

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

**INOCULAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* (Sheld.) EM
SEMENTES DE DUAS CULTIVARES DE PEPINO
ATRAVÉS DA TÉCNICA DA RESTRIÇÃO HÍDRICA
E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A QUALIDADE
FISIOLÓGICA.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Vanessa Ocom Menezes

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**INOCULAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* (Sheld.) EM
SEMENTES DE DUAS CULTIVARES DE PEPINO ATRAVÉS
DA TÉCNICA DA RESTRIÇÃO HÍDRICA E SUA INFLUÊNCIA
SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA.**

por

Vanessa Ocom Menezes

Dissertação apresentada ao 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.

Orientador: Prof^a. Marlove Fátima Brião Muniz

Santa Maria, RS, Brasil

2009

M543i Menezes, Vanessa Ocom, 1980-

Inoculação de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica de restrição hídrica e sua influência sobre a qualidade fisiológica / por Vanessa Ocom Menezes; orientador Marlove Fátima Brião Muniz. - Santa Maria, 2009.
85 f. ; il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.

1. Agronomia 2. *Cucumis sativus* L. 3. Manitol 4. Estresse hídrico 5. Pepino I. Muniz, Marlove Fátima Brião, orient. II. Título

CDU: 635.63

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Vanessa Ocom de Menezes. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser 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 3026-3409 ou (0xx) 55 9644-3015 - E-mail: vane_menezes@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

**INOCULAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* (Sheld.) EM SEMENTES DE
DUAS CULTIVARES DE PEPINO ATRAVÉS DA TÉCNICA DA
RESTRIÇÃO HÍDRICA E SUA INFLUÊNCIA SOBRE A QUALIDADE
FISIOLÓGICA.**

elaborada por
Vanessa Ocom Menezes

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marlove Fátima Brião Muniz, Dr^a.
(Presidente/Orientador)

Danton Camacho Garcia, Dr. (UFSM)

Luciana Zago Ethur, Dr^a. (UNIPAMPA)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

***À minha filha, Júlia,
que é minha alegria e motivação de vida.***

AGRADECIMENTOS

***A Deus, o qual foi minha fonte de forças
para superar todos os desafios e
dificuldades enfrentadas durante a
realização desse trabalho.***

***Aos meus pais, Alcery e Marlene, meus
irmãos Márcio e Lauana e aos meus avós,
Alcir e Alcinda, pela compreensão e ajuda
durante esses dois anos.***

***A minha filha Júlia, por ter sempre
compreendido as minhas necessárias
ausências.***

***À Prof^a. Marlove Fátima Brião Muniz pela
orientação, ensinamentos e acolhimento.***

***À Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia da UFSM, aos
professores, pelo profissionalismo.***

***Aos meus co-orientadores, Prof. Danton
Camacho Garcia, Prof. Nilson Lemos de
Menezes e Prof^a. Elena Blume, pelas
valiosas colaborações ao meu trabalho e
amizade.***

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

Á minha amiga Geovana Gomes, a qual me apresentou à fitopatologia e se dispôs a me oferecer os primeiros ensinamentos.

Ao Prof. Antonio Carlos Ferreira da Silva, o qual foi meu orientador de iniciação científica e grande amigo.

Á minha grande amiga e colega de longa data, Daniele Cardoso Pedroso, pois sem ela eu não chegaria onde cheguei.

Á minha amiga-irmã Josy Reichert Monteiro, pela amizade, carinho e pela mão amiga sempre disposta a ajudar nos momentos mais difíceis.

Aos colegas do Laboratório pelo coleguismo, companheirismo e ajuda, em especial à Paola Milanesi, Jucéli Müller, Ricardo dos Santos, Cleidionara Pacheco, Miria Durigon, Igor Poletto, Graziela Piveta e Jhonathan Rodrigues.

Aos funcionários do departamento, Fernando Saccol e a Maria Nevis, por tantas vezes terem me ajudado.

E, finalmente, á uma pessoa muito especial, que me ajudou muito na fase final do mestrado, me acalmando, colaborando sempre com uma palavra amiga, Rafael Tambara.

“Ao se caminhar para um objetivo, sobretudo um grande e distante objetivo, as menores coisas se tornam fundamentais. Uma hora perdida é uma hora perdida, e quando não se tem um rumo definido é muito fácil perder horas, dias ou anos, sem se dar conta disso”.

(Amyr Klink)

RESUMO

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

INOCULAÇÃO DE *Fusarium moniliforme* (Sheld.) EM SEMENTES DE DUAS CULTIVARES DE PEPINO ATRAVÉS DA TÉCNICA DA RESTRIÇÃO HÍDRICA E SUA INFLUENCIA SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA.

AUTORA: Vanessa Ocom Menezes
ORIENTADORA: Marlove Fátima Brião Muniz
Santa Maria, 27 de Fevereiro de 2009.

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma hortaliça pertencente a família Cucurbitaceae, de grande importância no Brasil. É cultivado, preferencialmente, em clima tropical, em condições de temperatura elevada. Possui alto valor econômico, alimentar e social, pois gera empregos diretos e indiretos, exigindo uma demanda de mão-de-obra, desde seu cultivo até sua comercialização. Devido à expressão de cultivo, a qualidade fisiológica e sanitária das sementes constitui um fator importante, sendo responsáveis por limitações na qualidade do produto destinado à comercialização. Assim, objetivou-se com este trabalho verificar a influência de *Fusarium moniliforme* sobre a qualidade fisiológica de sementes de duas cultivares de pepino: Wisconsin e Caipira, através da técnica de inoculação da restrição hídrica, além de avaliar a eficiência de testes de vigor para a estratificação dos lotes conforme a sua qualidade fisiológica. O isolado de *F. moniliforme* foi obtido de sementes de pepino. Cada cultivar foi dividida em três lotes de diferentes qualidades fisiológicas, diferenciadas pelo envelhecimento artificial. Os tratamentos consistiram em: Testemunha absoluta; BDA + manitol – 0,8Mpa; BDA puro; BDA + manitol – 0,8Mpa + *F. moniliforme*; e BDA + *F. moniliforme*. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada através de testes realizados em condições de laboratório e em casa de vegetação. A restrição hídrica foi eficiente para infectar as sementes das duas cultivares pelo patógeno, comprovando que este influencia negativamente na qualidade fisiológica das mesmas e, pode ser transmitido por estas. Para a cultivar Wisconsin, o teste de germinação, de frio e de crescimento de plântulas foram sensíveis para a estratificação dos lotes em dois níveis fisiológicos. Na emergência de plantas, o índice de velocidade de emergência, comprimento de raiz e massa seca foram capazes de classificar os lotes em três categorias fisiológicas. Para a cultivar Caipira, o teste de germinação e de frio estratificaram os lotes em dois níveis de vigor. No teste de crescimento de plântulas, o comprimento de hipocótilo e de raiz apresentaram sensibilidade para a classificação dos lotes em três níveis fisiológicos. Para a emergência de plantas, o comprimento de hipocótilo e de raiz e, massa seca mostraram-se aptos para a classificação dos lotes de acordo com a qualidade fisiológica dos mesmos.

Palavras-chave: *Cucumis sativus* L., manitol, estresse hídrico.

ABSTRACT

Master Science Dissertation
Programa de Pós - Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

INOCULATION OF *Fusarium moniliforme* (Sheld.) IN SEEDS FROM TWO CUCUMBER CULTIVARS THROUGH HYDRIC RESTRAINT TECHNIQUE ON PHYSIOLOGICAL QUALITY.

Author: Vanessa Ocom Menezes
Adviser: Marlove Fátima Brião Muniz
Santa Maria, 27 de February 28th, 2009.

The cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a vegetable belonging to the family Cucurbitaceae, of great importance in Brazil. It is grown, preferentially in tropical climate, in high temperature conditions. It has a high economical, nourishing and social value because it generates direct or indirect jobs, requiring a labor demand from its cultivation to its commercialization. Due to the cultivation expression, the seed physiological and sanitary quality constitutes an important factor, being responsible for limitations in the product quality which is addressed to commercialization. So, with this work, one aimed at verifying the influence of *Fusarium moniliforme* on the seed physiological quality of two cucumber cultivars: Wisconsin and Caipira, through the hydric restriction inoculation technique, besides assessing the efficiency of the vigor tests for the stratification of the lots according to its physiological quality. The isolate of *F. moniliforme* was obtained from cucumber seeds. Each cultivar was divided into three lots of different physiological quality, differentiated by artificial aging. The treatments consisted in: Absolute witness; PDA + mannitol – 0.8 Mpa; PDA pure; PDA + mannitol – 0.8 Mpa + *F. moniliforme*; and PDA + *F. moniliforme*. The seed physiological quality was evaluated through tests carried out in laboratory conditions and in greenhouse. The hydric restraint was efficient to infect the seeds of two cultivars by pathogen, proving that this influences negatively in physiological quality of them and it can be transmitted by these. For cultivar Wisconsin, the tests of germination, cold and seedling growth were sensible to the lot stratification in two physiological levels. In the emergence of plants the speed emergence index, the root length and dry matter were able to classify the lots in three physiological categories. For the cultivar Caipira, the tests of germination and cold stratified the lots in two levels of vigor. In the test of growth of seedlings, the length of hypocotyls and root presented sensitivity to the classification of the lots in three physiological levels. For the plant emergence, the length of the hypocotyls and root and, dry matter showed themselves apt to the lot classification according to the physiological quality of them.

Key words: *Cucumis sativus* L., mannitol, hydric stress.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Wisconsin, Santa Maria-RS, 2008.....	40
TABELA 2 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Wisconsin, Santa Maria - RS, 2008...	43
TABELA 3 – Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 2008	49
TABELA 4 – Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 2008	52
TABELA 5 – Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Caipira, Santa Maria-RS, 2008	57
TABELA 6 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Caipira, Santa Maria - 2008 – RS.....	60
TABELA 7 – Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca de plântulas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 2008	64
TABELA 8 – Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 2008	67

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Foto de microscópio ótico mostrando os microconídios de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.). (aumento de 40 x)	31
FIGURA 2 - Sementes de pepino disposta sobre a colônia de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.).....	33
FIGURA 3 - Sementes de pepino dispostas sobre a colônia de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.) após 48 horas de contato.	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 A cultura do pepineiro	17
2.2 Fungos em sementes de cucurbitáceas e do pepineiro	18
2.2.1 <i>Fusarium</i> spp.....	19
2.2.2 <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.)	21
2.3 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes	22
2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes	24
2.5 Método de inoculação de sementes por intermédio da técnica de restrição hídrica	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Origem e perfil dos sublotes	28
3.2 Determinação do teor de umidade das sementes	29
3.3 Determinação do perfil fisiológico e sanitário dos sublotes e obtenção e identificação do(s) isolado(s) fúngico(s)	29
3.4 Metodologia de inoculação de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.) em sementes de pepino pela técnica de restrição hídrica	31
3.4.1 Procedimentos de inoculação	31
3.5 Testes em condições de laboratório e casa de vegetação	34
3.5.1 Testes em condições de laboratório.....	34
3.5.2 Testes em condições de casa de vegetação.....	36
3.8 Procedimento estatístico	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Parte I - Cultivar Wisconsin	39
4.2 Parte II- Cultivar Caipira	56
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Cucumis* inclui 32 espécies anuais e perenes, divididas em dois grupos muito distintos, os quais são definidos de acordo com sua origem geográfica: grupo Asiático e grupo Africano. O grupo Asiático inclui os pepinos, *Cucumis sativus* L. e, o Africano, os melões, *Cucumis melo* L.. O pepino teve origem na Índia, logo em seguida foi introduzido na Grécia e Itália e, por último, na China, sendo, atualmente, uma espécie apreciada e cultivada mundialmente.

O pepino é uma hortaliça de grande importância no Brasil, sendo consumido na forma crua de seu fruto imaturo em saladas, curtido em salmoura ou vinagre e, raramente, maduro e cozido. Em 1998, o CEAGESP comercializou 34.508 toneladas o que o torna uma olerícola de grande valor comercial. Na região de Santa Maria, Rio Grande do Sul, segundo dados da EMATER, cultiva-se cerca de 7.700 ha de pepino para conserva, sendo que, a maior parte desse cultivo ocorre em ambientes protegidos, como estufas.

Trata-se de uma espécie não adaptada ao cultivo sob baixas temperaturas, sendo o desenvolvimento da planta favorecido por temperaturas superiores a 20° C. Temperaturas inferiores afetam a absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular, o que justifica que a sua produção no sul do Brasil seja feita em ambiente protegido. Apesar da expressão do cultivo do pepino, a qualidade fisiológica e sanitária das sementes constitui um fator importante no elevado custo de produção, sendo responsável por limitações e reduções na produtividade do produto final destinado a comercialização.

Dentre os objetivos fundamentais de um sistema de produção de sementes, está a obtenção de uma maior qualidade fisiológica, permitindo que as características das espécies sejam mantidas e expressas em campo. Assim, é de grande importância o desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes permitindo estimar o desempenho em condições do ambiente, bem como seu potencial de armazenamento e, assim diminuindo riscos decorrentes da comercialização de lotes deficientes em qualidade.

O fator sanitário também é de grande relevância, independente de sua transmissibilidade via semente. Sementes infectadas por patógenos apresentam um

menor vigor e, sementes de menor vigor, conseqüentemente, são mais pré-dispostas ao ataque de organismos patogênicos. Desse modo, a integração entre os fatores fisiológico e sanitário na qualidade final das sementes é de suma relevância.

O pepineiro é uma espécie sensível a uma gama de patógenos de solo ou do filoplano, dentre esses destaca-se *Fusarium* spp., agente causal da mancha do fusário no pepineiro. Esse fungo ataca o pepineiro em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, podendo ocasionar tombamento pré e pós - emergência e infecção de plantas velhas, resultando na murcha de um ou mais brotos, progredindo para a murcha de toda a planta. A descoloração vascular de raiz e caule é outro sintoma bastante comum.

Fusarium spp. é um microrganismo que sobrevive no solo, sendo transmitido por sementes, sobrevivendo em estruturas internas, como o embrião e, em restos culturais. A diagnose preventiva no estágio de sementes, assim como o tratamento das mesmas visando ao controle do inóculo infectivo são medidas que podem auxiliar no combate a esse tipo de doença. Para auxiliar em estudos mais aprofundados sobre *Fusarium* spp. associados às sementes, há necessidade de disponibilização das mesmas com o inóculo, tornando-se assim necessários métodos artificiais e eficazes de inoculação de sementes para trabalhos de pesquisa.

Os métodos mais simples para inoculação de sementes com patógenos, para diversos estudos, revelam-se com baixa eficiência, no sentido de não se obter índices desejáveis de infecção das sementes. Estes, em sua maioria, consistem na imersão das sementes numa suspensão de inóculo, contendo conídios, com uma concentração conhecida, ou no contato direto das sementes com a cultura pura do patógeno, desenvolvida em meio de cultura. Esses métodos podem não assegurar a infecção das sementes e sim, apenas uma contaminação superficial das mesmas.

A metodologia de inoculação de fungos em sementes sobre meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), utilizando a técnica de restrição hídrica, surge como uma alternativa, de modo a promover altos índices de infecção, devido ao maior tempo de exposição que esta possibilita de contato das sementes com o patógeno. Alguns autores explicam que há um conteúdo mínimo de umidade que a semente deve atingir para que o processo germinativo seja iniciado e, desse modo, sob uma condição de déficit hídrico, as condições originais do meio onde as sementes estão

dispostas está modificada. Então, as sementes só iniciam o processo de protusão radicular quando o conteúdo de água atinge um platô que depende de um potencial hídrico de equilíbrio específico, entre as sementes e o meio externo. As condições favoráveis ao condicionamento osmótico variam amplamente em função das características das sementes de cada espécie e cultivar, e, possivelmente, entre lotes de uma mesma cultivar, em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos. Desta forma, cada potencial hídrico irá influenciar de maneira diferente na germinação e desenvolvimento das plântulas de cada espécie.

Com base no fato de que o condicionamento osmótico possibilita, portanto, o contato das sementes com substrato úmido por períodos de tempo mais prolongados, postula-se que esta metodologia pode ser aplicada com eficácia da inoculação de sementes para qualquer patossistema.

O presente trabalho foi desenvolvido com os seguintes objetivos: selecionar e identificar um ou mais isolados de *Fusarium* spp. patogênicos à duas cultivares de pepino e, verificar a influência desse (s) isolado (s) nas sementes do pepineiro através da técnica de inoculação da restrição hídrica na qualidade fisiológica das sementes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do pepineiro

As cucurbitáceas representam uma importante família de plantas utilizadas para a produção de alimentos, tanto para a espécie humana quanto para os animais. Podem ser tão importantes, no ponto de vista nutricional, quanto os cereais e os legumes, pois ocupam uma posição de destaque na dieta diária da população em geral, especialmente, daqueles que habitam as regiões produtoras, sendo uma importante fonte de vitaminas, carboidratos e minerais.

Dentre as cucurbitáceas, destaca-se o pepineiro (*Cucumis sativus* L.), originário do continente Asiático (CAMARGO, 1992), e que, atualmente, já está difundido e cultivado em volumes significativos em todo o mundo, inclusive no Brasil, em seus diversos estados. A região Sul do país se destaca pela sua grande produtividade do pepino para processamento, sendo o estado de Santa Catarina o maior produtor nacional (SILVA et al., 1992). No Rio Grande do Sul, no município de Santa Maria, segundo dados da EMATER, cultiva-se, aproximadamente 7.700 ha dessa hortaliça fruto, destinada à conserva. É uma hortaliça de clima tropical, sendo cultivada, preferencialmente, em condições de temperatura elevada, mas pode ser cultivada nas regiões de temperatura amena, desde que não ocorram frio e geada (GOTO, 2003).

O pepino contém 95% de água; é rico em betacaroteno, cálcio, folacina, fósforo, magnésio, potássio e selênio; é utilizado como diurético e há indicações de seu consumo para amenizar as dores de garganta. Seu valor calórico é baixo, em média, 100 g de pepino apresentam de 12 a 14 kcal, e por isso seu consumo é indicado para pessoas que desejam fazer um regime de controle de peso (GOTO, 2003). Além do seu valor econômico, alimentar e medicinal, o cultivo do pepineiro também tem grande importância social, na geração de empregos diretos e indiretos, pois demanda grande quantidade de mão-de-obra, desde o seu cultivo até sua comercialização final.

2.2 Fungos em sementes de cucurbitáceas

Existem mais de 200 doenças relacionadas à família Cucurbitaceae, de diversas etiologias, a maioria causada por patógenos fúngicos, seguidos por bactérias, vírus, nematóides, fitoplasmas e insetos (ZITTER et al., 1996). No entanto, para que a doença se desenvolva na planta, a suscetibilidade desse hospedeiro e a virulência do patógeno devem estar adequadas às condições ambientes, ou seja, é necessária uma interação entre esses três fatores para que a infecção proceda com sucesso.

O conhecimento de gêneros fúngicos presentes nos mais variados cultivos reflete a situação de um determinado patossistema, uma vez que a presença de sintomas visíveis nas plantas são indícios da presença e ação dos fitopatógenos. A resposta de um vegetal ao ataque de um patógeno é variável e, muitas vezes semelhante à reações provocadas por outros agentes não infecciosos. Tal fato faz com que a diagnose de uma doença infecciosa seja uma tarefa árdua, requerendo um conhecimento bastante sólido das interferências que uma planta pode estar sujeita em um determinado ambiente (SALGADO, 1995). Contudo, levantamentos de gêneros fúngicos, bem como, testes de patogenicidade são importantes na compreensão das relações patógeno hospedeiro-ambiente.

Inúmeros patógenos causadores de doenças importantes em cucurbitáceas são citados na literatura, como: *Alternaria cucumerina*, causando manchas foliares no meloeiro, porém, ocorrendo com menor severidade em abóbora, melancia, pepino e chuchu, podendo sobreviver nas sementes (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996). Também, pode-se encontrar manchas necróticas nas folhas de pepino, melão e melancia, causadas por *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* (ZITTER et al., 1996). O fungo *Cladosporium cucumerinum* é o agente causal da sarna, importante doença das cucurbitáceas, causando lesões nas folhas, pecíolos, caules e frutos de plantas de abóbora, abobrinha, melão e melancia, apresentando um ataque mais severo em pepino (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996). Podridões moles nos tecidos de cucurbitáceas também podem ser observadas, causadas *Rhizopus stolonifer* (Fr.) Lind., o qual se encontra geralmente em frutos (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996). *Phoma terrestris* pode causar lesões de coloração rosa que tendem ao vermelho,

encontradas nas raízes das cucurbitáceas, que atuam como uma porta de entrada, facilitando a infecção por outros organismos fitopatogênicos (ZITTER et al., 1996).

A cultura do pepineiro apresenta grande suscetibilidade ao tombamento causado por vários patógenos de solo. Esses tendem a acumular-se e a disseminar-se através das sementes, por ocasião do preparo do solo, da prática de irrigação e de tratamentos culturais, fazendo com que haja aumento na incidência de doenças à medida que se repete a semeadura em um mesmo local. Os patógenos mais comumente encontrados em solo de cultivo de pepineiro são: *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina* spp, *Pythium deliense* e *Fusarium* spp. (OLIVEIRA et al., 1995; ZAMBOLIM et al., 1999).

2.2.1 *Fusarium* spp.

Fusarium é um dos mais importantes gêneros de fungos existentes, englobando diversas espécies, desde as saprofíticas até àquelas patogênicas, capazes de causar doenças e sérios danos em plantas. O gênero possui ampla distribuição geográfica, com representativa ocorrência em todas as regiões do mundo.

Algumas espécies são particularmente comuns no solo, onde podem persistir sob a forma de estruturas de resistência, denominadas clamidósporos ou, como hifas, enquanto que outras espécies produzem conídios disseminados pelo ar, colonizando, normalmente, ramos, folhas, inflorescências e frutos (VENTURA, 1999).

O gênero pertence à subdivisão Deuteromycotina, anamórfico da ordem Hypocreales (subdivisão Ascomycotina) que reúne as fases teleomórficas do gênero *Fusarium*, como por exemplo, o gênero *Nectria*. Caracteriza-se pela produção de conídios hialinos, septados, em forma de “canoa” e denominados de macroconídios. Estes são produzidos nos esporodóquios, que consistem nas estruturas de frutificação do fungo. Algumas espécies produzem conídios em micélio aéreo, chamados de microconídios. Dependendo das condições ambientais podem ocorrer

alternâncias na produção de macro e microconídios (<http://www.sis.agr.gc.ca/brd/fusarium/intro.html> acesso em 05/11/2008).

As doenças provocadas por *Fusarium* spp. podem estar associadas a “damping-off” (tombamento de pré e pós-emergência), podridões de raiz, murchas vasculares e podridão de sementes. Além disso, o gênero apresenta algumas espécies que são altamente micotoxigênicas, ou seja, com elevada capacidade de produzirem toxinas que afetam desde animais selvagens e domésticos, até mesmo a espécie humana (LARANJEIRA, 2001).

A murcha causada por *Fusarium* spp. pode ocasionar perdas bastante significativas em diversas culturas, ano após ano, principalmente devido à presença do fungo no material de propagação, à persistência no solo através de clamidósporos e à dificuldade de controle do fungo quando já estabelecido no solo (IMENES; ALEXANDRE, 1996; HORST; NELSON, 1997).

Segundo Gruszynski (2001), o patógeno pode se manifestar de diferentes formas, de acordo com as culturas existentes. O ataque do fungo nem sempre ocasiona a morte das plantas, provocando, muitas vezes, uma significativa redução no crescimento e ainda, o aparecimento de folhas “queimadas” de cor marrom na parte basal das plantas. Os sintomas da murcha de *Fusarium* também podem variar de acordo com a interação da cultivar da planta com os fatores ambientais, como as temperaturas de solo e do ar. Geralmente, os sintomas consistem na clorose da folha, murcha, descoloração vascular, necrose da haste e retardamento do crescimento.

As cucurbitáceas são afetadas, comumente, por murchas vasculares, que são doenças economicamente importantes, causadas por diferentes *formae speciales* do fungo *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. Emend. W. C. Snyder & H. N. Hans, os quais são morfológicamente similares, mas, geralmente, atacam hospedeiros específicos.

De acordo com Zitter et al. (1996), a murcha de fusário no pepineiro foi relatada em 1925, porém, primeiramente, descrita como causadora de danos em 1955, na Flórida. Este microrganismo pode atacar o pepineiro em qualquer estágio de seu desenvolvimento. “Damping – off” das mudas é comum, particularmente, em solos frios (18 – 20 °C), no entanto, “damping – off” de pré-emergência também

pode ocorrer. Infecções, normalmente, se estabelecem em plantas mais velhas, resultando na murcha de toda planta e em conseqüente morte em três a cinco dias.

O agente causal da murcha do fusário em pepineiro é, em geral, *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *cucumerinum* J. H. Owen. Espécies de *Fusarium* têm sido relatadas por causar doenças de murcha similares às aquelas causadas por *F. oxysporum*, como, por exemplo, *F. solani* (Mart.) Sacc., o qual tem sido atribuído como causador de doenças vasculares de raiz em melão (REGO, 1995). Há relatos de murcha de fusário em plantas de porongo (*Lagenaria* spp.) e melancia (*Citrullus* spp.), causada por *F. moniliforme* I. Sheld e *F. moniliforme* var. *subglutinans* Wollen Web. & Reinking, com sintomas de atrofia, amarelecimento, necrose das folhas e murcha. Zitter et al. (1996), também citam que em Israel, isolados de *F. solani*, *F. equisiti* (Corda) Sacc e *F. javanicum* Koord causaram murchas em cucurbitáceas importantes como pepino, melão, melancia e abóbora.

2.2.2 *Fusarium moniliforme* (Sheld.)

O fungo *Fusarium moniliforme* [sin. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] é um fungo comumente encontrado na cultura do milho e associado ao apodrecimento de sementes, podendo interferir na qualidade fisiológica das sementes e prejudicar o estande da lavoura (GOULART; FIALHO, 1999).

Essa podridão das sementes e até morte de plântulas, ocorre, principalmente, quando a semeadura é realizada em condições de estresse, como alta umidade e baixas temperaturas, o que é comum no sul do Brasil (PEREIRA, 1997).

Os macroconídios de *F. moniliforme* são raros, hialinos, medindo de 2,4 - 4,9 x 15 - 60 µm, curvados nas extremidades, com 3 - 7 septos; os microconídios são abundantes, medindo 2 - 3 x 5 - 12 µm (SHURTLEFF, 1973). Muitos isolados do fungo *F. graminearum* produzem clamidósporos (WHITE, 1999), ao contrário de *F. moniliforme* (DENTI, 2000). Neste trabalho, utiliza-se a terminologia *Fusarium moniliforme*, embora Munkvold; O'mara (2002) optem por *F. verticillioides*. Os peritécios de *Gibberella fujikuroi* (anamorfo *F. moniliforme*) são globosos, lisos e com coloração azul-escura. As ascas são oblongas, medindo 75 - 100 x 10 - 16 µm,

contendo oito ascósporos, que são retos, afinados nas extremidades, com constrição nos septos, normalmente, com um septo, medindo 4,5 - 7,0 x 12 - 17 mm e arranjados em duas fileiras irregulares (PEREIRA, 1997).

2.3 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes

A qualidade final das sementes é resultante do somatório de quatro atributos: genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade. A qualidade fisiológica das sementes significa sua capacidade para desenvolver funções vitais, abrangendo germinação, vigor e longevidade (POPINIGIS, 1985).

Rotineiramente, o potencial fisiológico dos lotes de sementes é avaliado pelo teste de germinação, no entanto, como esse teste é feito em condições ideais de laboratório, luminosidade, temperatura e substrato adequados, pode não estimar a emergência das plântulas no campo em condições adversas de ambiente. Diante dessa constatação, motivou-se o desenvolvimento de novos testes, visando aumentar a eficiência da avaliação da qualidade fisiológica de sementes (MCDONALD - Jr; WILSON, 1979).

Diversos são os testes utilizados para qualificar sementes de grandes culturas, mas para hortaliças, poucos são os testes disponíveis ou padronizados para essa avaliação. A primeira contagem de germinação é um teste bastante utilizado e considerado simples, é realizado juntamente com o teste de germinação e, pode ser utilizado como um teste de vigor, pois, conforme a deterioração das sementes 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). Esse teste, no entanto, pode apresentar baixa sensibilidade para estratificar lotes de diferentes vigor.

Dentre os testes mais indicados para compor um programa de qualidade de sementes também está o teste de frio (MARCOS FILHO, 1994, 2001), o qual verifica o desempenho quanto à formação de plântulas normais, de lotes de sementes semeadas em condições adversas de temperatura (CASAROLI, 2005).

Esse teste vem sendo utilizado principalmente para a determinação do potencial fisiológico de sementes de milho (KRZYZANOWSKI et al., 1991; SILVA, 2000; CARVALHO et al., 2004), mas alguns autores já demonstram sua eficiência em sementes de hortaliças, como maxixe (TORRES et al., 1999) e tomate (RODO et al., 1998). Esse teste tem a finalidade de avaliar a habilidade das sementes germinarem quando expostas a condições de baixa temperatura e alta umidade. Um dos principais efeitos da baixa temperatura 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).

Os testes que avaliam o crescimento de plântulas são sugeridos tanto pela AOSA (Association of Official Seed Analysts) quanto pela ISTA (International Seed Testing Association), duas associações mundiais que congregam tecnologias de sementes (VANZOLINI et al., 2007). O crescimento de plântulas pode ser mensurado através do comprimento e da massa ou fitomassa de matéria seca da plântula, os quais são medidas de grandeza física, e independem da subjetividade de quem avalia o teste. Esse teste apresenta como principais vantagens o seu baixo custo, rapidez e independência de equipamentos especializados. Assim, lotes com maior comprimento e massa seca de plântulas são ditos mais vigorosos

Outros testes simples e práticos são os de velocidade de germinação e emergência, os quais, segundo Marcos Filho et al. (1987), baseiam-se no princípio de que a velocidade de germinação ou de emergência das plântulas é proporcional ao vigor das sementes. Marcos Filho et al. (1984), trabalhando com testes para a avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo, concluíram que dentre os testes utilizados, o teste de velocidade de emergência foi considerado um dos mais eficientes para identificar diferenças entre o potencial de emergência das plântulas em campo.

2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes

A qualidade sanitária das sementes é consequência da ação integrada de uma série de fatores, que ocorrem durante todo o processo de produção. É uma característica que deve ser avaliada, uma vez que a associação de patógenos às sementes pode implicar em redução do rendimento e levar ao comprometimento da qualidade das mesmas (MACHADO, 1988).

Danos decorrentes da associação dos patógenos com as sementes, não se limitam a perdas diretas da população em campo, mas envolvem outras implicações podendo provocar sérios danos em todo o sistema de produção. Para um grande número de doenças, as sementes constituem a sua única forma de perpetuação e disseminação na natureza (MACHADO, 1994).

Na literatura, há relatos sobre a eficiência de diversos métodos para detecção de patógenos em sementes, os quais envolvem diferentes processos de pré-tratamento como desinfestação superficial e de incubação das sementes. Mas, de uma maneira geral, busca-se padronizar métodos sensíveis, rápidos, simples e reproduzíveis (PIZZINATTO, 1987; MENTEN, 1988), levando sempre em consideração o patógeno alvo, a infra-estrutura do laboratório disponível, o grau de treinamento do pessoal responsável pelo trabalho, além do objetivo do teste (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA, 1976; NEERGARD, 1979; MACHADO, 2002). No entanto, o teste de sanidade para sementes de pepino tem sido conduzido de forma ainda não padronizada.

Para a maioria dos fungos associados às sementes, o teste de incubação em substrato de papel, conhecido também como “Blotter Test”, é o mais freqüente e universal. Os critérios utilizados para a detecção de fungos do gênero *Fusarium* spp. em sementes de pepino são baseados em aspectos morfológicos. Neste caso, procuram-se condições que possam estimular o fungo a produzir estruturas que permitam a sua identificação com auxílio de microscópio estereoscópico, como os conídios e conidióforos.

É comum adicionar ao substrato de papel, o sal de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 – D), de modo a evitar ou reduzir a germinação das sementes durante os testes de incubação, (MACHADO; LANGERAK, 1993). Mesmo esses testes sendo

considerados rotineiros, eles ainda apresentam limitações, pois nem sempre permitem uma diagnose precisa e correta em termos de distinguir subespécies, variedades e raças (TANAKA; MENTEN, 1988; TANAKA, 1995; VIEIRA, 1990). Apesar de padronizado para a maioria dos fungos, o método apresenta limitações por ter, geralmente, sua sensibilidade comprometida em lotes de sementes altamente contaminados por microrganismos saprófitas e seu uso ser restrito a fungos necrotróficos que produzem estruturas de fácil identificação (MACHADO, 2002; MCGEE, 2002;).

A adição de 2,4-D ao substrato de papel pode reduzir a incidência de alguns patógenos em sementes. Na tentativa de substituir o uso deste produto, vários estudos têm sido realizados utilizando-se também a técnica de restrição hídrica (COUTINHO et al., 2001; MACHADO, 2002; MACHADO et al., 2001, 2004; MAGALHÃES, 2005). Especificamente com a espécie *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, foi observado que a restrição hídrica induzida pelo soluto manitol no potencial osmótico $-1,0$ MPa não interfere no seu desenvolvimento e detecção (MACHADO, 2002).

2.5 Método de inoculação de sementes por intermédio da técnica de restrição hídrica

O pepineiro é uma espécie propagada via sementes e, a produção brasileira de sementes de hortaliças ganhou um grande impulso no final da década de 90, principalmente, pela atuação de empresas multinacionais no mercado, que incentivaram a produção e pesquisas nessa área. Num primeiro momento, as pesquisas voltaram-se para a introdução de materiais genéticos adaptados às condições de produção do Brasil, após uma fase de adequação inicial das cultivares, sistemas de produção, embalagens e comercialização, emergiu uma demanda por pesquisas que fornecessem informações capazes de permitir apoio ao controle de qualidade durante as diversas etapas do processo de produção de sementes (GOULART; TILLMANN, 2007)

Diante das dificuldades de obter sementes com diferentes níveis de infecção por patógenos naturalmente, a inoculação de sementes torna-se uma atividade necessária e viável para o desenvolvimento de trabalhos de pesquisa. A inoculação precisa garantir a reprodução da sintomatologia típica da doença e ainda possibilitar a sua aplicação em estudos de detecção, patogenicidade, transmissibilidade, melhoramento genético do hospedeiro, controle, dentre outros (TANAKA; MENTEN, 1991).

A imersão das sementes em uma 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 (SANTOS, 1995; 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, mas sim apenas a contaminação superficial das sementes (TANAKA; MENTEN, 1991; MACHADO et al., 2001). 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., 2001).

O interesse em tratamentos que envolvam o início das atividades pré-germinativas levou ao desenvolvimento de estudos envolvendo técnicas que permitam controlar a hidratação e a germinação das sementes. Entre estes estudos, destaca-se a técnica da restrição hídrica (MACHADO; LANGERAK, 2002) relatada para sementes de diferentes espécies, também referida como condicionamento osmótico (EIRA, 1988; GUIMARÃES, 1991; BRACCINI, 1996), "priming" (HEYDECKER et al., 1975), condicionamento fisiológico (DONI - FILHO, 1992), entre outras denominações. A técnica da restrição hídrica consiste em colocar as sementes em contato com um substrato, com o potencial hídrico ajustado para que a semente absorva água até um nível em que todos os processos preparatórios à germinação ocorram, no entanto, sem atingir a fase de alongamento celular e, conseqüentemente, a emissão da radícula (HEYDECKER et al., 1975; BRADFORD, 1986).

Para substratos agarizados, o ajuste do potencial hídrico em relação ao desenvolvimento de microrganismos, normalmente, é feito pela adição de solutos osmoticamente ativos como sulfato de magnésio ($MgSO_4$), cloreto de sódio ($NaCl$), cloreto de magnésio ($MgCl_2$), fosfato de potássio (K_3PO_4), dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4), cloreto de potássio (KCl), glicerol [$C_3H_5(OH)_3$], manitol ($C_6H_{14}O_6$) e polietileno glicol [$HOCH_2(6CH_2CH_2)NOH$]. Quantidades específicas para cada um desses agentes osmóticos, simulam um determinado potencial osmótico, que são estabelecidos pela equação de Van't Hoff (SOUZA; CARDOSO, 2000).

Machado et al. (2001a) mostraram que 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 inoculadas e, que foram alcançados maiores índices de infecção das sementes em potenciais hídricos na faixa de -0,8 a -1,2 MPa. O mesmo comportamento foi verificado em experimentos com *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja (MACHADO et al, 2001) e, com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, e *Botryodiplodia theobromae* em sementes de algodão (MACHADO, 2002).

Através da técnica da restrição hídrica, sementes de milho foram inoculadas com *Stenocarpella maidys*, utilizando manitol ajustado para o potencial hídrico de -1,4 Mpa, obtendo-se após 96 horas de exposição das sementes à colônia fúngica, média de 67% desse patógeno (CARVALHO, 1999).

Desse modo, por meio desta técnica, a inoculação de sementes mostra-se eficiente e bastante promissora para os patossistemas acima estudados. A metodologia consiste na exposição das sementes ao fungo desenvolvido em meio de cultura contendo um restritor hídrico, por diferentes períodos de tempo. Essa técnica permite a obtenção de sementes com diferentes potenciais de inóculo (COSTA et al., 2002; PRADO et al., 2002; SOUSA et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária e no Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes do Departamento de Fitotecnia, ambos da Universidade Federal de Santa Maria, em Santa Maria – RS, no período de janeiro a outubro de 2008.

3.1 Origem e perfil dos sublotos

As sementes, pertencentes às cultivares Caipira e Wisconsin, safra 2008, foram fornecidas pela empresa ISLA - LTDA, produzidas no município de Porto Alegre – RS e armazenadas sem qualquer tipo de aditivo químico.

Após a abertura das embalagens herméticas, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em câmara seca sob condições controladas de 10 °C e 45% de umidade relativa do ar, onde permaneceram até o final da fase experimental.

Cada cultivar foi subdividida em três sublotos de diferentes níveis de qualidade fisiológica, diferenciados pelo envelhecimento artificial, por diferentes períodos. Para a obtenção dos sublotos através do envelhecimento artificial, as sementes de cada cultivar foram acondicionadas em caixas plásticas transparentes (11,5 x 11,5 x 3,5 cm) como compartimentos individuais. Telas metálicas tradicionais foram utilizadas para dar suporte às sementes. Na superfície destas, foram distribuídas, em camada única, aproximadamente 5 g de sementes de cada cultivar. Para o controle da umidade relativa do ar no interior das caixas, foram colocados 40 mL de água. As caixas tampadas foram postas em câmara de envelhecimento acelerado regulada a 41°C e umidade relativa de 100%, por períodos de zero, 12, e 36 horas para a cultivar Caipira e, de zero, 24 e 48 horas para a cultivar Wisconsin. (lotes 1, 2 e 3, respectivamente, para cada cultivar).

Não foi mantido o mesmo padrão para as duas cultivares, em relação aos tempos de envelhecimento artificial, porque foram realizados testes prévios, de

modo a definir qual seria o tempo mais adequado para a obtenção de sublotos e, as cultivares reagiram de maneiras diferentes quando foram submetidas ao estresse por envelhecimento artificial.

3.2 Determinação do teor de umidade das sementes

Para a determinação do teor de umidade inicial das sementes foram pesadas, aproximadamente, cinco gramas de sementes de cada cultivar, com quatro repetições, e levadas a estufa por 24 horas, com temperatura constante de $105 \pm 3^\circ$ C (BRASIL, 1992). O grau de umidade após o envelhecimento acelerado também foi determinado através da mesma metodologia, para cada sublote de cada cultivar. O resultado final foi expresso pela média aritmética em porcentagens das amostras. O teor de umidade 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).

3.3 Determinação do perfil fisiológico e sanitário dos sublotos e obtenção e identificação do(s) isolado(s) fúngico(s)

A determinação do perfil fisiológico dos sublotos de sementes de cada cultivar de pepino foi feita através de um teste de germinação, de modo a verificar se a porcentagem de germinação de cada sublote estava dentro dos padrões normais previstos, ou seja, acima de 80%.

O teste de germinação foi realizado segundo esta metodologia: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada um dos sublotos e para cada

tratamento, semeadas em rolos de papel umedecidos com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e posteriormente, levado ao germinador regulado a temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 h de escuro. As avaliações foram realizadas aos quatro e oito dias após a semeadura, sendo contabilizadas as porcentagens de plântulas normais (BRASIL, 1992).

Através da determinação do perfil sanitário dos sublotos de cada cultivar de sementes de pepino foi possível estabelecer a sua qualidade sanitária e isolar o (s) fungo (s) que seria (m) utilizado (s) neste trabalho.

Foi feita a opção por utilizar apenas um isolado de *Fusarium moniliforme* (Sheld.), o qual foi obtido através de um teste de sanidade, realizado em papel filtro, utilizando-se 200 sementes, para cada cultivar, dispostas em recipientes do tipo “gerbox” previamente desinfestados com solução de hipoclorito de sódio, sobre duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em câmara de incubação, a temperatura de 25 °C, em regime alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, pelo período de sete dias (BRASIL, 1992). Para a identificação da microflora, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de microscópio estereoscópio e, quando necessário, microscópio ótico. Os resultados de incidência foram expressos em porcentagens de fungos presentes nas sementes.

Porções do micélio do *Fusarium* spp. desenvolvidas sobre as sementes, foram transferidas, com auxílio de uma agulha histológica, para placas de Petri contendo o meio de cultura Batata – Dextrose - Ágar (BDA) e incubadas a 25°C sob fotoperíodo de 12 horas. Cada colônia de fungo desenvolvida em BDA foi purificada conforme a técnica de cultura monospórica, descrita por Fernandes (1993).

Seguindo a metodologia descrita por Ventura (2000), esporos de cada colônia purificada foram repicados para três placas de Petri com meio de cultura BDA e incubadas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 72 horas, foram medidos os diâmetros das colônias desenvolvidas. Porções dessas colônias também foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura Àgar-Àgua (AA) e Folhas-de-Cravo (FCA). Depois de dez dias, algumas folhas de cravo foram transferidas para lâminas e examinadas ao microscópio ótico bem como diretamente nas placas

(Figura 1). A identificação da espécie de *Fusarium* foi feita seguindo a chave de classificação de Ventura (2000) e descrições feitas por Gerlach e Nirenberg (1982).

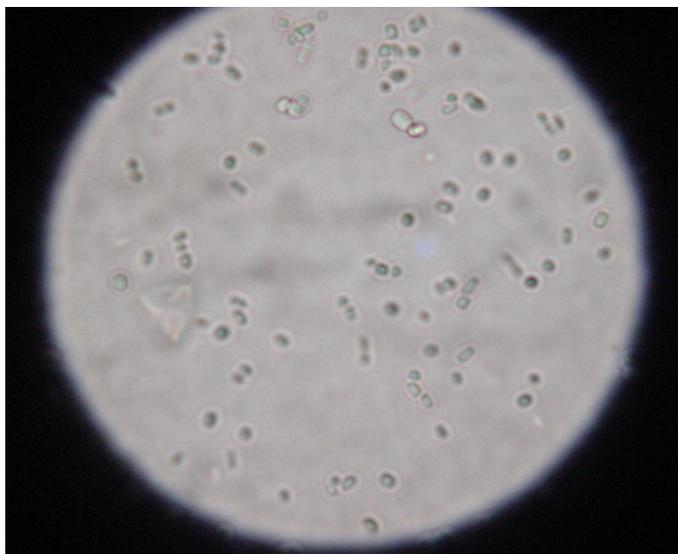


Figura 1. Foto de microscópio ótico mostrando os microconídios de *Fusarium moniliforme* (Sheld.). (aumento de 40 x).

3.4 Metodologia de inoculação de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) em sementes de pepino pela técnica de restrição hídrica.

3.4.1 Procedimentos de inoculação

Foram realizadas inoculações de sementes de pepino com *Fusarium moniliforme* (Sheld.) utilizando como substrato Batata – Dextrose - Ágar (BDA) modificado com o soluto manitol, o qual proporciona restrição hídrica em meio sólido.

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). O cálculo para obtenção da quantidade de manitol necessária para o potencial hídrico

desejado foi obtido por meio da fórmula de Van't Hoff, citada por Souza; Cardoso (2000).

$$\Psi_{os} = -i RTC$$

sendo:

Ψ_{os} = Potencial osmótico (Mpa)

i = Coeficiente isotônico

R = Constante geral dos gases perfeitos ($0,0083 \text{ Mpa} \times 1 \times \text{mol}^{-1} \times \text{K}^{-1}$)

T = Temperatura absoluta ($^{\circ}\text{K}$)

C = Concentração (mol/L)

Esse potencial hídrico de $-0,8 \text{ MPa}$ foi utilizado devido à uma série de testes prévios, que demonstraram que esse potencial seria o mais indicado para o experimento em questão, além de auxílio de revisão bibliográfica.

O inóculo de *F. moniliforme* foi repicado para as placas de Petri através da utilização de três discos com cinco mm de diâmetro, dispostos de maneira equidistante nas placas e, essas placas contendo as colônias fúngicas foram mantidas a 25°C e fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, em incubadora tipo B.O.D por 5 dias. Após, decorrido esse período de incubação, de modo que ocorresse o desenvolvimento do fungo sobre toda a área contendo meio de cultura, sementes de pepino de cada cultivar, Caipira e Wisconsin, foram, primeiramente, desinfestadas com NaClO 1% por 2 minutos, enxaguadas por duas vezes sucessivas em água destilada e esterilizada e, secas em câmara de fluxo por, aproximadamente, 1 hora. Então foram expostas ao *F. moniliforme*, em camada única, e incubadas, novamente, a 25°C , fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, até que a primeira semente iniciasse o processo germinativo, através da protusão radicular (Figura 2). No caso desse experimento, onde as sementes foram expostas a um potencial hídrico de $-0,8 \text{ Mpa}$, as sementes foram retiradas das placas de Petri após 48 h e, posteriormente, postas para secar em condições assépticas de laboratório por mais 48 h (Figura 3). Em seguida foram aplicados os tratamentos e realizados os testes de laboratório e casa de vegetação.



Figura 2: Sementes de pepino dispostas sobre a colônia de *Fusarium moniliforme* (Sheld.).



Figura 3: Sementes de pepino dispostas sobre a colônia de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) após 48 horas de contato.

3.5 Testes em condições de laboratório e casa de vegetação

Foram aplicados cinco tratamentos para cada uma das cultivares e para cada um dos três sublotos utilizados no experimento para os testes em condições de laboratório e casa de vegetação. Esses tratamentos foram prévios às aplicações dos testes e constaram de:

- **Tratamento 1 (T1):** testemunha absoluta, onde foi aplicado nenhum tratamento, ou seja, sem restrição hídrica (0 Mpa), onde as sementes não foram dispostas previamente à contato com meio de cultura.

- **Tratamento 2 (T2):** tratamento com sementes dispostas em meio de cultura modificado pela adição do soluto manitol, num potencial hídrico de – 0,8 Mpa.

- **Tratamento 3 (T3):** tratamento apenas com as sementes dispostas sobre o meio de cultura BDA, sem adição de manitol ao meio, o qual apresenta um potencial hídrico de, aproximadamente, - 0,35 Mpa (SOMMERS et al., 1970; WEARING; BURGUESS, 1979).

- **Tratamento 4 (T4):** tratamento com sementes dispostas sobre meio de cultura modificado pela adição de manitol, num potencial hídrico de – 0,8 Mpa, + adição de *F. moniliforme*.

- **Tratamento 5 (T5):** tratamento com sementes dispostas sobre meio de cultura BDA + adição de *F. moniliforme*, sem o uso da técnica da restrição hídrica.

3.5.1 Testes em condições de laboratório

Os testes descritos a seguir foram realizados em condições controladas de laboratório. As avaliações realizadas foram: teste de germinação, primeira contagem

de germinação, teste de frio, crescimento de plântulas (hipocótilo e radícula) e massa seca de plântulas (hipocótilo e radícula) e teste de sanidade.

Teste de germinação: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada um dos sublotos e para cada tratamento, semeadas em rolos de papel umedecidos com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e posteriormente, levado ao germinador regulado a temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 h de escuro. As avaliações foram realizadas aos quatro e oito dias após a semeadura, sendo contabilizadas as porcentagens de plântulas normais, anormais e sementes mortas (BRASIL, 1992). Entende-se por sementes mortas aquelas deterioradas pela ação de microrganismos.

Primeira contagem de germinação: realizada juntamente ao teste de germinação, onde a interpretação foi realizada aos quatro dias após a semeadura, sendo consideradas somente plântulas normais e os resultados foram expressos em porcentagem.

Teste de frio: realizado com quatro repetições de 50 sementes para cada um dos sublotos e para cada um dos tratamentos, semeadas em rolos de papel umedecidos com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, de forma semelhante ao teste de germinação. Em seguida, os rolos foram acondicionados em sacos plásticos e vedados, permanecendo por um período de cinco dias em câmara tipo BOD à temperatura constante de 10° C. Após esse período, os rolos foram colocados em germinador a 25 °C, durante cinco dias, considerando-se na avaliação, somente plântulas normais. Os resultados expressos foram em porcentagem de plântulas normais.

Teste de crescimento de plântulas: foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes para todos os sublotos, sendo a semeadura no terço superior do papel umedecido com água destilada, no volume de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos contendo as sementes foram levados aos germinadores por cinco dias, à temperatura constante de 25° C. Após cinco dias, as plântulas foram aleatoriamente

separadas em quatro repetições de 10 plântulas para cada lote, sendo estas submetidas às medições (BRASIL, 1992).

Para obtenção dos dados de **comprimento de hipocótilo** foram realizadas as medidas da zona de diferenciação entre radícula/hipocótilo até os cotilédones, e para a medição da radícula foi considerado o comprimento da raiz primária, usando-se régua com graduação em milímetros (mm). Os comprimentos, tanto de hipocótilo como de radícula, foram formados a partir da média das 10 plântulas avaliadas e expressos em centímetros (cm).

Os dados de **massa seca de hipocótilo e radícula** foram gerados utilizando-se as 10 plântulas avaliadas para comprimento, sendo que estas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa por um período de 48 h e temperatura constante de 70° C (BRASIL,1992). Após secagem até massa constante, foi realizada a pesagem em balança de precisão (0,001g) e os resultados expressos em gramas para cada tratamento.

Avaliação sanitária: realizada através do “Blotter Test”, com oito repetições de 25 sementes. As sementes foram distribuídas em caixas do tipo “gerbox”, utilizando-se duas folhas de papel filtro umedecidas com água estéril na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas foram mantidas em câmara de crescimento a 25° C em regime alternado de 12 h de luz e escuro por sete dias. Após o período de incubação, as sementes foram examinadas individualmente, com auxílio de microscópio estereoscópico e óptico, para verificação da presença de patógenos, os quais foram identificados ao nível de gênero, através das suas estruturas morfológicas, determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos. Essa identificação, também, foi baseada na bibliografia de Barnett; Hunter (1998).

3.5.2 Testes em casa de vegetação

Os testes descritos a seguir foram realizados em condições parcialmente controladas de casa de vegetação. As avaliações realizadas foram: emergência de

plântulas, comprimento de plantas (hipocótilo e radícula), massa seca de plantas (hipocótilo e radícula) e índice de velocidade de emergência (IVE).

Emergência de plantas: conduzido em casa de vegetação, utilizando-se bandejas plásticas (60,0 x 40,0 x 10,0 cm) contendo substrato comercial Plantmax[®], realizado com quatro repetições de 25 sementes para cada sublote e para cada tratamento. Foram feitas irrigações diárias e a avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas.

As sementes mortas ou que não germinaram daqueles tratamentos onde houve inoculação foram retiradas das bandejas e levadas para o laboratório, onde foram postas em condições de câmara úmida, de modo a realizar o teste de patogenicidade. Caixas “gerbox” foram superficialmente desinfestadas com NaClO e álcool 70% e, duas folhas de papel filtro estéreis umedecidas com água destilada e estéril, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel foram dispostas sobre elas. Sobre as folhas de papel filtro foram colocadas as sementes mortas ou que não germinaram e, as caixas “gerbox” foram incubadas em câmara de crescimento, por sete dias, em condições de temperatura de 25^o C em regime alternado de 12 h de luz e escuro. Após esse período, foi analisada a presença de micélio de *F. moniliforme* nas sementes através de microscópio estereoscópico e óptico.

Crescimento de plantas: realizado juntamente com o teste de emergência de plantas, foram utilizadas quatro repetições de 10 plantas para todos os sublotes, retiradas de forma aleatória aos 21 dias após a semeadura. Para obtenção dos dados de **comprimento de hipocótilo** foram realizadas as medidas da zona de diferenciação entre radícula/hipocótilo até os cotilédones, e para a medição da radícula foi considerado o comprimento da raiz primária, usando-se régua com graduação em milímetros (mm). Os comprimentos, tanto de hipocótilo como de radícula, foram formados a partir da média das 10 plântulas avaliadas e expressos em centímetros (cm).

Os dados de **massa seca de hipocótilo e radícula** foram gerados utilizando-se as 10 plântulas avaliadas para comprimento, sendo que estas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa por um período de 48 horas e temperatura constante de 70^o C (BRASIL,1992). Após secagem até massa

constante, foi realizada a pesagem em balança de precisão (0,001g) e os resultados expressos em gramas para cada tratamento.

O **Índice de velocidade de emergência (IVE)** foi determinado utilizando-se quatro repetições de 25 sementes para cada sublote, efetuando-se contagens diárias de plântulas emersas nas bandejas até obter-se número constante de plântulas emersas. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, somando-se o número de plântulas emersas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962).

$$IVE = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$$

Onde:

IVE = índice de velocidade de emergência;

G1, G2, Gn = número de plântulas normais emersas, computadas na primeira, na segunda e na última contagem;

N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem de plântulas emersas.

3.8 Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi Inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições, constituindo um bifatorial 5x3, correspondendo aos cinco métodos de inoculação e aos três sublotes de sementes de pepino. O fatorial foi utilizado separadamente para cada cultivar. A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (ZONTA et al., 1986). Os dados referentes a germinação, primeira contagem de germinação, teste de frio e emergência em campo foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$ e, os dados referentes as sementes infestadas por fungos foram transformados em raiz $(x+100)$. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho serão apresentados em duas partes, as quais são relativas as duas cultivares utilizadas nos experimentos desenvolvidos.

4.1 Parte I - Cultivar Wisconsin

Os sublotos utilizados no experimento apresentaram valores distintos em relação ao grau de umidade das sementes de pepino, cultivar Wisconsin.

Nota-se uma acentuada variação nos graus de umidades entre sublotos, sendo que sementes provenientes do sublote1 apresentaram uma porcentagem de umidade de 6,12%, enquanto sementes dos sublotos 2 e 3, respectivamente, apresentaram porcentagens de umidade de 22,86 e 28,23%. Essa diferença, provavelmente, ocorreu devido ao processo de diferenciação inicial de sublotos através do envelhecimento artificial por diferentes períodos de tempo. Segundo Marcos Filho (1999), diferenças maiores que 2% no grau de umidade entre amostras são comprometedoras, sendo que variações acentuadas podem determinar diferenças na intensidade de deterioração das sementes.

Ressalta-se ainda que quanto à germinação e emergência de plântulas, as sementes mais úmidas germinam mais rapidamente. Por outro lado, o teor de água elevado prejudica o desempenho das sementes no teste de envelhecimento acelerado e pode favorecê-lo em outros testes, como, por exemplo, no teste de condutividade elétrica (VIDAL, 2007).

Quanto à germinação inicial, os três sublotos 1, 2 e 3 apresentaram altas porcentagens de germinação: 89,08; 85,17 e 81,96 %, respectivamente, demonstrando a alta qualidade fisiológica das sementes.

Os dados referentes à avaliação inicial da qualidade sanitária dos três sublotos de sementes de pepino, cultivar Wisconsin, encontram-se na Tabela 1. Foram detectados os seguintes fungos associados às sementes: *Alternaria* spp.,

Aspergillus spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Muccor* spp..

Tabela 1 – Porcentagem de incidência de fungos associados aos sublotes 1, 2 e 3 de sementes de pepino, cultivar Wisconsin. Santa Maria-RS, 2008.

	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.
Sublote				
1	1 a*	7 a	13 a	1 a
2	0 a	11 a	10 a	0 a
3	0 a	18 a	11 a	0 a
C.V. (%)	0,53	6,07	5,77	1,01
	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizoctonia</i> spp.	<i>Muccor</i> spp.
Sublote				
1	1 a	2 b	1 a	0 a
2	0 a	7 b	0 a	1 a
3	0 a	20 a	0 a	0 a
C.V. (%)	0,84	3,58	0,80	0,53

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

É possível constatar a baixa incidência de fungos nos três sublotes avaliados, demonstrando a boa qualidade sanitária dos mesmos. Para os fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. observou-se uma maior porcentagem nos três sublotes.

Para *Aspergillus* spp. não houve diferença significativa entre os três sublotes. Resultados semelhantes para esse fungo foram obtidos por Casaroli (2005) em estudos realizados com sublotes de sementes de abóbora provenientes de diferentes sistemas de produção. É importante ressaltar que esse gênero destaca-se como um fungo de armazenamento, causador de podridões em sementes (MENTEN, 1995; ZITTER et al., 1996). Muniz et al. (2004), em seus estudos realizados com sementes de duas cultivares de melão, constataram que *Aspergillus* spp. interfere na qualidade fisiológica do meloeiro.

No entanto, para *Penicillium* spp., o sublote 3 apresentou uma incidência bem superior aos demais (20%). Esse gênero é considerado um patógeno típico causador de podridão em sementes e responsável por reduções na viabilidade e

longevidade (MACHADO, 1988). *Penicillium* spp. não é transmitido para as plântulas e plantas, como ocorre com o gênero *Fusarium* spp., o qual pode causar podridões de sementes, morte de plântulas em pré e pós-emergência, e podridões de raízes e colmos (PEREIRA, 1991). No entanto, *Penicillium digitatum* Sacc. pode promover podridões em frutos de cucurbitáceas (REGO, 1995). Cabe ressaltar, ainda que no presente trabalho, o sublote 3 apresentou um grau de umidade superior aos demais lotes, o que pode ter favorecido o desenvolvimento desse patógeno.

Da mesma forma que ocorreu com *Aspergillus* spp., os sublotes de sementes de pepino não diferiram estatisticamente em relação ao fungo *Rhizopus* spp.. Esse patógeno pode causar podridões de sementes e plântulas de algodão, atacando os cotilédones, apodrecendo-os antes da emergência, quando apenas o sistema radicular foi emitido e, posteriormente, toda plântula apodrece (MENTEN, 1995). Podridões moles nos tecidos de cucurbitáceas, também podem ser causadas pelo fungo *Rhizopus stolonifer* (Fr.) Lind., que se encontra geralmente em frutos (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996).

Fusarium spp. apareceu em pequena quantidade apenas no sublote 1. Esse fungo se destaca por ser transmitido via sementes e como importante patógeno em cucurbitáceas, como pepino, melancia e melão, por causar murchas vasculares e tombamentos de plântulas, além de também poder atacar raízes e colo de planta abóbora e abobrinha (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996). Da mesma forma que foi constatado para *Aspergillus* spp., Muniz et al. (2004), também constataram que *Fusarium oxysporum* prejudica a qualidade fisiológica de sementes de melão.

Os resultados referentes aos dados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem de germinação e teste de frio, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Wisconsin estão apresentados na Tabela 2.

Para o teste de germinação, observou-se que não houve interação entre os dois fatores avaliados no experimento, demonstrando que os resultados dos tratamentos aplicados nas sementes foram independentes dos sublotes utilizados. No entanto, as maiores médias de germinação foram obtidas nos sublotes 1 e 2. Marcos Filho (2001) afirma que o teste de germinação apresenta limitações em termos de estratificação dos lotes e relação com os resultados em campo. No entanto, Bhering et al. (2000) avaliaram sementes de pepino e concluíram que o

teste de germinação mostrou ser um bom indicativo de qualidade fisiológica das sementes mas, não garantiu uma alta emergência em campo de sublotes com maior germinação. Outros autores, como Barros et al. (2002) e Cardoso (2003) também conseguiram separar sublotes de sementes de abobrinha (*Cucurbita pepo*) e abobrinha cultivar Piramoita, respectivamente. Porém, esses autores detectaram diferentes níveis de qualidade fisiológica nos sublotes avaliados, comprovando que o teste de germinação é um bom indicador de qualidade fisiológica para sementes dessa espécie.

No teste de germinação, as médias dos três sublotes para os tratamentos 1, 2 e 3 não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, porém quando inoculou-se *F. moniliforme* (T4 e T5) as médias de germinação diminuíram, mais acentuadamente no T4 (48%), onde foi aplicada a restrição hídrica para a inoculação do patógeno.

TABELA 2 - Dados obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Wisconsin. Santa Maria - RS, 2008.

	Germinação (%)				Primeira contagem de germinação (%)				Plântulas anormais (%)			
	Sublotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
Tratamentos												
T1	89*	85	81	85 a	85 aA	79 aA	79 aA	81	0 bB	2 cAB	6 bA	2
T2	78	76	77	77 a	42 cB	53 bcB	71 aA	55	17aA	11 bcA	8 bA	12
T3	84	75	70	77 a	69 abA	71 abA	70 aA	70	0 bB	11 bcA	1 bB	2
T4	55	53	38	48 c	55 bcA	34 cB	27 bB	38	29 aA	29 aA	32 aA	30
T5	60	71	57	63 b	37 cA	34 cA	27 bA	36	15 aA	13 aA	6 bA	11
Média	74 A	73 AB	65 B		58	55	57		9	12	9	
C.V. (%)		11,59				11,91				27,69		
	Sementes mortas (%)				TF – Plântulas Normais (%)							
	Sublotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média				
Tratamentos												
T1	8 bcA	10 aA	11 cA	9	89 aA	90 aA	74 aB	85				
T2	2 bcB	11 Aa	13 bcA	8	70 bcA	67 bA	62 aA	66				
T3	13 abA	10 aA	6 cA	10	76 abA	71 abA	69 Aa	72				
T4	14 abA	16 aA	28 abA	19	23 dbA	16 cB	32 bB	23				
T5	23 aB	14 aAB	35 aA	23	56 cA	68 bA	38 bB	53				
Média	11	12	17		64	67	55					
C.V. (%)		27,14				10,63						

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. TF: Teste de Frio; T1: Testemunha; T2: BDA + manitol – 0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol – 0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

Baseado nestes resultados da Tabela 2, fica evidenciada a eficácia da metodologia de inoculação através da restrição hídrica, além de reforçar resultados de outros estudos, nesta linha de pesquisa, como os de Machado et al. (2004). Estes autores observaram que *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Colletotrichum gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides* inoculados em sementes de algodoeiro, sob diferentes potenciais osmóticos (-0,4 a -1,0 MPa) provocaram redução de germinação e conseqüente aumento no percentual de sementes mortas. Ainda, Machado et. al. (2001b), trabalhando com inoculação de *C.truncatum*, *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja, observaram que a percentagem de germinação das sementes inoculadas com o fungo *C. truncatum* foi drasticamente reduzida e que o fungo *P. sojae* foi também extremamente agressivo, ocasionando uma redução da germinação para menos de 20% em sementes que permaneceram em contato com inóculo. Em relação a *S. sclerotiorum*, as sementes apresentaram germinação abaixo de 20% e nos potenciais de -0,6; -0,8 e no potencial hídrico de -1,0MPa, praticamente, não houve germinação, apresentando mais de 90% de sementes mortas.

Para a primeira contagem de germinação, houve interação significativa entre os fatores tratamentos e sublotes. No lote 1 observou-se que os tratamentos 1 e 3 não diferiram entre si, no entanto o tratamento 3 também não diferiu do tratamento 4. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao fato do tratamento 3 ser realizado em meio de cultura BDA, o qual, naturalmente apresenta um potencial hídrico de - 0,35 Mpa (SOMMERS et al., 1970; WEARING; BURGUESS, 1979), o que pode ter atrasado o processo germinativo das sementes. Os tratamentos 2, 4 e 5 também não diferiram entre si, ressaltando-se que o tratamento 2 apresentava um potencial hídrico do meio de -0,8 Mpa, fato que também pode ter retardado a velocidade de germinação das sementes. Durigon et al. (2008), trabalharam com a influência do manitol com diferentes potenciais hídricos em sementes de pepino e constataram que a qualidade fisiológica é afetada pelo uso do restritor hídrico.

Os tratamentos 4 e 5 apresentaram as menores médias, ratificando a influência de *F. moniliforme* na qualidade das sementes. Para o tratamento 2, o subote 3 apresentou uma maior porcentagem de germinação na primeira contagem (71%), em relação aos demais sublotes, no entanto, essa porcentagem praticamente

se estabilizou, aumentando muito pouco quando foi contabilizada a segunda contagem do teste de germinação, fato que não ocorreu com os demais sublotos.

Como o sublote 3 apresentava um maior teor de umidade, sabe-se que esse fato reduz o tempo de germinação das sementes viáveis, o que dá vantagem em relação às demais sementes, menos úmidas (BORGES et al., 1990; FANTI; PEREZ, 2005)

No sublote 1, o tratamento 4 obteve uma vantagem em relação aos outros dois sublotos, se diferenciando estatisticamente, provavelmente por ser um sublote de melhor qualidade fisiológica ou de menor umidade, fato que amenizou a suscetibilidade ao patógeno.

O teste de primeira contagem de germinação (Tabela 2) foi eficiente apenas para estratificar os sublotos em maior e menor potencial fisiológico, nos tratamentos 2 e 4, resultados semelhantes aos encontrados por Cardoso (2003) com sementes de abobrinha.

O teste de primeira contagem pode ser utilizado rotineiramente para obter informações preliminares sobre o potencial fisiológico de sementes de pepino (BHERING et al., 2000) e avalia, indiretamente, a velocidade de germinação das dessas e, Nakagawa (1999) verificou que a primeira contagem, muitas vezes, expressa melhor as diferenças de velocidade de germinação entre sublotos, que os índices de velocidade de germinação de sementes (IVG).

Na avaliação da porcentagem de plântulas anormais (Tabela 2), verifica-se que no sublote 1 as maiores porcentagens ocorreram nos tratamentos 2, 4 e 5. 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, o manitol não obedece completamente essas regras (RIBEIRO et al., 2002). Slavik (1974) considerou que o manitol, pode penetrar nas sementes durante a germinação, mostrando-se, inclusive fitotóxico, o que pode justificar a porcentagem de 17% de plântulas anormais no tratamento 2. Contudo, o tratamento 4 apresentou a maior porcentagem de plântulas anormais (29%), demonstrando o efeito da infecção pelo patógeno através da restrição hídrica. Os tratamentos 1 e 3 apresentaram baixa incidência de plântulas anormais. No sublote 2, se mantêm as

porcentagens maiores de plântulas anormais para os tratamentos 4 e 5. Já no subote 3, o tratamento 4 apresentou a maior porcentagem de plântulas anormais (32%), comprovando a interação entre o soluto manitol e a inoculação de patógenos em sementes. No tratamento 1 (testemunha absoluta), o subote 3 obteve os maiores índices de plantas anormais e, no tratamento 3, os maiores índices foram observados no subote 2. Henrique et al. (2008) utilizando a técnica da restrição hídrica para inoculação de *Alternaria alternata* em sementes de melão, obtiveram maiores índices de plantas anormais quando se inoculou o patógeno em sementes mais úmidas.

Para a variável sementes mortas, no subote 1, a maior porcentagem ocorreu nos tratamentos 3, 4 e 5. Para o subote 2 não houve diferença estatística para nenhum dos cinco tratamentos aplicados às sementes de pepino. Quando se tratou do subote 3, a maior porcentagem de sementes mortas ocorreu nos tratamentos 4 e 5. Através desses resultados, é possível perceber que os tratamentos onde foram inoculados *F. moniliforme* apresentaram as maiores porcentagens de sementes mortas.

Em relação aos subotes de sementes, para os tratamentos 1, 3 e 4 não houve diferença estatística. Quando foi aplicado o tratamento 2 às sementes, o subote 1 apresentou as menores médias, demonstrando assim sua melhor qualidade fisiológica. E, para o tratamento 5, o subote 3 se mostrou mais suscetível a infecção por *F. moniliforme*, fato que também pode ser atribuído ao maior teor de umidade que este lote apresenta em relação aos outros dois. Segundo Carvalho; Nakagawa (2000), incrementos no grau de umidade favorecem a elevação da temperatura da semente, devido a processos respiratórios e de uma maior atividade de microrganismos, prejudicando assim, sua viabilidade.

Sabe-se que a discrepância desses resultados é compreensível com base nos princípios e fundamentos de fitopatologia. Para que uma doença venha a ocorrer, é necessário que aconteça a interação patógeno, hospedeiro e ambiente. Caso haja alteração de um desses componentes, podem ocorrer variações na incidência e na severidade da doença.

Os resultados relativos ao estresse causado as sementes de pepino pelo teste de frio (Tabela 2) para o subote 1, mostraram que os tratamentos 4 e 5 apresentaram uma baixa porcentagem de plântulas normais em condições de frio,

sendo 23 e 56 %. No subote 2, os tratamentos 2, 3 e 5 não diferiram entre si, embora tivessem diferido da testemunha absoluta (T1) e do tratamento 4. O tratamento 4 apresentou uma baixa porcentagem de plântulas normais (16%) em relação aos outros tratamentos, provavelmente, devido a combinação da quantidade de inóculo de *F. moniliforme* com as condições de baixa temperatura. No subote 3, apenas os tratamentos com inoculação de *F. moniliforme* diferiram dos demais, expressando baixos índices de plântulas normais. Nos tratamentos 1 e 5 apenas o subote 3 diferiu dos demais, apresentando uma menor porcentagem de plântulas normais no teste de frio. Estudos realizados por Jungues et al. (2008) com sementes de cenoura inoculadas com espécies de *Alternaria* através da técnica da restrição hídrica utilizando manitol, também afirmaram que sementes que receberam o inóculo e foram submetidas ao teste de frio tiveram menor porcentagem de plântulas normais do que a testemunha (sem inóculo)

Para os tratamentos 2 e 3 não houve diferença estatística entre os três subotes avaliados. Os demais tratamentos estratificaram os lotes de sementes de pepino em apenas dois níveis de qualidade fisiológica, sendo que no tratamento 1, o subote 3 obteve a menor porcentagens plântulas normais (74%), porcentagem ainda considerada alta e dentro dos padrões para o teste de frio.

Lotes de boa qualidade fisiológica devem expressar, no mínimo de 70 a 80% de plântulas normais formadas (PASQUALLI, 2005; WRASSE, 2006) e, os dados obtidos neste teste de frio, os tratamentos com *F. moniliforme* ficaram abaixo da porcentagem mínima exigida para que o lote tenha uma boa qualidade

Apesar do teste de frio ser utilizado em grande escala para sementes de milho (BARROS; DIAS, 1996), existe um grande potencial de utilização para sementes de soja e algodão, em regiões onde a primavera apresenta alterações climáticas drásticas de ondas de frio, acompanhadas de excesso hídrico (ARTHUR; TONKIN, 1991). Rodo et al. (1998) verificaram que o teste de frio a 10 °C por sete dias, foi eficiente para avaliar o potencial fisiológico de sementes de tomate, apresentando correlação com a emergência das plântulas em campo. Outros autores (PIANA et al., 1995; TORRES et al., 1999), utilizando as mesmas condições de estresse, também observaram a eficiência desse teste em sementes de hortaliças como a cebola e maxixe, respectivamente. No entanto, Casaroli (2005)

concluiu que o teste de frio foi pouco eficiente para a estratificação dos lotes de sementes de abóbora em função do potencial fisiológico.

Os resultados relativos ao teste de crescimento de plântulas estão expressos na Tabela 3. Para todas as variáveis, ocorreu interação entre os fatores, indicando que o efeito dos tratamentos depende da qualidade das sementes, diferenciada através dos sublotos. Constatou-se que na variável comprimento de hipocótilo, para o subote 1 todos os tratamentos diferiram significativamente da Testemunha (T1), no entanto, os tratamentos 2 e 3 não diferiram entre si. Esses tratamentos apresentavam uma baixa disponibilidade de água, devido ao potencial hídrico do meio de cultura e, (Silva, 1989) em geral, a baixa disponibilidade de água afeta o tamanho das plântulas. Os tratamentos 4 e 5, obtiveram as menores médias, 3,30 e 2,50 cm, respectivamente, demonstrando a interferência da inoculação de *F. moniliforme* no tamanho das plântulas. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Jungues et al. (2008a), trabalhando com inoculação de *A. alternata* e *A. dauci* em sementes de cenoura, estes autores comprovaram que a presença dos patógenos, em geral, ocasionou plântulas com menores tamanhos, principalmente quando as sementes foram inoculadas com *A. alternata*. No entanto, Henrique et al. (2008), encontraram resultados divergentes para sementes de melão inoculadas através da restrição hídrica com *A. alternata*, esses autores constataram que as sementes com inóculo deram origem à plântulas com maiores comprimentos de hipocótilo, demonstrando que a *A. alternata* não afetou esse parâmetro. Para sublotos 2 e 3 não houveram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados.

Em relação aos sublotos, para os tratamentos 1, 2 e 3, apenas o subote 1 diferiu dos demais, apresentando uma média de comprimento de hipocótilo bem superior aos outros dois, demonstrando uma melhor qualidade fisiológica. Já quando os tratamentos 4 e 5, foram aplicados não houve diferença estatística, tornando esses tratamentos ineficientes para estratificar os sublotos quanto a sua qualidade.

TABELA 3 - Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três sublotos de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos. Santa Maria - RS, 2008.

Tratamentos	Comprimento de hipocótilo (cm)				Comprimento de raiz (cm)				Massa seca de plântulas (g)			
	Sublotos											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
T1	8,32 aA*	2,37 aB	3,15 aB	4,61	14,18 aA	6,18 abB	8,34 aB	9,57	0,07 aA	0,05 aB	0,05 abB	0,06
T2	4,61 bA	3,18 aB	3,03 aB	3,61	4,86 cB	8,44 aA	9,26 aA	7,52	0,06 abcA	0,05 aB	0,05 aA	0,05
T3	5,40 bA	2,48 aB	3,22 aB	3,70	6,45 bcA	5,41 bA	7,23 abA	6,36	0,07 abA	0,04 bB	0,04 bcB	0,05
T4	3,30 cA	2,59 aA	2,39 aA	2,76	7,70 bA	4,80 bB	5,32 bB	5,95	0,05 bcA	0,03 bB	0,03 cB	0,04
T5	2,50 cA	2,92 aA	2,67 aA	2,70	8,60 bA	6,80 abAB	5,58 bB	6,99	0,05 cA	0,03 bA	0,05 abA	0,05
Média	4,83	2,37	3,15		8,36	6,33	7,15		0,06	0,04	0,04	
C.V. (%)		15,68				17,65				12,71		

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. T1: Testemunha; T2: BDA + manitol – 0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol – 0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

Para a variável comprimento de raiz (Tabela 3), da mesma forma que ocorreu com a variável comprimento de hipocótilo, no sublote 1 todos os tratamentos diferiram estatisticamente do tratamento testemunha. Isso pode ser explicado devido ao fato de quando há uma condição de estresse hídrico, as raízes tendem a promover um maior crescimento à procura de água (ÁVILA et al., 2007). No sublote 2, os tratamentos 1, 2 e 5 não apresentaram diferenças estatísticas, onde o tratamento 5 apresentou uma média de comprimento de raiz similar a testemunha, fato que pode também ser explicado pelo exposto por Ávila, et al. (2007). Em relação aos sublotos, nos tratamentos 1, 4 e 5, o sublote 1 se mostrou superior em relação a qualidade fisiológica. Já, no tratamento 2, o sublote 1 foi o que apresentou uma qualidade fisiológica inferior aos demais, inferindo que a adição de manitol ao meio de cultura prejudicou o desenvolvimento das raízes de plântulas de pepino. No tratamento 3, não ocorreu diferença entre os sublotos.

Conforme Mathews; Powell (1986), a resposta das sementes colocadas para germinar sob condições de deficiência hídrica tem mostrado ser dependente da qualidade fisiológica da semente. Dessa forma, sementes com melhores qualidades fisiológicas tem sido associadas com os melhores desempenhos em testes de vigor, o que pode ser observado para o sublote 1.

Alguns estudos com feijão vignia (BIAS et al., 1999) e alface (FRAZIN, 2003) identificaram-se dificuldades na estratificação de sublotos de sementes 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 sublotos. 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; SAKO et al., 2001).

Com relação aos resultados obtidos na determinação de fitomassa seca (Tabela 3), os tratamentos sem a presença do patógeno (1, 2 e 3) no sublote 1, não se diferenciaram estatisticamente. Para o sublote 2, não houve diferença estatística entre os tratamentos 1 e 2 e entre os tratamentos 3, 4 e 5, entretanto os tratamentos 1, 2 e 3, diferiram daqueles com presença de *F. moniliforme*. Esses resultados mostram que plântulas oriundas de sementes inoculadas com *F. moniliforme*

apresentam redução de massa. Para o lote 3, os tratamentos 2 e 5 não diferiram da testemunha, resultado que já era poderia ser esperado para o tratamento 5, pois este tratamento, combinado com o subote 3, apresentou uma alta média de comprimento de raiz, o que, certamente, influenciou no resultado da fitomassa seca da plântula. O tratamento 4 apresentou a menor média de fitomassa seca devido as médias de comprimento de hipocótilo e de raiz apresentadas. Esse teste informou que houve diferença estatística entre os subotes em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 5. Vidal (2005) trabalhando com sementes de abóbora de diferentes tamanhos observou estratificação nas classes de tamanho através da determinação da fitomassa seca de hipocótilos e raízes.

Estudos realizados por Henrique et al. (2008) com sementes de melão inoculadas com *A. alternata* corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, pois os autores afirmam que teste de fitomassa seca na presença de inoculação de patógenos não apresentou diferença estatística entre os subotes. Franzin et al. (2004) também não obtiveram diferenças significativas entre subotes de alface. Porém, as plântulas utilizadas no experimento foram obtidas a partir das plântulas normais do teste de comprimento, o que pode ter influenciado os resultados dos autores. Tal fato, associado à reduzida massa produzida pelas sementes pequenas, exigiu cuidados redobrados na execução do teste, o que pode ter levado a desvios que não permitiram a diferenciação dos lotes.

Os resultados referentes aos testes realizados em condições parcialmente controladas: emergência e crescimento de plantas estão expostos na Tabela 4. É possível verificar-se que no teste de emergência em campo todos os tratamentos estratificaram os subotes em níveis de vigor e, que houve interação entre lotes e tratamentos, indicando a dependência do efeito de um fator sobre o outro. No subote 1, as maiores porcentagens de germinação foram obtidas no tratamento 1 (Testemunha), o qual diferiu dos demais tratamentos. Esses resultados são condizentes com o trabalho de Àvila et. al. (2007), testando diferentes potenciais hídricos através da utilização de manitol na germinação, em campo, de sementes de milho. O tratamento 2 não se diferenciou estatisticamente do tratamento 5. Isso pode ser explicado devido a adição de manitol ao meio de cultura no tratamento 2, o que diminuiu a porcentagem de emergência das plântulas, fato também observado no trabalho de Àvila et. al. (2007), que à medida que o potencial hídrico utilizado

TABELA 4 - Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos. Santa Maria - RS, 2008.

Tratamentos	Emergência (%)				Índice de velocidade de emergência				Comprimento de hipocótilo (cm)							
	Sublotes															
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média				
T1	82 aA*	59 aB	50 aB	64	17,16 aA	12,03 aB	8,88 aC	12,69	2,83 aA	2,36 aA	1,76 aB	2,32				
T2	56 bcA	53 aAB	42 aB	50	9,17 bA	8,02 bA	8,08 aA	8,42	2,04 bA	1,78 abA	1,50 aB	1,76				
T3	66 bA	66 aA	51 aB	61	14,52 aA	12,03 aA	9,93 aB	12,55	2,81 aA	2,41 aA	1,84 aB	2,35				
T4	34 dA	28 bAB	16 bB	27	4,94 cA	4,38 cA	3,92 bA	4,41	1,37 cA	1,51 bA	1,22 aA	1,37				
T5	40 cdA	35 Ba	21 bB	32	5,90 cA	6,51bcA	4,45 bA	5,62	1,24 cA	1,25 bA	1,42 aA	1,30				
Média	56	48	36		10,34	8,83	7,05		2,06	1,87	1,55					
C.V. (%)					10,09				16,22				17,56			

Tratamento	Comprimento de raiz (cm)				Massa seca (g)			
	Sublotes							
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
T1	9,25 aA	6,66 aB	5,10 aC	7,00	0,76 aA	0,66 aB	0,42 abC	0,61
T2	4,56 bA	3,73 bA	3,82 aA	4,06	0,51 aA	0,35 bB	0,34 bcB	0,40
T3	9,15 aA	6,45 aB	4,68 aC	6,76	0,84 aA	0,61 aB	0,51 aC	0,65
T4	2,50 cA	2,97 bcA	2,24 bA	2,57	0,24 cAB	0,31 bA	0,20 dB	0,27
T5	1,89 cA	1,97 cA	2,07 bA	1,98	0,26 cA	0,28 bA	0,28 cdA	0,27
Média	5,47	4,36	3,60		0,52	0,44	0,35	
C.V. (%)	14,37				12,01			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. T1: Testemunha; T2: BDA + manitol – 0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol – 0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

decrecia, a germinação decrecia também. Aqueles tratamentos onde houve a inoculação de *F. moniliforme* (T4 e T5) apresentaram as menores porcentagens de germinação em campo (34 e 40 %, respectivamente). Nos sublotos 2 e 3, os resultados foram semelhantes, onde os tratamentos 1, 2 e 3 não se diferenciaram e, os tratamentos 4 e 5 mantiveram as menores porcentagens de germinação. Estudos realizados com inoculação artificial de sementes de soja com o fungo *C. truncatum* demonstraram que a emergência de plantas aos 21 dias foi praticamente nula, num potencial de $-1,0$ Mpa e que no meio sem restritor hídrico (potencial zero) a porcentagem de emergência de plantas foi de 30%, o que sugere uma grande agressividade desse patógeno (MACHADO, et al., 2001b).

O índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 4) comprovou que as plantas oriundas dos sublotos 1, sem qualquer tratamento (Testemunha) obtiveram os maiores índices de velocidade de emergência (17,16), o que demonstra o maior vigor dessas sementes. O tratamento 2 se diferenciou dos demais tratamentos, demonstrando um vigor intermediário e os tratamentos 4 e 5 foram severamente afetados em relação ao seu vigor.

Quando as sementes não foram submetidas a qualquer tratamento (Testemunha), houve diferenciação dos sublotos de sementes de pepino em três níveis de qualidade fisiológica: inferior, intermediário e superior, referindo-se respectivamente aos sublotos 1, 2 e 3. Casaroli (2005), não obteve resultados satisfatórios para estratificação de lotes de sementes de abóbora através do índice de velocidade de emergência, e Cardoso (2003), conseguiu apenas estratificar os sublotos de sementes abobrinha em apenas dois níveis fisiológicos. Neste trabalho, o tratamento 3 também apresentou capacidade para classificar os sublotos em duas categorias, sendo o sublote 3 aquele que apresentou qualidade fisiológica inferior aos outros dois sublotos de sementes de pepino.

Sementes com maior potencial fisiológico, principalmente pelo maior índice de velocidade de emergência, são importantes para a obtenção de plântulas que permaneçam um menor tempo submetidas a condições adversas, como a presença de fungos que promovem tombamento e, também, pela obtenção de mudas mais precoces e uniformes (CASAROLI, 2005).

Para o teste de comprimento de hipocótilo (Tabela 4), dentro do sublote 1, os tratamentos 1 e 3 obtiveram as maiores médias e não diferiram entre si. O tratamento 2 diferiu de todos os demais e, o 3 e 4 não diferiram e apresentaram as menores médias. Esses resultados são semelhantes àqueles encontrados nesse mesmo experimento, no entanto em condições controladas de laboratório. O aumento no potencial osmótico ocasiona um decréscimo gradual significativo no comprimento das plântulas de milho (ÁVILA et al., 2007) fato confirmado por Machado Neto et al., (2004) em sementes de soja, utilizando soluções de manitol e de NaCl.

Os tratamentos 1, 2 e 3 foram eficientes pra estratificar os sublotos de pepino em duas categorias fisiológicas, sendo o sublote 3 aquele considerado de qualidade inferior em relação aos sublotos 1 e 2. Resultados semelhantes foram obtidos por Vidal (2007), onde foi possível estratificar classes de sementes em maior e menor potencial fisiológico nas variedades de sementes de abóbora Menina Brasileira, Caserta e De Tronco, através da avaliação do comprimento de hipocótilo na emergência. No entanto, o teste de comprimento de hipocótilo em sementes tratadas e não tratadas de sementes de abóbora variedade Menina Brasileira, não obteve resultados consistentes na estratificação de vigor (CASAROLI, 2005).

No teste de comprimento de raiz (Tabela 4), o sublote 1 exibiu o mesmo comportamento apresentado para o teste de comprimento de hipocótilo, devido as mesmas razões já citadas acima. No sublote 2, novamente, os tratamentos 1 e 3 diferiram dos demais, apresentando as maiores médias. Os tratamento 4 e 5 obtiveram as menores médias, o que já era esperado, devido a inoculação de *F. moniliforme*. No sublote 3, os tratamento 1, 2 e 3 obtiveram as melhores médias de comprimento de raiz.

Vanzolini et al. (2007), trabalhando com sementes de soja obtiveram resultados consistentes, que permitiram concluir que o teste de comprimento de raiz é sensível para diferenciar sementes de acordo com sua qualidade fisiológica. Sampaio

Sampaio et al. (2001), comprovaram a possibilidade da estratificação de sementes de abóbora, em função do vigor, a partir dos testes de comprimento de raiz.

A fitomassa seca (Tabela 4), no sublote 1, apresentou diferença estatística apenas para os sublotos onde houve a inoculação do patógeno. Fato que é consequência do teste de comprimento de plantas, pois as plantas que apresentaram menores comprimentos de hipocótilo e de raiz, também, apresentaram uma menor massa. Para o sublote 2, os tratamentos 1 e 3 novamente não diferiram entre si e, o tratamento 2 não diferiu do 3 e do 4, os quais obtiveram as menores médias de fitomassa seca. No lote 3, o melhor tratamento foi o 3, no entanto, este não diferiu da testemunha (T1).

No teste de fitomassa seca, os tratamentos 1 e 2 também foram eficientes para estratificação dos sublotos de sementes de pepino. Sendo o sublote 1, novamente aquele de qualidade fisiológica superior aos demais, o lote 2 aquele com potencial fisiológico intermediário e, o sublote 3 com potencial fisiológico inferior. O sublote 1 foi aquele que conseguiu transferir mais matéria para a planta em formação, sendo considerado de melhor qualidade.

Franzin (2003) não detectou diferenças significativas no potencial fisiológico em sementes de alface, para os testes de fitomassa seca de plantas, concordando com os resultados obtidos por Torres et al. (1999) em sementes de pepino e Bias et al. (1999) com feijão vigna.

Ainda, as sementes mortas ou que não germinaram daqueles tratamentos onde houve inoculação foram retiradas das bandejas e levadas para o laboratório, onde foram postas em condições de câmara úmida, de modo a realizar o teste de patogenicidade.

Através da análise em microscópio estereoscópico e óptico pode-se constatar a presença de estruturas de *F. moniliforme* nessas sementes, fato que comprova a patogenicidade do isolado fúngico e que este pode ser transmitido via sementes de pepino, cultivar Wisconsin.

4.2 Parte II - Cultivar Caipira

Os três sublotos de sementes de pepino, cultivar Caipira, apresentaram diferentes porcentagens quanto aos graus de umidade de suas sementes.

O sublote 1, o qual não foi submetido ao envelhecimento acelerado (tempo zero) apresentou um percentual de umidade de 6,71%. Já, as sementes dos sublotos 2 e 3 que foram submetidos a tempos de 12 e 36 horas de envelhecimento, respectivamente, apresentaram um grau de umidade de 18,83 e 29,83%.

Segundo Desai et al. (1997), graus de umidade superiores a 20% podem promover o aquecimento da massa de sementes a uma temperatura letal. Ainda, o aumento do grau de umidade leva a um aumento na taxa respiratória e propiciação de microrganismos.

Dessa forma, devem ser considerados o grau de umidade de segurança, o grau de umidade crítico e o teor letal de água para cada espécie. O grau de umidade de segurança corresponde à umidade que pode ser atingida sem prejuízos à viabilidade das sementes; o grau de umidade crítico refere-se ao grau de umidade no qual é detectado o início da perda de viabilidade; e o teor letal de água significa o limite ao qual todas as sementes perdem a viabilidade (HONG; ELLIS, 1996).

Na avaliação inicial da germinação os sublotos 1, 2 e 3 apresentaram os seguintes valores: 98,54; 97,38 e 86,58 %, respectivamente, demonstrando a alta qualidade fisiológica de cada lote.

Os dados referentes a análise sanitária inicial dos sublotos 1, 2 e 3 de sementes de pepino, cultivar Caipira estão expressos na Tabela 5.

TABELA 5 – Porcentagem de incidência de fungos associados aos sublotes 1, 2 e 3 de sementes de pepino, cultivar Caipira. Santa Maria – RS, 2008.

	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Phoma</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.
Sublote				
1	3 ab*	31 b	1 a	1 a
2	6 a	2 c	0 a	0 a
3	0 b	66 a	0 a	0 a
C.V. (%)	1,94	7,99	0,60	0,60
	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Rhizoctonia</i> spp.	<i>Epicoccum</i> spp.
Sublote				
1	2 b	2 a	1 a	0 a
2	39 a	15 a	0 a	0 a
3	10 b	3 a	0 a	0 a
C.V. (%)	7,30	7,71	0,84	0,40
	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Muccor</i> spp.	
Sublote				
1	1 a	0 a	0 a	
2	0 a	20 a	1 a	
3	0 a	0 a	0 a	
C.V. (%)	0,53	7,47	0,60	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Foram detectados os seguintes fungos associados às sementes de pepino, cultivar Caipira: *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phoma* spp.; *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizoctonia* spp., *Epicoccum* spp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* spp. e *Muccor* spp..

Fusarium spp. foi detectado nos sublotes 1 e 2, com uma maior porcentagem no sublote 2 (6%), no entanto, este não diferiu estatisticamente do sublote 1(3%). Menezes et al. (2008), trabalhando com diferentes tempos de envelhecimento acelerado em sementes de zínia colhidas em diferentes épocas também encontraram incidência desse patógeno nas sementes, com maior expressão em sementes submetidas a um período de 96 horas de envelhecimento artificial, ou seja, onde as sementes apresentavam um alto grau de umidade. Ainda, em trabalhos com zínia, Pedroso et al. (2008), obtiveram uma incidência de 95% de sementes contaminadas por *Fusarium* spp. naquelas sementes colhidas em um

período de maior umidade relativa. Em sementes de cucurbitáceas, Muniz et al. (2004), comprovaram que *Fusarium oxysporum* é um importante patógeno da cultura do meloeiro, causando murchas vasculares.

O fungo *Penicillium* spp. destacou-se por sua alta porcentagem de incidência no sublote 3 (66%). Este lote diferiu estatisticamente dos demais, embora, o sublote 1 também tenha apresentado uma porcentagem considerável desse patógeno (31%). Esse fungo é comum e causa danos às sementes de várias espécies durante o armazenamento (PATRÍCIO, 1991). É crescente a importância que esses fungos exercem no processo de deterioração de sementes, causando reduções parciais e/ou totais da sua viabilidade (PÁDUA; VIEIRA, 2001).

Aspergillus spp, também fungo de armazenamento, apareceu com uma porcentagem bem significativa no sublote 2 (39%), diferindo estatisticamente dos outros dois sublotes. Menezes et al. (2008), afirmaram que *Aspergillus* spp. influencia de forma direta na germinação de sementes de zínia sob condições de envelhecimento acelerado.

Muitos estudos apontam os fungos de armazenamento, principalmente espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, como os principais agentes de deterioração das sementes (TERVEIT, 1945; CHRISTENSEN; KAUFMANN, 1969; NEERGAARD, 1979; DHINGRA, 1985; WETZEL, 1987). Vários pesquisadores consideram que esses fungos ocorrem apenas durante o armazenamento (CHRISTENSEN, 1972). Porém, resultados obtidos por Berjak (1987) sugerem que propágulos destes fungos podem estar comumente associados às sementes recém colhidas, sendo inibidos, em parte, pela atividade de fungos de campo, ou seja, aqueles que infectam durante o processo de formação e maturação das sementes.

Rhizopus spp. e *Trichoderma* spp. apareceram também em uma quantidade considerável no sublote 2 (15 e 20%, respectivamente), no entanto não diferiram estatisticamente dos outros sublotes e, esses fungos, muitas vezes aparecem como contaminantes ou antagonistas nas amostras e não, necessariamente como patógenos.

Os resultados dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, das variáveis de germinação: plântulas anormais, sementes mortas e sementes duras e, do teste de frio após as sementes serem submetidas aos tratamentos, encontram-se na Tabela 6.

Verificou-se que houve interação entre os fatores para todas as variáveis, com exceção do teste de frio, indicando a dependência do efeito dos tratamentos aplicados às sementes, da qualidade fisiológica, estabelecida pelos sublotos.

Para os sublotos 1 e 2, o tratamento testemunha se mostrou superior aos demais, apresentando as maiores médias, mas não diferiu do tratamento 3. O tratamento 3, por sua vez, não diferiu do tratamento 2. No entanto, o tratamento 2, o qual apresentava uma concentração de -0,8 Mpa em seu meio de cultura, não diferiu estatisticamente dos tratamentos 4 e 5, aos quais foi adicionado o patógeno *F. moniliforme*. No entanto, deve-se observar que em todos os tratamentos, mesmo naqueles onde foi utilizada a restrição hídrica e a inoculação do patógeno, as médias de germinação foram altas, demonstrando que para a cultivar de pepino Caipira, a metodologia da restrição hídrica para inoculação de *F. moniliforme* não afetou a germinação ou o tempo de exposição das sementes a colônia fúngica não foi suficiente para que o patógeno causasse infecção das sementes. Pois, com a técnica de restrição hídrica, da forma como tem sido utilizada, os métodos de inoculação possibilitam a infecção de sementes com diferentes níveis de inoculo, de acordo com o tempo de exposição da semente ao patógeno (MACHADO et al., 2001).

Em outro estudo conduzido por Machado et al. (2004) a influência de *Colletotrichum gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, *Botryodiplodia theobromae* e *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em sementes de algodão inoculadas sob restrição hídrica variou em função do período de exposição das sementes à estes fungos. Para infecção destas foi necessário prolongar o tempo de exposição por mais de 48 h. Nestas circunstâncias, estes fungos provocaram a morte de sementes quando expostas a um maior período de tempo, devido ao maior nível de potencial de inoculo.

Esses resultados corroboram com os encontrados neste mesmo trabalho para a cultivar de pepino Wisconsin (Tabela 2), onde os tratamentos que utilizaram *F. moniliforme* afetaram a porcentagem de germinação das sementes. Também, em relação aos sublotos, apenas os tratamentos 1 e 3 foram eficientes para estratificá-los, porém, em apenas duas categorias fisiológicas.

TABELA 6 - Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Caipira. Santa Maria - 2008 – RS.

	Germinação (%)				Primeira contagem de germinação (%)				Plântulas anormais (%)			
	Sublotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
Tratamentos												
T1	98 aA*	95 aA	86 abB	95	97 aA	95 aA	73 aB	91	0 bB	0 cB	5 bA	5
T2	78 bcAB	76 bcB	90 abA	81	58 bB	62 bB	78 aA	66	18 aAB	23 aA	6 bB	15
T3	89 abA	90 abA	94 aA	91	68 bA	60 bA	71 aA	66	2 bA	5 bcA	3 bA	3
T4	62 cA	72 cA	75 bcA	68	29 cAB	38 cA	19 bB	28	34 aA	26 aA	8 bB	21
T5	67 cA	66 cA	60 cA	67	13 dB	37 cA	36 bA	28	16 aAB	13 abB	32 aA	20
Média	98	97	86		55	61	55		10	11	9	
C.V. (%)	10,69				11,51				35,65			
	Sementes mortas (%)				TF – Plântulas Normais (%)							
	Sublotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média				
Tratamentos												
T1	1 bA	2 aA	7 aA	3	98	97	83	94 a				
T2	0 bA	1 aA	2 aA	1	71	65	62	66 b				
T3	6 abA	2 aA	1aA	2	72	69	66	69 b				
T4	1 bA	3 aA	2 aA	2	50	35	35	43 c				
T5	16 aA	9 aAB	3 aB	9	76	70	78	75 b				
Média	4	3	3		78 A	65 B	65 B					
C.V. (%)	52,88				13,12							

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. TF: Teste de Frio; T1: Testemunha; T2: BDA + manitol – 0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol – 0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

No teste de primeira contagem de germinação (Tabela 6), os sublotos 1 e 2 apresentaram resultados semelhantes. Os tratamentos Testemunha (T1) obtiveram altas porcentagens de germinação (97 e 95%, respectivamente), salientando-se que o teste de primeira contagem é um indicativo de vigor, ou seja, sublotos mais vigorosos germinam mais rapidamente do que aqueles menos vigorosos. Os tratamentos 2 e 3 se diferenciaram estatisticamente da testemunha, porém, não se diferenciaram entre si. Nota-se que as médias de germinação decresceram bastante no tratamento 2, no qual houve adição de manitol e, a porcentagem de germinação para o sublote 1 e 2 caiu para 58 e 62 %, respectivamente. Lopes e Macedo (2008), em seus trabalhos com germinação de sementes de couve chinesa, sob influência do déficit hídrico, observaram que houve um decréscimo da porcentagem de germinação sob influência do potencial osmótico de -0,8 MPa. O aumento da concentração de sais no substrato determina redução no potencial hídrico, resultando em menor capacidade de absorção de água pelas sementes, o que geralmente influencia e/ou retarda a capacidade germinativa e no desenvolvimento das plântulas (REBOUÇAS et al., 1989).

Os tratamentos 4 e 5 apresentaram médias bastante baixas, sendo que no sublote 1, diferiram estatisticamente entre si. O tratamento 5 foi aquele que apresentou a menor porcentagem de germinação no teste de primeira contagem (13 %) e, nesse tratamento não foi aplicada a técnica da restrição hídrica, mas sim apenas o contato das sementes com a colônia fúngica. Tanaka; Menten (1991) compararam três métodos de inoculação de sementes de algodão com *C. gossypii* e *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. O contato das sementes com a colônia dos fungos por 24 h foi o mais eficiente na obtenção de sementes infectadas, comprovando a importância do tempo de exposição da semente ao patógeno. No entanto, a inoculação de sementes por contato direto com os fungos em meio agarizado (BDA), pode não produzir níveis de infecção satisfatórios para determinadas finalidades, pelo fato de haver limite do tempo de exposição das sementes ao fungo, visto que as sementes podem iniciar o processo de germinação em curto período de tempo (MACHADO et al., 2001).

Para o sublote 3, os tratamentos 1, 2 e 3 não se diferenciaram estatisticamente, porém diferiram dos tratamentos 4 e 5, da mesma forma como ocorreu para cultivar Wisconsin (Tabela 2).

Quanto ao fator subplote, apenas o tratamento 3 não foi eficiente para classificá-los em categorias de vigor, mas para os demais, o teste de primeira contagem de germinação foi eficiente para estratificar os subplots em maior e menor potencial fisiológico.

Verifica-se que para a variável plântulas anormais (Tabela 6), o subplote 1 apresentou os mesmos resultados encontrados para a cultivar Wisconsin (Tabela 2), ou seja, as maiores porcentagens ocorreram nos tratamentos 2, 4 e 5. É importante observar que no tratamento testemunha não houve plântulas anormais, demonstrando a alta qualidade fisiológica do subplote. O subplote 2 manteve a mesma tendência do subplote 1, apenas no tratamento 3 houve um pequeno acréscimo na porcentagem de plântulas anormais. Para o subplote 3, apenas o tratamento diferiu dos demais, apresentando uma porcentagem de 32% de plântulas anormais, o que ressalta a capacidade do patógeno *F. moniliforme* em causar danos a cultura do pepineiro.

Para sementes mortas (Tabela 6), no subplote 1, a maior porcentagem ocorreu nos tratamentos 3 e 5. Nos subplots 2 e 3, nenhum dos tratamentos diferiu estatisticamente entre si. Em relação aos subplots, apenas o subplote 1 se diferenciou dos demais, no tratamento 5. Fato que mais uma vez ratifica os princípios da fitopatologia. Esses resultados corroboram o que Machado et al. (2004) concluíram em seus trabalhos com sementes de algodão, que o uso da inoculação de patógenos através da restrição hídrica aumenta o número de sementes mortas, devido ao índice de infecção alcançado pela técnica.

Para o teste de frio (Tabela 6) não houve interação significativa entre os dois fatores estudados nesse experimento. O tratamento 1 (Testemunha) se diferenciou dos demais, com uma média de germinação de plântulas normais de 94%. Os tratamentos 2, 3 e 5 não diferenciaram-se entre si, porém, as médias de germinação foram menores (66, 69 e 75%, respectivamente). O tratamento 4 foi o que obteve a menor porcentagem de plântulas normais, 43 %, diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos aplicados às sementes.

Segundo Burris e Navratil (1979), uma das principais conseqüências da baixa temperatura é dificultar a reorganização das membranas celulares durante a embebição das sementes, tornando mais lentos tanto esse processo como o de germinação. Esse fato associado à baixa disponibilidade de água no meio, além da

inoculação de *F. moniliforme*, certamente contribuiu para a expressão dessa baixa porcentagem de plântulas normais quando foi aplicado o tratamento 4 às sementes de pepino.

O teste de frio para a cultivar Caipira, assim como para a Wisconsin, também teve habilidade para estratificar os sublotes em apenas duas categorias fisiológicas. Sendo o sublote 1 considerado o de melhor qualidade, enquanto os sublotes 2 e 3 não se diferenciaram estatisticamente. Muniz, et al. (2004), trabalhando com sementes de melão, não conseguiram estratificar sementes através do vigor pelo teste de frio. No entanto, Vidal (2007) afirma que o teste de frio foi eficiente para estratificar o efeito do vigor dentro das classes de tamanho de sementes de abóbora de diversas cultivares. O teste de frio mostrou ser eficiente também para sementes de feijão (MIGUEL; CÍCERO, 1999).

Alguns autores como, Krzyzanowski et al. (1991); Marcos Filho (1994); Silva (2000) e Marcos Filho (2001) indicam o teste de frio para compor um programa de qualidade de sementes, pois este verifica o desempenho das sementes, quanto à germinação de plântulas normais, semeadas em condições adversas. Entretanto, para a maioria das sementes de hortaliças, como o pepino, há necessidade de padronização dos parâmetros utilizados para a avaliação do vigor através desse teste. Necessidades maiores passam a existir em condições onde as sementes estão associadas com algum patógeno, pois esses podem causar efeitos diretos na germinação, formação de plântulas anormais, perda de vigor das sementes e tombamentos de mudas, tanto de pré como de pós-emergência.

Resultados referentes aos testes de comprimento de plântulas e massa seca de plântulas encontram-se na Tabela 7. Verificou-se que na variável comprimento de hipocótilo, os sublotes 1 e 3 obtiveram os mesmos resultados para os tratamentos utilizados. O tratamento 1 (Testemunha) foi o único que se diferenciou estatisticamente dos outros tratamentos, os quais não diferiram entre si. Esses resultados demonstram que para a cultivar Caipira, até mesmo o tratamento apenas com meio de cultura BDA (T3) afeta significativamente o comprimento de hipocótilo das plântulas. Ainda, é importante ressaltar que no sublote 3,

TABELA 7 – Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca de plântulas, utilizados para avaliação fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos. Santa Maria – RS, 2008.

	Comprimento de hipocótilo (cm)				Comprimento de raiz (cm)				Massa seca de plântulas (g)			
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
Sublotes												
Tratamentos												
T1	7,54 aA*	4,84 aB	4,87 aB	5,75	12,59 aA	9,16 aB	7,48 aB	9,74	0,06	0,06	0,06	0,07 a
T2	3,09 bA	2,52 bA	2,31 bA	2,64	5,75 bA	7,25 abA	6,83 abA	6,61	0,04	0,05	0,05	0,04 b
T3	3,35 bB	4,99 aA	1,03 bC	3,12	5,77 bB	9,03 aA	1,19 dC	5,33	0,05	0,05	0,03	0,04 b
T4	2,74 bA	2,87 bA	2,31 bA	2,64	2,80 cB	5,68 bA	4,60 bcAB	4,36	0,04	0,04	0,03	0,04 b
T5	3,35 bA	2,87 bAB	1,79 bB	2,67	5,77 bA	5,54 bA	2,79 dB	4,70	0,05	0,04	0,02	0,04 b
Média	4,01	3,62	2,46		6,54	7,33	4,58		0,05 A	0,05 A	0,04 B	
C.V. (%)		25,03				20,97				23,25		

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. T1: Testemunha; T2: BDA + manitol -0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol -0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

esse tratamento teve uma média muito baixa (1,03 cm). Àvila (2007), pesquisando a influencia do potencial hídrico em sementes de canola, constatou que no nível de potencial osmótico de - 0,50 MPa, a redução do comprimento do hipocótilo foi de aproximadamente 50%, em relação à testemunha (nível zero). Alvarenga et al. (1991) afirmaram que à medida que aumentou a concentração dos sais e do manitol das soluções, houve um decréscimo nos valores do comprimento do hipocótilo de plântulas de soja.

Sabe-se que todos esses tratamentos tiveram um déficit de água, o que a testemunha não apresentou. O movimento e a disponibilidade de água para as sementes são de grande importância para a germinação, crescimento inicial do sistema radicular e emergência das plântulas, sendo estes fatores influenciados pelas características do complexo coloidal do substrato, bem como pelo tamanho e forma da semente (área de contato solo-semente). A textura influencia tanto o grau de contato semente-solo como a condutividade da água. Além desses fatores, a embebição depende do gradiente de potencial hídrico (tensão de água) existente entre a semente e o meio externo. A semente seca apresenta potencial hídrico muito baixo, em média, - 200 MPa; logo, a limitação da embebição freqüentemente está relacionada com a baixa disponibilidade de água no meio (BEWLEY; BLACK, 1994).

Os tratamentos 1 e 5 estratificaram os sublotos em duas categorias fisiológicas, sendo o sublote 1, mais uma vez, aquele de melhor qualidade. Os tratamentos 2 e 4 não apresentaram eficiência pra classificação de sublotos nesse experimento, no entanto, o sublote 3 foi eficaz para estratificar os sublotos de sementes de pepino da cultivar Caipira em 3 níveis fisiológicos, sendo o sublote 2 considerado superior, o sublote 1 intermediário e, o sublote 3 o de qualidade fisiológica inferior.

Para a variável comprimento de raiz, da mesma forma que ocorreu com a variável comprimento de hipocótilo das duas cultivares de pepino avaliadas nesse experimento, no sublote 1 todos os tratamentos diferiram estatisticamente do tratamento testemunha. No entanto, o tratamento 4 apresentou uma média de comprimento de raiz bastante inferior em relação as demais (2,80 cm). Lembrando-se que *Fusarium* spp. é um patógeno vascular que pode causar atrofiamento do sistema vascular de plântulas infectadas.

Para a variável massa seca de plântulas, também não houve interação significativa entre os dois fatores que compõem o bifatorial estabelecido no experimento. Apenas o tratamento testemunha (T1) se diferenciou estatisticamente dos outros tratamentos, mostrando uma fitomassa seca superior. Conforme Ávila (2007), com relação a variável biomassa seca das plântulas, observou-se que, com o decréscimo do potencial osmótico, ocorreu redução na massa seca das plântulas de canola a partir do nível de potencial osmótico de - 0,50 MPa. A variação da biomassa seca nos níveis de potencial de zero a -0,50 MPa foi pequena, mas a partir do nível desse potencial, o decréscimo na biomassa seca foi bastante acentuado.

O subote 3 diferiu dos outros dois em relação a qualidade fisiológica, sendo considerado inferior, por apresentar as menores médias de fitomassa seca. Para a cultivar Wisconsin esse teste se mostrou bastante eficiente, informando que houve diferença estatística entre os subotes em todos os tratamentos (Tabela 3), com exceção do tratamento 5, fato que comprova também a diferença existente entre as cultivares de pepino Wisconsin e Caipira.

Na Tabela 8, encontram-se os resultados dos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas. É possível verificar-se que no teste de emergência não houve interação entre os fatores avaliados no experimento, mostrando que para esse teste a independência do efeito dos tratamentos aplicados em relação a qualidade fisiológica dos lotes utilizados. Verifica-se também, uma queda geral nas médias de germinação das plantas em campo, quando comparadas a cultivar Wisconsin (Tabela 4).

No entanto, sabe-se que há vários fatores capazes de influenciar no desempenho de sementes em condições semi controladas, ou seja, que não sejam as ideais de laboratório. Segundo Marcos Filho (2005), o estabelecimento adequado do estande depende da utilização de sementes com alto potencial fisiológico, capazes de germinar uniforme e rapidamente, sob ampla variação do ambiente. A emergência pode variar amplamente em função das condições edafo-climáticas, mesmo para subotes de sementes que apresentem alta capacidade de germinação (CASAROLI, 2005).

TABELA 8 - Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos. Santa Maria - RS, 2008.

Tratamentos	Emergência (%)				Índice de velocidade de emergência				Comprimento de hipocótilo (cm)									
	Sublotes																	
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média						
T1	59*	66	51	58 a	10,71	aB	15,53	aA	10,56	aB	12,20	4,57	aA	3,97	aB	3,25	aC	3,93
T2	50	43	31	41 b	8,98	abA	6,88	bA	7,63	abA	7,83	3,10	bA	2,98	aA	2,92	aA	3,00
T3	63	61	45	56 a	12,01	aA	9,56	bAB	7,39	aB	9,65	3,25	bA	2,18	cB	3,10	aA	2,84
T4	28	18	13	19 c	3,60	cA	3,36	cA	1,64	cA	2,89	2,25	cAB	2,15	cB	2,79	aA	2,40
T5	45	32	30	36 b	7,62	bA	7,07	bA	5,21	bA	6,63	2,30	cA	2,35	bcA	2,67	aA	2,44
Média	49 A	44 A	33 A		8,60		8,44		6,49		3,09			2,73		2,95		
C.V. (%)		9,69					19,26							11,72				

Tratamentos	Comprimento de raiz (cm)				Massa seca (g)									
	Sublotes													
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média						
T1	8,89	aA	7,31	Ab	5,85	aC	7,35	0,83	aA	0,67	aB	0,55	aC	0,68
T2	5,44	bA	5,13	Ba	4,72	bA	5,10	0,49	cA	0,46	bA	0,44	bA	0,46
T3	5,85	bA	5,19	bA	5,44	abA	5,49	0,61	bA	0,63	aA	0,53	aB	0,59
T4	3,28	cB	3,18	bC	5,77	aA	4,08	0,36	dB	0,29	cB	0,44	bA	0,36
T5	3,37	cB	2,99	bC	5,25	abA	3,87	0,27	dA	0,28	cA	0,33	cA	0,29
Média	5,37		4,76		5,41		0,51			0,47		0,46		
C.V. (%)			8,15							9,42				

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro. T1: Testemunha; T2: BDA + manitol -0,8 Mpa; T3: BDA; T4: BDA + manitol -0,8 Mpa + *Fusarium moniliforme*; T5: BDA + *Fusarium moniliforme*.

A maior média de porcentagem de emergência (58%) foi obtida no tratamento testemunha, o qual não diferiu do tratamento 3. Da mesma forma como ocorreu com a cultivar Wisconsin (Tabela 4), os tratamentos 2 e 5 também não diferenciaram estaticamente entre si. O tratamento 4 apresentou a menor porcentagem de emergência (19 %), diferindo dos demais tratamentos, ratificando os efeitos desse tratamento originários da combinação da restrição hídrica com a inoculação de patógeno. Estudos revelaram que sementes de soja inoculadas através da técnica da restrição hídrica com *Sclerotinia sclerotiorum*, num potencial de -1,0 MPa, foi letal a todas as sementes e, no meio sem restrição hídrica apenas 20% das sementes emergiram (MACHADO, et al., 2001b).

Os resultados do índice de velocidade de emergência (IVE) revelaram que nos sublotes 1 e 3, os tratamentos 1, 2 e 3 não se diferenciaram e obtiveram os maiores índices de velocidade de emergência, no entanto, esses tratamentos não diferiram do tratamento 5. E, o tratamento 4, foi aquele que obteve os menores valores de IVE. No sublote 2, a Testemunha obteve o maior IVE e se diferenciou dos demais tratamentos.

Esse teste baseia-se no princípio de que a velocidade de germinação ou de emergência das plântulas em campo é proporcional ao vigor das sementes (MARCOS FILHO et al., 1987). Marcos Filho et al. (1984), trabalhando com testes para a avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo, concluíram que dentre os testes utilizados, o teste de velocidade de germinação foi considerado um dos mais eficientes para identificar diferenças entre o potencial de emergência das plântulas em campo.

Apenas os tratamentos 1 e 3 foram eficientes para estratificar sublotos de sementes de diferentes qualidades fisiológicas, porém, em apenas duas categorias.

Os resultados referentes ao comprimento de hipocótilo das plantas demonstram que para o sublote 1, o tratamento testemunha obteve a maior média (4,57 cm), se diferenciando dos demais. Os tratamentos 2 e 3 não se diferenciaram entre si, o que ocorreu também com os tratamentos 4 e 5, os quais apresentaram as menores médias (2,25 e 2,30 cm respectivamente), do mesmo modo como aconteceu com a cultivar Wisconsin (Tabela 4), comprovando o efeito do patógeno em causar redução no tamanho das plantas. No sublote 2, os tratamentos 1 e 2 não

diferiram, mas diferiram dos restantes e, os demais também não diferiram entre si. No sublote 3, nenhum tratamento apresentou diferença significativa.

Santos et al. (2004) verificaram, utilizando dois sublotos de feijão da cultivar IAPAR 44, que o comprimento de hipocótilo de plantas diminuíram em função da menor qualidade das sementes analisadas, e atribuindo esses resultados às diferenças de vigor entre os lotes.

O tratamento 1 foi capaz de estratificar os sublotos de sementes de pepino da cultivar Caipira em três categorias, de acordo com a sua qualidade fisiológica. O sublote 1 obteve as maiores médias, sendo considerado o sublote de qualidade superior, o sublote 2 foi considerado como de qualidade fisiológica intermediária e, o sublote 3, àquele com uma qualidade inferior. Os tratamentos 2 e 5 não foram eficientes para promover esse tipo de distinção fisiológica e, os tratamentos 3 e 4, conseguiram classificar as sementes de acordo com duas categorias fisiológicas.

Para a variável comprimento de raiz, nos sublotos 1 e 2 foram encontrados resultados semelhantes. Os tratamentos 1, 2 e 3 não apresentaram diferenças estatísticas e nem os tratamentos 4 e 5, fato que também ocorreu com o sublote 2 na variável comprimento de hipocótilo para esta mesma cultivar. Os tratamentos 4 e 5 mantiveram as menores médias relativas a crescimento de plantas (3,28 e 3,37 cm, respectivamente), demonstrando o efeito dos tratamentos.

No sublote 3, a Testemunha (T1), sem qualquer tipo de tratamento, não se diferenciou dos tratamentos 3, 4 e 5. Fato semelhante ocorreu nesse mesmo experimento, porém em condições de laboratório e com a cultivar Wisconsin (Tabela 3), onde os tratamentos 3, 4 e 5 não diferiram entre si, sendo que o tratamento 3 consiste de apenas meio BDA. Ávila (2007) justificou esse fato porque possivelmente há um maior crescimento do sistema radicular a procura de água em maiores profundidades, quando ocorre um caso de escassez de água.

Novamente, o tratamento 1 foi capaz de estratificar os sublotos de sementes em três categorias, de acordo com a sua qualidade fisiológica. O sublote 1 obteve as maiores médias, sendo considerado o sublote de qualidade superior, o sublote 2 foi considerado como de qualidade fisiológica intermediária e, o sublote 3, àquele com uma qualidade inferior. Os tratamentos 2 e 3 não foram eficientes para promover esse tipo de distinção fisiológica e, os tratamentos 4 e 5, conseguiram classificar as sementes de acordo com duas categorias fisiológicas, sendo que o sublote 3 foi

aquele que obteve a maior média de comprimento de raiz, portanto, sendo considerado de melhor qualidade, fato que já foi discutido e justificado pelo exposto acima.

Na avaliação de fitomassa seca, no sublote 1, o tratamento testemunha apresentou diferença estatística em relação aos outros sublotos, apresentando uma maior média. Os tratamentos 4 e 5 não diferiram entre si, apresentando as menores médias de fitomassa seca, concordando com os resultados encontrados para as variáveis comprimento de hipocótilo e de raiz. No sublote 2, os tratamentos 1 e 3 não diferiram e apresentaram as médias maiores. O tratamento 2 diferiu dos demais e os tratamentos 4 e 5 novamente não diferiram entre si e apresentaram as menores médias de massa seca. O sublote 3 obteve resultados semelhantes ao 2, no entanto o tratamento 4 não diferiu do 2, apresentando uma média de fitomassa seca quase compatível com a Testemunha. Isso, provavelmente, é uma consequência da média obtida no comprimento de hipocótilo no tratamento 4, no sublote 3.

O tratamento 1, mais uma vez foi capaz de promover a diferenciação dos sublotos em três categorias de acordo com o potencial fisiológico. O sublote 1 se mostrou o melhor, o sublote, o intermediário e, o sublote 3, o inferior. No entanto, Zobot (2007), trabalhando com sementes de feijão, afirmou que a massa seca do hipocótilo não se apresentou como um bom indicativo para a diferenciação de qualidade fisiológica.

Os tratamentos 2 e 5 não conseguiram promover a estratificação dos sublotos de sementes de pepino da cultivar Caipira e, os tratamentos 3 e 4 foram eficientes para esse propósito, porém em duas categorias fisiológicas. No entanto, através do tratamento 3 foi possível afirmar que os melhores sublotos foram o 1 e o 2 e, para o tratamento 4 o sublote de melhor qualidade fisiológica foi o 3, o que pode ser explicado devido aos resultados encontrados para os comprimentos de raiz e hipocótilo, deste experimento.

Ainda, as sementes mortas ou que não germinaram daqueles tratamentos onde houve inoculação foram retiradas das bandejas e levadas para o laboratório, onde foram postas em condições de câmara úmida, de modo a realizar o teste de patogenicidade.

Através da análise em microscópio estereoscópico e óptico pode-se constatar a presença de estruturas de *F. moniliforme* nessas sementes, fato que comprova a

patogenicidade do isolado fúngico e que este pode ser transmitido via sementes de pepino, cultivar Caipira, do mesmo modo, que ocorreu com a cultivar Wisconsin nesse experimento.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Um isolado patogênico, *Fusarium moniliforme* [sin. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] foi isolado e identificado das sementes de pepino das duas cultivares estudadas.
2. A técnica da restrição hídrica utilizando manitol num potencial hídrico de – 0,8 Mpa foi eficiente para proporcionar a infecção das sementes de pepino das duas cultivares por *F. moniliforme*.
3. *F. moniliforme* influencia negativamente a qualidade das sementes de pepino e pode ser transmitido por estas.
4. Para a cultivar Wisconsin, o teste de germinação, de frio e de crescimento de plântulas foram sensíveis para a estratificação dos lotes de sementes de pepino em dois níveis fisiológicos. No teste de emergência de plantas as variáveis índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de raiz e massa seca foram capazes de classificar os lotes de sementes em três categorias fisiológicas: inferior, intermediária e superior.
5. Para a cultivar Caipira, o teste de germinação e o teste de frio também estratificaram os lotes de sementes em apenas dois níveis de vigor. No teste de crescimento de plântulas, as variáveis comprimento de hipocótilo e de raiz apresentaram sensibilidade para a classificação dos lotes de sementes em três níveis fisiológicos. Para o teste de emergência de plantas, as variáveis comprimento de hipocótilo, comprimento de raiz e massa seca também se mostraram aptas para a classificação dos lotes de sementes de acordo com a qualidade fisiológica dos mesmos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, Jaboticabal.

ALVARENGA, E. M.; SANTOS, V. L. M.; RUIZ, H. A. Efeito do estresse hídrico e salino na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n. 2, p.189- 194, maio/ago..1991.

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

AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA. **Integrated Taxonomic Information System**. Disponível em: <http://www.sis.agr.gc.ca/brd/fusarium/intro.html>. Acesso em: 05/11/2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing: AOSA, 1983. 93 p. (Contribution, 32).

ÁVILA, M. R. et al. 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, jan./ abr., 2007.

ARTHUR, T. J.; TONKIN, J. H. B. Testando o vigor da semente. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, n.3, p.38-53, 1991.

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

BARROS, D. I. et al. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.24, n.2, p.12-16, maio/agos., 2002.

BARROS, A. S. R.; DIAS, M. de. L. L. C. Aferições de testes de vigor para sementes de milho (*Zea Mays* L.). Segunda etapa: 1994/95. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.6, n.2/3, p.24-40, 1996.

BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms (with particular reference to the fungi). In: NASSER, L. C.; WETZEL, M. M. V. S.; FERNANDES, J. M. **Seed pathology**: internacional advanced course. Passo Fundo: ABRATES, 1987. p. 38-50.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

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, maio/agos., 2000.

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.

BORGES, E. E. L.; CASTRO, J. L. D.; BORGES, R. C. G. Avaliação fisiológica de sementes de cedro submetidas ao envelhecimento precoce. **Revista Brasileira de Sementes**, v.12, n.1, p.56-62, jan./ abr., 1990.

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

BRACCINI, A. L. et al. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, jan./ abr., 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNPV/CLAV, 1992. 365 p.

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

CAMARGO, L. S. **As hortaliças e seu cultivo**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 252 p. 1992. (Série Técnica, n.6).

CARDOSO, A. I. I. Produção e qualidade de sementes de abobrinha "Piramoita" em resposta à quantidade de pólen. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p. 47-52, 2003.

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

CARVALHO, M. C. et al. Relação do tamanho da sementes de milho e doses de fungicida no controle de *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.389-393, 2004.

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

CASAROLI, D. **Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de abóbora variedade menina brasileira**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

CHRISTENSEN, C. M. Microflora and seed deterioration. In: ROBERTS, E. H. **Viability of seeds**. London: Chapman and Hall, 1972. p. 59-93.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. **Grain storage**. The role of fungi in quality loss. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969. 153 p.

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.

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, maio/agos., 2001.

DENTI, E. A. **Incidência de fungos, efeito das práticas culturais, reação de genótipos e quantificação de danos associados com as podridões da base do colmo do milho**. 2000. 119 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

DESAI, B. B.; KOTECHA, P. M.; SALUNKHE, D. K. **Seeds handbook Biology, Production, Processing and Storage**. 1st ed. New York: Basel, 1997. 627 p.

DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.7, n.1, p.139-145, jan./abr. 1985.

DONI-FILHO, L. **Efeito do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L)**. 1988. 90 f. (Tese Doutorado) - Piracicaba: ESALQ, São Paulo.

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 CDROM.

EIRA, M. T. **Condicionamento osmótico de alface: efeitos sobre a germinação e desempenho sob stress hídrico, salino e térmico**. 1988. 90 f. (Dissertação Mestrado) - Piracicaba: ESALQ/USP, São Paulo.

ANAN, 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, maio/agos., 2006.

FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência do substrato e do envelhecimento acelerado na germinação de olho-de-dragão (*Adenantha pavonina* L. – Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 135-141, maio/agos., 1999.

FERNANDES, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128 p.

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) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FRANZIN, S. M., et al. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n. 2, p. 118, maio/agos., 2004.

GERLACH, W.; NIRENBERG, H. **The genus Fusarium: a pictorial atlas**. Berlin: Biologische Bundesanstalt für Land-und. Institut für Mikrobiologie, 1982. 406 p.

GOTO, R. **Programa brasileiro para a modernização da horticultura: normas de classificação do pepino**. São Paulo: CQH/CEAGESP, 2003.

GOULART, A. C. P.; FIALHO, W. F. B. Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 216-22, jan./abr., 1999.

GOULART, L. S; TILLMANN, A. A. Vigor de sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.) pelo teste de deterioração controlada. **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 179-186, maio/agos., 2007.

GRUSZYNSKI, C. **Produção comercial de crisântemos**: vaso, corte e jardim. Guaíba: Agropecuária, 2001. 166 p.

GUIMARÃES, R. M. **Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais e de estresse térmico, hídrico e salino**. 1991. 78 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

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 CDROM.

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

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55 p.

HORST, R. K.; NELSON, P.E. **Compendium of chrysanthemum disease**. St. Paul: APS Press, 1997. 62 p.

IMENES, S. L. de; ALEXANDRE, M. A. V. **Aspectos fitossanitários do crisântemo**. São Paulo: Instituto Biológico, Boletim Técnico 5, 1995. 5-47 p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. Seed health testing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 4, n.1, p.152-155, 1976.

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.

JUNGUES, 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 a. 1 CD-ROM.

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.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2001, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: UFSM e EMBRAPA Uva e Vinho. 2001.

LOPES, J.C.; MACEDO, C.M.P. de. Germinação de sementes de couve chinesa sob influencia do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 079-085, set./dez. 2008.

MACHADO, J. C. Padrões de tolerância de patógenos associados à sementes. 1994. In: **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1994, p. 229-263.

MACHADO, A. Q.; MACHADO, J. C. Estudo da relação entre o potencial de inóculo de *Fusarium verticillioides* (syn. *F. moniliforme*) e o desempenho de sementes de milho por meio da técnica de restrição hídrica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p. 453.

MACHADO, J.C.; LANGERAK, C.J. Improvement of a blotter method to detect economically important fungi associated with seeds of cotton. 1993. In: **Plant disease committee symposium on seed health testing**. Ottawa: ISTA, 1993. p. 48-58.

MACHADO, J. C.; LANGERAK, C. J. General incubation methods for routine seed health analysis. 2002. In: MACHADO, J. C.; LANGERAK, C. J.; JACCOUDFILHO, D. S. (Ed). **Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis**. Bassersdorf, CH-Switzerland: ISTA, 2002. p. 48-80.

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

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. 3, p. 62-67, set./dez. 2004.

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, maio/ agos., 2001 a.

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, maio/ agos., 2001 b.

MACHADO NETO, N. B. et al. Water stress induced by mannitol and sodium chloride in soybean cultivars. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n.4, p. 521-529, 2004.

MAGALHÃES, F. H. L. **Restrição hídrica em patologia de sementes**: novas aplicações. 2005. 131 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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. Teste de envelhecimento acelerado. 1999. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 3.1-3.24.

MARCOS FILHO, J. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 33-35, 1994.

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

MARCO FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

MARCOS FILHO, J. et al. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 5, p. 605-613, 1984.

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

MATHEWS, S.; POWELL, A. A. Environmental and physiological constraints on field performance of seeds. **Hort Science**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1125-1128, 1986.

McDONALD-JR., M. B.; WILSON, D. O. An assessment of the standardization and ability of the ASA-610 to rapidly predict potential soybean germination. **Journal of Seed Technology**, East Lansing, v. 4, n.1, p.1-11, 1979.

McGEE, D. C. Principles advantages and limitations of seed health testing methods. 2002. In: MACHADO, J. C.; LANGERAK, C. J.; JACCOUD FILHO, D. S. **Seed-borne fungi**: a contribution to routine seed health analysis. Bassersdorf, CH-Switzerland, ISTA, 2002. p. 2-8.

MENEZES, V. O. et al. Envelhecimento acelerado em sementes de *Zinnia elegans* Jacq. colhidas em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 3, p .39-47, set./dez.. 2008.

MENTEN, J. O. M. Testes de sanidade de sementes. 1988. In: **Semana de atualização em patologia de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1988. 76 p.

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. São Paulo : CibaAgro, 1995. 321 p.

MIGUEL, M. H.; CÍCERO, S. M. Teste de frio na avaliação do vigor em sementes de feijão. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1233-1243, 1999.

MUNIZ, M. F. B. et al. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.2, p.144-149, maio/ agos., 2004.

MUNKVOLD, G. P.; O'MARA. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. **Plant Disease**, v. 86, p. 143-150, 2002.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇANETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-21.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The MacMillan Press, 1979. 839 p.

OLIVEIRA, J. A.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C. Efeito do tratamento fungicida em sementes de pepino, visando o controle de alguns fungos de solo, causadores de tombamento. **Fitopatologia Brasileira**, v. 20, p. 401-405, 1995.

PÁDUA, G. P.; VIEIRA, R. D. Deterioração de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.255-262, maio/ agos., 2001.

PASQUALLI, L. L. **Qualidade de sementes de arroz irrigado submetidas a diferentes temperaturas na secagem estacionaria**. 2005. 48 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade federal de Santa Maria, Santa Maria.

PATRÍCIO, F. R. A. **Efeito do deslincamento à flama sobre a qualidade fisiológica e a sanidade de sementes de algodão**. 1991. 122 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PEDRODO, 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, set./dez.. 2008.

PEREIRA, O. A. P. Tratamento de sementes de milho no Brasil. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba : ESALQ/FEALQ, 1991. p.271-280.

PEREIRA, O. A. P. Doença do milho. In: Kimati, H., Amorim, I., Bergamin Filho, A., Camargo, L. E. A.; Resende, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2. p. 538-555. 1997.

PIANA, Z.; TILLMANN, M. A. A.; MINAMI, K. Avaliação fisiológica de sementes de cebola e sua relação com a produção de mudas vigorosas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 149-153, maio/agos. 1995.

PINTO, N. F. J. A. Tratamento de sementes de milho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., 1996, Gramado. **Anais...** Gramado: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. 1996. p. 52-57.

PIZZINATTO, M. A. Testes de sanidade de sementes de algodão. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Ed). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 331-346.

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

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.

REGO, A. M. Doenças causadas por fungos em Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p. 48-54, 1995.

RIBEIRO, U. P. et al. Determinação do potencial osmótico e do período de embebição utilizados no condicionamento fisiológico de sementes de algodão. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 911-917, 2002.

REBOUÇAS, M. A., et al. Crescimento e conteúdo de N, P, K e Na em três cultivares de algodão sob condições de estresse salino. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 1, n.1, p. 79-85, 1989.

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, jan./abr., 1998.

SAKO, Y. et al. A system for automated vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 29, p. 625-636, 2001.

SALGADO, C. L.; AMORIM, L. Sintomatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p.212-223, 1995.

SAMPAIO, T.G.; SAMPAIO, N.V.; DURAN, J.M. Efeito do tamanho, peso e conteúdo protéico de sementes de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) cv. Caserta no desenvolvimento de plântulas. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Anais...** Londrina: ABRATES, 2001.

SANTOS, A. C. K. S. ***Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro: detecção, inoculação artificial e controle químico**. 1995. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 26, n. 1, p. 110-119, jan./abr., 2004.

SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1973. 105p.

SILVA, A. C. F. da, et al. Efeito de densidades populacionais sobre a produtividade de pepino para conserva. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n.1, p. 28-29, 1992.

SILVA, S. C. **Relação entre tamanho das sementes de milho (*Zea mays*) com a germinação, o vigor e os componentes da produção de grãos**. 2000. 121 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em agronomia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

SILVA, W. R. **Relações entre disponibilidade de água, tratamento fungicida e germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1989. 113 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SLAVIK, B. **Methods of studying plant water relations**, Prague: Academy Publishing Company, 1974. 565 p.

SOMMERS, L. E., et al. Water potential relations of three root-infecting *Phytophthora* species. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, n. 6, p. 932-934, 1970.

SOUZA, G. M.; CARDOSO, V. J. M. Effects of different environmental stress on seed germination. **Seed Science Technology**, Zürich, v. 28, n. 3, p. 621-630, 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.

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. *Colletotrichum gossypii* e *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 125, 1988.

_____. 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.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1995. p. 171-178.

TERVEIT, I. W. The influence of fungi on storage, on seed viability and seedling vigor of soybeans. **Phytopathology**, St. Paul, v.53, p.3-15, 1945.

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.

TORRES, S. B.; VIEIRA, E. L.; MARCOS FILHO, J. Efeitos do estresse hídrico na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 59-63, maio/agos., 1999.

VANZOLINI, S. et al. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p.90-98, maio/agos., 2007.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I – história, meios e procedimentos de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, 1999. p. 271-297.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segredos. Parte II – chaves para identificação. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, 2000. p. 303-338, VIDAL, M. **Potencial fisiológico e tamanho de sementes de abóbora**. 2007. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

VIEIRA, M. G. G. C. **Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. 1990. 114 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

WEARING, A. H.; BURGESS, L. W. Water potential and the saprophytic growth of *Fusarium roseum* "graminearum". **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.11, n. 6, p. 661-667, 1979.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J. & WETZEL, M. M. V. S. (eds). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.9, p.260-275.

WHITE, D. G. **Compendium of corn diseases**. 3rd ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1999. 78p.

WRASSE, C. F. **Teste de vigor alternativos em sementes de arroz**. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ZABOT, L. **Comportamento de duas cultivares de feijoeiro em resposta a temperatura e qualidade fisiológica de lotes de sementes**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ZITTER, T. A., HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul, Minnesota : American Phytopathological Society - APS, 1996. 87 p.

ZAMBOLIM, L. et al. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. **Informe Agropecuário**, v. 20, n. 200/202, p. 114-125, 1999.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores – SANEST**. Pelotas: UFPel, 1986.