

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ASSOCIAÇÃO DE *Alternaria* spp. COM SEMENTES DE
APIÁCEAS: MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E INFLUÊNCIA
NA QUALIDADE FISIOLÓGICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Daniele Cardoso Pedroso

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**ASSOCIAÇÃO DE *Alternaria* spp. COM SEMENTES DE
APIÁCEAS: MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E INFLUÊNCIA
NA QUALIDADE FISIOLÓGICA**

por

Daniele Cardoso Pedroso

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria/RS (UFSM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marlove Fátima Brião Muniz

Santa Maria, RS, Brasil

2009

P372a Pedroso, Daniele Cardoso
 Associação de *Alternaria* spp. com sementes de
 apiáceas : métodos de inoculação e influência na qualidade
 fisiológica / por Daniele Cardoso Pedroso. – 2009.
 121 f. ; 30 cm.

 Orientadora: Marlove Fátima Brião Muniz
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
 Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de
 Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.

 1. Agronomia 2. Produção vegetal 3. Sementes
 4. Inoculação 5. Manitol 6. *Alternaria* spp. I. Muniz,
 Marlove Fátima Brião II. Título.

 CDU 631.53.02

Ficha catalográfica elaborada por
Maristela Eckhardt - CRB-10/737

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Daniele Cardoso Pedroso. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser realizada com autorização por escrito do autor.

Endereço: Av. Roraima, Depto de Defesa Fitossanitária, prédio 42, sala 3225. Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900.

Fone: (0xx) 55 99528348 - E-mail: danibioufsm@yahoo.com.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ASSOCIAÇÃO DE *Alternaria* spp. COM SEMENTES DE APIÁCEAS:
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E INFLUÊNCIA NA QUALIDADE
FISIOLÓGICA**

elaborada por
Daniele Cardoso Pedroso

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marlove Fátima Brião Muniz, Dr^a.
(Presidente/Orientadora) - UFSM

Nilson Lemos de Menezes, Dr. (UFSM)

Andréia Mara Rotta de Oliveira, Dr^a. (UERGS)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

*“Aos meus pais, ANA e CLECIO
e aos meus irmãos MURILO e FÁBIO.
Amo vocês!”*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde, oportunidades e força para perseverar diante de todos os obstáculos para chegar até aqui.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UFSM, por possibilitar a concretização desse sonho.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

À Professora Dr^a. Marlove Fátima Brião Muniz pela orientação, disponibilidade, acessibilidade, respeito, compreensão, auxílio, confiança e, principalmente, pela sua amizade.

Aos Professores Dr. Nilson Lemos de Menezes e Dr^a. Elena Blume, pelos seus conhecimentos, disponibilidade e ajuda exemplar no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Danton Camacho Garcia, pela sua amizade, preocupação, disponibilidade e pela sua grande contribuição, principalmente na parte estatística do trabalho.

Às Professoras Andréia Mara Rotta de Oliveira e Stela Maris Kulczynski pela disponibilidade e valiosas contribuições.

A minha família, meu porto seguro e base de tudo que sou e serei.

Em especial, aos meus pais Ana e Clecio, pela inesgotável fonte de apoio, incentivo, compreensão, dedicação, carinho e amor.

Aos meus irmãos, Murilo e Fábio, minhas fontes de inspiração e razão de viver.

Aos meus tios Tânia e Antônio, primos Raul, Jaqueline e Rodolfo pelo incentivo, torcida e comemoração a cada conquista.

A minha madrinha Simone e, aos amigos Juliane e Vinícius, pessoas que muito contribuíram para a realização desse sonho.

A grande amiga Jalusa Oliveira da Silveira, pelo seu companheirismo, compreensão, respeito e por toda sua amizade durante esses dois anos.

À amiga Vanessa Ocom Menezes, companheira de muitos anos, por toda amizade, ajuda (inclusive prática), apoio e contribuição, para que meu trabalho viesse a se desenvolver.

À amiga Paola Milanesi, pessoa que foi incansável, sempre disposta sanando minhas dúvidas e contribuindo para o meu crescimento no “mundo” da Agronomia, o qual era novo para mim.

A minha grande e verdadeira amiga, Aline de Lima Rodrigues, que mesmo distante, fez-se (e ainda se faz) presente em todos os momentos, amo-te amiga!

As grandes amizades que conquistei ao longo desses dois anos, especialmente Carla Zemolin, Tânia Bayer, Caroline Gulart, Sandro Possebon, Marcelo Madalosso, Gislene Nicolodi e Lucas Navarini, valeu PhVs!!!

À amiga e laboratorista Maria Neves e aos funcionários, Fernando Gnocato, Marizete e Angelita por todas as vezes que me auxiliaram quando precisei.

À amiga Jucéli Müller, pela amizade, ajuda, disposição e responsabilidade que teve durante a execução do presente trabalho.

À amiga Josiane Pacheco Menezes, pela sua constante disponibilidade em ajudar sempre que foi preciso.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia: Emanuele Junges, Simone Brand, Miria Durigon, Graziela Piveta, Cleidionara Pacheco, Geísa Finger, Ricardo dos Santos, Fábio Hamann, Igor Polleto, Jhonathan Rodrigues, Leonita, Marília Lozarotto e Caciara Maciel, por todo o respeito, coleguismo, auxílio ou até mesmo pelo simples sorriso de bom dia.

Aos colegas e amigos do Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes do Departamento de Fitotecnia, em especial Leonardo Antonello e Maquiel Vidal.

Enfim, a todos que participaram de alguma forma na realização deste trabalho

*MEU SINCERO,
MUITO OBRIGADA!!!*

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

(Bertolt Brecht)

RESUMO GERAL

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

ASSOCIAÇÃO DE *Alternaria* spp. COM SEMENTES DE APIÁCEAS: MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E INFLUÊNCIA NA QUALIDADE FISIOLÓGICA

AUTORA: DANIELE CARDOSO PEDROSO
ORIENTADORA: MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ
LOCAL DE DATA DA DEFESA: SANTA MARIA, 27 DE FEVEREIRO DE 2009.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de cenoura, coentro e salsa, associadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, sob dois métodos de inoculação, suspensão de conídios e restrição hídrica. Os isolados de *A. dauci* e *A. alternata* foram obtidos, respectivamente, de plantas de cenoura com sintomas da doença e de sementes de cada uma das espécies, submetidas a um teste inicial de sanidade (Blotter Test). Os tratamentos de inoculação para suspensão consistiram em: tratamento testemunha (água destilada e esterilizada), suspensão de conídios de *A. alternata*, suspensão de conídios de *A. dauci* e suspensão de conídios de ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*). Para restrição hídrica: BDA + manitol (tratamento testemunha); BDA + manitol + *A. alternata*; BDA + manitol + *A. dauci*; BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por um conjunto de testes realizados em condições controladas de laboratório e em casa de vegetação. A qualidade das sementes de cenoura, coentro e salsa é prejudicada pela associação com *Alternaria alternata* e *A. dauci*. A utilização da inoculação de sementes através da suspensão de conídios é eficiente na contaminação de sementes de cenoura por *A. alternata* e *A. dauci*. A utilização do manitol, como um restritor hídrico, é eficaz para a obtenção de sementes infectadas por *A. dauci* na cultura da salsa. Para sementes de coentro, ambos os métodos demonstram níveis satisfatórios de infecção.

Palavras-chave: *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci*, inoculação, manitol.

ABSTRACT GENERAL

Master of Science Dissertation
Graduate Program in Agronomy
Universidade Federal de Santa Maria – RS, Brazil

ASSOCIATION OF *Alternaria* spp. WITH APIACEAE SEEDS: METHODS OF INOCULATION AND INFLUENCE IN THE PHYSIOLOGIC QUALITY

AUTHOR: DANIELE CARDOSO PEDROSO

ADVISER: MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

LOCATION AND DATE OF PRESENTATION: SANTA MARIA, 27 DE FEBRUARY DE 2009.

The objective of the present work was to evaluate the physiologic quality of carrot seeds, cilantro and parsley, associated with *Alternaria alternata* and *A. dauci* under two inoculation methods, conidial suspension and restriction hidric. The isolated of *A. dauci* and *A. alternata* were obtained, respectively, of carrot plants with symptom of the disease and of seeds of each one of the species, submitted to an initial test of sanity (Blotter Test). The inoculation treatments for suspension consisted in: testifies (distilled water and sterilized), conidial suspension of *A. alternata*, conidial suspension of *A. dauci* and conidial suspension of both species (*A. alternata* + *A. dauci*). Para restriction hidric: PDA + manitol (testifies); PDA + manitol + *A. alternata*; PDA + manitol + *A. dauci*; PDA + manitol + *A.alternata* + *A.dauci*. The physiologic quality of the seeds was evaluated by a group of tests accomplished in controlled conditions of laboratory and green house. The quality of carrot seeds, cilantro and parsley is influence by the association with it would *Alternaria alternata* and *A. dauci*. The use of the inoculation of seeds through the conidial suspension is efficient in the contamination of carrot seeds for *A. alternata* and *A. dauci*. The use of the manitol, as a restritor hidric, is effective for the obtaining of seeds infected by *A. dauci* in the culture of the parsley. Already for cilantro seeds, both methods demonstrated satisfactory levels of infection.

Key words: *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci*, inoculation, manitol.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 Tratamentos de inoculação das sementes de cenoura com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto o sal de manitol. Santa Maria, RS. 2008.....	47
TABELA 1.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	53
TABELA 1.3 Médias das variáveis Emergência de Plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	54
TABELA 1.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	55
TABELA 1.5 Médias das variáveis Emergência de Plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	57
TABELA 1.6 Médias de Primeira Contagem de Germinação, Germinação,	

Sementes Mortas, Comprimento de Plântula, Peso Fresco de Planta, Comprimento de Raiz, Comprimento Total de Planta e Número de Folhas obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de cenoura. Santa Maria, RS. 2008.....	58
TABELA 1.7 Médias de Plântulas Anormais (PA), Teste de Frio (TF), Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Comprimento de Hipocótilo (CH) e Peso Seco de Planta (PS) obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de cenoura. Santa Maria, RS. 2008.....	60
TABELA 2.1 Tratamentos de inoculação das sementes de coentro com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto o sal de manitol. Santa Maria, RS. 2008.....	75
TABELA 2.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	81
TABELA 2.3 Médias das variáveis Emergência de Plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	82
TABELA 2.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	84
TABELA 2.5 Médias das variáveis Emergência de Plântulas (EP), Índice de	

Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	85
TABELA 2.6 Médias de Plântula Anormais, Comprimento de Plântula e Teste de Frio, obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de coentro, cultivar Verdão. Santa Maria, RS. 2008.....	86
TABELA 2.7 Médias de Primeira Contagem (PC), Germinação (G), Sementes Mortas (SM), Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total (CT) e Número de Folhas (NF) obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de coentro. Santa Maria, RS. 2008.....	87
TABELA 3.1 Tratamentos de inoculação das sementes de salsa com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto o sal de manitol. Santa Maria, RS. 2008.....	103
TABELA 3.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	109
TABELA 3.3 Médias das variáveis Emergência de Plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com suspensão de conídios de <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	110

TABELA 3.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.....	112
TABELA 3.5 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com <i>Alternaria alternata</i> e <i>A. dauci</i> , através de restrição hídrica, em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.....	113
TABELA 3.6 Médias de Primeira Contagem de Germinação, Germinação, Plântulas Anormais, Comprimento de Plântula e Teste de Frio, obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de salsa, cultivar Lisa Comum. Santa Maria, RS. 2008.....	115
TABELA 3.7 Médias de Sementes Mortas (SM), Emergência de Plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total (CT) e Número de Folhas (NF), obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de <i>Alternaria spp.</i> em sementes de salsa, cultivar Lisa Comum. Santa Maria, RS. 2008.....	116

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	14
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
REFERÊNCIAS.....	31
CAPÍTULO 1: INFLUÊNCIA DE <i>Alternaria alternata</i> E <i>A. dauci</i> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CENOURA INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS.....	38
1.1 Introdução.....	42
1.2 Material e Métodos.....	44
1.3 Resultados e Discussão.....	51
1.4 Conclusões.....	61
1.5 Referências.....	62
CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DE <i>Alternaria alternata</i> E <i>A. dauci</i> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE COENTRO INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS.....	66
1.1 Introdução.....	70
1.2 Material e Métodos.....	72
1.3 Resultados e Discussão.....	79
1.4 Conclusões.....	89
1.5 Referências.....	90
CAPÍTULO 3: INFLUÊNCIA DE <i>Alternaria alternata</i> E <i>A. dauci</i> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SALSA INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS.....	96
1.1 Introdução.....	99
1.2 Material e Métodos.....	100
1.3 Resultados e Discussão.....	107
1.4 Conclusões.....	117
1.5 Referências.....	118
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	121

INTRODUÇÃO GERAL

A família Apiaceae abrange uma diversidade de representantes, dentre eles, ervas aromáticas e condimentares, plantas ornamentais, medicinais e importantes espécies hortícolas, como: cenoura, coentro e salsa. Essas espécies são encontradas em diversas partes do mundo, desenvolvendo-se, preferencialmente, em áreas com clima temperado. Além disso, a maioria tem como modo de propagação, a semente.

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil, ocupando o sexto lugar em volume de produção. Seu ciclo consiste na produção de raízes, que após um tempo de estímulo por fotoperíodo ou temperatura, emitem uma haste floral, que dará origem as sementes. O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma espécie olerícola, que produz folhas e sementes aromáticas, sendo bastante utilizado como condimento, na culinária e, também, como medicamento. A salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] é uma planta herbácea, de aroma suave e agradável e suas folhas são utilizadas no preparo de saladas, sopas, molhos e temperos em geral.

O Rio Grande do Sul é detentor de uma forte atividade agrícola e, entre as alternativas de produção rural, economicamente viáveis, encontra-se a produção de sementes de espécies hortícolas, tendo como importante pólo a região geoeconômica de Bagé (Bagé, Hulha Negra, Candiota, Pinheiro Machado e Herval do Sul), a qual é responsável por 30% da produção nacional. Nesse cenário, espécies de apiáceas ocupam um importante papel na região, pois possuem um número considerável de representantes cultivados. Sementes de cenoura, por exemplo, tem 90% de sua produção realizada nessa localidade. Outras espécies, como a salsa e o coentro, também são produzidas, em menor quantidade, porém com igual importância. Para um significativo número de pequenos agricultores, que trabalham como cooperados das grandes empresas de sementes, as quais comercializam o produto final, a produção de sementes dessas espécies constitui-se em uma das principais atividades econômicas.

A demanda por semente de cenoura, de coentro e de salsa, até início da década de 90, era suprida inteiramente, pela importação. A partir daí, com a criação de cultivares nacionais adaptadas às condições climáticas locais, foi possível chegar

até o período atual com o mercado totalmente atendido por cultivares produzidas no país, especialmente na Região de Bagé.

A utilização de sementes de alta qualidade é essencial para a instalação e produção de qualquer cultura, em termos de uniformidade da população e alto vigor das plantas. A qualidade da semente é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade.

Entre os vários fatores que podem influenciar na qualidade das sementes, a associação de microrganismos é considerada um dos mais importantes. Além dos aspectos de transmissão e suas conseqüências epidemiológicas, a presença de certos patógenos em sementes pode resultar em efeitos diretos como redução no potencial germinativo, vigor, emergência, período de armazenamento e até rendimento. As sementes são atacadas por patógenos no campo de produção e nas operações subseqüentes (colheita, secagem e beneficiamento). Esses patógenos, presentes nas sementes, tornam-se ativos tão logo encontrem condições favoráveis, podendo não só atacar a semente, mas também a plântula, quando esta estiver emergindo do solo. Em ambos os casos, poderão originar uma subpopulação de plantas contaminadas pelo patógeno. É importante considerar ainda, que as sementes são veículos eficientes de disseminação de agentes fitopatogênicos de uma região para outra, podendo contaminar áreas isentas.

Os principais fungos que se associam com sementes de cenoura, coentro e salsa, são *Alternaria dauci*, *Alternaria alternata*, *Alternaria radicina*, *Fusarium* spp. e *Cercospora* spp. O gênero *Alternaria* engloba espécies que merecem atenção no meio agrícola, por serem agentes causais de importantes doenças que ocorrem em algumas culturas. Cada organismo patogênico apresenta sua forma particular de colonizar seus hospedeiros, as espécies de *Alternaria*, em geral, não atacam raízes e feixes vasculares, elas são preferencialmente patógenos foliares e com isso provocam perdas na planta pela redução de seu potencial fotossintético. Além disso, *Alternaria* spp. infectam sementes e podem destruí-las completamente, causando perdas na germinação, bem como podem ser transmitidas às plântulas causando doenças.

Para estudos mais aprofundados das relações entre patógenos e hospedeiros, têm-se desenvolvido métodos eficazes de inoculação em sementes. A inoculação de sementes com patógenos, para a maioria fungos, tem sido

tradicionalmente realizada por meio da embebição das mesmas em suspensão de conídios. Por esta metodologia, o processo de infecção não é assegurado algumas vezes, e sim, a contaminação superficial. Em alternativa, surge a inoculação das sementes através da restrição hídrica, método capaz de proporcionar elevados índices de infecção das sementes. A metodologia de inoculação de fungos em sementes sobre meio de cultura, utilizando a técnica de restrição hídrica, é empregada para inibir a germinação das sementes, sem efeito estimulante ou inibitório no desenvolvimento do fungo, quando comparado às metodologias padronizadas.

Nesse contexto, são de extrema importância pesquisas que permitam diagnosticar a qualidade das sementes quando ocorre a associação com patógenos, pois poderão possibilitar o emprego de técnicas mais eficientes, com resultados mais promissores no crescente cultivo das apiáceas no Brasil. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de cenoura, coentro e salsa, associadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci* sob dois métodos de inoculação, suspensão de conídios e restrição hídrica.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Apiáceas e suas características

A família Apiaceae (Umbelliferae), considerada uma das maiores famílias de Angiospermas, apresenta distribuição cosmopolita com cerca de 400 gêneros e aproximadamente 4.000 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 100 espécies distribuídas em oito gêneros (SOUZA, 2005). Várias plantas dessa família destacam-se por possuírem propriedades medicinais e condimentares, sendo bastante difundida e crescente sua utilização na indústria farmacêutica e na culinária. Além disso, as apiáceas ocupam um lugar de destaque entre as hortaliças, nessa família botânica estão incluídas diversas culturas como: cenoura, mandioquinha-salsa, aipo, funcho, endro, erva-doce, coentro e salsa.

No Brasil, a área de cultivo das plantas da família Apiaceae encontra-se em expansão. Entre os representantes, de elevado valor econômico e significativa área de produção, encontram-se a cenoura (*Daucus carota* L.), o coentro (*Coriandrum sativum* L.) e a salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill]. Estas espécies estão incluídas, taxonomicamente, na ordem Apiales, Classe Magnoliopsida e Divisão Magnoliophyta.

Cenoura (*Daucus carota* L.)

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma hortaliça que apresenta como características botânicas a típica inflorescência do tipo umbela, a qual pode ser terminal ou primária, composta de flores brancas; o caule é pouco perceptível e situa-se no ponto de inserção das folhas, as quais são pubescentes e significativamente recortadas; sua raiz é do tipo tuberosa, sem ramificações, de formato cilíndrico ou cônico e coloração geralmente alaranjada, podendo ser branca, amarela, vermelha e roxa, variando entre longa, média ou curta (PENÃ, 1996).

No grupo das raízes tuberosas, em nível mundial, a cenoura ocupa um lugar de destaque, figurando entre as dez hortaliças mais importantes, levando-se em

consideração a área de plantio e o valor de produção (RUBATZKY et al., 1999; SIMON, 2000; VILELA, 2004).

Seu centro de origem está situado no continente asiático, na região do Himalaia, hoje Afeganistão (RUBATZKY et al., 1999; VILELA, 2008), sendo que a introdução da cenoura no Brasil é resultante da colonização europeia. A ampla versatilidade culinária e adaptabilidade a diferentes condições de cultivo proporcionaram popularidade, crescente produção e significativo valor econômico da cenoura entre os brasileiros. Além disso, essa espécie também se destaca pelo valor nutricional, sendo rica em betacarotenos, fibras e antioxidantes, constituindo-se em umas das principais fontes vegetais de vitaminas e minerais (ELMADFA, 1989; PEÑA, 1996).

O cultivo da cenoura, no Brasil, é realizado principalmente nas regiões sul e sudeste, abrangendo os Estados de Minas Gerais (São Gotardo, Santa Juliana e Carandaí), São Paulo (Piedade, Ibiúna, São José do Rio Pardo e Mogi das Cruzes), Paraná (Marilândia do Sul) e Rio Grande do Sul (Caxias do Sul) (FERREIRA, 1991; VILELA, 2008). Embora encontre melhores condições de cultivo em áreas de clima ameno, graças ao desenvolvimento de cultivares tolerantes ao calor e com resistência às principais doenças de folhagem, a produção de cenoura está se expandindo também nos estados da Bahia e de Goiás, com realização de plantio e colheita durante o ano todo nesses estados (ALVES, 2004).

Coentro (*Coriandrum sativum* L.)

As características botânicas de coentro (*Coriandrum sativum* L.) incluem a típica inflorescência do tipo umbela, a qual pode ser terminal ou primária, composta de flores brancas, raiz do tipo pivotante, caule ereto e folhas compostas, profundamente partidas (PEDROSA et al., 1984).

No grupo das olerícolas, o coentro é consumido em diversas regiões do Brasil, especialmente no Norte, Nordeste e em menor proporção no Sudeste. Seu cultivo visa não somente a obtenção de massa verde utilizada na culinária em diversos pratos típicos, no tempero de peixes e carnes, além de molhos e saladas, mas também, para obtenção de frutos secos bastante utilizados na indústria de condimento para carne defumada e na fabricação de pães, doces, pickles e licores

(PEDROSA et al., 1984; ALVES et al., 2005). No uso terapêutico, é indicado para dores estomacais, possuindo ação diurética e antiinflamatória, além disso, é utilizado na indústria de cosméticos por produzir uma essência semelhante à lavanda (COENTRO, 2005).

É uma planta originária da Europa Austral e do Oriente, sua introdução no Brasil se deu no início da colonização portuguesa. Seu cultivo se torna ainda mais importante por ser realizado, quase que exclusivamente, por pequenos agricultores, constituindo-se uma das suas principais atividades econômicas (PEREIRA et al., 2005; REIS et al., 2006).

A produção de coentro depende do cultivo de sementes realizado no Rio Grande do Sul. O estado é responsável pela maior parte das sementes de coentro utilizadas em outras regiões do país, principalmente nos estados do Nordeste. Em segundo lugar, fica a região Norte, e ainda, há cultivo significativo em São Paulo e no Distrito Federal (ISLA, 2001).

O fator climático mais importante para o coentro é a temperatura, pois é uma cultura adaptada a regiões de clima quente, não suportando cultivo em condições de baixa temperatura (PEDROSA et al., 1984). Na região Nordeste, ou em localidades de clima quente, pode ser semeado o ano todo. As principais cultivares difundidas comercialmente e com grande aceitação, por sua excelente qualidade na culinária e industrial, são: Português, Francês, Palma, Verde cheiroso, Verdão, Palmeirão (AGROCERES, 1983).

Salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill]

A salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] é uma planta herbácea, bienal ou perene, de caule oco, cilíndrico, pouco ramificado, com coloração verde-clara e rico em canais oleíferos que lhe dão aroma e sabor peculiar. As flores são pequenas e estão reunidas numa inflorescência do tipo umbela, apresentando coloração amarelo-clara. As folhas, também possuem aroma forte e agradável, estão reunidas em roseta basal, são de coloração verde-escura, brilhantes e compostas por folíolos triangulares, serrilhados e largos (FILGUEIRA, 1982; ALBUQUERQUE FILHO, 2006).

Vulgarmente conhecida como salsinha, as folhas dessa apiácea condimentar são comercializadas, para o consumo, em maços grandes ou em pequenos molhos juntamente com a cebolinha (*Allium fistulosum* L.), compondo o tempero conhecido como cheiro verde (HEREDIA et al., 2003). Constituindo-se numa das espécies de hortaliças que não atinge sua importância pelo volume ou valor de comercialização, mas pela ampla utilização comercial como condimento (RODRIGUES et al., 2008), fazendo parte da composição de diversos pratos até mesmo como elemento decorativo.

A salsinha é originária dos países mediterrâneos, principalmente da região da Itália e da Sardenha e, atualmente, seu consumo e cultivo estão disseminados pelo mundo todo. No Brasil, seu cultivo acontece desde o início da colonização, realizado por meio de semeadura direta, procedendo-se com o desbaste quando as plantas apresentam duas folhas definitivas (FILGUEIRA, 2003). É uma espécie que se adapta melhor a temperaturas amenas, sendo semeada no outono-inverno, e até mesmo ao longo do ano em regiões altas (FILGUEIRA, 2003; ALBUQUERQUE FILHO, 2006), não tolerando temperaturas extremas.

As cultivares são agrupadas pelo tipo de folha, lisas (mais cultivadas no Brasil), crespas e muito crespas, resultando em: Comum, Crespa, Gigante Portuguesa, Lisa Comum e Lisa Preferida. Segundo Albuquerque Filho (2006), as cultivares mais difundidas no Brasil são a Lisa Comum, Gigante Portuguesa e, em menor escala, a Crespa. Há, ainda, aquelas cultivadas na Europa, cujo produto comestível são as raízes, que atingem cerca de 15 cm de comprimento e quatro a cinco centímetros de diâmetro (SALSINHA, 2008).

Produção de sementes de cenoura, coentro e salsa

A demanda por sementes com qualidade tem exigido das empresas produtoras, padrões de qualidade mais rígidos aliados a sistemas produtivos mais rentáveis. Com isso, tais empresas têm investido em programas de controle de qualidade interno, por meio dos quais se procura monitorar cada etapa da produção, uma vez que, a produção de sementes é uma atividade especializada, na qual cuidados devem ser despendidos em todas as etapas do seu processo produtivo (PINHO; SALGADO, 2006).

O desenvolvimento de novas cultivares, com características de interesse do agricultor, são de extrema importância no processo de produção de sementes. Nesse contexto, têm sido incorporadas novas tecnologias nessas cultivares, seja por meio de melhoramento convencional ou por meio de tecnologia do DNA, onde estão inseridos os transgênicos (PINHO; SALGADO, 2006). Segundo Carvalho; Nakagawa (2000), a semente assemelha-se a um pacote, em cujo conteúdo se encontram todos os genes que caracterizam a espécie e a cultivar e, que determinam seu comportamento. Se a pesquisa e os agricultores elegem uma determinada cultivar é porque o seu comportamento é o melhor, relacionado com as condições climáticas, solo e tecnologias agrícolas da região.

No caso das apiáceas, em especial cenoura, salsa e coentro, a demanda de sementes, até o início da década de 80 no Brasil, era quase que na totalidade suprida pela importação da Europa. No entanto, a criação de cultivares nacionais, melhor adaptadas às condições climáticas locais, e o desenvolvimento de tecnologia de produção de sementes possibilitaram a redução da dependência exterior (VIGGIANO, 1984). O maior produtor de sementes dessas hortaliças é o Rio Grande do Sul, sendo responsável por 90% da produção total de cenoura e 30% da produção de coentro e salsa do País (NASCIMENTO et al., 1994). Os municípios de Bagé, Candiota, Hulha Negra, Pinheiro Machado e Herval do Sul constituem o principal pólo produtor.

Para cenoura, existem dois sistemas de produção de sementes: semente-raiz-semente e semente-semente. O primeiro compreende duas fases distintas: uma que vai da semeadura até a produção de raízes e a outra que vai do plantio de raízes, após a vernalização, até a colheita de sementes. Esse sistema apresenta a vantagem de permitir a avaliação das raízes antes da vernalização, o que é desejável para garantir a qualidade genética da semente produzida. Em geral, é usado para a produção e manutenção de estoques de sementes básicas, e para aumento da quantidade de semente genética. No entanto, a maioria das companhias de sementes não o utiliza, pois seu emprego implica em maior dispêndio de tempo, maior trabalho e, por conseqüência, maior custo de produção. O sistema semente-semente envolve apenas uma etapa, onde as raízes permanecem no campo desde a semeadura até a produção de sementes. Esse sistema é o mais utilizado pelas empresas produtoras de sementes para fins comerciais. A garantia da qualidade das

sementes produzidas está condicionada à semeadura de sementes básicas adequadamente selecionadas e de origem comprovada (VIGGIANO, 1990).

A planta produtora de sementes de cenoura apresenta maturação desuniforme, na medida em que emite umbelas de várias ordens ao longo do seu crescimento e diferenciação. A colheita manual, principalmente em áreas pequenas (1 ha), permite que as umbelas sejam recolhidas e guardadas logo após atingirem o ponto de maturidade fisiológica das sementes. Com a cultivar Brasília, por exemplo, este ponto geralmente ocorre próximo dos 50 dias após o início do florescimento, quando as umbelas modificam a sua cor, passando do verde-claro ao marrom-claro. A colheita de umbelas secas é fundamental para a qualidade futura das sementes. Umbelas expostas à chuva apresentam coloração marrom-escura, níveis mais altos de contaminação por patógenos e mais baixos de germinação e vigor. Umbelas úmidas devem permanecer espalhadas sobre lonas ou plásticos até equilibrarem o teor de água com o ambiente. Em seguida, sugere-se levá-las ao sol para aquecimento e complementação da secagem necessária para facilitar as operações subseqüentes de trilhagem e desaristamento (NASCIMENTO et al., 2008).

A maioria das cultivares de cenoura depende de temperaturas baixas para o florescimento e produção de sementes. Além disso, é importante que a produção seja realizada em regiões de clima seco, com um período de estiagem bem definido na época da maturação e colheita das sementes (VIGGIANO, 1984).

A produção de sementes de coentro deve ser feita em regiões de clima seco. Além disso, a época de semeadura deve ser a que propicie condições favoráveis ao desenvolvimento da cultura, temperaturas mais amenas na época do florescimento e um período de estiagem durante a maturação e colheita das sementes. Regiões semi-áridas do Nordeste brasileiro e o norte do estado de Minas Gerais têm se mostrado muito promissoras para a produção de sementes dessa olerícola (VIGGIANO, 1984). No entanto, o clima do Rio Grande do Sul revelou-se ideal para a produção de sementes dessa olerícola, com o frio do inverno gaúcho, a floração na primavera é mais intensa. Essa peculiaridade do clima subtropical gaúcho proporciona uma alta produtividade, enquanto naqueles estados com temperatura anual constante, a produtividade fica em torno de 500 quilos por hectare, no Rio Grande do Sul a mesma chega dois mil quilos por hectare (ISLA, 2001).

A planta, produtora de sementes de salsa pode atingir de 20 a 40 cm de altura, conforme a cultivar e cuidados que receber durante o desenvolvimento. A

mesma desenvolve-se melhor em condições de clima ameno, com temperatura média que varia de 10° a 24°C, temperaturas baixas e dias curtos induzem a planta ao florescimento precoce (ALBUQUERQUE FILHO, 2006). As sementes de salsa apresentam uma germinação lenta, irregular e desuniforme. Para que esse processo de germinação ocorra, necessitam alcançar um nível adequado de hidratação, que permita a reativação do metabolismo e conseqüente crescimento do eixo embrionário, sendo que quanto maior a quantidade de água disponível, mais rápida será a absorção (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Quando as sementes são menos vigorosas e necessitam de maiores cuidados na fase de germinação e emergência, a produção de mudas pode ser uma alternativa (MINAMI, 1995). Nesse contexto, as empresas produtoras de sementes de salsa, levando em consideração além desse fator, o elevado consumo de temperos no Brasil, e a priorização de qualidade, incorporaram essa espécie ao seu programa de melhoramento (MESA, 2002).

Qualidade fisiológica de sementes

O bom desempenho das culturas está inteiramente ligado à semente de qualidade, considerando-se que a mesma transporta todo o potencial genético de uma espécie ou cultivar e é responsável pela perfeita distribuição espacial das plantas na área de semeadura (GUIMARÃES et al., 2006).

A qualidade da semente envolve uma série de componentes individuais, que podem ser definidos ou avaliados separadamente, no entanto, a avaliação conjunta desses fatores é uma ferramenta que propicia o conhecimento do real valor e do potencial de utilização de um lote de sementes (VIEIRA et al., 1999). Esses componentes individuais da qualidade da semente estão relacionados com aspectos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, assumindo diferentes graus de importância, conforme o perfil e as condições de produção da espécie ou de determinado lote (CARVALHO et al., 2006). Portanto, qualidade de sementes é o somatório de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de estabelecimento e desenvolvimento da planta, podendo variar entre e dentro dos lotes em virtude de diferenças qualitativas presentes nas sementes, sob

a interferência das circunstâncias ocorridas entre a sua formação e o momento de semeadura (VIDAL, 2007).

A qualidade fisiológica da semente significa sua capacidade para desenvolver funções vitais, abrangendo germinação, vigor e longevidade (POPINIGIS, 1985). O primeiro atributo da qualidade fisiológica que se leva em consideração em um lote de sementes é a porcentagem de germinação, que em teste de laboratório é definida como sendo a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 1992). Para uma plântula continuar seu desenvolvimento até tornar-se uma planta normal é preciso que apresente sistema radicular (raiz primária e, em certos casos, raízes seminais), parte aérea (hipocótilo, epicótilo, em certas gramíneas, mesocótilo e gemas terminais), cotilédone e coleótilo (em todas as gramíneas) (DORNELAS, 2006). Além disso, em termos de qualidade fisiológica, o vigor não é uma simples propriedade mensurável como a germinação e sim um conceito, que descreve várias características, as quais estão todas associadas com vários aspectos do comportamento da semente durante a germinação e desenvolvimento da plântula (MARCOS FILHO, 2001; TEKRONY, 2003).

É comum encontrar diferenças na qualidade de sementes de uma mesma cultivar em diferentes safras, zonas agroclimáticas de produção e na mesma área de campo, pois a qualidade fisiológica da semente produzida é determinada pelo fator ambiental, onde a planta se desenvolve, somado ao potencial genético da cultivar (CARVALHO et al., 2006). Segundo McGee (1995), a qualidade das sementes depende grandemente de toda a história de sua produção: escolha do terreno, preparação e fertilização do solo, semeadura, condução da lavoura quanto a aspectos sanitários, condições meteorológicas durante a formação da semente antes da colheita e durante essa operação, aeração, secagem, manuseio, transporte, processamento, beneficiamento e armazenamento. Condições de umidade relativa do ar e temperatura durante o armazenamento das sementes, produzidas em condições ideais para a espécie, podem evitar ou minimizar a velocidade de deterioração das mesmas, preservando a qualidade fisiológica e prevenindo a proliferação de insetos e microrganismos.

Levando-se em consideração que, a baixa qualidade das sementes é um problema praticamente crônico enfrentado, a cada ano, pela indústria de sementes

(CARVALHO et al., 2006), o entendimento das variáveis ambientais que afetam o processo fisiológico, o qual determina a viabilidade e o vigor, é essencial para a produção de sementes. Com isso, muitas estratégias de produção estão sendo utilizadas para minimizar o efeito de condições adversas no vigor de sementes produzidas.

A qualidade final das sementes, adquirida através de eficientes programas de controle, tem uma profunda influência na produção econômica de todas as espécies agrícolas, principalmente em condições adversas de semeadura, quando a semente pode determinar ou não o estabelecimento da cultura (CARVALHO et al., 2006).

Portanto, a semente é considerada um dos insumos agrícolas mais importantes a atuar sobre os índices de produtividade de uma empresa agrícola. Constitui o primeiro fator de sucesso da produção, pois contém todas as potencialidades produtivas da planta (REIS et al., 2005). O melhoramento genético constitui uma ferramenta fundamental na criação de cultivares mais produtivas e com sementes de melhor qualidade. Assim, as sementes de diversas espécies foram ganhando mercado, sendo comercializadas tanto em nível nacional como internacional, representando para a economia uma fatia importante no agronegócio (CAMPOS et al., 2006).

Associação de *Alternaria* spp. com sementes

A qualidade sanitária das sementes é conseqüência da ação integrada de uma série de fatores, que ocorrem durante todo esse processo de produção. É uma característica que está, intimamente, relacionada com o ciclo biológico de patógenos, pois muitos desses microrganismos utilizam as sementes como veículo exclusivo de sobrevivência e de disseminação (MUNIZ, 2001).

A associação de agentes patogênicos com sementes é um fenômeno já amplamente conhecido em todo o mundo e que tem sido responsável por uma série de conseqüências danosas, conforme relatado em literatura especializada como: Neergaard (1979), Jeffs (1986), Soave; Wetzel (1987), Machado (1988, 2000) e Zambolim (2005).

Fungos do gênero *Alternaria*, incluídos, taxonomicamente, na Subdivisão Deuteromycotina, Classe Hyphomycetes, Ordem Hyphales, Família Dematiaceae,

infectam sementes e podem destruí-las completamente, causando perdas na germinação e até mesmo transmissão às plântulas causando doenças (ROTEM, 1995).

Em nível mundial, as alternarioses estão entre as doenças fúngicas mais comuns em hortaliças. Caracterizam-se por infectar plântulas, folhas, caules, hastes, flores e frutos de várias hortícolas, tais como: solanáceas, apiáceas, aliáceas, brassicáceas, curcubitáceas e chichoriáceas. Em função da cultura que infectam, podem apresentar diferentes nomenclaturas como "pinta preta" para tomate, batata e pimentão, "mancha de alternaria", para brassicáceas, chichoriáceas e cucurbitáceas em geral, "mancha púrpura" para aliáceas e "queima das folhas" para cenoura. De maneira geral, as alternarioses são doenças típicas de primavera e verão, apresentando alto poder destrutivo em condições de temperaturas e umidade elevadas. Os sintomas aparecem primeiramente nas folhas mais velhas e evoluem para as partes mais novas da planta e, expressam-se através de lesões foliares necróticas, com característicos anéis concêntricos e bordos bem definidos. A ocorrência de epidemias severas está sempre associada a temperaturas diárias de 25 a 32° C. Segundo a literatura as temperaturas mínimas, ótimas, e máximas necessárias para a germinação dos conídios são as de 5 - 7, 25 - 27 e 30 - 32° C, respectivamente. Além disso, a umidade, que pode ser conferida pela chuva, água de irrigação ou orvalho, é um fator fundamental para a germinação, infecção e esporulação do fungo (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

Havendo umidade e calor suficientes, os conídios germinam e infectam as plantas rapidamente podendo o fungo penetrar diretamente pela cutícula, por ferimentos ou através dos estômatos. A colonização é intercelular, invadindo tecidos do hospedeiro, provocando alterações em diversos processos fisiológicos, que se exteriorizam na forma de sintomas. A alta severidade da doença, em geral, é caracterizada por intensa redução da área foliar, queda do vigor das plantas, quebra de hastes, depreciação de frutos e tubérculos, morte de plantas e conseqüente redução da produção e qualidade (MASSOLA JÚNIOR et al., 2005).

Entre as principais espécies que causam doenças e associam-se com sementes em apiáceas, especialmente cenoura, salsa e coentro, estão *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl e *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko. Em cenoura, a doença fúngica mais importante que ataca a cultura, a "queima das folhas", possui como agente causal *Alternaria dauci* (TÖFOLI; DOMINGUES 2006). Nos últimos anos,

principalmente em épocas chuvosas, tem se observado alta incidência e severidade de queimas das folhas na cultura do coentro, doença causada, assim como para cenoura, por *A. dauci* (REIS et al., 2003). Além disso, para cultura da salsa, a “mancha de alternaria”, que é relatada entre as principais doenças da mesma, é causada por *Alternaria* spp. (SALSINHA, 2008).

Sementes de cenoura, coentro e salsa estão sujeitas ao ataque desses patógenos desde a germinação e desenvolvimento em plântulas até o florescimento da planta formada. Pelo fato de serem ricas em fonte de energia e nutrientes, muitos microrganismos especializaram-se em invadi-las e colonizá-las. Estes patógenos, presentes nas sementes, tornam-se ativos tão logo encontram condições favoráveis, podendo não só atacar a semente, mas também a plântula, quando esta estiver emergindo do solo. Em ambos os casos, poderão originar uma subpopulação de plantas (SANTOS et al., 2000).

A infecção das sementes por *Alternaria dauci* ocorre, na maioria das vezes, através das flores. Em cenoura, todas as partes da inflorescência são suscetíveis e os frutos são vulneráveis à infecção, desde a antese até a maturação, onde os pêlos e sulcos são sítios comuns de infecção (ROTEM, 1995). Quando *A. dauci* está associado a *A. radicina* em cenoura, reduzem a viabilidade das sementes produzidas e favorecem a transmissão para a parte aérea da planta (STRADIOTTO, 1995). O fungo *A. dauci* é um patógeno comum à cenoura e ao coentro, podendo ser destrutivo a essas culturas, é comprovadamente veiculado e transmitido, eficientemente, por sementes de *Coriandrum sativum* (REIS et al., 2006). No entanto, pouco se sabe sobre as interações de *A. dauci* e sementes de salsa, infestação, transmissão e, especialmente, quando se trata da influência do mesmo na qualidade dessas sementes.

A associação de *A. alternata* com sementes, de cenoura, coentro e salsa, assim como *A. dauci*, pode ocorrer através da infecção das inflorescências, resultando, na maioria dos casos, em morte das sementes ou na infecção posterior das plântulas. Mesmo sendo considerado como um patógeno fraco, *A. alternata* pode produzir grandes prejuízos, pelo fato de ser transmitido por sementes (NEERGAARD, 1979). Esse fungo é encontrado constantemente associado às sementes de cenoura e, quando associado com *A. dauci*, pode causar danos à qualidade fisiológica das mesmas e tombamento de plântulas nessa olerícola (MUNIZ; PORTO, 1998). O que também pode ocorrer com a cultura do coentro, pois

A. alternata é um fungo comumente encontrado infestando e/ou infectando sementes dessa espécie vegetal. Pereira et al. (2005), avaliando lotes de sementes de coentro quanto à qualidade sanitária, detectaram esse patógeno como o de maior frequência e porcentagem de incidência.

A adoção conjunta de diferentes práticas é fundamental para o efetivo controle das alternarioses em hortaliças. O estabelecimento de um programa de manejo para a doença deve incluir medidas como: plantio de sementes sadias, plantio de cultivares e híbridos tolerantes, rotação de culturas, redução do estresse das plantas pela correta adubação e irrigação, bem como a aplicação de fungicidas e tratamento de sementes (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004).

Métodos de inoculação de fungos em sementes

A inoculação de fungos em sementes é uma prática bastante útil em patologia de sementes, para a condução de experimentos e entendimento de certos aspectos que envolvam a interação patógeno-hospedeiro. Por exemplo, em estudos visando à detecção e controle de patógenos, estudos epidemiológicos das doenças, demonstrações que fazem uso de sementes com patógenos e estudos fisiológicos relacionados à resistência de variedades a estes microrganismos.

Dentre os métodos convencionais, até então conhecidos, para a inoculação de fungos fitopatogênicos em sementes são citados: imersão em suspensão de conídios (TANAKA, 1995); infiltração forçada do inóculo fúngico por meio de vácuo (RAVA; SARTORATO, 1996; CHAVES et al., 1999); mistura de formulação em pó de caulim e esporos do fungo (TEIXEIRA et al., 1997a); mistura de massa micelial e esporos (TANAKA; CORRÊA, 1981); e exposição de sementes à colônia fúngica por períodos limitados de tempo (TEIXEIRA et al., 1997b).

Grande parte desses procedimentos disponibiliza umidade suficiente para inicializar o processo de embebição e germinação das sementes. Este fenômeno normalmente promove modificações físicas e/ou fisiológicas indesejáveis, além de não assegurar a infecção pelo patógeno em níveis desejados (TEIXEIRA et al., 2005), o que pode dificultar a realização de estudos, pois em trabalhos com fungos associados às sementes há necessidade, inclusive, de diferenciados graus de incidência. Segundo Machado et al. (2001a), quando se utiliza a inoculação de

sementes por contato direto com a colônia fúngica em meio agarizado (BDA), os níveis de infecção não são satisfatórios, devido a limitação de tempo de permanência das sementes junto ao meio, visto que as sementes podem iniciar o processo de germinação em curto período de tempo.

Em diversos estudos com a maioria dos fungos, a inoculação de sementes tem sido tradicionalmente realizada por meio do método da embebição das mesmas em suspensão de inóculo, como conídios. Este processo consiste na imersão das sementes em suspensão de esporos, obtida através da adição de água destilada e esterilizada em placas de Petri contendo o micélio puro do patógeno de interesse. A concentração da suspensão conidial é obtida e ajustada através de leituras em câmara de Neubauer conforme metodologia descrita por Faria et al. (2005). No entanto, nesse método de inoculação os fungos ficam apenas aderidos ao tegumento das sementes, não se caracterizando o processo de infecção e sim contaminação superficial (COSTA et al., 2003).

Como alternativa aos métodos tradicionais e baseada no princípio de controle de germinação, a metodologia de inoculação sobre meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), utilizando a técnica de restrição hídrica, tem sido empregada na promoção de infecção de sementes com fungos fitopatogênicos (MACHADO, 2001b). A restrição hídrica foi avaliada, inicialmente, em testes de sanidade (Blotter Test) visando à substituição do uso de 2,4-D e, em meio sólido, para inibir a germinação das sementes de feijão, arroz (COUTINHO, 2001) e algodão (MACHADO, 2002), sendo observadas respostas positivas, ou seja, a inibição da germinação das sementes sem efeito estimulante ou inibitório no desenvolvimento do fungo, quando comparado às metodologias padronizadas.

Em estudos envolvendo ensaios de inoculação de sementes com patógenos, essa técnica foi originalmente desenvolvida visando à melhoria da qualidade fisiológica de sementes, adaptada na Universidade Federal de Lavras (TEIXEIRA et al., 2005). Nesse método, o potencial hídrico do meio agarizado, sobre o qual se desenvolverá a colônia do patógeno, é controlado pela adição de solutos. O potencial hídrico é a diferença entre o potencial químico da água em um sistema, ou parte do sistema, e o potencial químico da água livre, em condições iguais da pressão atmosférica e temperatura (DUNIWAY, 1979). Este potencial é reduzido pela adição de substâncias polares, e/ou íons no meio, já que as moléculas bipolares da água são atraídas e retidas por estes solutos, resultando em um decréscimo na

atividade da água (FERREIRA, 1988). Portanto, a indução da restrição hídrica é normalmente feita através da adição de solutos osmoticamente ativos como, polietileno glicol (PEG), manitol, KCl, NaCl, NaOH, MgSO₄, MgCl₂, K₃PO₄, KH₂PO₄, glicerol, sacarose (PILL, 1994). Nesse processo, a germinação das sementes pode ser inibida ou retardada, o que possibilita a exposição destas à colônia do patógeno por períodos mais prolongados e variáveis, obtendo-se como consequência, maiores percentuais de infecção.

Nesta linha, a inoculação de sementes, através da técnica da restrição hídrica, obteve eficiência em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum*, em meio batata-dextrose-ágar (BDA) ajustado osmoticamente com manitol e PEG 6000 (CARVALHO, 1999). Ainda, utilizando o meio batata-sacarose-ágar (BSA) acrescido de KCl, inocularam-se sementes de feijão com *Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder e se obteve incidência satisfatória do patógeno (COSTA, 2003). Além disso, o uso da restrição hídrica, em meio BDA com manitol, possibilitou um maior tempo de exposição de sementes de milho aos fungos *Diplodia maydis*, *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium acremonium* propiciando um maior número de plântulas doentes oriundas de sementes inoculada (MACHADO et al., 2001b). O mesmo comportamento foi verificado em experimentos com *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja (MACHADO et al, 2001a) e, com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, e *Botryodiplodia theobromae* em sementes de algodão (MACHADO, 2002).

REFERÊNCIAS

AGROCERES, São Paulo. **Almanaque Agroceres** 1983/84. São Paulo, 1983. 96 p.

ALBUQUERQUE FILHO, J. A. C. de. **Eficiência do uso da água no cultivo do coentro e da salsa na presença de um polímero hidroabsorvente**. 2006. 107 f. Tese (Doutorado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB.

ALVES, E. U. et al. Rendimento e qualidade fisiológica de sementes de coentro cultivado com adubação orgânica e mineral. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 132-137, 2005.

ALVES, J. C. S. **Estimativa de parâmetros genéticos para caracteres de semente e de planta em populações de cenoura (*Daucus carota* L.) derivadas da cultivar Brasília**. 2004. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CAMPOS, S. R. F. et al. Aspectos legais da produção e da comercialização de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 15 - 21, 2006.

CARVALHO, J.C.B. . **Uso da restrição hídrica na inoculação de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)** 1999. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CARVALHO, M. L. M.; FRANÇA NETO, J. B., F.; KRZYZANOWSKI, F. C. Controle de qualidade na produção de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n. 232, p. 52 – 58, 2006.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CHAVES, K. C., RAVA, C. A.; COSTA, J. L. S. Inoculação de sementes e controle químico da sarna do feijoeiro comum (*Colletotrichum* sp.). **Resumos expandidos**, 6ª Reunião Nacional de Feijão, Salvador, BA, p.223-225, 1999.

COENTRO: sabor peculiar. Informativo da ISLA Sementes, Porto Alegre, jan. 2005. Sementito, n. 30. Acesso em: 20 nov. 2008. Disponível em: <http://isla.com.br/cgi-bin/news_sementito.cgi?sementito=30>

COSTA, M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseolis* em sementes de algodoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1023-1030, 2003.

COUTINHO, W. M. et al. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio agar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n. 2, p.127-135, 2001.

DORNELAS, C. S. M. **Diagnóstico da qualidade de sementes de erva doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) na Paraíba**. 2006. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006.

DUNIWAY, J.M. Water relations of water molds. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.17, n.1, p. 431-460, 1979.

ELMADFA, I. **La guia de La composición de los alimentos**. Barcelona: Integral, 1989. 80p.

FERREIRA, L.G.R. **Fisiologia vegetal: relações hídricas**. Fortaleza, Edições Universidade Federal do Ceará, 1988. 137p.

FERREIRA, M. D. **Cultura da cenoura: recomendações gerais**. Cooxupé- Boletim Técnico Olericultura, v.3, 1991. 20p.

FILGUEIRA, F. A. R. Manual de Olericultura: **Cultura e comercialização de hortaliças**, 2 ed. revis. e amp. – São Paulo, v. 2, Ed. Agronômica Ceres, 1982, 357 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2003. 412p.

GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, A. R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n. 232, p. 40 – 50, 2006.

HEREDIA, Z. N. A. et al. Produção e renda bruta de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 574-577, 2003.

ISLA A Super Semente. Notícias. Coentro para o Brasil. Porto Alegre, 2001. Disponível em: < http://isla.com.br/cgi-bin/artigo.cgi?id_artigo=86>. Acesso em: 18 nov. 2008.

JEFFS, K. A. **Seed treatment**. 2. Ed. Surrey: British Crop Protection Council, 1986. 332 p.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MACHADO, J. C. et al. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.95-101, 2001a.

MACHADO, J. C. et al. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.88-94, 2001b.

MACHADO, A. Q. **Uso da restrição hídrica em testes de sanidade de semente de algodoeiro**. 2002. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

MARCOS FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.3, p.63-75, 2001.

MASSOLA JÚNIOR, N. S. et al. Doenças da cenoura (*Daucus carota*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; RESENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia**. v.2, 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663 p.

MCGEE, D.C. Epidemiological approach to disease management through seed technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.33, p.445-466, 1995.

MESA mais temperada. Informativo da ISLA Sementes, Porto Alegre, jul. 2002. Sementito, n. 15. Acesso em: 20 nov. 2008. Disponível em: < http://isla.com.br/cgi-bin/news_sementito.cgi?sementito=15 >.

MINAMI, K. (Ed.). **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo:T. A. Queiroz, 1995. 128p.

MUNIZ, M. F. B.; PORTO, M. D. M. Flutuação populacional e sobrevivência de *Alternaria* spp. em sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p. 449-453, 1998.

MUNIZ, M. F. B. Controle de Microrganismos Associados a Sementes de Tomate através do Uso de Calor Seco. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 276-280, 2001.

NASCIMENTO, W. M. et al. **Produção e importação de sementes de hortaliças no Brasil-1986-1989**. Brasília: Embrapa - CNPH, 1994. 175p.

NASCIMENTO, W. M.; VIERA, J. V.; MAROUELLI, W. A. 2008. Produção de sementes de cenoura. Acesso em: 30 nov. 2008. Disponível em <http://www.abhorticultura.com.br/downloads/Warley-3_Prod_sem_cenoura.pdf. acessado em 30/11/2008>.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mc Millan, 1979. v.2, 1119p.

PEDROSA, J. F et al. Aspectos gerais da cultura do coentro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.120. p. 60-64, 1984.

PEÑA, R. P. **Rendimento, qualidade e conservação Pós-colheita de cenoura (*Daucus carota* L.) sob adubação mineral, orgânica e biodinâmica**. 1996. 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

PEREIRA, R. S.; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro, **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.703-706, 2005.

PILL, W. G. Low water potential and pressing germination treatments to improve seed quality. In: Barsa, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York. Food Products Press. 1994. pp.319-359.

PINHO, É. V. R. V.; SALGADO, K. C. P. C. Inovações tecnológicas na produção de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 22 -31, 2006.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

RAVA, A. C.; SARTORATO, A. Eficiência de fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* inoculado em sementes de feijoeiro. **Anais...**, 5ª Reunião Nacional de Pesquisa de Feijoeiro, Goiânia, GO. 1996. p.210-212.

REIS, A. et al. *Alternaria dauci*, agente de manchas foliares em salsa e coentro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.202-203, 2003.

REIS, A. et al. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, p. 107-111, 2006.

REIS, M. S. et al. Produção e comercialização de sementes. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG:UFV, 2005, p. 897 – 930.

RODRIGUES, A. P. D. C. et al. Absorção de água por sementes de salsa, em duas temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.30, n. 1, p. 49 - 54, 2008.

ROTEM, J. **The genus *Alternaria***. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1995. 326 p.

RUBATZKY, V. E.; QUIROS, C. F.; SIMON, P. W. **Carrots and related vegetable umbeliferae**. New York: CABI Publishing, 1999. 294 p.

SALSINHA. In: CATÁLOGO RURAL. Hortaliças. 2008. Acesso em: 05 dez. 2008. Disponível em: <<http://www.agrov.com/vegetais/hortalicas/index.htm>>.

SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI Jr. A; AUER, C. G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, v. 30, p. 119-128, 2000.

SIMON, P. W. Domestication, historical development and modern breeding of carrot. **Planta Breed.** Rev. v.19, p. 157-190, 2000.

SOAVE, J.; WETZEL, M. V. S. (Ed.). **Patologia de sementes.** Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480 p.

SOUZA, V. C. **Botânica sistemática:** guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da Flora Brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2005. 640p.

STRADIOTTO, M. F. Doenças causadas por fungos em umbelíferas. **Informe Agropecuário,** Belo Horizonte, v.17, n.183. p. 64-67, 1995.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta- semente e semente -plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J.O.M. ED. (Org.). **Patógenos em sementes:** detecção, danos e controle químico. 1 ed. São Paulo: CIBA AGRO, 1995, p. 171-178.

TANAKA, M. A. S.; CORRÊA, M. U. Influência de *Aspergillus* e *Penicillium* no armazenamento de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Fitopatologia Brasileira,** Brasília, v. 6, p. 451-456, 1981.

TEIXEIRA, H., VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Avaliação dos efeitos do tratamento químico e biológico de *Colletotrichum gossypii* South. em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v. 21, p. 413-418, 1997a.

TEIXEIRA, H., VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Influência de *Colletotrichum gossypii* South. no desenvolvimento inicial do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) em função da localização do inóculo e desinfestação das sementes. **Revista Brasileira de Sementes,** Brasília, v.19, p. 9-13, 1997b.

TEIXEIRA, H. et al. Técnica de restrição hídrica: efeito sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho infetadas. **Fitopatologia Brasileira,** Brasília, v.30, n.2, 2005.

TEKRONY, D. M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology,** Zürich, v.31, n.2, p. 435-447, 2003.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. Divulgação Técnica. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, n.1/2, p.23-33, 2004.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. 2006. Artigo em Hypertexto. Acesso em: 22 nov. 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/alternarioses/Index.htm>.

VIDAL, M. **Potencial fisiológico e tamanho de sementes de abóbora**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

VIEIRA, M. G. G. C.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, J. C. **Controle de qualidade de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 113 p.

VIGGIANO, J. Produção de sementes de algumas umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.120. p. 60-64, 1984.

VIGGIANO, J. Produção de sementes de cenoura. In: CASTELLANE, P.D.; NICOLOSI, W.M. & HASEGAWA, M. (coord.). **Produção de sementes de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1990. p. 61-76.

VILELA, M. S. **Estimativas de parâmetros genéticos para caracteres de cenoura em sistemas de cultivo agroecológico**. 2008. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

VILELA, N. J. Cenoura: um alimento nobre na mesa popular. **Horticultura Brasileira**. Brasília. v.22, p. 1-2, 2004.

ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV, 2005. 502 p.

CAPÍTULO I

INFLUÊNCIA DE *Alternaria alternata* E *A. dauci* NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE CENOURA INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS

RESUMO

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma hortaliça da família Apiaceae, do grupo das raízes tuberosas, que se encontra entre as dez espécies de hortaliças mais importantes em termos mundiais, seja considerando a área de plantio ou o valor da produção. Esse conjunto de fatores converge para um aumento nas áreas de produção e, conseqüentemente, na demanda de sementes de cenoura de qualidade. Levando em consideração que um dos principais fatores que influenciam na qualidade de sementes é a associação de patógenos, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da associação de *Alternaria alternata* e de *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de cenoura sob dois métodos de inoculação. Os isolados de *A. dauci* e *A. alternata* foram obtidos, respectivamente, de plantas de cenoura com sintomas da doença e de sementes de cenoura, da cultivar Brasília, submetidas a um teste inicial de sanidade (Blotter Test). Os tratamentos de inoculação para suspensão consistiram em: tratamento testemunha (água destilada e esterilizada), suspensão de conídios de *A. alternata*, suspensão de conídios de *A. dauci* e suspensão de conídios de ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*). Para restrição hídrica: BDA + manitol (tratamento testemunha); BDA + manitol + *A. alternata*; BDA + manitol + *A. dauci*; BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por um conjunto de testes realizados em condições controladas de laboratório e em casa de vegetação. A qualidade de sementes de cenoura foi prejudicada pela presença de patógenos associados, principalmente os tratamentos que continham *A. dauci*, sendo, portanto os mais nocivos.

Palavras-chave: *Daucus carota*, suspensão de conídios, restrição hídrica, manitol.

ABSTRACT

INFLUENCE OF *Alternaria alternata* AND *A. dauci* IN the PHYSIOLOGIC QUALITY OF CARROT SEEDS INOCULATED UNDER TWO METHODS

The carrot (*Daucus carota* L.) it is a vegetable of the family Apiaceae, of the group of the roots tuberous, that is among the ten species of more important vegetables in world terms, be considering the planting area or the value of the production. That group of factors converges for an increase in the production areas and, consequently, in the demand of seeds of quality carrot. Taking into account that one of the main factors that they influence in the quality of seeds is the pathogen association, was aimed at with this work to evaluate the effect of the association of *Alternaria dauci* and *A. alternata* in the physiologic quality of carrot seeds under two inoculation methods. The isolated of *A. dauci* and *A. alternata* were obtained, respectively, of carrot plants with symptom of the disease and of carrot seeds, c.v. Brasília, submitted to an initial sanity test (Blotter Test). The inoculation treatments for suspension consisted in: testifies (distilled water and sterilized), conidial suspension of *A. alternata*, conidial suspension of *A. dauci* and conidial suspension of both species (*A. alternata* + *A. dauci*). For restriction hidric: PDA + manitol (testifies); PDA + manitol + *A. alternata*; PDA + manitol + *A. dauci*; PDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. The physiologic quality of the seeds was evaluated by a group of tests accomplished in controlled conditions of laboratory and green house. The quality of carrot seeds was reduced by the presence of pathogens, mainly the treatments that contained *A. dauci*, being, therefore the most dangerous.

Key words: *Daucus carota*, suspension, restriction hidric, manitol

1.1 Introdução

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma hortaliça pertencente à família Apiaceae, que faz parte do grupo das raízes tuberosas. Originária da Ásia, mais precisamente da região do Himalaia, atual Afeganistão (RUBATZKY et al., 1999), a cenoura alcançou popularidade no âmbito mundial. É uma olerícola que se destaca tanto pela sua importância na economia, quanto pelo seu significativo consumo. Ocupa um lugar de destaque entre as dez hortaliças mais importantes em nível mundial (RUBATZKY et al., 1999; SIMON, 2000; VILELA, 2004) e é a quarta hortaliça mais consumida no Brasil (NEGRINI; MELO, 2007). Esse conjunto de fatores converge para um aumento nas áreas de produção e, conseqüentemente, na demanda de sementes de cenoura.

Até o início da década de 80 no Brasil, a demanda por sementes dessa espécie era inteiramente suprida pela importação. No entanto, a criação de cultivares nacionais, melhor adaptadas às condições climáticas locais, e o desenvolvimento de tecnologia de produção de sementes possibilitaram a redução da dependência exterior.

A qualidade das sementes depende grandemente de toda a história de sua produção: escolha do terreno, preparação e fertilização do solo, semeadura, condução da lavoura quanto a aspectos sanitários, condições meteorológicas durante a formação da semente antes da colheita e durante essa operação, aeração, secagem, manuseio e transporte, processamento, beneficiamento, armazenamento, etc. (MCGEE, 1995). A qualidade final da semente é resultante do somatório de quatro atributos: genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade.

Entre os diversos fatores, que podem afetar a qualidade das sementes de cenoura, os microrganismos são considerados um dos mais importantes, principalmente por estarem relacionados com baixa germinação e baixo vigor, além de acelerarem o processo de deterioração durante o armazenamento. Segundo Machado (1994), o aspecto sanitário é um dos fatores que mais tem prejudicado a produção de sementes no mundo.

Com a expansão do cultivo de cenoura em áreas anteriormente não cultivadas, a importância de sementes sadias é indispensável. A semeadura de sementes contaminadas é a maneira mais favorável para um patógeno se

estabelecer em áreas livres de doença. Os organismos mais comuns que infectam sementes são os fungos, responsáveis não só pela disseminação da doença, mas também pelo apodrecimento das sementes no solo, deterioração durante o armazenamento e a produção de micotoxinas.

Fungos do gênero *Alternaria* são agentes causais de importantes doenças na cultura da cenoura, como queima das folhas e de umbelas (*A. dauci*) e mancha preta da raiz (*A. radicina*). Além disso, infectam sementes e podem destruí-las completamente, causando perdas na germinação, bem como podem ser veiculados e transmitidos às plântulas causando a doença (ROTEM, 1995).

A associação de *A. alternata* pode ocorrer através da infecção das inflorescências, podendo causar a morte das sementes ou a infecção posterior das plântulas, provocando o tombamento. Neste caso, mesmo sendo considerado como um patógeno fraco, *A. alternata* pode produzir grandes prejuízos, pelo fato de causar infecções em sementes e ser transmitido por elas (NEERGAARD, 1979). No caso de *A. dauci*, quando associado a *A. radicina*, podem causar queima de folhas e de umbelas, reduzindo a viabilidade das sementes produzidas e favorecendo a transmissão para a parte aérea da planta (STRADIOTTO, 1995).

O estudo da associação de fungos com sementes e a avaliação do seu potencial patogênico, bem como seu efeito sobre a qualidade das mesmas, é de fundamental importância, pois pode fornecer subsídios para modelos epidemiológicos, produção de mudas e armazenamento de sementes. Nesse sentido, a utilização de técnicas de inoculação de sementes com patógenos tornam-se peças-chaves do processo. A metodologia da suspensão de inóculo tem sido tradicionalmente utilizada em diversos estudos com a maioria dos fungos. Este processo consiste na imersão das sementes em suspensão de esporos, obtida através da adição de água destilada e esterilizada em placas de Petri contendo o micélio puro do patógeno de interesse. A concentração da suspensão conidial é obtida e ajustada através de leituras em câmara de Neubauer conforme metodologia descrita por Faria et al. (2005). No entanto, nesse método de inoculação os fungos ficam apenas aderidos ao tegumento das sementes, não se caracterizando o processo de infecção e sim contaminação superficial (COSTA et al. 2003). Como alternativa aos métodos tradicionais e baseada no princípio de controle de germinação, a metodologia de inoculação sobre meio de cultura batata-dextrose-água (BDA), utilizando a técnica de restrição hídrica, tem sido empregada na

promoção de infecção de sementes com fungos fitopatogênicos (MACHADO, 2001b). Por meio desta técnica, a inoculação de sementes mostra-se eficiente e bastante promissora para todos os patossistemas estudados (MACHADO et al., 2001a, 2002, 2004; COSTA et al., 2003). A metodologia consiste na exposição das sementes ao fungo desenvolvido em meio de cultura contendo um restritor hídrico, por diferentes períodos de tempo. Além disso, essa técnica permite a obtenção de sementes com diferentes potenciais de inóculo (SOUSA et al., 2002; COSTA et al., 2002). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de *A. alternata* e *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de cenoura através da inoculação das mesmas com suspensão de conídios e pelo método da restrição hídrica.

1.2 Material e Métodos

O trabalho foi realizado em duas etapas, a primeira consistiu de experimentos em laboratório, os quais foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária e no Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes do Departamento de Fitotecnia. Na segunda etapa, foram realizados estudos em casa de vegetação, desenvolvidos nas instalações dos mesmos Departamentos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Foram utilizadas sementes de cenoura, da cultivar Brasília, provenientes de cultivo agroecológico, comercializadas pela marca Bionatur[®], Candiota-RS, sem qualquer tipo de tratamento químico, produzidas na safra 2006/2007. Logo após o recebimento, as sementes foram submetidas à avaliação inicial de qualidade, através das seguintes determinações e testes:

1.2.1 Teor de água

O teor de água das sementes foi determinado com base no peso úmido, pelo método de estufa a alta temperatura, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Utilizaram-se duas subamostras de 5g de peso úmido de sementes, colocadas em estufa a uma temperatura constante de 105 °C, com

oscilações possíveis de $\pm 3^\circ \text{C}$, durante um período de 24 horas. Após esse período, as subamostras secas foram pesadas. O resultado final foi expresso pela média aritmética em porcentagens das subamostras. O teor de água da semente foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ U} = \frac{\text{PU} - \text{PS}}{\text{PU} - \text{T}} \times 100$$

Onde: **PU** = peso úmido da semente + peso do recipiente; **PS** = peso seco da semente + peso do recipiente; **T** = tara (recipiente).

1.2.2 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido com 200 sementes, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram semeadas em caixas plásticas tipo gerbox, sobre três folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas foram mantidas em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas quando submetidas à temperatura de 30 °C. As contagens foram realizadas aos sete e 14 dias após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, avaliando-se também a porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas.

1.2.3 Análise sanitária

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro ou "Blotter Test". Utilizou-se uma amostra de 200 sementes de cenoura, dividida em quatro repetições de 50, colocadas em caixas plásticas do tipo "gerbox", previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, sob duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25°C, com 12 horas de regime de luz, durante 24 horas. Em seguida, para a inibição da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após

esse procedimento, foram então incubadas a 25°C por sete dias, com 12 horas de regime de luz conforme metodologia proposta por Brasil (1992). As análises foram realizadas com o auxílio de lupa e microscópio óptico para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados ao nível de gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett; Hunter (1998), determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos.

Após a realização dos testes iniciais, foram desempenhados os seguintes procedimentos para instalação dos experimentos:

1.2.4 Testes em laboratório

Os testes a seguir descritos foram realizados em condições controladas de laboratório.

1.2.4.1 Obtenção do inóculo

O fungo *Alternaria alternata*, utilizado nesse trabalho, foi obtido a partir de sementes de cenoura submetidas ao teste inicial de sanidade (Blotter Test). Já *Alternaria dauci* foi proveniente de folhas de cenoura com sintomas de doença. Os mesmos foram isolados a partir das respectivas fontes de inóculo, e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (extrato de 200g de batata, 20g de dextrose e 20g de ágar em 1000 mL de água destilada). Após sete dias de incubação a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, os patógenos foram repicados, e assim procedeu-se até a obtenção de colônias puras. Essas colônias purificadas foram mantidas a 25° C no escuro, para facilitar a esporulação. A partir disto, utilizaram-se as metodologias para inoculação das sementes.

1.2.4.2 Inoculação das sementes

A inoculação das sementes foi realizada de duas formas. Na primeira, utilizou-se uma suspensão de conídios a partir dos isolados de *Alternaria*. Na segunda, as

sementes foram inoculadas através da restrição hídrica, utilizando-se como restritor: manitol (C₆H₁₄O₆). Os tratamentos foram organizados conforme a Tabela 1.1.

Tabela 1.1 Tratamentos de inoculação das sementes de cenoura com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto: manitol. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	Métodos de Inoculação	
	Suspensão de conídios	Restrição Hídrica
T2	Tratamento testemunha (água estéril)	Tratamento testemunha (meio + manitol)
T3	Suspensão de <i>A. alternata</i>	Meio+ manitol + <i>A. alternata</i>
T4	Suspensão de <i>A. dauci</i>	Meio+ manitol + <i>A. dauci</i>
T5	Suspensão de <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	Meio + manitol + <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>

A suspensão de conídios, para a inoculação das sementes, foi obtida adicionando-se água destilada em placas de Petri contendo o micélio puro de cada patógeno e, com o auxílio de um pincel esterilizado, homogeneizou-se a massa de esporos. A suspensão, depois de filtrada em um funil com gaze, foi coletada em um recipiente de vidro. Em seguida, a concentração da suspensão conidial foi obtida através de leituras em câmara de Neubauer e ajustadas para 10⁵ conídios/mL para cada tratamento. As sementes, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, permaneceram em contato com as suspensões de cada tratamento por 30 minutos. Após secagem em condições ambiente, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica.

Para a inoculação das sementes pelo método da restrição hídrica, utilizou-se BDA acrescido do soluto manitol. Para isso, foram preparadas placas de Petri de vidro de 15 cm de diâmetro, contendo 50 mL de meio BDA com potencial de água de -0,8 MPa (Megapascal), obtido pela suplementação com 33,10 g/L de manitol, segundo COUTINHO et al. (2001).

Discos de colônia pura de cada um dos fitopatógenos foram repicados para o meio com manitol, e mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C por sete dias. Após esse período, as sementes de cenoura, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%), foram distribuídas sobre o micélio do fungo, correspondente a cada tratamento, em camada única, sendo levemente prensadas, onde permaneceram até momento em que pelo menos uma das sementes apresentasse início de protrusão radicular, o que ocorreu 48 horas após a exposição ao meio. As sementes foram, então, removidas do meio e colocadas a secar sobre papel filtro, em condições ambiente, por mais 48 horas.

Somente após esse processo, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica. Como tratamentos testemunhas foram utilizados aqueles em que as sementes não sofreram influência da inoculação com os patógenos. Além disso, foi considerado como tratamento testemunha absoluta (T1), o tratamento em que as sementes não foram submetidas a qualquer procedimento.

1.2.4.3 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado conforme descrito no item 1.2.2, seguindo a metodologia proposta pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

1.2.4.4 Teste de primeira contagem de germinação

O teste de primeira contagem foi realizado conjuntamente com o teste de germinação, constituindo o registro da porcentagem de plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada conforme as Regras para Análise de Sementes (1992), aos sete dias.

1.2.4.5 Comprimento de plântula

Avaliou-se o comprimento médio das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas quando submetida à temperatura de 30°C, por sete dias. Após esse período, avaliou-se o comprimento total das plântulas, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. O comprimento médio foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros/plântula, conforme descrito por Nakagawa (1999).

1.2.4.6 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel filtro, umedecido com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos, permanecendo por sete dias em câmara à temperatura constante de 10° C. Após esse período, os mesmos foram transferidos para o germinador (20-30°C) onde permaneceram por mais sete dias, os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

1.2.5 Testes em casa de vegetação

Nessa etapa, os testes foram realizados em ambiente parcialmente controlado, em casa de vegetação.

1.2.5.1 Emergência de plântulas

O teste de emergência foi realizado utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax[®]. Em cada bandeja foram distribuídas 25 sementes em quatro repetições, totalizando 100 sementes em cada tratamento, para cada método de inoculação. Foram feitas irrigações sempre que necessário, e a avaliação ocorreu aos 32 dias após a semeadura, quando a emissão de plantas tornou-se constante, computando-se a porcentagem de plantas normais emergidas.

1.2.5.2 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Este teste foi realizado em conjunto com o de emergência das plantas em casa de vegetação, onde foram realizadas contagens diárias de plantas emergidas nas bandejas até obter-se número constante. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plantas emergidas a

cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962), pela fórmula:

$$\text{IVE} = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Onde: **IVE** = índice de velocidade de emergência; **E₁**, **E₂**, **E_n** = número de plantas emergidas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem; **N₁**, **N₂**, **N_n** = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

1.2.5.3 Comprimento de planta

A avaliação do comprimento de planta foi também realizada em conjunto com o teste de emergência, determinando-se o comprimento da raiz, do hipocótilo e o comprimento total de dez plantas, por repetição, aos 32 dias após a semeadura. Os resultados foram determinados em centímetros, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. Calculou-se o comprimento médio por planta (cm/planta), dividindo o somatório dos valores obtidos pelo número de plantas mensuradas.

1.2.5.4 Número de folhas

Avaliou-se também, o número de folhas das mesmas dez plantas utilizadas no teste anterior, calculando-se uma média aritmética do número de folhas por planta, dividido pelo número de plantas avaliadas.

1.2.5.5 Peso fresco e peso seco de plantas

O peso fresco foi obtido pela pesagem em balança, com precisão de 0.001g, de plantas normais obtidas ao final do teste de emergência. Calculou-se o peso médio somando-se o peso de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g/plantas. Após,

para determinação do Peso seco, as plantas foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa com circulação de ar, regulada a 80°C, onde permaneceram por um período de 24 horas. A pesagem do material seco foi realizada em balança com precisão de 0,001g, e o peso para cada repetição foi dividido pelo número total de plantas, obtendo-se assim, o peso médio da matéria seca, expresso em grama por planta.

1.2.6 Análise estatística

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, os dados de cada método de inoculação foram submetidos, separadamente, a análise de variância e ao teste F, a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para comparação dos métodos, os dados foram analisados utilizando-se um esquema fatorial 2x3, ou seja, dois métodos de inoculação (suspensão de conídios e restrição hídrica) e três tratamentos (*A. alternata*, *A. dauci* e *A. alternata* + *A. dauci*), também submetidos à análise de variância e teste F, com comparação das médias através do teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, empregando-se o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (ZONTA et al., 1986). Os dados expressos em porcentagens foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$.

1.3 Resultados e Discussão

Inicialmente as sementes de cenoura foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação e sanidade. O teor de água das sementes foi de 8,38% e a porcentagem de germinação foi de 76%. Na análise sanitária verificou-se a presença dos seguintes fungos: *Aspergillus* spp. (44%), *Alternaria alternata* (13%) e *Cladosporium* spp. (1%). Esses dados não foram analisados estatisticamente, pois serviram apenas como base para o conhecimento inicial da qualidade do lote adquirido. É possível constatar, que a qualidade inicial do lote de sementes de cenoura, de acordo com o teor de água e umidade, não foge ao padrão, ou seja, ao recomendado para hortaliças em geral. Além disso, é evidente a baixa incidência de

patógenos associados às sementes, verificando-se assim, a alta qualidade sanitária do lote adquirido.

1.3.1 Resultados obtidos com sementes de cenoura inoculadas com suspensão de conídios

Os dados obtidos nos testes realizados, em condições controladas de laboratório, com sementes de cenoura inoculadas com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci*, encontram-se na Tabela 1.2.

Observa-se que na maioria das variáveis analisadas, os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si, com exceção da primeira contagem de germinação. Isso pode ter ocorrido devido ao pouco tempo de permanência do fungo com as sementes nesse teste, pois a primeira contagem para cenoura é realizada no sétimo dia após a semeadura. Talvez esse espaço de tempo não tenha permitido o total desenvolvimento e colonização dos patógenos nas sementes a fim de afetar a qualidade das mesmas, pois cada organismo patogênico apresenta um conjunto de características particulares, como temperatura e umidade ideal para seu desenvolvimento, que permitem ou não que o mesmo se estabeleça e colonize seu hospedeiro. Portanto, as condições ambiente podem não ter favorecido o estabelecimento das espécies de *Alternaria* durante esse período, pois para esse gênero, existe temperaturas mínimas, ótimas, e máximas necessárias para a germinação dos conídios, que são de 5 - 7, 25 - 27 e 30 - 32° C, respectivamente (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004), além disso, a umidade também se constitui num fator fundamental no desenvolvimento do patógeno. Segundo Santos et al. (2000), condições ambientais favoráveis para patógenos que se associam às sementes, são fundamentais para que os mesmos tornem-se ativos.

No entanto, quando analisada a porcentagem de germinação, verifica-se que as sementes inoculadas com os patógenos já demonstraram um significativo decréscimo em relação aos tratamentos testemunhas, principalmente quando as sementes encontravam-se associadas com *Alternaria dauci*, tanto isolada quanto em conjunto com *A. alternata*, uma vez que as inoculadas somente com *A. alternata* também não diferiram dos tratamentos testemunhas.

Tabela 1.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em condições controladas de laboratório, Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	60 a*	76 a	1 b	7 bc	5,34 a	62 a
T2	63 a	79 a	1 b	1 c	3,77 ab	61 a
T3	57 a	69 ab	5 b	16 ab	2,25 b	55 ab
T4	34 a	44 b	20 a	30 a	3,12 b	41 b
T5	45 a	49 b	20 a	23 ab	2,59 b	48 ab
CV (%)	17,52	13,15	36,17	30,03	23,87	9,52

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*.

A presença de *A. dauci*, isoladamente ou com *A. alternata*, acarretou também aumento expressivo da porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas na germinação. E, quando se avaliou o comprimento das plântulas, não ocorreu uma estratificação entre os tratamentos de inoculação, entretanto, observa-se que houve diferença dos mesmos em relação ao tratamento testemunha absoluta. Deste modo, a presença dos patógenos, em geral, além de prejudicar a qualidade das sementes, ocasiona plântulas com baixo vigor, ou seja, plantas com deformações e menores comprimentos relacionadas àquelas resultantes dos tratamento testemunhas.

O mesmo resultado pode ser verificado no teste de frio, onde a presença dos fungos nas sementes acarretou em menor índice de plântulas normais. O princípio básico do teste de frio é a exposição das sementes a fatores adversos de baixa temperatura e alta umidade, e nessas condições, a chance de sobrevivência das sementes vigorosas são maiores. Neste contexto, pode-se constatar que a presença dos patógenos pode ter afetado negativamente o vigor das sementes, resultando em menor porcentagem de plântulas normais, principalmente com suspensão de *A. dauci*. Segundo Pereira et al. (2005), a formação das sementes pode ser prejudicada quando as mesmas encontram-se associadas com *Alternaria dauci*, o que pode influenciar diretamente na sua qualidade fisiológica, resultando até mesmo em grandes prejuízos em nível de campo.

Foram também realizados testes em casa de vegetação com as sementes inoculadas com suspensão de esporos, os resultados obtidos encontram-se na

Tabela 1.3, na qual, diferente do que foi observado em laboratório, os tratamentos diferiram entre si, estatisticamente, para totalidade das variáveis.

Tabela 1.3 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	78 a*	1,37 a	0,17 b	0,020 a	6,93 ab	7,25 a	14,18 a	2 ab
T2	75 a	1,34 a	0,21 b	0,018 ab	7,45 a	7,34 a	14,80 a	2 ab
T3	69 a	1,35 a	0,12 b	0,020 a	7,04 ab	7,35 a	14,39 a	3 a
T4	33 b	0,73 b	0,05 b	0,005 c	2,89 c	3,33 b	6,23 b	1 b
T5	38 b	1,03 ab	0,65 a	0,008 bc	4,40 bc	4,74 b	9,15 b	2 ab
CV (%)	13,89	17,52	36,03	37,12	21,78	18,9	27,89	24,76

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **T1**: tratamento testemunha absoluta; **T2**: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); **T3**: suspensão de *A. alternata*; **T4**: suspensão de *A. dauci*; **T5**: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*

As condições de casa de vegetação permitiram inferir que *A. dauci* é o patógeno mais prejudicial na qualidade de sementes de cenoura, conforme já observado nos experimentos em laboratório. Pois, a presença do mesmo, tanto no tratamento em que se encontrava isolado quanto naquele em que estava em conjunto com *A. alternata*, acarretou em menor porcentagem e velocidade de emergência de plântulas. Além disso, afetou o peso seco e também o comprimento tanto da raiz, quanto do hipocótilo e, conseqüentemente, o comprimento total das plântulas emergidas. Para as variáveis, peso fresco e número de folhas, a estratificação não definiu os tratamentos como nos testes anteriores, no entanto, plântulas resultantes de sementes inoculadas com *A. dauci* apresentaram uma menor quantidade de folhas em relação às demais. Magalhães et al. (2004) verificaram resultados semelhantes, em seus trabalhos com o desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de *Alternaria*, o fungo *A. dauci* influenciou, de forma significativa, na redução da qualidade das sementes nos testes realizados.

De uma forma geral, pelos resultados obtidos nos testes realizados, sementes de cenoura inoculadas com suspensão de conídios de *A. dauci* tiveram sua qualidade fisiológica prejudicada, resultando em menores níveis de germinação e emergência, bem como em plântulas com baixo vigor e até mesmo morte de sementes.

1.3.2 Resultados obtidos com a inoculação das sementes de cenoura através da metodologia da restrição hídrica

Observa-se, na Tabela 1.4, que quase todas as variáveis analisadas apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, exceto a porcentagem de plântulas anormais. Nesse caso, a presença dos patógenos associados com as sementes não afetou o desenvolvimento normal das plântulas resultantes.

No entanto, assim como no método da suspensão de inóculo, sementes associadas com *A. dauci* apresentaram os menores resultados em termos de qualidade. Resultado esse, que pode ser observado no teste de primeira contagem de germinação, em que sementes inoculadas com esse agente fitopatogênico (*A. dauci*) resultaram em menor porcentagem de plântulas normais, diferente do observado para os demais tratamentos. As informações oferecidas pelo teste de primeira contagem são consideradas preliminares, no que diz respeito ao potencial fisiológico das sementes, avaliando, indiretamente, a velocidade de germinação das sementes (BHERING et al. 2000). Nessa linha, Nakagawa (1999) verificou que a primeira contagem, muitas vezes, expressa melhor as diferenças de velocidade de germinação entre os lotes, que os índices de velocidade de germinação de sementes (IVG).

Tabelas 1.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	60 ab*	76 ab	1 a	7 c	5,32 a	62 ab
T2	72 a	80 a	0 a	7 c	5,23 a	75 a
T3	61 ab	70 ab	1 a	18 bc	3,34 ab	61 ab
T4	18 c	19 c	11 a	49 a	1,95 b	60 b
T5	55 b	63 b	8 a	20 b	3,41 ab	60 b
CV (%)	9,29	9,23	77,5	18,13	24,28	7,28

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); T3: BDA + manitol + *A. alternata*; T4: BDA + manitol + *A. dauci*; T5: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

A continuidade desse resultado foi constatada no teste de germinação, ou seja, a presença de *A. dauci* afetou negativamente, de maneira expressiva, as

sementes, pois em relação aos tratamentos testemunhas, a porcentagem germinativa das mesmas, quando na presença desse patógeno, foi a menor. Além disso, quando se analisou a porcentagem de sementes mortas, obtidas nesse mesmo teste, comprova-se o quanto *A. dauci* é prejudicial a sementes de cenoura, pois nesse parâmetro, o resultado foi relativamente alto quando as mesmas encontravam-se inoculadas com esse fitopatógeno. Machado et al. (2004) observaram que *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Colletotrichum gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* inoculados em sementes de algodoeiro, sob diferentes potenciais hídricos (-0,4 a -1,0 MPa) provocaram redução de germinação e conseqüente aumento no porcentual de sementes mortas, confirmando, assim, a eficiência da restrição hídrica, bem como o efeito negativo de patógenos associados a sementes.

Na avaliação do comprimento de plântulas, esses dados são ratificados, as plântulas, oriundas de sementes inoculadas com *A. dauci*, obtiveram seu comprimento afetado, mesmo não diferindo estatisticamente dos tratamentos que continham *A. alternata*, observa-se o quanto a presença do patógenos prejudicou o desenvolvimento das plântulas.

No teste de frio, quando as sementes foram submetidas a um estresse, ou seja, exposição a fatores adversos de baixa temperatura e alta umidade, observou-se que o vigor, das sementes inoculadas com fungos, foi prejudicado. Nesse caso, mesmo não se obtendo uma nítida estratificação entre os tratamentos, observa-se que aqueles onde *A. dauci* esteve presente foram inferiores.

No caso dos testes realizados em casa de vegetação (Tabela 1.5), verificou-se que os patógenos interferiram somente na porcentagem de emergência das plântulas e no número de folhas, para as outras variáveis analisadas não se obteve diferença significativa entre os tratamentos.

No entanto, interferência de patógenos na emergência de plântulas pode acarretar em graves prejuízos para o agricultor, como um estande desfavorável. Além disso, tais danos, decorrentes da associação de patógenos com sementes, não se limitam apenas a perdas diretas de população no campo, mas abrangem também uma série de outras implicações que, de forma até mais acentuada, podem levar a danos irreparáveis em todo sistema agrícola. Conseqüências danosas no campo em detrimento da associação de agentes patogênicos com sementes são relatadas por diversos autores em literatura especializada: Neergaard (1979), Dingra

et al. (1980), Agarwal; Sinclair (1987), Machado (1999, 2000), Menten (1991), Maude (1996) e Machado; Pozza (2005).

Tabela 1.5 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em casa de vegetação, Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	78 a	1,37 a	0,17 a	0,020 a	6,07 a	5,69 a	11,76 a	2 ab
T2	52 ab	1,20 a	0,23 a	0,042 a	5,48 a	5,78 a	11,26 a	3 a
T3	53 ab	1,12 a	0,20 a	0,034 a	5,15 a	5,42 a	10,57 a	2 ab
T4	25 b	0,81 a	0,42 a	0,034 a	5,94 a	5,50 a	11,44 a	1 b
T5	46 ab	1,17 a	0,28 a	0,046 a	6,20 a	5,68 a	11,89 a	2 ab
CV (%)	22,97	31,82	66,88	43,8	18,91	29,93	21,99	25,96

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **T1**: tratamento testemunha absoluta; **T2**: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); **T3**: BDA + manitol + *A. alternata*; **T4**: BDA + manitol + *A. dauci*; **T5**: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

A utilização do manitol como um restritor hídrico, demonstrou ser eficaz para a obtenção de sementes infectadas apenas por *A. dauci*, permitindo assim a avaliação da ação desse patógeno na qualidade das sementes de cenoura. Por ser uma técnica relativamente recente e inovadora, a restrição hídrica utilizando solutos tem se mostrado promissor nos trabalhos realizados na área de patologia de sementes. Diferente das técnicas convencionais, a mesma permite um maior tempo de exposição das sementes ao meio fúngico agarizado, sendo verificados resultados positivos, ou seja, permitindo a avaliação da interferência de fungos na qualidade fisiológica de sementes, em diversos trabalhos como os realizados por Machado et al. (2001a) com soja, Costa et al. (2003) e Machado et al. (2004) com algodão, Teixeira et al. (2005) com milho, Junges et al. (2008) com cenoura e Henrique et al. (2008) com sementes de melão.

Portanto, a presença de fungos em sementes de cenoura, inoculados através da metodologia da restrição hídrica, resulta em perdas significativas na qualidade das mesmas, sendo *A. dauci* o patógeno mais agressivo nesse caso, seguido de *A. alternata*.

1.3.3 Resultados obtidos na avaliação do comportamento fúngico nos diferentes métodos de inoculação

Os resultados da análise comparativa da ação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* nos diferentes métodos de inoculação, suspensão de conídios e restrição hídrica, estão apresentados nas Tabelas 1.6 e 1.7.

Tabela 1.6 Médias de Primeira Contagem de Germinação, Germinação, Sementes Mortas, Comprimento de Plântula, Peso Fresco de Planta, Comprimento de Raiz, Comprimento Total de Planta e Número de Folhas obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria spp.* em sementes de cenoura. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Primeira Contagem de Germinação (%)		Germinação (%)	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	57 aA*	61 aA	69 aA	70 aA
<i>A. dauci</i>	34 bA	18 bB	44 bA	19 bB
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	45 abA	55 aA	49 bA	63 aA
CV (%)	15,22		12,31	
Fungos	Semente Mortas (%)		Comprimento de plântula (cm)	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	16 bA	18 bA	2,25 aB	3,54 aA
<i>A. dauci</i>	30 aB	49 aA	3,12 aA	1,95 bA
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	23 abA	20 bA	2,60 aA	3,41 abA
CV (%)	13,68		29,67	
Fungos	Peso Fresco de Planta (g)		Comprimento de Raiz (cm)	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	0,18 bA	0,20 aA	7,04 aA	5,15 aB
<i>A. dauci</i>	0,05 bA	0,22 aA	2,89 bB	5,93 aA
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	0,65 aA	0,28 aB	4,40 bA	6,20 aA
CV (%)	45,23		23,84	
Fungos	Comprimento Total de Planta (cm)		Número de Folhas	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	14,39 aA	10,57 aA	2 aA	1 aB
<i>A. dauci</i>	6,23 bB	11,44 aA	1 bA	1 aA
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	9,15 bA	11,89 aA	1 bA	1 aA
CV (%)	26,16		28,75	

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. **S**: suspensão de conídios; **RH**: restrição hídrica.

Na Tabela 1.6, encontram-se os dados da análise fatorial, nos quais ocorreu interação significativa entre os dois fatores, ou seja, os fungos comportaram-se de maneira diferenciada de acordo com cada método de inoculação para tais variáveis.

Isso demonstra que o método de inoculação pode influenciar na expressão da patogenicidade dos microrganismos.

O manitol tem sido comumente utilizado como agente restritor, para simular condições de déficit hídrico por ser um composto quimicamente inerte e não tóxico (ÁVILA et al., 2007), não causando alterações estruturais nas sementes, por não poder penetrar através do sistema de membranas e nem ser metabolizado pela planta, no entanto, seu efeito na expressão do potencial patogênico dos fungos ainda é desconhecido.

Essa diferença na expressão dos fungos entre os tratamentos de inoculação é evidente quando se analisa o teste de germinação, primeira contagem de germinação e também a porcentagem de sementes mortas.

Pela metodologia da suspensão de inóculo, *A. dauci*, tanto isolada quanto em conjunto com *A. alternata*, causaram diminuição da qualidade das sementes em relação ao tratamento em que continha apenas suspensão de *A. alternata*. Por outro lado, no método da restrição hídrica apenas o tratamento com *A. dauci* isolado foi o mais danoso às sementes.

Para o comprimento de plântula, sementes imersas na suspensão de conídios não apresentaram diferença significativa na comparação dos tratamentos, mas foi observada diferença quando as mesmas foram inoculadas através da restrição hídrica. Por outro lado, para demais variáveis analisadas: peso fresco de planta, comprimento de raiz, comprimento total de planta e número de folhas, os tratamentos comportaram-se de maneira oposta ao relatado acima, ou seja, diferiram quando inoculados com suspensão e não demonstraram diferenças significativas quando se utilizou restrição.

Quando se avaliou a porcentagem de plântulas anormais, os testes de frio e emergência de plântulas, a velocidade de emergência, comprimento do hipocótilo e peso seco das plantas emergidas, os tratamentos fúngicos não ocorreu uma interação significativa entre os fatores (Tabela 1.7). Nesse caso, confirma-se a estratificação proporcionada pela utilização da suspensão de esporos verificada na tabela anterior. Independente do método de inoculação, sementes associadas com *A. dauci*, tanto isolado quanto em conjunto com *A. alternata*, foram as mais prejudicadas em termos de qualidade, resultados esses demonstrados pelos testes de frio e pela porcentagem de plântulas anormais obtida no teste de germinação.

Tabela 1.7 Médias de Plântulas Anormais (PA), Teste de Frio (TF), Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Comprimento de Hipocótilo (CH) e Peso Seco de Planta (PS) obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria spp.* em sementes de cenoura. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Plântulas Anormais (%)			Teste de Frio (%)		
	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	5	1	3 b	55	61	58 a
<i>A. dauci</i>	20	11	15 a	41	60	50 b
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	20	7	13 a	48	60	54 ab
Média	14 A	6 B		48 B	61 A	
CV (%)	39,14			7,13		
Fungos	Emergência de Plântulas (%)			Índice de Velocidade de Emergência		
	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	69	52	61a	1,35	1,12	1,24 a
<i>A. dauci</i>	33	25	29 a	0,73	0,81	0,77 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	37	46	42 ab	1,03	1,18	1,10 a
Média	47 A	41 A		1,04 A	1,04 A	
CV (%)	23,33			35,56		
Fungos	Peso Seco (g)			Comprimento de Hipocótilo (cm)		
	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	0,02	0,034	0,03 a	7,27	5,42	6,34 a
<i>A. dauci</i>	0,004	0,034	0,02 a	3,33	5,5	4,42 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	0,007	0,046	0,03 a	4,74	5,68	5,21 a
Média	0,01 B	0,04 A		5,11 A	5,53 A	
CV (%)	55,63			30,98		

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Levando em consideração que maioria das variáveis demonstrou comportamento diferenciado entre os tratamentos, em cada método de inoculação, aplicados em sementes de cenoura (Tabela 1.6), pode-se inferir que a metodologia utilizada influencia no comportamento das espécies de *Alternaria*. A utilização de suspensão de conídios permitiu verificar que *A. alternata*, mesmo que em menor escala, também prejudica a qualidade das sementes, resultado esse que não foi evidente quando se fez o uso do manitol no meio agarizado. Esse fato pode ser devido à utilização do soluto manitol, pois o mesmo, quando adicionado ao meio, pode ter interferido na ação do patógeno, impedindo o mesmo de expressar seu

potencial patogênico em sementes de cenoura. Deste modo, mesmo considerada uma contaminação superficial, a inoculação com suspensão de conídios demonstrou ser mais sensível e eficaz, detectando também esse patógeno (*A. alternata*) como prejudicial para qualidade de sementes de cenoura.

1.4 Conclusões

- A qualidade de sementes de cenoura é prejudicada pela associação com *Alternaria alternata* e *A. dauci*.
- *A. dauci* é mais prejudicial do que *A. alternata* à qualidade fisiológica de sementes de cenoura.
- O método de inoculação de sementes por suspensão de conídios é o mais eficiente para avaliar o efeito de *A. alternata* + *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de cenoura.

1.5 Referências

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1987.175p.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPUM, C. R. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.

BHERING, M. C. et al. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.171-175, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

COUTINHO, W. M. et al. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.127-135, 2001.

COSTA, M. L. N; et al. Efeito de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* no desempenho de sementes de feijoeiro infectadas artificialmente. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7, 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p. 42.

COSTA M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseolis* em sementes de algodoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1023-1030, 2003.

DINGRA, O. D. et al. **Tratamento de sementes**: controle de patógenos. Viçosa, MG: UFV, 1980. 121 p.

FARIA, C. R. J. et al. Fungos causadores de helmintosporiose associados às sementes de aveia-preta (*Avena strigosa*, Schreb.). **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v.11, n. 1, p. 57-61, 2005

HENRIQUE, D. F., et al. Inoculação de *Alternaria alternata* em sementes de melão através da restrição hídrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008. 1 CD –ROM.

JUNGUES, E., et al. Qualidade de sementes de cenoura inoculadas com espécies de *Alternaria* através da restrição hídrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48, 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008. 1 CD –ROM.

MACHADO J. C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v.2, p. 229-263, 1994.

MACHADO, J. C. **Manejo sanitário de sementes no controle de doenças**. Lavras UFLA, 1999. 82 p.

MACHADO, J. C. et al. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 95-101, 2001a.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.88-94, 2001b.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000, 138p.

MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; SOUZA, R. M. Use of water restriction technique in seed pathology. In: **ISTA/PDC Symposium**, 4., ageningen - The Netherlands. 2002.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 62-67, 2004.

MACHADO, J. C.; POZZA, E. A. Razões e procedimentos para o estabelecimento de padrões de tolerância a patógenos em sementes. In: ZAMBOLIN, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 375 – 398.

MAGALHÃES, F. H. L. et al. Desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de *Alternaria* após o condicionamento fisiológico com adição de thiram. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1007-1014, 2004

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MAUDE, R. B. **Seedborne diseases and their control: principles and practice**. Wallingford: CAB Internacional, 1996. 280 p.

MENTEN, J. O. M. (Ed). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ, 1991. 321 p.

MCGEE, D. C. Epidemiological approach to disease management through seed technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.33, p.445-466, 1995.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKY, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2-1 – 2-21.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mc Millan, 1979. v.2, 1119p.

NEGRINI, A. C. A; MELO P. C. T. Efeito de diferentes compostos e dosagens na produção de cenoura (*Daucus carota* L.) em cultivo orgânico. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Porto Alegre, v. 2, p. 1036-1039, 2007.

PEREIRA, R. S; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23,n.3, p.703-706, 2005.

PRADO, P. E. R. et al. Eficácia do tratamento químico de sementes de algodão em relação ao potencial de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p. 52.

ROTEM, J. **The genus *Alternaria***. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1995. 326 p.

RUBATZKY, V. E.; QUIROS, C. F.; SIMON, P. W. **Carrots and related vegetable umbeliferae**. New York: CABI Publishing, 1999. 294 p.

SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI Jr., A; AUER, C. G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, v. 30, p. 119-128, 2000.

SIMON, P. W. Domestication, historical development and modern breeding of carrot. **Planta Breed**. Rev. v.19, p. 157-190, 2000.

SOUSA, M. V. et al. Metodologia de infecção artificial de sementes de algodão por *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p. 70.

STRADIOTTO, M. F. Doenças causadas por fungos em umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.183. p. 64-67, 1995.

TEIXEIRA, H. et al. Técnica de restrição hídrica: efeito sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho infetadas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2. 2005

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. Divulgação Técnica. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, n.1/2, p.23-33, 2004.

VILELA, N. J. Cenoura: um alimento nobre na mesa popular. **Horticultura Brasileira**. Brasília. v.22, p. 1-2, 2004.

ZONTA EP; MACHADO AA. 1986. **Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 150p.

CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DE *Alternaria alternata* E *A. dauci* NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE COENTRO INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS

RESUMO

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma hortaliça bastante comum na culinária brasileira principalmente nas regiões Norte e Nordeste do país. A produção de sementes dessa olerícola surge como alternativa viável na produção rural, constituindo uma das principais fontes econômicas de pequenos produtores. Nos últimos anos, o crescimento do cultivo dessa espécie é bastante evidente e com isso, tornam-se indispensáveis cuidados no que diz respeito à qualidade das sementes. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de coentro. Os isolados de *A. dauci* e *A. alternata* foram obtidos, respectivamente, de plantas de cenoura com sintomas da doença e de sementes de coentro, da cultivar Verdão, submetidas a um teste inicial de sanidade (Blotter Test). Os tratamentos de inoculação para suspensão consistiram em: tratamento testemunha (água destilada e esterilizada), suspensão de conídios de *A. alternata*, suspensão de conídios de *A. dauci* e suspensão de conídios de ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*). Para restrição hídrica: BDA + manitol (tratamento testemunha); BDA + manitol + *A. alternata*; BDA + manitol + *A. dauci*; BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por um conjunto de testes realizados em condições controladas de laboratório e em casa de vegetação. Os fungos *A. dauci* e *A. alternata* contribuíram para a diminuição da qualidade das sementes de coentro, por isso, o estudo de medidas de controle desses patógenos é necessário para a produção de sementes de coentro com alta qualidade. A inoculação através de suspensão de conídios e restrição hídrica é eficiente na contaminação de sementes de coentro por *A. alternata* e *A. dauci*.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum*, inoculação, manitol.

ABSTRACT

INFLUENCE OF *Alternaria alternata* AND *A. dauci* IN the PHYSIOLOGIC QUALITY OF CILANTRO SEEDS INOCULATED UNDER TWO METHODS

The cilantro (*Coriandrum sativum* L.) it is mainly a quite common vegetable in the Brazilian cookery in the areas North and Northeast of the country. The production of seeds of that vegetable appears as viable alternative in the field production, constituting one of the main economical sources of small producers. In the last years, the growth of the production of that species is quite evident and with that, they become indispensable cares in what says respect to the quality of the seeds. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of *Alternaria alternata* and *A. dauci* in the physiologic quality of cilantro seeds. The isolated of *A. dauci* and *A. alternata* were obtained, respectively, of carrot plants with symptom of the disease and of cilantro seeds, c.v. Verdão, submitted to an initial sanity test (Blotter Test). The inoculation treatments for suspension consisted in: testifies (distilled water and sterilized), conidial suspension of *A. alternata*, conidial suspension of *A. dauci* and conidial suspension of both species (*A. alternata* + *A. dauci*). For restriction hidric: PDA + manitol (testifies); PDA + manitol + *A. alternata*; PDA + manitol + *A. dauci*; PDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. The fungus *A. dauci* and *A. alternata* contributed to the decrease of the quality of the cilantro seeds, for that, the study of control measures of that pathogen is necessary for the production of cilantro seeds with high quality. The inoculation through conidial suspension and restriction hidric is efficient in the contamination of cilantro seeds for *A. alternata* and *A. dauci*.

Key words: *Coriandrum sativum*, inoculation, manitol.

2.1 Introdução

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma planta originária do Oriente Médio e do Sul da Europa. No Brasil, sua introdução se deu com a vinda dos primeiros colonos portugueses no início da colonização. É uma olerícola da família Apiaceae, de considerável valor e importância, consumida em diversas regiões do Brasil, principalmente no Norte e Nordeste (PEDROSA et al., 1984). Apesar de ser considerada uma "cultura de quintal", um grande número de produtores está envolvido com sua exploração, tornando-a uma cultura de grande importância socioeconômica. Na alimentação humana, tanto suas folhas como sementes, são incluídas na composição de diversos pratos. Além disso, sua utilização na medicina tem sido bastante relevante, sendo um importante componente da popular "água de melissa" (SILVA, 2007).

A produção de sementes de coentro encontra-se em plena expansão no Brasil (TRIGO et al., 1997). Até o início da década de 80 no Brasil, as sementes de coentro utilizadas eram, em grande parte, importadas da Europa e Chile. No entanto, a criação de cultivares nacionais, melhor adaptadas às condições climáticas locais, e o desenvolvimento de tecnologia de produção de sementes possibilitaram a redução da dependência exterior. A produção nacional de sementes é totalmente viável, em volume suficiente para suprimento interno e até exportação (VIGGIANO, 1984). Em 2001, cerca de 270 toneladas de sementes desta espécie foram comercializadas no país, com valor aproximado de 2,7 milhões de reais (VIRGÍLIO, 2001).

As sementes de coentro têm grande valor e importância comercial, decorrente dessa utilização condimentar largamente difundida no Brasil. O que, conseqüentemente, acarreta em demanda crescente de sementes de alta qualidade, para o estabelecimento de uma agricultura mais produtiva e sustentável.

A qualidade da semente, caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos, é de fundamental importância no processo produtivo de qualquer espécie vegetal, por influenciar o desenvolvimento da cultura. Vários são os fatores que afetam a qualidade fisiológica das sementes de coentro, dentre eles, merece destaque a associação de microrganismos.

A associação patógeno-semente é uma das formas que favorecem a sobrevivência e a disseminação destes agentes, já que para as sementes não existem fronteiras (NEERGARD, 1979; TANAKA, 1982; MACHADO, 1988). Além do

patógeno sobreviver por mais tempo, mantendo sua viabilidade e características, ser facilmente disseminado, ser introduzido em novas áreas, há alta probabilidade do mesmo infectar a plântula em desenvolvimento após a semeadura, causando doenças na fase inicial da cultura (BAKER, 1972; MENTEN, 1995). Assim, dificilmente existirá meio mais eficiente para a disseminação de doenças de plantas que a própria semente. Estima-se que 20% da produção mundial seja perdida anualmente em consequência de doenças fúngicas, cuja maioria dos agentes causais, cerca de 60%, são transmitidos por sementes (FEODOROVA, 1991). Além das perdas significativas em nível de campo, problemas adicionais são identificados quando sementes e/ou grãos infectados são utilizados na alimentação humana e animal, já que os fungos podem produzir toxinas.

Por ser uma cultura rústica, o coentro apresenta poucas doenças de importância econômica (PEDROSA et al., 1984). Entretanto, nos últimos anos, principalmente na época chuvosa, tem-se observado alta incidência e severidade da queima das folhas, causada por *Alternaria dauci* (REIS et al., 2003), patógeno que pode ser transmitido por sementes (TRIGO et al., 1997; TOGNI et al., 2005).

O fungo *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko é um patógeno comum à cenoura e ao coentro, podendo ser destrutivo a estas culturas. Entretanto, na literatura brasileira, existem poucas informações técnicas sobre o coentro, especificamente sobre doenças, assim como sobre a influência de patógenos na qualidade fisiológica de sementes dessa olerícola. Nas áreas de epidemiologia e controle, há um maior volume de informações em outros países como a Índia, onde esta hortaliça tem maior expressão e é mais pesquisada (HENZ; LOPES, 2000). Além disso, pouco se sabe sobre as interações de outras espécies desse gênero fúngico, como *A. alternata*, com o coentro.

Nesse sentido, a utilização de técnicas de inoculação de sementes com patógenos tornam-se peças-chaves do processo. A imersão das sementes em suspensão de conídios e/ou hifas ou apenas seu revestimento externo com esporos do fungo consiste num dos métodos mais simples e tradicionais de inoculação de sementes (AGARWAL; SINCLAIR, 1987; TANAKA; MENTEN, 1991). Outro método utilizado seria o contato das sementes com a colônia fúngica, desenvolvida em meios de cultura convencionais, como os meios agarizados (PERES, 1996; ALBUQUERQUE, 2000). Por estes métodos, no entanto, os fungos ficam, em sua maioria, aderidos ao tegumento das sementes, dessa maneira o processo de

infecção não é assegurado em níveis satisfatórios, sim apenas a contaminação superficial das sementes (TANAKA; MENTEN, 1991; MACHADO et al., 2001b). Além disso, existe outro fator limitante, o tempo de exposição das sementes à colônia fúngica, visto que as sementes podem iniciar o processo de germinação em curto período de tempo, dependendo da espécie avaliada (MACHADO et al., 2001a). O interesse em tratamentos que permitam a exposição das sementes por um período de tempo relativamente maior, baseando-se no controle da hidratação e a germinação das sementes, levou ao desenvolvimento de estudos envolvendo novas técnicas. Entre essas, destaca-se a técnica da restrição hídrica (MACHADO; LANGERAK, 2002) relatada como eficiente para sementes de diferentes espécies. Assim, objetivou-se com o presente trabalho verificar o desempenho de sementes de coentro, inoculadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci* pelo método da suspensão de conídios e restrição hídrica, através de testes de vigor.

2.2 Material e Métodos

O trabalho foi realizado em duas etapas, a primeira consistiu de experimentos em laboratório, os quais foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária e no Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes do Departamento de Fitotecnia. Na segunda etapa, foram realizados estudos em casa de vegetação, desenvolvidos nas instalações dos mesmos Departamentos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. Foram utilizadas sementes de coentro, da cultivar Verdão, provenientes de cultivo agroecológico, da marca comercial Bionatur[®], Candiota-RS, sem qualquer tipo de tratamento químico, produzidas na safra 2006/2007. Logo após o recebimento, as sementes foram submetidas à avaliação inicial de qualidade, através das seguintes determinações e testes:

2.2.1 Teor de água

O teor de água das sementes foi determinado com base no peso úmido, pelo método de estufa a alta temperatura, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Utilizaram-se duas subamostras de 5g de peso úmido de

sementes, colocadas em estufa a uma temperatura constante de 105 °C, com oscilações possíveis de $\pm 3^\circ \text{C}$, durante um período de 24 horas. Após esse período, as subamostras secas foram pesadas. O resultado final foi expresso pela média aritmética em porcentagens das subamostras. O teor de água da semente foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ U} = \frac{\text{PU} - \text{PS}}{\text{PU} - \text{T}} \times 100$$

Onde: **PU** = peso úmido da semente + peso do recipiente; **PS** = peso seco da semente + peso do recipiente; **T** = tara (recipiente).

2.2.2 Teste de Germinação

O teste de germinação foi conduzido com 200 sementes, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram semeadas em caixas plásticas tipo gerbox, sobre três folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas foram mantidas em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas quando submetidas à temperatura de 30 °C. As contagens foram realizadas aos sete e 14 dias após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, avaliando-se também a porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas.

2.2.3 Análise sanitária

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro ou "Blotter Test". Utilizou-se uma amostra de 200 sementes de coentro, dividida em quatro repetições de 50, colocadas em caixas plásticas do tipo "gerbox", previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, sob duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25°C, com 12 horas de regime de luz, durante 24 horas. Em seguida, para a inibição

da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após esse procedimento, foram então incubadas a 25°C por sete dias, com 12 horas de regime de luz conforme metodologia proposta por Brasil (1992). As análises foram realizadas com o auxílio de lupa e microscópio óptico para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados em nível de gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett; Hunter (1998), determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos.

Após a realização dos testes iniciais, foram realizados os seguintes procedimentos para instalação dos experimentos:

2.2.4 Testes em laboratório

Os testes a seguir descritos foram realizados em condições controladas de laboratório.

2.2.4.1 Obtenção do inóculo

O fungo *Alternaria alternata*, utilizado nesse trabalho, foi obtido a partir de sementes de coentro submetidas ao teste inicial de sanidade (Blotter Test). Já *Alternaria dauci* foi proveniente de folhas de cenoura com sintomas de doença. Os mesmos foram isolados a partir das respectivas fontes de inóculo, e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (extrato de 200g de batata, 20g de dextrose e 20g de ágar em 1000 mL de água destilada). Após sete dias de incubação a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, os patógenos foram repicados, e assim procedeu-se até a obtenção de colônias puras. Essas colônias purificadas foram mantidas a 25° C no escuro, para facilitar a esporulação. A partir disso, utilizaram-se as metodologias para inoculação das sementes.

2.2.4.2 Inoculação das sementes

A inoculação das sementes foi realizada de duas formas. Na primeira, utilizou-se uma suspensão de conídios a partir dos isolados de *Alternaria*. Na segunda, as

sementes foram inoculadas através da restrição hídrica, utilizando-se como restritor: manitol (C₆H₁₄O₆). Os tratamentos foram organizados conforme a Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Tratamentos de inoculação das sementes de coentro com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto: manitol. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	Métodos de Inoculação	
	Suspensão de conídios	Restrição Hídrica
T2	Tratamento testemunha (água estéril)	Tratamento testemunha (meio + manitol)
T3	Suspensão de <i>A. alternata</i>	Meio+ manitol + <i>A. alternata</i>
T4	Suspensão de <i>A. dauci</i>	Meio+ manitol + <i>A. dauci</i>
T5	Suspensão de <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	Meio + manitol + <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>

A suspensão de conídios, para a inoculação das sementes, foi obtida adicionando-se água destilada em placas de Petri contendo o micélio puro de cada patógeno e, com o auxílio de um pincel esterilizado, homogeneizou-se a massa de esporos. A suspensão, depois de filtrada em um funil com gaze, foi coletada em um recipiente de vidro. Em seguida, a concentração da suspensão conidial foi obtida através de leituras em câmara de Neubauer e ajustadas para 10⁵ conídios/mL para cada tratamento. As sementes, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, permaneceram em contato com as suspensões de cada tratamento por 30 minutos. Após secagem em condições ambiente, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica.

Para a inoculação das sementes pelo método da restrição hídrica, utilizou-se BDA acrescido do soluto manitol. Para isso, foram preparadas placas de Petri de vidro de 15 cm de diâmetro, contendo 50 mL de meio BDA com potencial de água de -0,8 MPa (Megapascal), obtido pela suplementação com 33,10 g/L de manitol, segundo COUTINHO et al. (2001).

Discos de colônia pura de cada um dos fitopatógenos foram repicados para o meio com manitol, e mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C por sete dias. Após esse período, as sementes de coentro, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, foram distribuídas sobre o micélio do fungo, correspondente a cada tratamento, em camada única, sendo levemente prensadas, onde permaneceram até momento em que pelo menos uma das sementes apresentasse início de protrusão radicular, o que ocorreu 48 horas após a exposição ao meio. As sementes foram, então,

removidas do meio e colocadas a secar sobre papel filtro, em condições ambiente, por mais 48 horas. Somente após esse processo, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica. Como tratamentos tratamento testemunhas foram utilizados aqueles em que as sementes não sofreram influência da inoculação com os patógenos. Além disso, foi considerado como tratamento testemunha absoluta (T1), aquele em que as sementes não foram submetidas a qualquer procedimento.

2.2.4.3 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado conforme descrito no item 2.2.2, e de acordo com a metodologia proposta pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

2.2.4.4 Teste de primeira contagem de germinação

O teste de primeira contagem foi realizado conjuntamente com o teste de germinação, constituindo o registro da porcentagem de plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada conforme as Regras para Análise de Sementes (1992), aos sete dias.

2.2.4.5 Comprimento de plântula

Avaliou-se o comprimento médio das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas quando submetida à temperatura de 30°C, por sete dias. Após esse período, avaliou-se o comprimento total das plântulas, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. O comprimento médio foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros/plântula, conforme descrito por Nakagawa (1999).

2.2.4.6 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel filtro, umedecido com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos, permanecendo por sete dias em câmara à temperatura constante de 10° C. Após esse período, os mesmos foram transferidos para o germinador (20-30°C) onde permaneceram por mais sete dias, e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

2.2.5 Testes em casa de vegetação

Nessa etapa, os testes foram realizados em ambiente parcialmente controlado, em casa de vegetação.

2.2.5.1 Emergência de plântulas:

O teste de emergência foi realizado utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax[®]. Em cada bandeja foram distribuídas 25 sementes em quatro repetições, totalizando 100 para cada tratamento em cada método de inoculação. Foram feitas irrigações sempre que necessário, e a avaliação ocorreu aos 32 dias após a semeadura, quando a emissão de plantas tornou-se constante, computando-se a porcentagem de plantas normais emergidas.

2.2.5.2 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Este teste foi realizado em conjunto com o de emergência de plântulas em casa de vegetação, onde foram realizadas contagens diárias de plantas emergidas nas bandejas até obter-se número constante. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plantas emergidas a

cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da sementeira, conforme Maguire (1962), pela fórmula:

$$\text{IVE} = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Onde: **IVE** = índice de velocidade de emergência; **E₁**, **E₂**, **E_n** = número de plantas emergidas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem; **N₁**, **N₂**, **N_n** = número de dias de sementeira à primeira, segunda e última contagem.

2.2.5.3 Comprimento de planta:

A avaliação do comprimento de planta foi também realizada em conjunto com o teste de emergência, determinando-se o comprimento da raiz, do hipocótilo e o comprimento total de dez plantas, por repetição, aos 32 dias após a sementeira. Os resultados foram determinados em centímetros, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. Calculou-se o comprimento médio por planta (cm/planta), dividindo o somatório dos valores obtidos pelo número de plantas mensuradas.

2.2.5.4 Número de folhas:

Avaliou-se também, o número de folhas dessas mesmas dez plantas utilizadas no teste anterior, calculando-se uma média aritmética do número de folhas por planta, dividido pelo número de plantas avaliadas.

2.2.5.5 Peso fresco e peso seco de planta:

O peso fresco foi obtido pela pesagem em balança, com precisão de 0.001g, de plantas normais obtidas ao final do teste de emergência. Calculou-se o peso médio somando-se o peso de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g/plantas. Após, para determinação do Peso seco, as plantas foram colocadas em sacos de papel e

acondicionadas em estufa com circulação de ar, regulada a 80 °C, onde permaneceram por um período de 24 horas. A pesagem do material seco foi realizada em balança com precisão de 0,001g, e o peso para cada repetição foi dividido pelo número total de plantas, obtendo-se assim, o peso médio da matéria seca, expresso em grama por planta.

2.2.6 Análise estatística

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, os dados de cada método de inoculação foram submetidos, separadamente, a análise de variância e ao teste F, a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para comparação dos métodos, os dados foram analisados utilizando-se um esquema fatorial 2x3, ou seja, dois métodos de inoculação (suspensão de conídios e restrição hídrica) e três tratamentos (*A. alternata*, *A. dauci* e *A. alternata* + *A. dauci*), também submetidos à análise de variância e teste F, com comparação das médias através do teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, empregando-se o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (ZONTA et al., 1986). Os dados expressos em porcentagens foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$.

2.3 Resultados e Discussão

Inicialmente as sementes de coentro foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação e sanidade. O teor de água das sementes foi de 9,82% e a porcentagem de germinação foi de 86%. Na análise sanitária verificou-se a presença dos seguintes fungos: *Aspergillus* spp (1%), *Alternaria alternata* (3%), *Cladosporium* spp. (10%), *Penicillium* spp. (18%) e *Fusarium* spp. (12%). Esses dados não foram analisados estatisticamente, pois serviram apenas como base para o conhecimento inicial da qualidade do lote adquirido. É possível constatar, que a qualidade inicial do lote de sementes de coentro, de acordo com o teor de água e umidade, não foge ao padrão, ou seja, ao recomendado para hortaliças em geral. Além disso, é evidente a

baixa incidência de patógenos associados às sementes, verificando-se assim, a alta qualidade sanitária do lote adquirido.

2.3.1 Resultados obtidos com sementes de coentro inoculadas com suspensão de conídios

Encontram-se, na Tabela 2.2, os resultados referentes aos testes de laboratório realizados com sementes de coentro inoculadas com suspensão de conídios de *Alternaria* spp.

Na primeira contagem de germinação, os tratamentos aplicados não demonstraram diferenças significativas entre si, assim como não houve a interferência dos fungos na porcentagem de plântulas anormais. No primeiro caso, onde a primeira contagem de germinação de sementes de coentro é realizada aos sete dias após a semeadura (BRASIL, 1992), a não interferência dos agentes patogênicos na qualidade das sementes pode ter sido decorrente de particularidades dos mesmos, pois além das características do patossistema, a ação de fungos depende de condições favoráveis para seu desenvolvimento e colonização efetiva no hospedeiro. Patógenos, que se associam a sementes, tornam-se ativos somente quando em condições ambientais favoráveis (SANTOS et al, 2005). Por outro lado, também não foram observadas diferenças significativas por Torres (1998), ao avaliar a primeira contagem para milho, constando que este teste não foi sensível o suficiente para diferenciar os lotes em níveis de vigor. Tal fato pode ser atribuído à baixa sensibilidade do referido teste em detectar pequenas diferenças de vigor (MARCOS FILHO et al., 1987) que podem ser resultantes da associação de patógenos.

Os resultados obtidos avaliando-se a porcentagem de plântulas anormais demonstraram que os patógenos não contribuem para a má formação das plântulas de coentro, resultantes de sementes inoculadas. No teste de germinação, no entanto, observam-se diferenças entre os tratamentos onde as sementes inoculadas com *A. alternata* e com *A. dauci* apresentaram decréscimo na porcentagem germinativa. Apesar da inoculação com *A. alternata* não diferir dos tratamento testemunhas, nota-se que a presença do mesmo contribuiu, não tão expressivamente quanto *A. dauci* para ocorrência de menores índices de

germinação. Resultados semelhantes foram relatados, recentemente, em uma investigação feita com lotes de sementes de coentro, a qual revelou que a incidência de *A. dauci* e *A. alternata* interferiu, de forma significativa, na germinação das sementes (TOGNI et al., 2005).

Tabela 2.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	81 a [*]	86 a	2 a	1b	7,05 a	82 a
T2	49 a	82 a	3 a	0 b	2,81 b	67 b
T3	42 a	76 ab	5 a	9 a	2,41 b	31 c
T4	41 a	63 b	12 a	19 a	2,71 b	26 c
T5	42 a	66 b	8 a	21 a	2,56 b	31 c
CV (%)	29,16	7,01	47,50	27,85	19,66	6,22

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*.

O teste de frio seguiu a mesma tendência de resultados obtidos no teste de germinação, pois também demonstrou que a presença das espécies de *Alternaria*, associadas com as sementes, resultou em menores índices de plântulas normais de coentro. A realização do teste de frio, o qual se baseia no princípio de exposição das sementes a um estresse de baixa temperatura e alta umidade, permite um diagnóstico mais seguro no que diz respeito à qualidade de sementes. Essa característica, verificar o desempenho quanto à formação de plântulas normais, de lotes de sementes semeadas em condições adversas (CASAROLI, 2005), segundo Marcos Filho (2001), insere o teste de frio entre os mais indicados para compor um programa de qualidade de sementes. Pois, muitas vezes, o teste de germinação fornece subsídios para fins de semeadura, no entanto, nada garante sobre a expressão da qualidade das sementes, pois é realizado em condições ótimas e com isso permite que sementes menos vigorosas originem plântulas consideradas como normais (KIKUTI et al., 1999).

A interferência dos patógenos nas sementes de coentro é ratificada quando se observa que os tratamentos em que as mesmas encontravam-se inoculadas, tanto com as espécies isoladas quanto em conjunto, contribuíram para o aumento na

porcentagem de sementes mortas. Entretanto, na avaliação do comprimento de plântulas, as sementes submetidas à inoculação não diferiram entre si, mas apenas do tratamento testemunha absoluta.

Os testes, realizados em casa de vegetação (Tabela 2.3), demonstraram a ação desfavorável dos fungos na porcentagem e na velocidade de emergência das plântulas, embora sementes inoculadas com *A. alternata* também não se diferenciaram do tratamento testemunha de inoculação, observa-se que o patógeno proporcionou decréscimos na maioria das variáveis analisadas. No entanto, não se observaram diferenças significativas, entre os tratamentos, para as demais variáveis analisadas.

Esse resultado demonstrou que, uma vez que a semente origine uma planta, a mesma não será prejudicada pela ação dos patógenos, ou seja, *A. alternata* e *A. dauci* podem estar atuando, direta e exclusivamente, na semente. Nos trabalhos de Togni et al. (2005), foram encontrados resultados diferenciados, pois a presença desses dois fungos, além de prejudicar a germinação, também interferiram no desenvolvimento das plântulas. Porém, Reis et al. (2006) verificaram que, para coentro, o fungo *A. alternata* está associado com sementes apenas como saprófita, não ocasionando prejuízo nenhum no desenvolvimento da cultura.

Tabela 2.3 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	91 a*	1,63 a	0,28 a	0,03 a	13,24 a	7,46 a	20,60 a	3 a
T2	92 a	1,59 ab	0,45 a	0,04 a	12,42 a	9,47 a	21,88 a	3 a
T3	85 ab	1,52 ab	0,33 a	0,04 a	10,54 a	8,46 a	19,00 a	3 a
T4	74 b	1,35 b	0,33 a	0,03 a	12,22 a	8,27 a	20,49 a	3 a
T5	75 b	1,35 b	0,34 a	0,03 a	11,27 a	8,80 a	20,08 a	3 a
CV (%)	6,97	8,19	42,06	21,86	18,68	23,11	12,44	10,84

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **T1**: tratamento testemunha absoluta; **T2**: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); **T3**: suspensão de *A. alternata*; **T4**: suspensão de *A. dauci*; **T5**: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*.

Diante dos resultados observados, verifica-se que as duas espécies de *Alternaria*, inoculadas com suspensão de esporos, são prejudiciais à qualidade de sementes de coentro, interferindo na germinação, na porcentagem de morte de sementes, no vigor (observado no teste de frio), na porcentagem de emergência das

plantas. No entanto, as demais variáveis analisadas, porcentagem de plântulas anormais, peso fresco e peso seco de plantas, velocidade de emergência, comprimento de raiz, hipocótilo e total, demonstraram que *A. alternata* e *A. dauci* não influenciam no desenvolvimento das plantas oriundas de sementes inoculadas.

2.3.2 Resultados obtidos com a inoculação das sementes de coentro através da metodologia da restrição hídrica

Os testes realizados foram sensíveis para distinguir diferenças significativas e indicar uma tendência de estratificação quanto à qualidade das sementes, pois a presença de *A. alternata* e *A. dauci* influenciou negativamente, principalmente, no tratamento de inoculação onde esses patógenos encontravam-se juntos (Tabela 2.4).

No teste de primeira contagem, observa-se que o vigor das sementes inoculadas foi prejudicado, sendo que o tratamento mais nocivo foi aquele que continha ambas as espécies de *Alternaria*. Diferente dos métodos usuais de inoculação, a metodologia da restrição hídrica, ou seja, o uso de substrato agarizado complementado por um soluto, permite a exposição direta das sementes à colônia fúngica por um tempo relativamente maior, baseado no princípio de controle de germinação (MACHADO, 2001b). Esse fato pode ter favorecido e/ou garantido a infecção das sementes de coentro, promovendo assim, a expressão dos patógenos já na primeira contagem de germinação.

O teste de germinação seguiu a mesma tendência do anterior, sementes inoculadas com os fungos demonstraram menores potenciais germinativos, mesmo não diferindo daqueles em que as sementes encontravam-se associadas com ambas as espécies fúngicas isoladas, o tratamento em que as sementes foram inoculadas com os dois patógenos destacou-se como mais nocivo.

Para alguns autores como: Delouche (1974), Marcos Filho et al. (1987), Marcos Filho (1999), Carvalho; Nakagawa (2000), Miguel et al. (2001), Franco; Petrini (2002), o teste de germinação é utilizado para medir a viabilidade e estimar a emergência em campo quando a semeadura é realizada em condições ideais de solo. Tais condições raramente ocorrem e esse parâmetro de avaliação da viabilidade sobreestima a emergência a campo, em porcentagens variáveis. No

presente trabalho, observa-se que o teste de germinação foi sensível quanto à diferenciação dos tratamentos, pois, sementes inoculadas com *A. alternata* e *A. dauci* resultaram em diminuição na porcentagem de plântulas normais, e esses mesmos resultados foram obtidos na avaliação do vigor através do teste de frio. Esse teste é bastante eficiente na determinação do potencial fisiológico de sementes de milho (KRZYZANOWSKI et al., 1991; CARVALHO et al., 2004), no entanto, alguns autores já demonstram sua eficácia na avaliação de sementes de hortaliças, como maxixe (TORRES et al., 1999) e tomate (RODO et al., 1998).

Tabelas 2.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	81 a*	86 a	2 c	9 ab	7,04 a	82 a
T2	77 a	77 ab	0 c	6 b	7,09 a	69 a
T3	56 b	57 bc	24 b	12 ab	5,43 a	71 a
T4	55 b	55 bc	22 b	11 ab	1,89 b	69 a
T5	18 c	29 c	57 a	22 a	5,14 a	54 b
CV (%)	12,08	16,19	21,58	28,71	23,07	11,28

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **T1**: tratamento testemunha absoluta; **T2**: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); **T3**: BDA + manitol + *A. alternata*; **T4**: BDA + manitol + *A. dauci*; **T5**: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*

Quando se avaliou o comprimento das plântulas, o tratamento que continha sementes de coentro inoculadas com *A. dauci* destacou-se dos demais, por apresentar grande influência desse patógeno no crescimento das mesmas. No entanto, assim como na germinação e primeira contagem, o tratamento que continha *A. alternata* e *A. dauci* juntos foi o que ocasionou a maior porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas, sendo que esta última variável também foi influenciada pelos tratamentos que continham os dois patógenos isolados, os quais também não diferiram dos tratamentos testemunhas.

No entanto, quando se avalia a emergência de plântulas em casa de vegetação (Tabela 2.5) não se observaram as mesmas diferenças identificadas no teste de germinação. Esses resultados confirmam que, em alguns casos, a germinação realizada em laboratório pode obter resultados distintos daqueles observados fora de ambiente controlado, como casa de vegetação. Isto é devido ao fato de que, o vigor das sementes integra fatores que vão além da simples

viabilidade (FRANCO; PETRINI, 2002) verificada no teste de germinação. O vigor de sementes, portanto, é uma soma de atributos, os quais conferem a semente o potencial para germinar, emergir e resultar rapidamente em plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais (HÖFS et al., 2004).

Houve pouca ou nenhuma variação significativa, entre os tratamentos, nos dados obtidos em casa de vegetação (Tabela 2.5). As plantas derivadas do teste de emergência não mostraram diferenças quando avaliadas quanto ao peso fresco e seco, comprimento da parte aérea (hipocótilo) e nem no número de folhas. E, os demais testes, emergência de plântulas, velocidade de emergência, comprimento da raiz e comprimento total exibiram apenas uma diferenciação dos demais tratamentos em relação ao tratamento testemunha absoluta.

Tabela 2.5 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de coentro, cultivar Verdão, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	91 a*	1,63 a	0,37 a	0,03 a	13,14 a	7,46 a	20,60 a	3 a
T2	61 b	1,21 ab	0,38 a	0,04 a	5,47 b	6,59 a	12,06 b	3 a
T3	43 b	0,91 b	0,26 a	0,04 a	4,65 b	6,48 a	11,13 b	3 a
T4	40 b	0,75 b	0,27 a	0,05 a	4,79 b	5,60 a	10,40 b	3 a
T5	55 b	0,91 b	0,25 a	0,04 a	5,33 b	6,31 a	12,99 b	3 a
CV (%)	19,06	25,6	23,09	31,12	18,36	14,25	14,89	10,84

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **T1**: tratamento testemunha absoluta; **T2**: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); **T3**: BDA + manitol + *A. alternata*; **T4**: BDA + manitol + *A. dauci*; **T5**: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*

Portanto, a associação de *A. alternata* e *A. dauci* com sementes de coentro, inoculados através da metodologia da restrição hídrica, resulta em perdas significativas na qualidade das mesmas, no entanto não promove grandes influências no desenvolvimento das plantas.

2.3.3 Resultados obtidos na avaliação do comportamento fúngico nos diferentes métodos de inoculação

Houve efeito significativo da interação entre os métodos de inoculação e os tratamentos fúngicos sobre a porcentagem de plântulas anormais e o comprimento

de plântulas, assim como para o teste de frio, através da análise fatorial, conforme se observa na Tabela 2.6.

De acordo com a Tabela 2.6, pode-se constatar que, no método de suspensão de conídios, os tratamentos com as espécies de *Alternaria* não demonstraram diferença entre si em nenhuma das variáveis analisadas. No entanto, pela metodologia da restrição hídrica, pode-se dizer que *A. alternata* e *A. dauci* influenciaram na qualidade final das sementes, enquanto que o tratamento apenas com *A. dauci* foi o mais prejudicial para o desenvolvimento das plântulas, quando comparado com os demais tratamentos, o que pode ser verificado pela avaliação do comprimento.

Tabela 2.6 Médias de Plântula Anormais, Comprimento de Plântula e Teste de Frio, obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria spp.* em sementes de coentro, cultivar Verdão. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Plântulas Anormais (%)		Comprimento de Plântula (cm)		Teste de Frio (%)	
	Métodos		Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	5 aB*	24 bA	2,41 aB	5,43 aA	31 aB	71 aA
<i>A. dauci</i>	12 aA	22 bA	2,70 aA	1,88 bA	26 aB	69 aA
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	8 aB	57 aA	2,55 aB	5,14 aA	31 aB	45 bA
CV (%)	22,91		22,61		9,66	

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **S**: suspensão de conídios; **RH**: restrição hídrica.

Nesse caso, o método da restrição hídrica, utilizando manitol como soluto, demonstrou ser mais sensível na detecção de diferenças no comportamento de cada um dos patógenos. Essa técnica propicia uma modificação nas condições originais do meio onde a mesma interage, as condições favoráveis ao condicionamento osmótico variam amplamente em função das características das sementes de cada espécie, cultivar, e, possivelmente, entre lotes de uma mesma cultivar, em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos (HEYDECKER et al., 1975; BRADFORD, 1986). Desta forma, o potencial hídrico irá influenciar, de maneira diferente e individualizada, na germinação e desenvolvimento da plântula de cada espécie vegetal.

Apesar disso, verifica-se na Tabela 2.7 que as espécies de *Alternaria* se comportaram da mesma forma, para a maioria das variáveis, independente da metodologia de inoculação utilizada. Apenas o teste de germinação e a porcentagem

de sementes mortas apresentaram diferenciação na ação dos fungos estudados. Sendo que, sementes inoculadas com *A. dauci*, tanto isolado quanto em conjunto com *A. alternata*, acarretaram menores porcentagens germinativas e maior número de sementes mortas.

Esses resultados confirmam que, ambos os métodos de inoculação de sementes demonstraram eficiência em proporcionar contaminação das sementes de coentro, permitindo, assim, avaliação da qualidade das mesmas. Resultados semelhantes foram obtidos por Junges et al. (2008a), com inoculação de sementes de cenoura tanto com suspensão de conídios, como com o uso da restrição hídrica (JUNGES et al. 2008b), ambos os métodos foram eficientes para diferenciar o potencial fisiológico da sementes em detrimento da associação das mesmas com espécies de *Alternaria*.

Conforme os resultados obtidos, para cada um dos métodos analisados separadamente, e a análise conjunta dos mesmos, pode-se confirmar que a associação de *A. dauci* e *A. alternata* teve influencia sobre a qualidade de sementes de coentro.

Tabela 2.7 Médias de Primeira Contagem (PC), Germinação (G), Sementes Mortas (SM), Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total (CT) e Número xde Folhas (NF) obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria* spp. em sementes de coentro. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Primeira Contagem de Germinação (%)			Germinação (%)		
	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	41	56	48 a	76	57	67 a
<i>A. dauci</i>	41	55	48 a	63	55	59 ab
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	42	18	29 a	66	29	47 b
Média	41 A	42 A		68 A	47 B	
CV (%)	27,2			15,56		
Fungos	Semente Morta (%)			Emergência de Plântulas (%)		
	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	9	12	11 b	85	41	66 a
<i>A. dauci</i>	19	11	15 ab	74	39	57 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	21	22	21 a	76	48	66 a
Média	16 A	15 A		78 A	46 B	
CV (%)	23,35		15,67			

Índice de Velocidade de Emergência				Peso Fresco (g)		
Fungos	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	1,53	0,91	1,22 a	0,41	0,26	0,33 a
<i>A. dauci</i>	1,36	0,75	1,05 a	0,33	0,27	0,30 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	1,35	0,91	1,12 a	0,34	0,25	0,29 a
Média	1,41 A	0,86 B		0,36 A	0,26 B	
CV (%)	23,3			24,21		
Peso Seco (g)				Comprimento de raiz (cm)		
Fungos	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	0,04	0,03	0,04 a	10,54	4,65	7,50 a
<i>A. dauci</i>	0,03	0,05	0,04 a	12,42	4,79	8,60 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	0,03	0,03	0,03 a	11,27	5,33	8,30 a
Média	0,03 A	0,04 A		11,41 A	4,93 B	
CV (%)	22,94			19,53		
Comprimento do Hipocótilo (cm)				Comprimento Total (cm)		
Fungos	Métodos			Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	8,46	6,48	7,47 a	19	11,13	15,07 a
<i>A. dauci</i>	8,27	5,6	6,93 a	20,49	10,4	15,44 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	8,8	6,32	7,56 a	20,08	12,99	16,54 a
Média	8,51 A			20 A	11 B	
CV (%)	12,39			13,37		
Número de Folhas						
Fungos	Métodos					
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média			
<i>Alternaria alternata</i>	3	3	3 a			
<i>A. dauci</i>	3	3	3 a			
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	3	3	3 a			
Média	3 A	3 A				
CV (%)	9,36					

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade;

Em estudos realizados com sementes de coentro, essas duas espécies foram encontradas em porcentagens de incidência relativamente altas nas sementes (PEREIRA et al. 2005). Além disso, nos últimos anos, principalmente na época chuvosa, tem-se observado alta incidência e severidade da queima das folhas em

coentro, causada por *Alternaria dauci* (REIS et al., 2003), patógeno que pode ser transmitido por sementes (TRIGO et al., 1997; TOGNI et al., 2005; REIS et al., 2006). Portanto, a espécie *A. dauci* pode se tornar problema sério para o cultivo do coentro, sendo transmitido da semente para as plântulas de maneira eficiente. Com isto ocorrendo já no início do desenvolvimento da lavoura, o problema torna-se mais grave, pois epidemias iniciando muito cedo podem comprometer a cultura (REIS et al., 2006). Porém *A. alternata*, para algumas espécies de plantas, é considerado agente saprofítico, no entanto, vários trabalhos comprovaram a patogenicidade desse fungo a diversas culturas como: girassol (UNGARO; AZEVEDO, 1984); feijoeiro (GOMES; DHINGRA, 1983; ROLIM et al., 1990); batata (BOITEUX; REIFSCHNEIDER, 1993) e tomateiro (CHELLEMI; MUELLER, 1995), citrus (BARMORE et al., 1984), melão e outras cucurbitáceas (SHAHDA et al., 1995), demonstrando que o mesmo, assim como *A. dauci*, também pode ser um patógeno prejudicial ao cultivo de coentro.

2.4 Conclusões

- A associação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* é prejudicial à qualidade fisiológica de sementes de coentro.
- A inoculação através de suspensão de conídios e restrição hídrica é eficiente na contaminação de sementes de coentro por *A. alternata* e *A. dauci*.

2.5 Referências

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1987. 175p.

ALBUQUERQUE, M. C. F. **Desempenho germinativo e testes de vigor para sementes de girassol, milho e soja, semeadas sob condições de estresse ambiental**. 2000. 161 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção e Tecnologia de Sementes) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 2000.

BAKER, K. Seed pathology. In: KOZLOWSKI, T. (ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v.2, p.317-416.

BARMORE, C. R.; BROWN, G. E.; YOUTSEY, C. O. Fungicide control of albinism on citrus seedlings caused by *Alternaria tenuis*. **Plant Disease**, St. Paul. v. 68, p.43-44. 1984.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.

BOITEUX, L. S.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. *Alternaria alternata* como agente causal de lesões foliares em batata (*Solanum tuberosum*) no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.18, p.454-457, 1993.

BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **Hortscience**, Alexandria, v.21, n.5, p.1105-1112, 1986.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, H. W. L. et al. Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no Nordeste brasileiro. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.9, n.1, p.118-125, 2004.

CASAROLI, D. **Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de abóbora variedade Menina Brasileira**. 2005. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

CHELLEMI, D. O.; MUELLER, D. A new *Alternaria* leaf blight disease on tomato in North Florida. **Plant Disease**, St. Paul. v.79, p.426. 1995.

COUTINHO, W. M. et al. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.127-135, 2001.

DELOUCHE, J. C.. Maintaining soybean seed quality. In: **Soybean: Production, Marketing, and Use**. NFDC, TVA, Muscle Shoals, Alabama. Bull. Y.69, p. 46-62, 1974.

FEODOROVA, R. N. Situação da sanidade de sementes na União Soviética - URSS. **Informativo ABATES**, Londrina, v.1, n.3, p.35-36. 1991.

FRANDO, D. F.; PETRINI, J. A. **Teste de vigor em sementes de arroz**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2002. 2 p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 68).

GOMES, J. L. L.; DHINGRA, O. D. *Alternaria alternata* - A serious pathogen of white colores snap bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.8, p.173-177. 1983.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y. J. Invigoration of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.3, n.3, p.881- 888, 1975.

HENZ, G. P.; LOPES, C. A. Doenças das apiáceas. In: ZAMBOLIN L; VALE FXR; COSTA H. (eds). **Controle de doenças de plantas hortaliças**. Viçosa, UFV. cap.14, p. 445-521, 2000.

HÖFS, A.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. BARROS, A. C. S. A. Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.1, p.92-97, 2004.

JUNGUES, E., et al. Qualidade de sementes de cenoura inoculadas com espécies de *Alternaria* através da restrição hídrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

OLERICULTURA, 48, 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008a. 1 CD –ROM.

JUNGES, E., et al. Influência de *Alternaria alternata* e *Alternaria dauci* na qualidade fisiológica de sementes de cenoura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48, 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008 b. 1 CD - ROM.

KIKUTI, A. L. P.; VON PINHO, E. V. R.; REZENDE, M. L. Estudos de metodologias para condução do teste de frio em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.2, p.175-179, 1999.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, n.2, p. 15-50, 1991.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

MACHADO, J. C. et al. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.95-101, 2001a.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.88-94, 2001b.

MACHADO, J. C., LANGERAK, C. J. General incubation methods for routine seed health analysis. In: MACHADO, J. C, LANGERAK, C. J., JACCOUD-FILHO, D. S. (Eds.) **Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis**. International Seed Testing Association. p. 48-80, 2002.

MAGUIRE, J. D. Spread of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MARCOS FILHO, J. Conceitos e testes de vigor para sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. Londrina, 1999. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1999. p.220-226.

MARCOS FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.3, p. 63-75, 2001.

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. São Paulo SP. CibaAgro. 1995.

MIGUEL, M. H. et al. Teste de frio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 38, n. 4, p. 741-746, 1999.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKY, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.2-1 – 2-21.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mc Millan, 1979. v.2, 1119p.

PEDROSA, J. F. Aspectos gerais da cultura do coentro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.120. p. 60-64, 1984.

PEREIRA, R. S; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23,n.3, p.703-706, 2005.

PERES, A. P. **Detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e soja (*Glycine max* (L.) Merri): desenvolvimento de metodologias**. 1996. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

REIS, A. et al. *Alternaria dauci*, agente de manchas foliares em salsa e coentro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.202-203, 2003.

REIS, A. et al. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, p. 107-11, 2006.

RODO, A. B.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F. A. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.23-23, 1998.

ROLIM, P. R. R.; CENTURION, M. A. P. C.; MENTEN, J. O. M. *Alternaria* sp. em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*): incidência na semente, tipos morfológicos, patogenicidade e transmissibilidade de diferentes isolados. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna. v.16, p.130-139. 1990.

SHAHDA, W. T.; AL-RAMA, A. N. A. N.; RAGEH, S. A. Dampingoff of some cucurbitaceous crops in Saudi Arabia with reference to control methods. **Journal of Phytopathology**, Hamburg. v.143, p.59-63. 1995.

SANTOS, F. S. et al. Ajuste do inóculo de *Rhizoctonia solani* em substrato para estudos de Rizoctoniose em algodão e feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.4, p. 373-375, 2005.

SILVA, L. A. **Condimentos e especiarias**: Pesquisa, organização e construção. 2007. Disponível em: <<http://web.matrix.com.br/mariabene/condimentoseespeciarias.htm>>. Acesso em: 28 de nov. 2008.

TANAKA, M. A. S. Importância da utilização de sementes sadias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v.8, n.91, p.31-34. 1982.

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos de inoculação de sementes de algodoeiro com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *C. gossypii*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 17, p. 218-226, 1991.

TOGNI, D. A. J. et al. Incidência e transmissão de patógenos em sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, p. 31- 76, suplemento, 2005.

TORRES, S. B. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.55-59, 1998.

TORRES, S. B. et al. Correlação entre testes de vigor em sementes de maxixe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.6, p.1075-1080, 1999.

TRIGO, M. F. O. O.; TRIGO, L. F. N.; PIEROBOM, C. R. Fungos associados às sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, p. 214-218, 1997.

UNGARO, M. R. G.; AZEVEDO, J. L. Controle de *Alternaria alternata* in vitro com zineb, captan e benomil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.9, p.89-100. 1984.

VIGGIANO, J. Produção de sementes de algumas umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.120. p. 60-64, 1984

VIRGÍLIO, I. G. F. Sementes da mudança. **Agroanalysis**, p.13-15, agosto, 2001.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150p.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DE *Alternaria alternata* E *A. dauci* NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SALSA INOCULADAS SOB DOIS MÉTODOS

RESUMO

A salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] é uma apiácea herbácea, condimentar, suas folhas são comercializadas em maços grandes ou em molhos pequenos junto à cebolinha. São poucas as informações agrônômicas sobre a influência de patógenos na qualidade de sementes dessa olerícola. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da associação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de salsa inoculadas sob dois diferentes métodos. Os isolados de *A. dauci* e *A. alternata* foram obtidos, respectivamente, de plantas de cenoura com sintomas da doença e de sementes de salsa, da cultivar Lisa comum, submetidas a um teste inicial de sanidade (Blotter Test). Os tratamentos de inoculação para suspensão consistiram em: tratamento testemunha (água destilada e esterilizada), suspensão de conídios de *A. alternata*, suspensão de conídios de *A. dauci* e suspensão de conídios de ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*). Para restrição hídrica: BDA + manitol (tratamento testemunha); BDA + manitol + *A. alternata*; BDA + manitol + *A. dauci*; BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por um conjunto de testes realizados em condições controladas de laboratório e em casa de vegetação. Sementes de salsa têm sua qualidade prejudicada pela associação com *A. alternata* e *A. dauci* em condições de laboratório, não se observando os mesmos resultados em casa de vegetação. Além disso, a utilização do manitol como um restritor hídrico, revela-se ser altamente eficaz para a obtenção de sementes infectadas por *A. dauci* na cultura da salsa, permitindo assim a avaliação da ação do patógeno na qualidade das sementes.

Palavras-chave: *Petroselinum crispum*, suspensão de conídios, restrição hídrica.

ABSTRACT

INFLUENCE OF *Alternaria alternata* AND *A. dauci* IN the PHYSIOLOGIC QUALITY OF PARSLEY SEEDS INOCULATED UNDER TWO METHODS

The parsley [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] is a herbaceous Apiacea, to season, their leaves are marketed in big bundles or in small sauces close to the green onion. They are few the agronomic information on the pathogens influence in the quality of seeds of that vegetable. Therefore, the objective of that work was to evaluate the effect of the association of it would *Alternaria alternata* and *A. dauci* in the physiologic quality of parsley seeds inoculated under two different methods. The isolated of *A. dauci* and *A. alternata* were obtained, respectively, of carrot plants with symptom of the disease and of parsley seeds, c.v. Lisa Comum, submitted to an initial sanity test (Blotter Test). The inoculation treatments for suspension consisted in: testifies (distilled water and sterilized), conidial suspension of *A. alternata*, conidial suspension of *A. dauci* and conidial suspension of both species (*A. alternata* + *A. dauci*). For restriction hidric: PDA + manitol (testifies); PDA + manitol + *A. alternata*; PDA + manitol + *A. dauci*; PDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. The physiologic quality of the seeds was evaluated by a group of tests accomplished in controlled conditions of laboratory and vegetation home. Parsley seeds have prejudiced quality for the association with *A. alternata* and *A. dauci* in laboratory conditions, if not observing the same results green house. Besides, use of the manitol as a restritor hidric, is revealed to be highly effective for the obtaining of seeds infected by *A. dauci* in the culture of the parsley, allowing like this the evaluation of the action of the pathogen in the quality of the seeds.

Key words: *Petroselinum crispum*, suspension conidial, restriction hidric

3.1 Introdução

A salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] é uma planta pertencente à família Apiaceae, que atinge sua importância não pelo volume ou valor de comercialização, mas pela ampla utilização comercial como condimento e também para fins medicinais. Popularmente, a salsa é conhecida como salsinha, sendo comercializada para consumo, *in natura*, sozinha ou em conjunto com a cebolinha (*Allium fistulosum* L.) compondo o condimento conhecido como cheiro verde (HEREDIA et al., 2003). Essa hortaliça é originária dos países mediterrâneos, atualmente é cultivada praticamente em todo o mundo e, no Brasil, seu cultivo acontece desde o início da colonização. Apresenta porte herbáceo e adapta-se melhor a temperaturas amenas, sendo semeada no outono-inverno, e até mesmo ao longo do ano em regiões altas (ZARATE et al., 2002; FILGUEIRA, 2003).

O sucesso da produção de hortaliças, como a salsa, é dependente, dentre outros aspectos, do estabelecimento das plântulas no campo, fator esse diretamente relacionado com a germinação e vigor das sementes. Assim, sementes de alta qualidade é busca constante daqueles envolvidos na cadeia produtiva de hortaliças (NASCIMENTO, 2000).

Nesse contexto, um fator de extrema importância quando se trata de qualidade de sementes é a qualidade sanitária. Essa característica deve ser avaliada, uma vez que a associação de patógenos com sementes não se limita a perdas diretas de população no campo, mas abrange também uma série de outras implicações que, de forma até mais acentuada, pode levar a danos irreparáveis a todo sistema agrícola.

Para a determinação do potencial fisiológico das sementes quando se estuda a associação das mesmas com patógenos, é necessária a utilização de ferramentas como os métodos de inoculação de sementes.

Em diversos estudos com a maioria dos fungos, a inoculação de sementes tem sido tradicionalmente realizada por meio do método da embebição das mesmas em suspensão de inóculo, como conídios. Como alternativa aos métodos tradicionais e baseada no princípio de controle de germinação, a metodologia de inoculação sobre meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), utilizando a técnica de

restrição hídrica, tem sido empregada na promoção de infecção de sementes com fungos fitopatogênicos (MACHADO et al., 2001a).

O gênero *Alternaria* apresenta espécies que merecem atenção no meio agrícola, por serem agentes causais de significantes doenças que ocorrem em hortaliças. As alternarioses, em nível mundial, encontram-se entre as doenças fúngicas mais comuns e importantes entre as hortícolas (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004). Para cultura da salsa, a mancha de alternaria, que é relatada entre as principais doenças da cultura, é causada por *Alternaria* spp. (SALSINHA, 2008). Em termos de sementes, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl e *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko são espécies que se destacam, pois figuram entre os principais patógenos que se associam com sementes em apiáceas. O fungo *A. dauci* pode ser destrutivo a cultura de cenoura e coentro, além disso, é comprovadamente veiculado e transmitido, eficientemente, por sementes de *Coriandrum sativum* (REIS et al., 2006). No entanto, pouco se sabe sobre a interação dessas espécies, *A. alternata* e *A. dauci*, e sementes de salsa, especialmente, quando se trata de sua influência na qualidade das mesmas. Portanto, o trabalho objetivou avaliar o efeito da associação de *A. alternata* e *A. dauci* no potencial fisiológico de sementes de salsa inoculadas com suspensão de conídios e utilizando restrição hídrica.

3.2 Material e Métodos

O trabalho foi realizado em duas etapas, a primeira consistiu de experimentos em laboratório, os quais foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária e no Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes do Departamento de Fitotecnia. Na segunda etapa, foram realizados estudos em casa de vegetação, desenvolvidos nas instalações dos mesmos Departamentos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Foram utilizadas sementes de salsa, da cultivar Lisa Comum, provenientes do cultivo agroecológico, da marca comercial Bionatur[®], produzidas em Candiota, RS, sem qualquer tipo de tratamento químico, produzidas na safra 2006/2007. Logo após o recebimento, as sementes foram submetidas à avaliação inicial de qualidade, através das seguintes determinações e testes:

3.2.1 Teor de água

O teor de água das sementes foi determinado com base no peso úmido, pelo método de estufa a alta temperatura, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Utilizaram-se duas subamostras de 5g de peso úmido de sementes, colocadas em estufa a uma temperatura constante de 105 °C, com oscilações possíveis de $\pm 3^{\circ}$ C, durante um período de 24 horas. Após esse período, as subamostras secas foram pesadas. O resultado final foi expresso pela média aritmética em porcentagens das subamostras. O teor de água da semente foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\% U = \frac{PU - PS}{PU - T} \times 100$$

Onde: **PU**= peso úmido da semente + peso do recipiente; **PS** = peso seco da semente + peso do recipiente; **T** = tara (recipiente).

3.2.2 Teste de Germinação

O teste de germinação foi conduzido com 200 sementes, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram semeadas em caixas plásticas tipo gerbox, sobre três folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas foram mantidas em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas, quando submetidas à temperatura de 30 °C. As contagens foram realizadas aos sete e 14 dias após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, avaliando-se também a porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas.

3.2.3 Análise sanitária

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro ou “Blotter Test”. Utilizou-se uma amostra de 200 sementes de salsa, dividida em quatro repetições de 50, colocadas em caixas plásticas do tipo "gerbox", previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, sob duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25°C, com 12 horas de regime de luz, durante 24 horas. Em seguida, para a inibição da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 horas. Após esse procedimento, foram então incubadas a 25°C por sete dias, com 12 horas de regime de luz conforme metodologia proposta por Brasil (1992). As análises foram realizadas com o auxílio de lupa e microscópio óptico para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados ao nível de gênero, com o auxílio da bibliografia especializada de Barnett e Hunter (1998), determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos.

Após a realização dos testes iniciais, foram desempenhados os seguintes procedimentos para instalação dos experimentos:

3.2.4 Testes em laboratório

Os testes a seguir descritos foram realizados em condições controladas de laboratório.

3.2.4.1 Obtenção do inóculo

O fungo *Alternaria alternata*, utilizado nesse trabalho, foi obtido a partir de sementes de salsa submetidas ao teste inicial de sanidade (Blotter Test). Já *Alternaria dauci* foi proveniente de folhas de cenoura com sintomas de doença. Os mesmos foram isolados a partir das respectivas fontes de inóculo, e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (extrato de 200g de batata, 20g de dextrose e 20g de ágar em 1000 mL de água destilada). Após sete dias de

incubação a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, os patógenos foram repicados, e assim procedeu-se até a obtenção de colônias puras. Essas colônias purificadas foram mantidas a 25° C no escuro, para facilitar a esporulação. A partir disso, avaliaram-se as metodologias para inoculação das sementes.

3.2.4.2 Inoculação das sementes

A inoculação das sementes foi realizada de duas formas. Na primeira, utilizou-se uma suspensão de conídios a partir dos isolados de *Alternaria*. Na segunda, as sementes foram inoculadas através da restrição hídrica, utilizando-se como restritor manitol (C6H14O6). Os tratamentos foram organizados conforme a Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Tratamentos de inoculação das sementes de salsa com suspensão de conídios e restrição hídrica, utilizando como soluto: manitol. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	Métodos de Inoculação	
	Suspensão de conídios	Restrição Hídrica
T2	Tratamento testemunha (água estéril)	Tratamento testemunha (meio + manitol)
T3	Suspensão de <i>A. alternata</i>	Meio+ manitol + <i>A. alternata</i>
T4	Suspensão de <i>A. dauci</i>	Meio+ manitol + <i>A. dauci</i>
T5	Suspensão de <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	Meio + manitol + <i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>

A suspensão de conídios, para a inoculação das sementes, foi obtida adicionando-se água destilada em placas de Petri contendo o micélio puro de cada patógeno e, com o auxílio de um pincel esterilizado, homogeneizou-se a massa de esporos. A suspensão, depois de filtrada em um funil com gaze, foi coletada em um recipiente de vidro. Em seguida, a concentração da suspensão conidial foi obtida através de leituras em câmara de Neubauer e ajustadas para 10⁵ conídios/mL para cada tratamento. As sementes, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, permaneceram em contato com as suspensões de cada tratamento por 30 minutos. Após secagem em condições ambiente, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica.

Para a inoculação das sementes pelo método da restrição hídrica, utilizou-se BDA acrescido do soluto manitol. Para isso, foram preparadas placas de Petri de vidro de 15 cm de diâmetro, contendo 50 mL de meio BDA com potencial de água de -0,8 MPa (Megapascal), obtido pela suplementação com 33,10 g/L de manitol, segundo COUTINHO et al. (2001).

Discos de colônia pura de cada um dos fitopatógenos foram repicados para o meio com manitol, e mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C por cinco dias. Após esse período, as sementes de salsa, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, foram distribuídas sobre o micélio do fungo, correspondente a cada tratamento, em camada única, sendo levemente prensadas, onde permaneceram até o momento em que pelo menos uma das sementes apresentasse início de protrusão radicular, o que ocorreu 48 horas após a exposição ao meio. As sementes foram, então, removidas do meio e colocadas a secar sobre papel filtro, em condições ambiente, por mais 48 horas. Somente após esse processo, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica. Como tratamentos testemunhas foram utilizados aqueles em que as sementes não sofreram influência da inoculação com os patógenos. Além disso, foi considerado como tratamento testemunha absoluta (T1), o tratamento em que as sementes não foram submetidas a qualquer procedimento.

3.2.4.3 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado conforme descrito no item 3.2.2, conforme metodologia proposta pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

3.2.4.4 Teste de primeira contagem de germinação

O teste de primeira contagem foi realizado conjuntamente com o teste de germinação, constituindo o registro da porcentagem de plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, realizada conforme as Regras para Análise de Sementes (1992), aos sete dias.

3.2.4.5 Comprimento de plântula

Avaliou-se o comprimento médio das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as

sementes permaneceram em germinador (20-30°C), com fotoperíodo de 8 horas quando submetida à temperatura de 30 °C, por sete dias. Após esse período, avaliou-se o comprimento total das plântulas, com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. O comprimento médio foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros/plântula, conforme descrito por Nakagawa (1999).

3.2.4.6 Teste de frio

O teste de frio foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, semeadas em rolo de papel filtro, umedecido com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos, permanecendo por sete dias em câmara à temperatura constante de 10° C. Após esse período, os mesmos foram transferidos para o germinador (20-30°C) onde permaneceram por mais sete dias, e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

3.2.5 Testes em casa de vegetação

Nessa etapa, os testes foram realizados em ambiente parcialmente controlado, em casa de vegetação.

3.2.5.1 Emergência de plântulas

O teste de emergência foi realizado utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax[®]. Em cada bandeja foram distribuídas 25 sementes em quatro repetições, totalizando 100 para cada tratamento em cada método de inoculação. Foram feitas irrigações sempre que necessário e a avaliação ocorreu aos 32 dias após a semeadura, quando a emissão de plantas tornou-se constante, computando-se a porcentagem de plantas normais emergidas.

3.2.5.2 Índice de velocidade de emergência (IVE):

Este teste foi realizado em conjunto com o de emergência de plântulas em casa de vegetação, onde foram realizadas contagens diárias de plantas emergidas nas bandejas até obter-se número constante. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plantas emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962), pela fórmula:

$$\mathbf{IVE} = \frac{\mathbf{E}_1}{\mathbf{N}_1} + \frac{\mathbf{E}_2}{\mathbf{N}_2} + \dots + \frac{\mathbf{E}_n}{\mathbf{N}_n}$$

Onde: **IVE** = índice de velocidade de emergência; **E₁, E₂, E_n** = número de plantas emergidas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem; **N₁, N₂, N_n** = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

3.2.5.3 Comprimento de planta

A avaliação do comprimento de planta foi também realizada em conjunto com o teste de emergência, determinando-se o comprimento da raiz, do hipocótilo e o comprimento total de dez plantas, por repetição, aos 32 dias após a semeadura. Os resultados foram determinados em centímetros, com o auxílio de uma régua milimetrada. Calculou-se o comprimento médio por planta (cm/planta), dividindo o somatório dos valores obtidos pelo número de plantas mensuradas.

3.2.5.4 Número de folhas

Avaliou-se também, o número de folhas dessas mesmas dez plantas utilizadas no teste anterior, calculando-se uma média aritmética do número de folhas por planta, dividido pelo número de plantas avaliadas.

3.2.5.5 Peso fresco e peso seco de plantas

O peso fresco foi obtido pela pesagem em balança, com precisão de 0.001g, de plantas normais obtidas ao final do teste de emergência. Calculou-se o peso médio somando-se o peso de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g/plantas. Após, para determinação do Peso seco, as plantas foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa com circulação de ar, regulada a 80 °C, onde permaneceram por um período de 24 horas. A pesagem do material seco foi realizada em balança com precisão de 0,001g, e o peso para cada repetição foi dividido pelo número total de plantas, obtendo-se assim, o peso médio da matéria seca, expresso em grama por planta.

3.2.6 Análise estatística

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, os dados de cada método de inoculação foram submetidos, separadamente, a análise de variância e ao teste F, a comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para comparação dos métodos os dados foram analisados utilizando-se um esquema fatorial 2x3, ou seja, dois métodos de inoculação (suspensão de conídios e restrição hídrica) e três tratamentos (*A. alternata*, *A. dauci* e *A. alternata* + *A. dauci*), também submetidos à análise de variância e teste F, com comparação das médias através do teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, empregando-se o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (ZONTA et al., 1986). Os dados expressos em porcentagens foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$.

3.3 Resultados e Discussão

Inicialmente as sementes de salsa foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação e sanidade. O teor de água das sementes foi de 7,68% e a porcentagem de germinação foi de 82%. Na análise sanitária verificou-se a presença dos

seguintes fungos: *Alternaria alternata* (9%) e *Cladosporium* spp (8%). Esses dados não foram analisados estatisticamente, pois serviram apenas como base para o conhecimento inicial da qualidade do lote adquirido. É possível constatar, que a qualidade inicial do lote de sementes de salsa, de acordo com o teor de água e umidade, não foge ao padrão, ou seja, ao recomendado para hortaliças em geral. Além disso, é evidente a baixa incidência de patógenos associados às sementes, verificando-se assim, a alta qualidade sanitária do lote adquirido.

3.3.1 Resultados obtidos com sementes de salsa inoculadas com suspensão de conídios

Os resultados referentes à avaliação da qualidade fisiológica das sementes de salsa, inoculadas com *A. alternata* e *A. dauci*, em laboratório encontram-se na Tabela 3.2. Nesse caso, o método de inoculação utilizado foi suspensão de conídios, o qual permitiu verificar que as espécies de *Alternaria* causam um decréscimo na qualidade das sementes de salsa.

Essa influência negativa dos patógenos pode ser observada no teste de primeira contagem, apesar de nem todos diferirem dos tratamentos testemunhas, verificou-se que os fungos contribuíram para que um número menor de plântulas normais fosse observado na primeira contagem de germinação, destacando-se o tratamento com as sementes de salsa inoculadas com *A. dauci* como o mais nocivo. A primeira contagem de germinação é um teste bastante utilizado em termos de avaliação do vigor de sementes, pois, conforme a deterioração da semente avança, a velocidade de germinação diminui. Desse modo, lotes com maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação são considerados mais vigorosos (NAKAGAWA, 1999).

A continuidade desse resultado pode ser observada quando avaliada a porcentagem germinativa, nesse teste, fica clara a influência dos fungos na germinação, pois os tratamentos que continham os patógenos diferenciaram-se do tratamento testemunha por obterem os menores valores. Resultados semelhantes foram observados por Henrique et al. (2008), em seus trabalhos com inoculação de *A. alternata* em sementes de melão, onde verificaram que a presença do fungo

acarretou em decréscimo significativo no potencial germinativo das sementes de *Cucumis melo* L.

Tabela 3.2 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA(%)	SM (%)	CP (cm)	TF(%)
T1	72 a*	82 a	0 b	12 bc	5,61 a	35 a
T2	66 a	83 a	0 b	7 c	2,76 b	30 ab
T3	56 ab	65 bc	8 a	23 ab	2,73 b	13 bc
T4	46 b	54 c	13 a	30 a	1,68 b	3 c
T5	52 ab	62 c	12 a	23 ab	1,25 b	21 ab
CV (%)	13,11	9,42	36,16	16,83	29,58	23,55

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*.

Na avaliação da porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas, confirmou-se o efeito nocivo dos patógenos, onde ambos promoveram um aumento no número de plantas defeituosas e morte das sementes. Os mesmos resultados foram obtidos por Henrique et al. (2008) quando inocularam *Alternaria alternata* em sementes de melão, o índice de plantas anormais foi bastante elevado.

Em relação ao comprimento das plântulas, observou-se novamente que *A. alternata* e *A. dauci* influenciaram de forma negativa no desenvolvimento das mesmas. Nos trabalhos realizados por Togni et al. (2005) com sementes de coentro, foram encontrados resultados semelhantes, pois a presença desses dois fungos, além de prejudicar a germinação, também interferiu no desenvolvimento das plântulas.

No teste de frio, o tratamento contendo sementes inoculadas apenas com *A. dauci* se destacou, pois reduziu drasticamente a porcentagem de plântulas normais, comprovando que esse patógeno interfere no potencial fisiológico de sementes de salsa. Um dos principais efeitos da baixa temperatura, em que as sementes são submetidas no teste de frio, é dificultar a reorganização das membranas celulares durante a embebição, tornando mais lentos tanto esse processo como o de germinação (BURRIS; NAVRATIL, 1979), sob tais condições, as sementes mais vigorosas têm maiores possibilidades de sobrevivência (FANAN, 2006).

Na Tabela 3.3, observa-se que as sementes de salsa apresentaram comportamento indiferente na presença de patógenos associados, nas condições de casa de vegetação. Ocorreu diferença entre os tratamentos apenas na variável em que se avaliou o comprimento da parte aérea das plantas, mesmo assim, essa diferença foi somente dos tratamentos de inoculação em relação ao tratamento testemunha absoluta.

Tabela 3.3 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com suspensão de conídios de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	86 a*	1,31 a	0,11 a	0,012 a	6,93 a	7,26 a	14,19 a	2 a
T2	86 a	1,20 a	0,12 a	0,013 a	7,13 a	5,18 b	12,31 a	2 a
T3	72 a	0,94 a	0,09 a	0,009 a	6,52 a	4,91 b	11,43 a	2 a
T4	62 a	0,93 a	0,11 a	0,011 a	6,75 a	5,16 b	11,91 a	2 a
T5	74 a	0,82 a	0,09 a	0,008 a	6,75 a	5,05 b	11,80 a	2 a
CV (%)	14,82	22,46	28,4	35,15	16,84	14,83	13,55	20,88

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*.

Portanto, os resultados obtidos em laboratório não foram reproduzidos em condições não controladas de casa de vegetação, talvez pelo simples fato de que a condição ambiente não tenha sido favorável para o desenvolvimento das espécies *Alternaria* a ponto de provocarem danos na qualidade das sementes, ou ainda, essas mesmas condições, de temperatura e umidade, podem não terem sido favoráveis às próprias sementes.

O teste de germinação, realizado em condições ótimas de laboratório, consiste em determinar o potencial germinativo de um dado lote de forma a avaliar a qualidade fisiológica das sementes para fins de semeadura e produção de mudas (BRASIL, 1992; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), ou seja, quantificar o valor das sementes vivas, capazes de produzir plântulas normais sob condições favoráveis de campo. Segundo Stefanello et al. (2006), no campo, as sementes podem estar sujeitas a situações adversas como temperatura inadequada, excesso ou déficit hídrico, ataque de outros microrganismos, de modo que a porcentagem de emergência das plântulas em campo pode ser diferente da obtida no teste de

germinação em laboratório. Podendo o mesmo ocorrer em condições, nem tão controladas, como em casa de vegetação, conforme o presente trabalho.

Divergências encontradas entre resultados obtidos em condições de laboratório e campo ou casa de vegetação implicam na necessidade de realizar o maior número possível de testes, pois cada teste fornece informações complementares para a decisão a respeito da classificação quanto à qualidade das sementes (PEDROSO et al. 2008).

Portanto, pelo método de inoculação com suspensão de conídios, sementes de salsa têm sua qualidade prejudicada pela associação com *A. alternata* e *A. dauci* em condições de laboratório, não se observando os mesmos resultados em casa de vegetação, o que permite inferir que esses patógenos não se constituem uma ameaça a cultura da salsa em campo.

3.3.2 Resultados obtidos com a inoculação das sementes de salsa através da metodologia da restrição hídrica

Pelo exposto na Tabela 3.4, verifica-se que a metodologia da restrição hídrica implicou em resultados semelhantes aos observados no método da suspensão de conídios em laboratório, com as variáveis apresentando diferenças significativas entre os tratamentos.

Pela metodologia do substrato agarizado, complementado com soluto manitol, observa-se que ocorreu uma maior estratificação entre os tratamentos, principalmente nos testes de germinação e primeira contagem de germinação, nos quais se verificou que o patógeno que mais influenciou, negativamente, na qualidade de sementes de salsa foi *A. dauci*. A mesma tendência de resultados foi observada no teste de frio, onde apenas o tratamento que continha esse fitopatógeno diferenciou-se dos demais pelo seu valor inferior de porcentagem de plântulas normais. Confirmando assim, a influência desse agente fitopatogênico no vigor das sementes de salsa.

Somando-se a isso, sementes inoculadas com *A. dauci* também resultaram em maior porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas, conforme verificado na Tabela 3.4. Em relação ao teste de comprimento de plântulas verifica-se que o mesmo não apresentou diferenças claras entre os tratamentos, no entanto,

a Tratamento testemunha da inoculação diferenciou-se dos demais, até mesmo do tratamento testemunha absoluta. Dificuldades na estratificação de lotes de sementes, em virtude do potencial fisiológico, foram identificadas em outras espécies de hortaliças, como: feijão (BIAS et al., 1999) e alface (FRAZIN, 2003), através da determinação do comprimento de plântula, analisado manualmente, alegando que para a avaliação do teste, são consideradas apenas as plântulas normais, as quais poderiam mascarar os resultados do teste, diminuindo as diferenças existentes entre os lotes. No entanto, há indicação de que o comprimento de plântulas pode ser um teste eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, por meio de métodos de análise computadorizada de imagens (MARCOS FILHO, 2001).

Tabelas 3.4 Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em condições controladas de laboratório. Santa Maria, RS, 2008.

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	70 a*	82 a	0 b	12 c	5,61 b	69 a
T2	68 ab	75 ab	2 b	23 b	9,29 a	71 a
T3	64 ab	72 ab	1 b	23 b	5,54 b	70 a
T4	34 c	43 c	16 a	40 a	5,38 b	35 b
T5	49 bc	70 b	4 ab	26 b	7,02 ab	65 a
CV (%)	11,28	6,76	61,57	12,63	16,21	13,73

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); T3: BDA + manitol + *A. alternata*; T4: BDA + manitol + *A. dauci*; T5: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

Os dados coletados em casa de vegetação, com sementes de salsa inoculadas com as espécies de *Alternaria* sob restrição hídrica, encontram-se na Tabela 3.5.

As variáveis analisadas apresentaram comportamentos diferenciados em relação aos tratamentos. Para o número de folhas e peso seco de plantas, não se observaram diferenças significativas. No entanto, para a porcentagem de emergência, velocidade de emergência, comprimento de raiz e comprimento total de planta, os tratamentos de inoculação apenas diferenciaram do tratamento testemunha absoluta e não entre si. Quase o mesmo resultado foi observado na avaliação do comprimento do hipocótilo, no entanto, apenas quando se avaliou o peso fresco das plantas, pode-se observar influencia de *A. dauci* e *A. alternata*.

Tabela 3.5 Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica, em casa de vegetação. Santa Maria, RS. 2008.

Tratamentos	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	86 a*	1,31 a	0,11 a	0,012 a	6,93 a	7,26 a	14,19 a	2 a
T2	14 b	0,38 b	0,11 a	0,018 a	4,16 b	5,81 ab	9,97 b	2 a
T3	12 b	0,26 b	0,04 b	0,001a	4,30 b	5,30 ab	9,60 b	2 a
T4	19 b	0,28 b	0,08 ab	0,056 a	3,76 b	5,56 ab	9,25 b	2 a
T5	15 b	0,25 b	0,07 ab	0,006 a	3,99 b	5,17 b	9,17 b	2 a
CV (%)	23,45	40,65	31,01	48,34	17,37	15,51	11,35	11,35

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: tratamento testemunha absoluta; T2: tratamento testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); T3: BDA + manitol + *A. alternata*; T4: BDA + manitol + *A. dauci*; T5: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

De forma geral, os testes realizados em laboratório foram mais sensíveis para detectar que a presença de *A. dauci* associadas a sementes de salsa causa prejuízos. No entanto, mesmo sem uma estratificação totalmente definida, os testes realizados em casa de vegetação também não demonstraram que a presença de patógenos nas sementes resulta em prejuízo na qualidade fisiológica. Pereira et al. (2005), a formação das sementes pode ser prejudicada quando as mesmas encontram-se associadas com *Alternaria dauci*, o que pode influenciar diretamente na sua qualidade fisiológica. A influência de patógenos na qualidade de sementes, inoculadas através da técnica de restrição hídrica, foi verificado em experimentos com *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja (MACHADO et al, 2001a), com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, e *Botryodiplodia theobromae* em sementes de algodão (MACHADO, 2002) e, ainda, com os fungos *Diplodia maydis*, *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium acremonium*, o uso da restrição hídrica propiciou um maior número de plântulas doentes oriundas de sementes inoculadas (MACHADO et al. 2001b).

Além disso, apensar da metodologia da restrição hídrica ser eficiente na promoção de sementes infectadas, verificou-se pelo teste de emergência de plântulas, que o manitol parece ser prejudicial, pois nesse caso, apenas ao tratamento testemunha absoluta se destacou, sendo que os demais valores de porcentagem de emergência observados foram bem inferiores. O manitol tem sido comumente utilizado como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico porque é um composto quimicamente inerte e não tóxico (ÁVILA et al., 2007), que

não deve causar alterações estruturais nas sementes, não pode penetrar através do sistema de membranas e nem ser metabolizado pela planta. No entanto, Durigon et al. (2008), constataram em seus trabalhos com diferentes potenciais osmóticos, que o uso do restritor manitol afeta a qualidade fisiológica de sementes de pepino.

3.3.3 Resultados obtidos na avaliação do comportamento fúngico nos diferentes métodos de inoculação

Os resultados referentes ao o comportamento de *A. alternata* e *A. dauci* nos diferentes métodos de inoculação encontram-se nas Tabelas 3.6 e 3.7.

Diante do observado na Tabela 3.6, verifica-se que houve uma diferenciação na expressão dos fungos para dois métodos estudados com sementes de salsa. A tendência de comportamento foi a mesma para quase todas as variáveis, nas quais se observa que ocorreram diferenças entre os tratamentos, quando a inoculação das sementes de salsa foi realizada através da restrição hídrica, quando se utilizou suspensão de inóculo, os tratamentos fúngico não diferiram entre si. No entanto, o inverso pode ser observado somente no teste de frio, onde diferenças foram identificadas para ambos os métodos.

Essas variações observadas indicam que a metodologia, utilizando manitol como restritor hídrico, foi capaz de detectar que a presença de *A. dauci* associada com sementes de salsa acarretou em maior prejuízo na qualidade das mesmas, o que não pode ser verificado quando as sementes foram emersas na suspensão de esporos.

Isso pode ter ocorrido devido à restrição hídrica, baseada na inibição da germinação das sementes, permitir que o patógeno fique mais tempo em contato com as sementes promovendo assim uma infecção mais eficiente. Além disso, a localização do patógeno na semente também deve ser levada em consideração, pois *A. dauci* é considerado um patógeno infectante, ou seja, uma vez em contato com a semente, esse fungo localiza-se geralmente no embrião e/ou no endosperma das mesmas, conforme observado em sementes de cenoura por Muniz; Porto (1999). Nesse contexto, a utilização do manitol como um restritor hídrico, revela-se ser altamente eficaz para a obtenção de sementes infectadas por *A. dauci* na cultura da salsa, permitindo assim, a avaliação da ação do patógeno na qualidade das

sementes. Resultados relacionados com a eficiência da restrição hídrica também foram obtidos por Machado et al. (2004), trabalhando com o uso dessa metodologia para inoculação de patógenos em sementes de algodão, os autores concluíram que o pré-condicionamento das sementes utilizando manitol como restritor hídrico, revela ser um procedimento eficaz para obtenção de sementes infectadas por importantes fungos para cultura como: *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Tabela 3.6 Médias de Primeira Contagem de Germinação, Germinação, Plântulas Anormais, Comprimento de Plântula e Teste de Frio, obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria spp.* em sementes de salsa, cultivar Lisa Comum. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Primeira Contagem de Germinação (%)		Germinação (%)	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	55 aA*	64 aA	64 aA	72 aA
<i>A. dauci</i>	50 aA	34 cB	54 aA	43 bB
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	52 aA	49 bA	61 aA	70 aA
CV (%)	9,7		7,67	
Fungos	Plântulas Anormais (%)		Comprimento de plântula (cm)	
	Métodos		Métodos	
	S	RH	S	RH
<i>Alternaria alternata</i>	19 aA	12 bB	2,73 aB	5,54 abA
<i>A. dauci</i>	23 aA	26 aA	1,68 aB	5,38 bA
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	22 aA	14 bB	1,25 aB	7,02 aA
CV (%)	12,69		21,73	
Fungos	Teste de Frio (%)			
	Métodos			
	S	RH		
<i>Alternaria alternata</i>	13 abB	70 aA		
<i>A. dauci</i>	3 bB	35 bA		
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	21 aB	65 aA		
CV (%)	15,69			

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; **S**: suspensão de conídios; **RH**: restrição hídrica.

Na Tabela 3.7 encontram-se aquelas variáveis cujos tratamentos fúngicos não apresentaram diferenças entre as metodologias estudadas, ou seja, não ocorreu

interação significativa entre os patógenos e os métodos de inoculação na análise fatorial.

Tabela 3.7 Médias de Sementes Mortas (SM), Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total (CT) e Número de Folhas (NF), obtidas na análise fatorial dos métodos de inoculação de *Alternaria* spp. em sementes de salsa, cultivar Lisa Comum. Santa Maria, RS. 2008.

Fungos	Semente Morta (%)			Emergência de Plântulas (%)		
	Métodos		Média	Métodos		Média
	Suspensão	Restrição Hídrica		Suspensão	Restrição Hídrica	
<i>Alternaria alternata</i>	23	22	23 b	76	12	42 a
<i>A. dauci</i>	30	40	35 a	66	18	41 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	23	26	25 b	68	15	40 a
Média	25 A	29 A		70 A	15 B	
CV (%)	9,27			24,31		
Fungos	Índice de Velocidade de Emergência (%)			Peso Fresco (g)		
	Métodos		Média	Métodos		Média
	Suspensão	Restrição Hídrica		Suspensão	Restrição Hídrica	
<i>Alternaria alternata</i>	0,73	0,26	0,49 a	0,09	0,04	0,06 a
<i>A. dauci</i>	0,93	0,28	0,60 a	0,11	0,08	0,09 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	0,82	0,28	0,53 a	0,08	0,07	0,07 a
Média	0,82 A	0,26 B		0,09 A	0,06 B	
CV (%)	49,43			38,57		
Fungos	Peso Fresco (g)			Comprimento da Raiz (cm)		
	Métodos		Média	Métodos		Média
	Suspensão	Restrição Hídrica		Suspensão	Restrição Hídrica	
<i>Alternaria alternata</i>	0,009	0,001	0,005 a	6,52	4,3	5,41 a
<i>A. dauci</i>	0,011	0,014	0,012 a	6,75	3,76	5,25 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	0,008	0,006	0,007 a	6,75	3,99	5,37 a
Média	0,009 A	0,007 A		6,67 A	4,02 B	
CV (%)	44,05			16,26		
Fungos	Comprimento de Hipocótilo (cm)			Comprimento Total (cm)		
	Métodos		Média	Métodos		Média
	Suspensão	Restrição Hídrica		Suspensão	Restrição Hídrica	
<i>Alternaria alternata</i>	4,91	5,3	5,10 a	11,43	9,6	10,51 a
<i>A. dauci</i>	5,16	5,56	5,36 a	11,91	9,25	10,58 a
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	5,05	5,17	5,11 a	11,8	9,17	10,48 a
Média	5,04 A	5,34 A		11,72 A	9,34 B	
CV (%)	18,41			15,47		

Número de Folhas			
Fungos	Métodos		
	Suspensão	Restrição Hídrica	Média
<i>Alternaria alternata</i>	2	2	2
<i>A. dauci</i>	2	2	2
<i>A. alternata</i> + <i>A. dauci</i>	2	2	2
Média	2 A	2 A	
CV (%)	19,96		

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesse caso (Tabela 3.7), além de não apresentarem diferenças entre a metodologia aplicada, os patógenos também não apresentaram diferenças entre si para as variáveis estudadas. Apenas na porcentagem de sementes mortas é que se pode observar que o tratamento que continha *A. dauci* foi o que mais contribuiu para o aumento na porcentagem de morte de sementes.

3.4 Conclusões

- Sementes de salsa têm sua qualidade prejudicada pela associação com *A. alternata* e *A. dauci* em condições de laboratório, não se observando os mesmos resultados em casa de vegetação.
- A utilização do manitol, como um restritor hídrico, é eficaz para a obtenção de sementes infectadas por *A. dauci* na cultura da salsa.

3.5 Referências

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L. e; SCAPUM, C. R. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.

BIAS, A. L. F. et al. Métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão vigna. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.3, p.651-660, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BURRIS, J. S.; NAVRATIL, R. J. Relationship between laboratory cold test methods and field emergency in maize inbreds. **Agronomy Journal**, Madison, v.71, n.6, p.985-988, 1979.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

COUTINHO, W. M. et al. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.127-135, 2001.

DURIGON, M.R. et al. Influência do estresse hídrico simulado na germinação de sementes de pepino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008. 1 CD – ROM.

FANAN, S., et al. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio. **Revista Brasileira de sementes**. Brasília, v.28, n.2, p.152-158, 2006.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2003. 412p.

FRANZIN, S. M. **Qualidade fisiológica de sementes de alface – Métodos para**

determinação e relação com a formação de mudas. 2003. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

HENRIQUE, D. F., et al. Inoculação de *Alternaria alternata* em sementes de melão através da restrição hídrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008. 1 CD –ROM.

HEREDIA Z. N. A. et al. Produção e renda bruta de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 574-577, 2003.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.88-94, 2001a.

MACHADO, J. C. et al. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos utilizando solução de manitol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 95-101, 2001b.

MACHADO, J. C. et al. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 62-67, 2004

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.3, p. 63-75, 2001.

MUNIZ, M. F. B.; PORTO, M. D. M. Presença de *Alternaria* spp. em diferentes partes da semente de cenoura e em resíduos culturais e efeito do tratamento de sementes na sua transmissão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.21, n.1, p.187-193, 1999.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKY, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2-1 – 2-21.

NASCIMENTO, W. M. Temperatura x germinação. **Seednews**, v.4, n.4, 2000. p.44-45.

PEDROSO, D. C. et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Zinnia elegans* Jacq. Colhidas em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 164-171, 2008.

PEREIRA, R. S; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.3, p.703-706, 2005.

REIS, A. et al. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, p. 107-111. 2006.

SALSINHA. In: Catálogo rural. Hortaliças. 2008. Disponível em: <<http://www.agrov.com/vegetais/hortalicas/index.htm>>. Acesso em: 05 dez. 2008.

STEFANELLO, R. et al. Efeito da luz, temperatura e estresse hídrico no potencial fisiológico de sementes de funcho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.28, n.2, p.135-141, 2006.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. Divulgação Técnica. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, n.1/2, p.23-33, 2004.

TOGNI, D. A. J. et al. Incidência e transmissão de patógenos em sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Summa Phytopathologica**, p. 31- 76, suplemento, 2005.

ZARATE, N. A. H. et al. Produção de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 42 / CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HORTICULTURA, 11, 2002, Uberlândia. Resumos expandidos e palestras. **Horticultura Brasileira** Brasília, v.20, n.2, jul.2002, suplemento 2 CD-ROM.

ZONTA, E. P; MACHADO, A. A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986.150p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de sementes de alta qualidade é um dos fatores mais importantes para assegurar germinação rápida, uniforme e, conseqüentemente, o estabelecimento de um estande constituído por plântulas vigorosas. Tendo em vista que as espécies dos fungos estudados, *Alternaria alternata* e *A. dauci*, prejudicam a qualidade de sementes de cenoura, coentro e salsa, deve-se ter uma atenção especial com esses patógenos. Pois, os fungos do gênero *Alternaria* podem sobreviver, principalmente associados a sementes, entre cultivos, em restos de cultura infectados, hospedeiros intermediário e, ainda, em equipamentos agrícolas, estacas e caixas usadas. Os conídios de *Alternaria* spp. são altamente resistentes a baixos níveis de umidade, podendo permanecer viáveis por até um ano nestas condições. Portanto, o controle de qualidade de sementes surge como um fator de extrema relevância, condicionante para o sucesso da atividade agrícola no cultivo de cenoura, salsa e coentro, e também na produção de sementes dessas hortaliças, bem como no armazenamento das mesmas. A inoculação através da suspensão de conídios foi eficiente para a associação dos patógenos com as sementes de cenoura.