %. A viabilidade do pólen foi estimada pela contagem dos grãos de pólen com o auxílio de microscópio biológico binocular (Leica), com objetiva de aumento de 4 x. Os grãos de pólen corados foram considerados viáveis, enquanto os vazios ou fracamente corados foram considerados inviáveis. Duas lâminas foram preparadas por repetição, e contados 1000 grãos de pólen.

No propósito de evitar que grãos de pólen de tratamentos diferentes fecundassem as espigas, foi feita a polinização manual na abertura das anteras (R1). A polinização ocorreu quando os estilos-estigmas da espiga atingiram cerca de 5 cm de comprimento.

3.5. Germinação de Grãos de Pólen

A germinação dos grãos de pólen *in vitro* foi avaliada no estágio R1 (após a abertura das anteras), independentemente do estágio de aplicação do fungicida. O meio de cultivo para a germinação de grãos de pólen de milho foi preparado com 550 mM sacarose, 1,27 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1 mM KNO_3 e 200 mM H_3BO_3 [30]. Cerca de 2 a 5 mg de grãos de pólen frescos recém-coletados foram espalhados em 100 μL do meio de cultivo em lâminas de vidro e colocados para germinar em BOD a 25 °C, durante 2 h. Após a germinação, a solução de meio de cultivo com os grãos de pólen foi coberta com uma lamínula e levada ao microscópio biológico binocular Leica para análise. Os grãos de pólen foram considerados germinados quando o tubo polínico ultrapassava o diâmetro do próprio grão de pólen. Foram preparadas duas lâminas por repetição, tendo sido contados 300 grãos de pólen por planta.

3.6. Massa de cem (100) grãos

Para obtenção da massa de cem (100) grãos, as espigas foram colhidas manualmente quando os grãos haviam atingido a maturidade fisiológica. A pesagem dos grãos foi feita em balança analítica.

3.7. Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando necessário, à comparação múltipla das médias por meio do teste de Tukey a 5 % de probabilidade, por meio do Sistema de Análise de Variância (SISVAR – Versão 5.4, 2010).

4. RESULTADOS

O fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) não ocasionou efeitos na taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a), taxa transpiratória (E) e respiração no escuro (R_E), Tabela 1, independentemente da época em que foi aplicado. Efeito significativo foi observado apenas entre as épocas para as variáveis g_s e C_i/C_a . Também não houve interação significativa entre a aplicação do fungicida e as épocas testadas, indicando que a diferença observada foi um comportamento exclusivo dos estádios fenológicos avaliados neste estudo.

Não houve efeito do fungicida P+E no rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), taxa de transporte de elétrons (ETR), rendimento quântico efetivo do FSII (Y_{II}) e dissipação não fotoquímica (NPQ) (Tabela 2). Foi observado efeito entre as épocas para estas variáveis. Também não houve interação significativa entre o fungicida P+E e as épocas (V10, V14 e R1), indicando que a diferença observada foi um comportamento exclusivo dos estádios fenológicos avaliados.

Tabela 1. Taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), relação entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (*C_i/C_a*), transpiração (*E*) e respiração no escuro (*R_E*) de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas, após cinco dias de exposição aos tratamentos.

Época	Grupo	<i>A</i> μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	<i>g_s</i> mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	<i>C_i/C_a</i>	<i>E</i> mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	<i>R_E</i> μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹
1	Controle	26,70±1,29	0,14±0,02b	0,29±0,08b	2,09±0,31	0,69±0,19
	P+E	26,58±2,56	0,18±0,03b	0,32±0,14b	2,23±0,36	0,63±0,13
2	Controle	27,58±2,52	0,22±0,04a	0,42±0,08a	2,19±0,32	0,64±0,10
	P+E	26,95±2,17	0,20±0,03a	0,39±0,07a	2,05±0,17	0,69±0,16
3	Controle	27,75±0,76	0,19±0,02ab	0,34±0,06ab	2,32±0,20	0,65±0,11
	P+E	27,17±3,23	0,22±0,05ab	0,43±0,10ab	2,63±0,52	0,80±0,14
Grupo		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época		n.s.	*	*	n.s.	n.s.
Grupo × Época		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Bloco		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C.V. (%)		8,65	16,97	20,93	15,52	20,46

* Significativo, pela análise fatorial, a 5 % de probabilidade.

Médias ± DP (*n*=5) seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (*p*≥0,05).

Tabela 2. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (*F_v/F_m*), taxa aparente de transporte de elétrons (*ETR*), rendimento quântico efetivo do FSII (*Y_{II}*) e dissipação não fotoquímica (*NPQ*) de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas, após cinco dias de exposição aos tratamentos.

Época	Grupo	<i>F_v/F_m</i>	<i>ETR</i>	<i>Y_{II}</i>	<i>NPQ</i>
1	Controle	0,79±0,00a	157,07±6,20a	0,37±0,01a	1,20±0,13a
	P+E	0,79±0,00a	156,18±8,58a	0,37±0,02a	1,21±0,09a
2	Controle	0,78±0,01b	143,35±8,79b	0,34±0,02b	1,05±0,11b
	P+E	0,78±0,01b	142,33±6,28b	0,34±0,01b	0,95±0,19b
3	Controle	0,78±0,00b	145,63±7,42b	0,35±0,02b	1,11±0,20ab
	P+E	0,78±0,00b	147,05±10,18b	0,35±0,02b	1,20±0,18ab
Grupo		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Época		**	**	**	*
Grupo × Época		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Bloco		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C.V. (%)		0,47	5,63	5,68	14,48

**, * Significativo pela análise fatorial, 1 e 5 % de probabilidade, respectivamente.

Médias ± DP (*n*=5) seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (*p*≥0,05).

Também não foi possível identificar alterações meióticas em plantas tratadas com P+E. (Figura 1). As fases meióticas observadas nas anteras tanto no controle quanto em plantas tratadas com fungicida apresentaram padrão normal de divisão celular, formato e tamanho dos meiócitos (Figura 1 *a - f*).

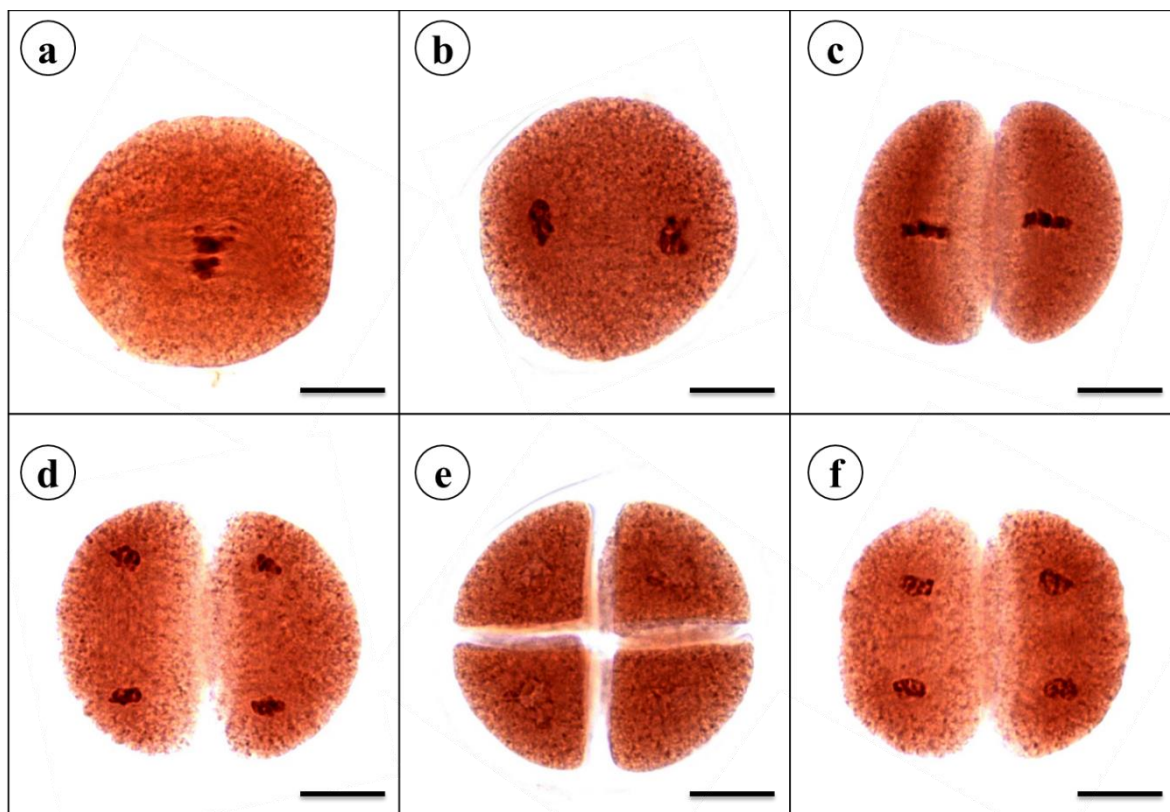


Figura 1. Fases meióticas de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (*a - e*) e no controle (*f*), no estágio de desenvolvimento fenológico V10. *a*) Metáfase I; *b*) Anáfase I; *c*) Metáfase II; *d*) Anáfase II, *e*) Telófase II e *f*) Anáfase II no controle. Barra = 50 μ m.

A viabilidade de grãos de pólen foi afetada pela aplicação do fungicida P+E, independentemente da época de aplicação (Tabela 3) (Figura 2 *a* e *b*), assim como a germinação dos grãos de pólen não foi afetada pelo fungicida nem pelo estágio fenológico de aplicação (V10, V14, R1) (Figura 2 *c* e *d*).

Tabela 3. Viabilidade e germinação de grãos de pólen de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas.

Época	Grupo	Viabilidade dos grãos de pólen	Germinação dos grãos de pólen
1	Controle	96,75±1,19a	63,13±4,83
	P+E	95,20±1,07b	66,88±4,91
2	Controle	96,88±1,77a	65,03±1,73
	P+E	95,54±1,54b	69,20±5,54
3	Controle	97,68±0,63a	61,59±5,80
	P+E	96,22±1,03b	63,48±4,92
	Grupo	**	n.s.
	Época	n.s.	n.s.
	Grupo × Época	n.s.	n.s.
	Bloco	n.s.	n.s.
	C.V. (%)	1,29	7,66

** Significativo, pela análise fatorial, a 1 % de probabilidade.

Médias ± DP (n=5) seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≥0,05).

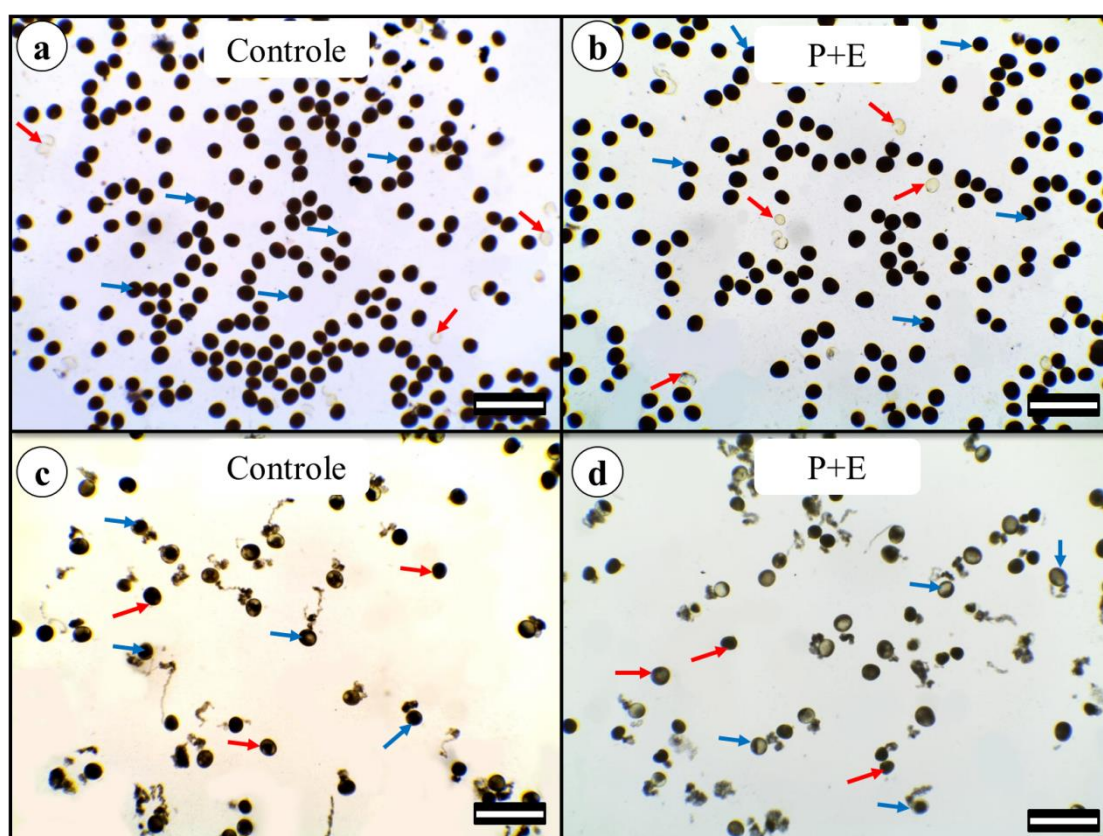


Figura 2. Viabilidade (a e b) e germinação (c e d) de grãos de pólen em plantas de milho controle (a e c) e tratadas com piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) (b e d). Setas azuis indicam grãos de pólen viáveis (a e b) ou germinados (c e d); setas vermelhas indicam grãos de pólen inviáveis (a e b) ou não germinados (c e d). Barra = 2μm.

Não houve efeito de P+E na massa de cem grãos de plantas de milho, Tabela 4, assim como não foram verificadas diferenças entre as espigas produzidas por plantas tratadas com P+E e as plantas controle (dados não mostrados).

Tabela 4. Massa de cem grãos de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E) em três diferentes épocas.

Época	Grupo	Massa de cem grãos (g)
1	Controle	41,89±4,75
	P+E	40,84±1,49
2	Controle	43,57±2,25
	P+E	44,38±3,49
3	Controle	41,78±1,82
	P+E	42,42±4,27
Grupo		n.s.
Época		n.s.
Grupo x Época		n.s.
Bloco		n.s.
C.V. (%)		7,67

5. DISCUSSÃO

O fungicida piraclostrobina + epoxiconazol (P+E), na dose comercial, não comprometeu nem beneficiou o metabolismo fotossintético das plantas de milho, haja vista a manutenção da etapa fotoquímica da fotossíntese. Além disso, o NPQ, indicador de situações estressantes via dissipação térmica [31], não foi alterado em função da aplicação do fungicida, sugerindo que as plantas não estavam em condição de estresse. As alterações observadas nas diferentes épocas de coleta são decorrentes apenas do desenvolvimento morfológico da planta. O aumento na g_s não representou perda de água nem aumento na taxa fotossintética, efeito diferente do esperado. Provavelmente isso tenha ocorrido em função de estas plantas terem sido cultivadas em casa de vegetação climatizada, com temperatura amena (~ 25 °C), alta umidade relativa do ar (acima dos 60%) e solo na capacidade de campo.

Efeitos negativos do epoxiconazol nos cloroplastos já foram descritos na literatura. A integridade dos tilacoides, além do transporte de elétrons e da evolução de oxigênio, foi afetada em plantas de *Galium aparine* L. expostas às doses de 150 e 250 g i.a. ha⁻¹ deste fungicida [13]. No presente estudo, na dose de epoxiconazol recomendada para a cultura do milho (37,5 g i.a. ha⁻¹), a integridade dos tilacoides tenha sido possivelmente mantida, já que a taxa de transporte de elétrons e o rendimento quântico do FSII não foram afetados pelo tratamento. Isto indica que a toxicidade deste produto aos tilacoides provavelmente é restrita a testes feitos com dosagens superiores à comercial e condições de exposição distintas das que ocorrem no campo, como a utilização de discos foliares imersos em solução fungicida, o que proporciona maior contato dos tecidos da planta com o produto, possibilitando maior interferência.

As taxas respiratórias se mantiveram estáveis mesmo nas plantas tratadas com o fungicida. Isso vai contra o modo de ação de um dos ingredientes ativos, a piraclostrobina. Este fungicida pertence ao grupo químico das estrobilurinas, que tem como modo de ação, nos fungos, o bloqueio do complexo III no transporte de elétrons da cadeia respiratória mitocondrial [11]. Como o complexo III persiste em todos os eucariotos, pelo menos uma pequena redução na respiração de plantas deve ser esperada [12]. A manutenção da taxa respiratória das plantas neste estudo pode ser decorrente da ativação de alguma rota alternativa de transporte de elétrons após a aplicação do fungicida. Outra possibilidade é que as variações desta característica não tenham sido detectadas pelo método de medição utilizado. Alguns autores indicam que a redução na taxa respiratória causada pela piraclostrobina pode ser minimizada por um aumento transitório da rota alternativa de oxidação (AOX) [17] e [32]. A AOX é insensível a fungicidas e recebe elétrons diretamente da ubiquinona, levando à oxidação da água, em uma via em que os elétrons não passam pelo citocromo bc1 (Complexo III) e oxidase do citocromo (Complexo IV) [33]. Diante disso, sugere-se que as plantas de milho no presente estudo tenham AOX capazes de manter a redução do oxigênio na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial mesmo sob exposição à piraclostrobina, mostrando que a dosagem comercial deste fungicida não causa fitotoxicidade em plantas de milho DKB 390 PROII.

Anomalias causadas por fungicidas do grupo fonfonado [34] e fosfito [35] foram observadas na meiose em plantas de *Lycopersicon esculentum* e *Allium cepa*, respectivamente. Contudo, em ambos os trabalhos, foi aplicada uma sobredose do produto, via aplicação da dose comercial, repetida quatro vezes, ou da aplicação de uma dose quatro vezes superior à dose recomendada para a cultura, casos que não acontecem no campo. No presente trabalho, não foi possível observar alterações na meiose de plantas de milho submetidas ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol.

Anomalias na meiose podem causar perdas na viabilidade de grãos de pólen [16], o que não foi observado neste estudo. Isto indica que o fungicida não interferiu na formação dos grãos de pólen durante a divisão celular. A inviabilidade causada nos grãos de pólen nas plantas tratadas com piraclostrobina + epoxiconazol pode ter ocorrido devido à toxicidade do triazol a fitoesteróis, como observado em plantas de *Gallium aparine* L. [13]. Segundo os autores, o epoxiconazol causa redução na concentração de campesterol e sitosterol, além de alterar a proporção entre eles.

Schaeffer et al. [15] observaram que baixas concentrações de sitosterol em relação a campesterol podem ter sido responsáveis pela redução na viabilidade de grãos de pólen, já que as plantas de *Arabidopsis*, nesta situação, produziram menos sementes e grãos de pólen mortos. Assim, tanto a redução na concentração quanto a alteração na proporção entre os fitoesteróis são fatores importantes na viabilidade de grãos de pólen. Esta viabilidade foi reduzida em 1,4 % nas plantas tratadas com o fungicida, provavelmente por uma possível alteração na estrutura de membranas, causada pelo epoxiconazol. Considerando que uma planta de milho vigorosa pode produzir de 30 a 60 milhões de grãos de pólen [36], a redução da viabilidade de 420 a 840 mil grãos de pólen poderia comprometer a produtividade em condições de campo. No entanto, Uribebarrea et al. [37], avaliando diferentes genótipos de milho e diferentes espaçamentos em campo, verificaram que, mesmo com uma redução de até 50% na produção de pólen, não houve limitação da porcentagem de grãos. Dados similares observados por outros autores não atribuíram a diminuição na produção de grãos de milho à redução na viabilidade dos grãos de pólen. Segundo os autores, fatores como o estresse hídrico no período da polinização [38] ou mesmo o surgimento de estigmas receptivos tardios, gerando assincronia entre a polinização e formação da espiga [39], podem ser os responsáveis por perdas em produção. Além disso, no presente estudo, embora a viabilidade tenha sido afetada, não foram observadas alterações na germinação dos grãos de pólen das plantas de milho.

Outros fungicidas, de diferentes grupos químicos, já foram relatados por interferir na viabilidade, germinação ou morfologia de grãos de pólen, em diversas culturas. Çali e Candam [40], estudando o efeito do fungicida fosfonato em plantas de *Solanum lycopersicum*, observaram que o fungicida causa redução na viabilidade e alterações na morfologia dos grãos de pólen. Além disso, o efeito de fungicidas de diferentes grupos químicos, como triazol, dinitrofenol e benzimidazol, na germinação de grãos de pólen *in vitro*, foi estudado em *Prunus persica* e *P. persica* var. *nucipersica* [41] e *Brassica campestris* [42]. Os autores relataram que todos os fungicidas interferiram negativamente na germinação dos grãos de pólen quando comparados com o controle, e concluíram que os grãos de pólen são muito sensíveis às substâncias tóxicas. No entanto, nestes trabalhos, foi testada a interferência do fungicida diretamente no meio de cultivo, sem considerar que na planta existem barreiras físicas,

desde a absorção até o seu efeito, como a antera e o próprio botão floral, que reduzem consideravelmente a absorção do fungicida diretamente pelo grão de pólen.

A massa de cem grãos é um componente importante da produção de plantas de milho, pois indica o grau do enchimento de grãos [43]. O fungicida P+E não afetou a massa de cem grãos das plantas de milho do presente estudo, o que já era esperado, uma vez que o fungicida não afetou negativamente o *status* fisiológico das plantas. Observou-se, então, que o enchimento de grãos das plantas de milho não foi alterado, indicando que, na ausência de doenças, não há incremento neste parâmetro em função da aplicação de P+E. Resultados semelhantes foram encontrados por Vilela et al. [44] e por Ecco et al. [45]. Estes autores, avaliando outros híbridos de milho expostos ao fungicida piraclostrobina + epoxiconazol na dose comercial, não observaram alterações nos componentes agronômicos, mesmo sendo detectada redução da incidência de doenças foliares. Os autores verificaram que, na ausência de doença (baixa pressão de inóculo), o fungicida não beneficiou nenhum parâmetro de produtividade.

Diferentes trabalhos mostram diferentes respostas aos efeitos de estrobilurinas em plantas. Algumas pesquisas sugerem que as estrobilurinas promovem benefícios fisiológicos e aumentam a produtividade de grãos pela melhoria no desempenho de plantas de milho [46], soja [47] e trigo [48]. No entanto, estes autores nem sempre deixam claro que os experimentos foram conduzidos com plantas infectadas com fungos, então, espera-se que as plantas tratadas com fungicida realmente apresentem melhor desempenho em relação ao controle infectado não tratado. Vários destes autores ainda descrevem as pesquisas como se tivessem trabalhado na ausência de doenças, o que não foi observado nos índices de severidade apresentados. Por outro lado, em outros experimentos com as mesmas culturas [49] [50] e [44], não foram relatadas alterações fisiológicas ou aumento na produtividade em plantas submetidas ao fungicida, sem elevada pressão de doença. Estes autores relatam que aplicações de fungicidas devem estar condicionadas ao aparecimento de doenças, para garantir que haja incremento na produção em função do tratamento. Blandino et al. [6] concluíram que a melhor época de aplicação do fungicida combinado de estrobilurina e triazol para o controle de doenças na cultura do milho, considerando apenas uma aplicação, seria no florescimento (R1), fase na qual a planta exerce máxima atividade fotossintética. O fungicida promove maiores incrementos na produtividade quando aplicado em plantas

com maior severidade de doenças e híbridos mais sensíveis [23], por atuar no controle da doença e permitir a produção em comparação com o controle sob estresse biótico.

Considerando os dados obtidos no presente trabalho, ressalta-se que a decisão sobre a aplicação de estrobilurina + triazol na cultura do milho deve ser avaliada quanto à pressão de doença, para que o produtor consiga obter benefício econômico pelo aumento na produtividade. Além disso, esta pesquisa não mostrou efeitos benéficos na fisiologia das plantas de milho, decorrentes da aplicação do fungicida, cultivadas sem a incidência efetiva de doença.

6. CONCLUSÕES

O fungicida piraclostrobina + epoxiconazol, em dosagem comercial, promoveu diminuição na viabilidade de grãos de pólen, no entanto, não foram observadas alterações na fisiologia e na produção de plantas de milho do híbrido DKB 390 PROIL.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Elazab, A., Ordóñez, R. A., Savin, R., Slafer, G. A., & Araus, J. L. (2016). Detecting interactive effects of N fertilization and heat stress on maize productivity by remote sensing techniques. **European Journal of Agronomy**, 73, 11-24.
- [2] USDA - United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. **Corn Area, Yield, and Production Report**. (2016). Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Table+04+Corn+Area%2c+Yield%2c+and+Production&hidReportRetrievalID=884&hidReportRetrievalTemplateID=1>> Acesso em 20/01/2016.
- [3] Forsthofer, E. L., Silva, P. D., Strieder, M. L., Minetto, T., Rambo, L., Argenta, G., Sangoi, L., Suhre, E., Silva, A. A. (2006). Desempenho agronômico e econômico do milho em diferentes níveis de manejo e épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41(3), 399-407.
- [4] Gxasheka, M., Wang, J., Tyasi, T. L., & Gao, J. (2015). Scientific understanding and effects on ear rot diseases in maize production: a review. **International Journal of Soil and Crop Sciences**, 3(4), 077-084.
- [5] Cruz, J. C. C., Alvarenga, R. C., Novotny, E. H., PEREIRA-FILHO, I. A., Santana, D. P., Pereira, F. T. F., & Hernani, L. C. (2010). **Cultivo do milho**. Embrapa Milho e Sorgo.
- [6] Blandino, M., Galeazzi, M., Savoia, W., & Reyneri, A. (2012). Timing of azoxystrobin+ propiconazole application on maize to control northern corn leaf blight and maximize grain yield. **Field Crops Research**, 139, 20-29.
- [7] AGROFIT. (2016). **Relatório Consolidado de Produtos Formulados – Fungicidas para o Milho**. MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), 7p.
- [8] Yang, C., Hamel, C., Vujanovic, V., & Gan, Y. (2011). Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. **ISRN Ecology**.

- [9] Villani, S. M., Hulvey, J., Hily, J. M., & Cox, K. D. (2016). Overexpression of the CYP51A1 gene and repeated elements are associated with differential sensitivity to DMI fungicides in *Venturia inaequalis*. **Phytopathology**, (ja).
- [10] Yang, H., Tong, J., Lee, C. W., Ha, S., Eom, S. H., & Im, Y. J. (2015). Structural mechanism of ergosterol regulation by fungal sterol transcription factor Upc2. **Nature Communications**. 6.
- [11] Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. **Pest management science**, 58(7), 649-662.
- [12] Reddy, P. P. (2013). **Recent advances in crop protection**. Springer Science & Business Media, 185 – 200.
- [13] Benton, J. M.; Cobb, A. H. (1997). The modification of phytosterol profiles and in vitro photosynthetic electron transport of *Galium aparine* L. (cleavers) treated with the fungicide epoxiconazole. **Plant growth regulation**, 22(2), 93-100.
- [14] Petit, A. N., Fontaine, F., Vatsa, P., Clément, C., & Vaillant-Gaveau, N. (2012). Fungicide impacts on photosynthesis in crop plants. **Photosynthesis research**, 111(3), 315-326.
- [15] Schaeffer, A., Bronner, R., Benveniste, P., & Schaller, H. (2001). The ratio of campesterol to sitosterol that modulates growth in Arabidopsis is controlled by STEROL METHYLTRANSFERASE 2; 1. **The Plant Journal**, 25(6), 605-615.
- [16] Pagliarini, M. S. (2000). Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular biology**, 23(4), 997-1002.
- [17] Venancio, W. S., Rodrigues, M. A. T., Begliomini, E., & de Souza, N. L. (2003). Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. Publication UEPG: **Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, 9(03).
- [18] Wu, Y. X., & von Tiedemann, A. (2001). Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 71(1), 1-10.
- [19] Wise, K., & Mueller, D. (2011). Are fungicides no longer just for fungi? An analysis of foliar fungicide use in corn. **APSnet Features**. <http://dx.doi.org/10.1094/APSnetFeature-2011-0531>.
- [20] Ronchi, A., Farina, G., Gozzo, F., & Tonelli, C. (1997). Effects of a triazolic fungicide on maize plant metabolism: modifications of transcript abundance in resistance-related pathways. **Plant Science**, 130(1), 51-62.
- [21] Paul, P. A., Madden, L. V., Bradley, C. A., Robertson, A., Munkvold, G., Shaner, G., Wise, K., Malvick, D., Allen, T. W., Grybauskas, A., Vincelli, P., and Esker, P. (2011). Meta-analysis of yield response of hybrid field corn to foliar fungicides in the U.S. Corn Belt. **Phytopathology** 101, 1122-1132.
- [22] Mallowa, S. O., Esker, P. D., Paul, P. A., Bradley, C. A., Chapara, V. R., Conley, S. P., & Robertson, A. E. (2015). Effect of Maize Hybrid and Foliar Fungicides on

Yield Under Low Foliar Disease Severity Conditions. **Phytopathology**, 105(8), 1080-1089.

[23] Costa, R. V., Cota, L. V., da Silva, D. D., Meirelles, W. F., & Lanza, F. E. (2012). Viabilidade técnica e econômica da aplicação de estrobilurinas em milho. **Tropical Plant Pathology**, 37(4), 246-254.

[24] Novais, R. F.; Neves, J. C. L.; Barros, N. F. (1991). Ensaio em ambiente controlado. In: Oliveira, A. J. de; Garrido, W. E.; Araújo, J. D. de; Lourenço, S. (coord.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília: EMBRAPA. 2(3), 189-198.

[25] Genty, B.; Briantais, J.M.; Baker, N.R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta**, 990, 87-92

[26] Oxborough, K.; Baker, N.R. (1997) An instrument capable of imaging chlorophyll *a* fluorescence from intact leaves at very low irradiance and at the cellular and sub-cellular levels of organization. **Plant, Cell and Environment**. 20, 1473-1483

[27] Bilger, W.; Schreiber, U.; Bock, M. (1995) Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia** 102, 425-432

[28] Laisk, A.; Loreto, F. (1996) Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. **Plant Physiology** 110, 903-912

[29] Bilger, W.; Björkman, O. (1990). Role of xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research**, 25, 1703-185.

[30] Gibbon, B. C., Kovar, D. R., & Staiger, C. J. (1999). Latrunculin B has different effects on pollen germination and tube growth. **The Plant Cell**, 11(12), 2349-2363.

[31] Müller, P., Li, X. P., & Niyogi, K. K. (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. **Plant physiology**, 125(4), 1558-1566.

[32] Nason, M. A., Farrar, J., & Bartlett, D. (2007). Strobilurin fungicides induce changes in photosynthetic gas exchange that do not improve water use efficiency of plants grown under conditions of water stress. **Pest management science**, 63(12), 1191-1200.

[33] Wood, P. M., & Hollomon, D. W. (2003). A critical evaluation of the role of alternative oxidase in the performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of complex III. **Pest management science**, 59(5), 499-511.

[34] Çali, İ. Ö., & Kesercioğlu, T. (2010). Effects of Fosetyl-Al, a fungicide on meiosis of *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bangladesh Journal of Botany**, 39(2), 237-240.

[35] Fairbanks, M. M., Hardy, G. S. J., & McComb, J. A. (2002). Mitosis and meiosis in plants are affected by the fungicide phosphite. **Australasian Plant Pathology**, 31(3), 281-289.

- [36] Arber, A. (1935). **The Gramineae. A study of cereal, bamboo and grass.** Cambridge University Press, pp. 355-380.
- [37] Uribe-larrea, M., J. Ca'rcova, M. E. Otegui, and M. E. Westgate. 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. **Crop Science**. 42, 1910–1918.
- [38] Otegui, M. E., F. H. Andrade, and E. E. Suero. (1995). Growth, water use, and kernel abortion of maize subjected to drought at silking. **Field Crops Research**. 40, 87–94.
- [39] Bassetti, P. and M. E. Westgate. (1994). Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. **Agronomy Journal**. 86, 699–703.
- [40] Çali, I. Ö., & Candan, F. (2009). Effects of a fungicide on the morphology and viability of pollens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) **Bangladesh Journal of Botany**, 38(2), 115-118.
- [41] Kargar, M. H., & Imani, A. (2011). Effects of fungicides on pollen germination peach and nectarine in vitro. **African Journal of Plant Science**, 5(11), 643-647.
- [42] Pavlík, M., & Jandurová, O. M. (2000). Fungicides cytotoxicity expressed in male gametophyte development in *Brassica campestris* after in vitro application of converted field doses. **Environmental and experimental botany**, 44(1), 49-58.
- [43] Pariz, C. M., Andreotti, M., Azenha, M. V., Bergamaschine, A. F., Mello, L. M. M. D., & Lima, R. C. (2011). Produtividade de grãos de milho e massa seca de braquiárias em consórcio no sistema de integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**. 41(5), 875-882.
- [44] Vilela, R. G., Arf, O., Kappes, C., Kaneko, F. H., Gitti, D. D. C., & Ferreira, J. P. (2012). Desempenho agrônomo de híbridos de milho, em função da aplicação foliar de fungicidas. **Bioscience Journal**, 25-33.
- [45] Ecco, M., Rosset, J. S., Rampim, L., Costa, A. C. T. D., Lana, M. D. C., Stangarlin, J. R., & Sarto, M. V. M. (2014). Características agronômicas de híbridos de milho segunda safra submetidos à aplicação de fungicida. **Agrarian**, 7(26), 504-510.
- [46] Nelson, K. A., & Meinhardt, C. G. (2011). Foliar boron and pyraclostrobin effects on corn yield. **Agronomy journal**, 103(5), 1352-1358.
- [47] Fagan, E. B., Dourado Neto, D., Vivian, R., Franco, R. B., Yeda, M. P., Massignam, L. F., Oliveira, R. F., Martins, K. V. (2010). Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, 69(4), 771-777.
- [48] Bertelsen, J.R., de Neergaard, E., Smedegaard-Petersen, V. (2001). Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. **Plant Pathology**. 50, 190–205.
- [49] Swoboda, C., & Pedersen, P. (2009). Effect of fungicide on soybean growth and yield. **Agronomy Journal**, 101(2), 352-356.

[50] Weisz, R., Cowger, C., Ambrose, G., Gardner, A., 2011. Multiple Mid-Atlantic field experiments show no economic benefit to fungicide application when fungal disease is absent in winter wheat. **Phytopathology** 101, 323–333.