



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**USO DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM TESTE  
DE SANIDADE E EM ESTUDOS SOBRE A  
INTERAÇÃO ENTRE FUNGOS E  
SEMENTES DE TRIGO**

**MAURICIO MEGA CELANO**

**2003**



MAURICIO MEGA CELANO

USO DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM TESTE DE SANIDADE  
E EM ESTUDOS SOBRE A INTERAÇÃO ENTRE  
FUNGOS E SEMENTES DE TRIGO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. José da Cruz Machado

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

2003

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA

Celano, Mauricio Mega

Uso da restrição hídrica em teste de sanidade e em estudos sobre  
a interação entre fungos e sementes de trigo / Mauricio Mega  
Celano. Lavras : UFLA, 2003.

91p. : il.

Orientador: José da Cruz Machado.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

**Bibliografia**

I. Trigo. 2. Semente. 3. Restrição hídrica. 4. Teste de sanidade.  
5. Potencial de inóculo. I. Universidade Federal de Lavras.

**II. Título**

CDD-633.1121

-633.1194

**MAURICIO MEGA CELANO**

**USO DA RESTRIÇÃO HÍDRICA EM TESTE DE SANIDADE  
E EM ESTUDOS SOBRE A INTERAÇÃO ENTRE  
FUNGOS E SEMENTES DE TRIGO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

**APROVADA em 26 de fevereiro de 2003**

**Prof. Dr. David de Souza Jaccoud Filho**

**UEPG**

**Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza**

**UFLA**



**Prof. Dr. José da Cruz Machado**  
**UFLA**  
**(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

**A Deus,  
pela oportunidade de viver,**

**OFEREÇO.**

**À minha avó Elazir.**

**Aos meus pais, Geraldo e Regina, pelo amor, apoio e dedicação.**

**Às minhas irmãs, Adriana e Andrea, e ao meu irmão, Marcelo, pelo incentivo.**

**Em especial à minha esposa, Fabiane, pelo amor e apoio.**

**DEDICO.**

---

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Ocorrência e efeitos de fungos em relação à qualidade de sementes de trigo no Brasil.....	4
2.2 Metodologias de detecção de fungos em sementes de trigo.....	8
2.3 Técnica da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes.....	11
2.4 Considerações sobre a relação entre potencial de inóculo e qualidade de sementes.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica em relação à germinação de sementes de trigo, comprimento de raiz seminal e ocorrência de fungos.....	17
3.1.1 Origem e perfil das sementes utilizadas.....	17
3.1.2 Instalação e condução dos testes de sanidade.....	18
3.1.3 Avaliações.....	19
3.1.4 Delineamento experimental.....	20
3.1.5 Análise estatística.....	20
3.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica, em relação ao crescimento micelial <i>in vitro</i> , dos principais fungos que se associam às sementes de trigo.....	21
3.2.1 Obtenção e multiplicação do inóculo.....	21
3.2.2 Crescimento micelial em meio de cultura osmoticamente modificado...	21
3.2.3 Delineamento experimental.....	23
3.2.4 Análise estatística.....	23

3.3 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência (incidência e severidade) de fungos em sementes de trigo.....	24
3.3.1 Avaliação da ocorrência (incidência e severidade) dos fungos nas amostras de sementes.....	26
3.3.2 Análise estatística.....	26
3.4 Avaliação dos efeitos do potencial de inóculo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> no desempenho de sementes de trigo, por meio da técnica da restrição hídrica.....	26
3.4.1 Avaliações.....	28
3.4.2 Delineamento experimental.....	28
3.4.3 Análise estatística.....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica em relação à germinação de sementes de trigo, comprimento de raiz seminal e ocorrência de fungos.....	30
4.1.1 Germinação e comprimento de raiz seminal.....	30
4.1.2 Ocorrência de fungos.....	35
4.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica no crescimento micelial <i>in vitro</i> dos principais fungos que se associam às sementes de trigo.....	36
4.3 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência (incidência e severidade) de fungos em sementes de trigo.....	47
4.4 Avaliação dos efeitos do potencial de inóculo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> no desempenho de sementes de trigo por meio da técnica da restrição hídrica.....	61
5 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
ANEXOS.....	81



## RESUMO

**CELANO, Mauricio Mega. Uso da restrição hídrica em teste de sanidade e em estudos sobre a interação entre fungos e sementes de trigo. 2003. 91p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras\*.**

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a viabilidade do uso da restrição hídrica, em teste de sanidade, para sementes de trigo como alternativa ao congelamento e em estudos sobre os efeitos do potencial de inóculo de fungos no desempenho das sementes. Foram avaliados os efeitos da restrição hídrica do substrato, induzida pela adição de cloreto de sódio e manitol, nos potenciais -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa, em relação à germinação e comprimento de plântulas de trigo submetidas ao método de incubação em substrato de papel (ISP). *In vitro*, foi avaliado o índice de crescimento micelial (ICM) dos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum*, *Stagonospora nodorum*, *Drechslera tritici-repentis*, *Alternaria alternata* e *Epicoccum purpuracens*, comumente associados às sementes de trigo, utilizando-se meio BDA osmoticamente modificado com manitol e cloreto de sódio, nos mesmos potenciais utilizados na primeira etapa. Avaliaram-se sessenta amostras de sementes de trigo pelo método de ISP osmoticamente modificado com soluto manitol (-1,10 MPa) comparado ao método modificado de ISP com congelamento. A germinação e o comprimento de plântulas de trigo foram afetados nos potenciais osmóticos mais negativos para ambos os solutos. O ICM dos fungos estudados foi reduzido nos níveis de potencial osmótico de -1,2, -1,8 e -2,4 MPa, quando utilizou-se o NaCl. O soluto manitol apenas reduziu o crescimento micelial de *Fusarium graminearum* no potencial osmótico mais negativo. De todos os fungos que ocorreram nas sessenta amostras avaliadas, apenas a incidência de *Drechslera tritici-repentis* foi reduzida quando utilizada a técnica da restrição hídrica. No estudo sobre os efeitos da densidade de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* no desempenho das sementes de trigo, em que não se utilizou fungicida no tratamento de sementes e em densidades de inóculo mais elevadas de *B. sorokiniana*, ocorreu redução dos valores das variáveis germinação, vigor, estande final, altura de planta, peso de matéria seca de parte aérea e raiz, indicando eficácia do fungicida difenoconazole (30 g i.a./100 kg de sementes) no controle deste fungo, mesmo em potenciais de inóculo elevados.

---

\*Comitê Orientador: Prof. José da Cruz Machado - UFLA (Orientador)  
Prof. David de Souza Jaccoud Filho - UEPG  
Prof. Renato Mendes Guimarães - UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

O trigo é, historicamente, um dos cereais de maior importância na alimentação humana em todo o mundo.

É uma cultura originária de clima frio, porém, com a intervenção do homem nos processos de cultivo e a adaptação de novas variedades, passou a ser cultivada sob os mais diversos tipos de clima.

No Brasil, o trigo é cultivado mais intensivamente nos estados do Sul, tendo expandido-se para regiões não tradicionais, localizadas nos estados do Mato Grosso do Sul, sudoeste de São Paulo, Goiás, nordeste e oeste do Paraná e Minas Gerais (Tomasini, 1982). Segundo Faria (1981), apesar das vantagens relativas de alguns fatores climáticos nessas regiões, a deficiência hídrica no inverno é fator limitante à obtenção de produtividades satisfatórias, sendo necessário irrigar o trigo (Silva, 1976; Alcover et al., 1978).

Em 2001, no Brasil, a cultura do trigo ocupou uma área de aproximadamente 1.600.000 hectares, com uma produção total de 2.971.900 toneladas (rendimento médio de  $1.867 \text{ kg.ha}^{-1}$ ), sendo cultivado principalmente nas áreas de clima temperado, típico dos estados do sul do país, como Paraná e Rio Grande do Sul, com 53% e 38%, respectivamente, do total nacional cultivado naquele ano (Companhia Nacional de Abastecimento, 2002). Porém, nas duas últimas décadas, a cultura tem-se expandido em maior escala para estados do centro-oeste e sudeste.

A importação brasileira total deste cereal, em 2000, foi de 7.522.694 toneladas, sendo 95,8% deste volume originados da Argentina (Agrianual, 2002). Portanto, para que o país consiga sua auto-suficiência, torna-se necessário aumentar a produção em aproximadamente 250%. Para alcançar este patamar, é preciso que a área cultivada seja aumentada e a produtividade melhorada.

Inúmeras doenças que prejudicam a cultura do trigo possuem seus patógenos veiculados e transmitidos pelas sementes, as quais constituem focos primários nas áreas de cultivo, originando plantas doentes que multiplicam e disseminam o inóculo. Essas plantas produzem sementes infectadas, favorecendo assim o patógeno a completar seu ciclo (Forcelini, 1991; Machado, 1982; Mehta, 1978; Reis, 1982).

No Brasil, dentre os patógenos transmitidos pelas sementes de trigo, destacam-se: *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Shoem. (agente etiológico da helmintosporiose ou mancha marrom e podridão comum das raízes), *Drechslera tritici-repentis* (Died) Shoem. (agente etiológico da mancha amarela), *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (anamorfo: *Fusarium graminearum* Schwabe) (agente etiológico da giberela e podridão comum de raízes), *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (agente etiológico da brusone), *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson (agente etiológico da antracnose), *Ustilago tritici* Pers. (agente etiológico do carvão), *Septoria tritici* Rob. in Desm. (agente etiológico da mancha salpicada da folha) e *Stagonospora nodorum* (agente etiológico da septoriose, mancha da gluma e mancha do nó) (Reis et al., 2001).

As manchas foliares causam perdas econômicas podendo atingir até 30% da produção, além de infectar sementes que, dependendo das condições climáticas em que foram produzidas, podem apresentar de 10% a 100% de infecção pelo fungo (Nasser, 1987). Em relação a *Bipolaris sorokiniana*, a taxa de transmissão varia de 60% a 90% e, dessa forma, sementes infectadas são responsáveis pelo estabelecimento de inúmeros focos iniciais da doença no campo (Forcelini, 1991).

A análise de sementes visando à avaliação da qualidade sanitária de uma amostra e, conseqüentemente, do lote que representa, é um pré-requisito básico em defesa vegetal, certificação de sementes e programas de melhoramento, entre outros. A escolha do método utilizado na análise sanitária depende do tipo de

patógeno, das condições disponíveis e dos propósitos do teste.

A detecção de patógenos em sementes pode ser realizada por diversos métodos, sendo o de incubação em substrato de papel (*blotter test*) e em meio agarizado os mais utilizados. Estes métodos são aplicados para quase todos os tipos de sementes, incluindo sementes de cereais, hortaliças, ornamentais e florestais (Neergaard, 1979).

Embora o método de incubação em substrato de papel com congelamento seja amplamente utilizado em todo o mundo em análise de rotina, ele apresenta alguns inconvenientes. Trata-se de um teste que superestima a ocorrência dos fungos presentes nas sementes devido a eliminação da resistência por parte do hospedeiro e torna-se obstáculo ao fluxo de um maior número de amostras em curtos períodos de tempo.

Foram estabelecidos como objetivos principais neste trabalho: 1) avaliar a possibilidade de substituir o método do congelamento "*deep freezing blotter method*" pela técnica da restrição hídrica em testes de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel e 2) avaliar o uso da restrição hídrica em estudos da relação entre fungos e qualidade de sementes.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Ocorrência e efeitos de fungos em relação à qualidade de sementes de trigo no Brasil

A cultura do trigo é afetada por grande número de doenças associadas a fungos, bactérias, vírus e nematóides. As doenças fúngicas são as mais numerosas, podendo atacar raízes, hastes, folhas e espigas de trigo. Dependendo da severidade, as doenças podem causar danos de magnitude econômica, chegando, em alguns casos, a frustrar totalmente a produção (Reis et al., 1988; Picinini & Fernandes, 1995). As perdas de rendimento de grãos podem chegar a 44,6% (Picinini et al., 1996).

Os patógenos fúngicos, em sua maioria, são parasitas necrotróficos, os quais utilizam a semente como veículo de disseminação, abrigo e meio de sobrevivência. Por conseguinte, os microorganismos presentes na semente podem ser introduzidos em novas áreas e disseminarem-se na população de plantas como focos primários de doença, segundo Neergaard (1979), Machado (1982), Reis (1987b) e Reis & Forcelini (1993).

Vários autores têm demonstrado que, entre os patógenos, *Bipolaris sorokiniana* é o mais importante veiculado pelas sementes de trigo (Luz et al., 1976; Mehta & Igarashi, 1981; Reis, 1982; Diehl et al., 1983a; Goulart & Paiva, 1996; Reis & Forcelini, 1993 e Reis et al., 2001). As sementes infectadas por este patógeno podem causar morte de plântulas, podridão das raízes seminais, secundárias e mesocótilo, pois interferem na absorção de água e nutrientes; mas, quando ocorre em folhas, bainha, colmos, glumas e aristas, ocorre a interferência dos processos fotossintéticos. O patógeno também pode alojar-se próximo ao embrião, constituindo assim, a "ponta preta" do trigo (Mehta, 1978; Reis et al., 2001).

Os danos causados por *B. sorokiniana* nas sementes, devem-se à diminuição da germinação, à redução de rendimento e de qualidade dos grãos, podendo atingir 20% para a podridão comum da raiz e 80% para helmintosporiose do trigo (Diehl et al, 1983b; Mehta & Bassoi, 1993). Além disso, o fato do parasita ter a capacidade de infectar e ser transmitido pela semente, torna este fungo de importância potencial para a cultura do trigo e também para a cultura da cevada (Mehta & Igarashi, 1981; Reis, 1982; Barba et al., 2002).

Estudos sobre a transmissão de *B. sorokiniana* a partir das sementes de trigo relatam que a passagem do fungo para órgãos da planta é altamente eficiente, sendo de até 88% para o coleóptilo (Reis & Forcelini, 1993), de 68% para o mesocótilo (Forcelini, 1992) e 38% para a plúmula (Toledo et al., 1996).

Os estudos de Forcelini (1992) revelaram que a temperatura é fator importante na passagem do fungo das sementes para as raízes ou órgãos aéreos da planta. Para este mesmo autor, a transmissão ao coleóptilo foi mais acentuada entre 20°C e 25°C e a temperaturas inferiores a passagem do fungo foi maior para o sistema radicular. Barba et al. (2002) em estudos com *B. sorokiniana* em sementes de cevada, observaram o desenvolvimento máximo dos sintomas à temperatura de 20°C e admitiram uma faixa térmica de transmissão entre 18°C e 25°C. Contudo, relatos da literatura indicam que a temperatura ótima para que *B. sorokiniana* infecte os órgãos verdes situa-se na faixa de 22°C a 30°C (Luz & Bergstrom, 1986).

As condições climáticas existentes nas regiões aptas para cultivo do trigo no Brasil são favoráveis ao estabelecimento do fungo *B. sorokiniana* como fitopatógeno. Devido à sua elevada transmissão, Reis (1987b) considera que o controle desse fungo deve ser orientado à sua erradicação na semente, a fim de reduzir o inóculo primário na lavoura.

A fusariose ou giberela (agente etiológico *Gibberella zeae*, anamorfo:

*Fusarium graminearum*), é uma doença importante das espigas de cereais de inverno, como trigo, cevada, centeio e triticale, causando perdas no rendimento de grãos e na qualidade. Os grãos infectados e seus derivados podem ser tóxicos, tanto para o ser humano quanto para animais, devido à presença de micotoxinas que ocasionam danos à saúde. A giberela ocorre em órgãos florais e seus sintomas característicos são espiguetas despigmentadas, de coloração esbranquiçada ou cor de palha, que contrastam com o verde normal de espigas saudáveis (McMullen et al., 1997).

Nos últimos anos, a doença tem aumentado em intensidade, ocorrendo em quase todas as regiões do mundo onde se cultivam cereais de inverno (Parry et al., 1995; McMullen et al., 1997).

Os danos causados pela fusariose ocorrem devido ao aborto de flores ou à formação de grãos chochos e enrugados de baixo peso, que diminuem o peso hectolítrico, teor de proteínas de plantas, poder germinativo, vigor das sementes e, principalmente, à presença de micotoxinas nos grãos (Reis, 1988; Tuite et al., 1990; Osório, 1992; Bai & Shaner, 1994; Parry et al., 1995). Reis et al. (1996) quantificaram danos pela doença de 5,4% e Panisson et al. (2002) quantificaram danos em trigo de até 25,9%.

Outra doença de importância econômica na cultura do trigo é a mancha bronzeada do trigo ou mancha amarela, com alta intensidade em lavouras conduzidas no sistema plantio direto em monocultura. Seu agente etiológico, *Drechslera tritici-repentis*, sobrevive em sementes e em restos culturais. O vento e os respingos de chuva são os responsáveis pela disseminação a curta distância. As sementes disseminam o patógeno a longas distâncias. No Brasil, ainda não se dispõem de cultivares resistentes à mancha amarela, por isso, recomenda-se tratamento de sementes com fungicida em doses eficientes, rotação de culturas e eliminação de plantas voluntárias (Mehta, 1978; Wiese, 1991 e Reis et al. 2001).

A brusone causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*, cujo anamorfo é *Pyricularia grisea*, foi observada na cultura do trigo em 1985, no estado do Paraná (Igarashi et al., 1986), constituindo a primeira ocorrência dessa doença no trigo, em condições naturais. Atualmente ela está presente nas principais regiões tritícolas do Brasil e sua importância pode ser verificada pelos danos na produtividade da ordem de 10% a 11%, relatados por Goulart & Paiva (1990), havendo, inclusive, relatos de redução de 50% no rendimento de grãos (Goulart et al., 1992).

As fontes de inóculo mais importantes são os hospedeiros secundários e os restos culturais de plantas cultivadas. Mas, o agente etiológico também pode sobreviver em sementes infectadas, sendo disseminado a longas distâncias e infestando novas áreas de cultivo (Reis et al., 2001).

O fungo *Leptosphaeria nodorum*, teleomorfo de *Stagonospora nodorum*, é o agente etiológico da septoriose, mancha da gluma e mancha do nó. Esta doença, assim como a mancha salpicada da folha (agente etiológico *Septoria tritici*), teve maior importância quando as lavouras eram conduzidas em monocultura. Mas, após o produtor adotar a rotação de culturas e o tratamento de sementes, elas praticamente deixaram de ser importantes, ocorrendo apenas esporadicamente (Reis et al., 2001). A septoriose causa diminuição no rendimento, decorrente da redução do potencial fotossintético e bloqueio do sistema condutor pelo estrangulamento dos nós, reduzindo o número de grãos por espiga e originando grãos chochos. Já foram relatadas perdas de rendimento de grãos de 30% a 60% para septoriose e de 50% para mancha salpicada, citadas por Reis (1987a).

A cultura do trigo também possui parasitas obrigatórios, que sobrevivem nas sementes, podendo, desta maneira, serem disseminados a longas distâncias. Estes patógenos relatados no Brasil são *Ustilago tritici* e *Tilletia caries*, agentes causais do carvão e da cárie do trigo, respectivamente.



## 2.2 Metodologias de detecção de fungos em sementes de trigo

A escolha de um método de detecção de fungos em sementes de trigo depende, dentre vários fatores, da natureza das espécies destes organismos e da finalidade da análise. Para fungos necrotróficos que constituem a maioria em trigo, o método de incubação em substrato de papel, seguido da incubação em meio ágar, são os mais utilizados em todo o mundo (Neergaard, 1973; 1979; Mathur, 1983). Para fungos de armazenamento, o método de incubação em meio ágar salino é o mais recomendado (Neergaard, 1979; Onions et al., 1986).

O método de lavagem e centrifugação é utilizado na detecção de espécies de fungos causadores da cárie do trigo (*Tilletia* spp.). Consiste em determinar a concentração de teliósporos na suspensão obtida a partir da imersão das sementes de trigo em água destilada (Kietreiber, 1984).

O método de extração e exame do embrião é utilizado na detecção de *Ustilago tritici*, agente etiológico do carvão. Consiste na extração de embriões de sementes, clarificação e coloração, para posterior exame em microscópio estereoscópico, verificando a presença de micélio com coloração azulada nos tecidos do embrião (Rennie, 1988).

Na detecção de *Stagonospora nodorum*, utilizam-se os métodos de fluorescência ou de incubação em oxygall ágar. No primeiro, as sementes são mantidas por 3 dias a 18°C e 5 horas a -20°C, com fotoperíodo de 12 horas (luz negra), seguido por incubação no escuro a 28°C por 4-7 dias. Após este período, verifica-se uma zona fluorescente ao redor das sementes, examinadas sob luz negra (Kietreiber, 1984 citado por Machado et al., 2002b). O segundo método consiste em manter as sementes, por um período de 7 dias, a 20°C em placas com meio oxygall ágar. Após este período, sob luz negra, verifica-se fluorescência azulada proveniente do micélio de *S. nodorum* desenvolvido no período de incubação (Mathur & Lee, 1978; Cunfer, 1981 citados por Mathur &

Cunfer, 1993).

A incubação de sementes em substrato de papel é o método mais utilizado em análise de rotina. O método consiste em proporcionar condições favoráveis aos patógenos para estimular a formação de estruturas típicas na superfície da semente, de tal maneira que, ao serem observadas ao microscópio estereoscópico, possibilitem a identificação dos referidos patógenos.

Para que essa condição favorável aos patógenos seja atingida, combinou-se o princípio da câmara úmida, utilizada em patologia vegetal, ao teste de germinação de sementes.

O teste de incubação em substrato de papel consiste em distribuir, de maneira uniforme, uma quantidade preestabelecida de sementes em recipientes transparentes esterilizados (placas de Petri de 9 ou 15 cm de diâmetro, *gerboxes*, etc.), contendo substrato de papel adequado na manutenção da umidade, durante o período de incubação. Os recipientes contendo as sementes são mantidos durante 7-8 dias em câmara com temperatura em torno de 20°C e fotoperíodo de 12 horas (Limonard, 1968; Neergard, 1979; Machado, 1988). O comprimento de onda da luz utilizado está na faixa de 320 a 400 nanômetros, obtido por lâmpadas "luz negra". Nestas condições, há estímulo a formação de estruturas típicas pela maioria das espécies fúngicas, que possibilita a identificação destes organismos, quando observados ao microscópio estereoscópico com resolução de até 80-100 vezes. A temperatura pode variar de 12°C, para algumas espécies de sementes de clima temperado a 28°C, para outras de clima tropical e subtropical (Neergaard, 1979).


A principal limitação da incubação em substrato de papel está na rápida germinação que algumas espécies de sementes apresentam, resultando no comprometimento da validade do método devido a contaminações secundárias com o exterior do recipiente e entre sementes, com agravante de dificultar a avaliação (Machado, 1988).

Para controlar, ou até mesmo impedir a germinação das sementes, utiliza-se o sal de sódio do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (herbicida 2,4-D) ou o congelamento das sementes a  $-20^{\circ}\text{C}$  (Neergaard, 1973; Limonard, 1968). O 2,4-D é utilizado para inibir ou reduzir a germinação de sementes de espécies dicotiledôneas, enquanto o congelamento é utilizado para inibir a germinação de sementes monocotiledonares (Machado, 1988).

O método modificado de incubação em substrato de papel com o uso do congelamento das sementes (*deep freezing blotter method*) consiste em incubar as sementes durante 24 horas a  $20^{\circ}\text{C}$ , ocorrendo o processo de embebição de água e, nas próximas 24 horas, submetê-las a uma temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  (Limonard, 1968). São formados cristais de gelo que rompem a parede das células, ocasionando morte do embrião e perda da capacidade germinativa da semente (Lucca Filho, 1987). Após o período de congelamento, as sementes retornam à câmara de incubação ( $20^{\circ}\text{C}$ ) por um período que pode variar de 5 a 7 dias, sendo então examinadas em microscópio estereoscópico para identificação e quantificação dos patógenos. Esta técnica é bastante utilizada para sementes de cereais (Lucca Filho, 1987).

O uso do congelamento, apesar de solucionar o problema da rápida germinação das sementes pelo método de incubação, apresenta restrições devido à drenagem de exsudados das sementes no papel, que tiveram suas células rompidas por ocasião do congelamento, o que favorece o crescimento fúngico sobre o papel e assim possibilitando a ocorrência de contaminações secundárias entre as sementes. Neste caso, há também necessidade da utilização de antibióticos, visando à eliminação de possíveis contaminações por bactérias saprófitas, que também são estimuladas pelo método do congelamento, pelas razões já citadas, o que torna este método antieconômico, pelos custos adicionais desses produtos químicos (Limonard, 1968).

Soma-se aos inconvenientes mencionados, a manipulação adicional das



amostras devido ao transporte dos recipientes da câmara de incubação (20°C) ao freezer (-20°C), e vice-versa, que ocasiona eventuais movimentações das sementes, promovendo contaminações secundárias. Os custos adicionais com energia elétrica e o espaço restrito do freezer também são considerados inconvenientes do método de congelamento.

### **2.3 Técnica da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes**

A germinação das sementes no teste de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel é indesejável devido a contaminações secundárias com o exterior do recipiente e entre sementes, conforme já referido. Métodos alternativos, como congelamento ou uso de 2,4-D, inibem a germinação, porém, apresentam desvantagens já comentadas. A técnica da restrição hídrica tem sido uma alternativa a esses métodos, apresentando resultados satisfatórios (Machado et al., 2001; Machado et al., 2002a).

No processo de germinação, caracterizado pela retomada do desenvolvimento do eixo embrionário interrompido por ocasião da maturidade fisiológica, há influência de fatores extrínsecos à semente, como a temperatura, disponibilidade de água e oxigênio, e intrínsecos (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 1988).

A germinação de sementes passa por três etapas fisiológicas. Na primeira, ocorre rápida absorção de água pelas sementes, devido às forças mátricas que atuam nos tecidos das mesmas e início da degradação das reservas da semente. A segunda etapa é caracterizada pelo transporte de substâncias metabolizadas na etapa anterior para o tecido meristemático e por pequenas variações no conteúdo de água da semente. Na terceira, ocorre a retomada da absorção de água pela semente, o alongamento celular e a emergência da radícula, devido à organização e utilização das substâncias metabolizadas e

transportadas na segunda etapa. Ao final da terceira etapa, o processo germinativo se completa (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 1988).

O condicionamento osmótico (*priming*) e fisiológico de sementes é uma técnica desenvolvida para regular a hidratação das sementes e, conseqüentemente, a germinação das mesmas (Braccini et al., 1996; Guimarães, 1991). As sementes são distribuídas em recipientes com substrato umedecido com soluções ajustadas osmoticamente em potenciais hídricos adequados para cada espécie, ocorrendo um controle da absorção de água pela semente, permitindo apenas a ocorrência da primeira e segunda etapas do processo de germinação. Em decorrência da terceira etapa não ser atingida, não há o processo de protrusão radicular (Bradford, 1986).

Os solutos utilizados para ajustar o potencial hídrico de substratos podem ser iônicos (KCl, KNO<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>, NaCl) e não iônicos (manitol e polietileno glicol) (Braccini et al., 1996; Guimarães, 1991).

Karaki (1998) verificou o efeito do *priming* em sementes de trigo e cevada condicionadas osmoticamente em soluções de -0,4 a -1,2 MPa com polietileno glicol 8000. Foi verificado um incremento na porcentagem de germinação e na velocidade de emergência das sementes osmocondicionadas, quando comparadas àquelas que não foram tratadas por essa técnica.

Potencial hídrico é um conceito utilizado para definir o comportamento físico da água no sistema solo-planta-atmosfera, tanto no estado líquido como de vapor. É expresso em unidades de energia ou pressão, que correspondem à diferença entre o potencial químico da água em um sistema e o potencial químico da água pura, nas mesmas condições de pressão atmosférica e temperatura (Duniway, 1979). Foi atribuído o valor zero ao potencial químico da água pura (Cook & Papendick, 1978). As unidades de medida mais usadas para expressar o potencial hídrico são o megapascal e o bar (1 MPa = 10 bar = 9,87 atmosferas).

O uso da técnica da restrição hídrica no teste de sanidade de sementes pelo método de incubação em substrato de papel foi uma adaptação dos conceitos utilizados na técnica de condicionamento osmótico (*priming*). Em vez de utilizar apenas água destilada esterilizada (potencial osmótico "0,0 MPa") para umedecer o substrato de papel, utiliza-se uma solução (potencial osmótico negativo), obtida pela adição de solutos iônicos ou não iônicos à água destilada.

Em estudos realizados por Coutinho (2000), a restrição hídrica induzida por NaCl, KCl e manitol, nos potenciais osmóticos de -0,6 a -0,9 MPa, retardou a germinação e o comprimento de plântulas de arroz submetidas à análise sanitária pelos métodos de incubação em substrato de papel e ágar-água, não interferindo na detecção dos fungos. Os mesmos resultados foram obtidos por esse autor na incubação de sementes de feijão, quando foram utilizados potenciais osmóticos de -0,4 a -0,7 MPa.

Machado (2002), utilizando a restrição hídrica induzida pelos solutos manitol e NaCl no potencial osmótico -1,0 MPa, verificou que a detecção dos fungos *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii* e *C. g.* var. *cephalosporioides*, em sementes de algodoeiro submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel, não sofreu interferência.

Gravena et al. (2002) verificaram que o uso de manitol e KCl no potencial osmótico de -0,9 MPa não influenciou na detecção de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho pelo método de incubação em substrato de papel. Magro et al. (2002) testaram este mesmo método para sementes de azevém. Nos potenciais osmóticos de -0,4 a -0,8 MPa, a detecção de fungos em sementes de azevém não apresentou diferença quando comparada ao método padrão de incubação em substrato de papel. Na incubação de sementes de soja, Alves et al. (2002) não verificaram influência do potencial -0,9 MPa induzido por KCl e NaCl, na detecção dos fungos *Fusarium* e *Phomopsis*.

## 2.4 Considerações sobre a relação entre potencial de inóculo e qualidade de sementes

Machado (1988) e Colhoun (1983) relatam que um sério problema revelado pelos métodos utilizados na detecção de patógenos em sementes é que eles oferecem apenas dados qualitativos, como o número de sementes contaminadas ou infectadas. Tais métodos não quantificam o inóculo infeccioso em cada semente examinada. Do ponto de vista epidemiológico, apenas a informação do nível de incidência de determinado patógeno em uma amostra de sementes não é suficiente para estimar a taxa de transmissão e os danos que poderão ser causados por este patógeno. Outros fatores, como a localização do inóculo na semente, o nível de resistência do hospedeiro, as condições do ambiente e a viabilidade do patógeno, também devem ser considerados no processo de desenvolvimento da doença no campo. O sucesso ou não do tratamento químico de sementes pode ser condicionado à quantidade de inóculo de um patógeno e sua posição em relação às sementes (Machado, 2000). As chances de transmissão são maiores na proporção em que mais internamente o patógeno aloja-se nas sementes (Machado, 1994).


Alguns trabalhos pioneiros relacionaram o efeito do nível de inóculo na semente e a incidência da doença. Heald (1921) encontrou a relação entre o número de esporos de *Tilletia caries* em sementes de trigo com o aparecimento de plantas com sintomas. Leblond (1948), citado por Colhoun (1983), verificou uma relação direta entre o número de esporos de *Pyrenophora avenae* contidos em sementes de aveia e a quantidade de plântulas com sintomas da doença causados por este patógeno. Entretanto, não foi encontrada correlação entre a porcentagem de plântulas doentes com a incidência em plantas adultas, devido às condições climáticas não terem sido favoráveis a essa doença. Munerati (1922), citado por Colhoun (1983), concluiu que uma alta quantidade de esporos de *Tilletia* transportados pelas sementes não é sempre suficiente para determinar

o número de plântulas infectadas. Este mesmo autor verificou que o processo de transmissão desse patógeno é influenciado pela duração da germinação da semente de trigo. Uma germinação rápida eleva as chances de obtenção de plântulas livres de infecção. Também relatou que a localização do inóculo é um outro fator importante na transmissão do patógeno (semente → plântula). Quanto mais próximos do embrião os esporos de *Tilletia* estiverem, maiores serão as chances de ocorrer sintomas em plântulas.

Colhoun (1983) cita vários procedimentos para quantificar o nível de inóculo das amostras de sementes. São eles: 1 - lavagem das sementes e posterior contagem do número de esporos da suspensão obtida; 2 - o pré-tratamento das sementes com desinfestante e posterior exame no método de incubação em meio ágar ou substrato de papel; 3 - taxa de crescimento micelial dos patógenos em meio de cultura específico; 4 - separação das sementes em três categorias, baseada na produção de conídios e micélio de um dado patógeno na superfície da semente; 5 - exame de secções micrométricas da semente; 6 - extração de embriões de sementes de trigo e cevada e posterior exame. Os dois últimos métodos são empregados para estimar o nível de inóculo de patógenos causadores de "carvões".

Estudos mais aprofundados relacionando o efeito de diferentes potenciais de inóculo de patógenos no desempenho inicial de sementes foram realizados com o uso da restrição hídrica (Celano et al., 2002; Machado & Machado, 2002; Prado et al., 2002). Esta técnica permitiu a obtenção de sementes, em diferentes potenciais de inóculo, por meio da exposição das mesmas, por diferentes períodos, à colônia fúngica desenvolvida em meio BDA osmoticamente modificado. Pode-se, ainda, incubar as sementes em substrato de papel com restrição hídrica e posterior separação em categorias de acordo com o potencial de inóculo ao final do período de incubação, em função da área superficial da semente recoberta por estruturas do patógeno em estudo.





Para verificar o efeito do inóculo em relação ao desempenho inicial das sementes, pesquisadores utilizam métodos artificiais de inoculação das sementes, em que estas são imersas em suspensão de inóculo ou misturadas com o inóculo em formulação seca. A vantagem da técnica da restrição hídrica neste processo é que as sementes infectadas ou contaminadas, do mesmo lote, podem ser separadas em diferentes classes de potencial de inóculo após o período de incubação (Machado & Machado, 2002).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram realizados no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

#### 3.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica em relação à germinação de sementes de trigo, comprimento de raiz seminal e ocorrência de fungos

Os efeitos da restrição hídrica em relação à germinação e ao comprimento de raiz seminal de plântulas oriundas de sementes submetidas ao teste de sanidade foram avaliados, modificando osmoticamente o substrato utilizado no método de incubação em substrato de papel (ISP) pela adição de cloreto de sódio (NaCl) ou manitol.

Os efeitos da restrição hídrica em relação aos fungos associados às sementes foram avaliados, comparando-se o método de incubação em substrato de papel com restrição hídrica, com o método de incubação em substrato de papel padrão e suas modificações utilizadas para inibir a germinação das sementes ou reduzir o comprimento das plântulas (congelamento) na detecção dos fungos associados às sementes.

##### 3.1.1 Origem e perfil das sementes utilizadas

Foi utilizada uma amostra de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) da cultivar BR-40, safra 2000, produzida no município de Dourados, MS. A qualidade física e fisiológica foi determinada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) (Tabela 1B).

### **3.1.2 Instalação e condução dos testes de sanidade**

#### ***Incubação em substrato de papel padrão***

As sementes foram distribuídas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro (25 sementes/placa de Petri) contendo três folhas de substrato de papel previamente esterilizadas e umedecidas em água destilada e esterilizada (2,5 vezes o peso do substrato de papel seco). As sementes foram incubadas em câmara com temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas de luz negra (comprimento de onda próximo a ultravioleta) durante sete dias.

#### ***Incubação em substrato de papel com restrição hídrica***

Foram distribuídas sementes de trigo em placas de Petri de 15 cm de diâmetro (25 sementes/placa de Petri), contendo três folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas com soluções osmóticas (2,5 vezes o peso do papel de filtro seco) de cloreto de sódio (NaCl) ou manitol, previamente esterilizadas. Foram utilizadas soluções osmóticas com potenciais de -0,6 MPa, -1,2 MPa, -1,8 MPa e -2,4 MPa no umedecimento do papel de filtro usado para incubar as sementes de trigo. Para calcular a quantidade de NaCl e manitol utilizada na preparação das soluções, nos diferentes níveis de potencial osmótico testados, foi utilizado o programa SPMM (Michel & Radcliffe, 1995). A temperatura utilizada no cálculo dos potenciais osmóticos foi de  $20^{\circ}\text{C}$ , por ser esta a temperatura da câmara de incubação pelos testes de sementes. As concentrações dos solutos utilizados, em gramas/litro de água destilada, para obter cada nível de potencial osmótico dos solutos testados, estão apresentadas na Tabela 1. As sementes foram incubadas nas mesmas condições do método de incubação em substrato de papel padrão.

**TABELA 1** - Quantidade de produto utilizado na preparação das soluções de NaCl e manitol, nos diferentes níveis de potencial osmótico testados. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Potencial osmótico (MPa)	g.L <sup>-1</sup> de água destilada	
	NaCl	Manitol
0,0	-	-
- 0,6	7,717	44,878
- 1,2	15,673	89,670
- 1,8	23,564	134,519
- 2,4	31,292	179,382

### ***Incubação em substrato de papel com congelamento***

As sementes foram distribuídas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro (25 sementes/placa de Petri), contendo três folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas em água destilada e esterilizada (2,5 vezes o peso do papel de filtro seco). As sementes foram inicialmente mantidas por 24 horas à temperatura de 20°C ± 1°C, depois a -20°C por 24 horas em congelador e, posteriormente, incubadas a 20 °C ± 1°C em câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz negra (comprimento de onda próximo a ultravioleta), durante cinco dias.

### **3.1.3 Avaliações**

#### ***Germinação das sementes e comprimento de raiz seminal***

Nos testes de sanidade realizados pelos métodos de incubação em substrato de papel padrão, congelamento e restrição hídrica, foram avaliados a porcentagem de sementes de trigo germinadas e o comprimento das plântulas (raiz seminal), após sete dias de incubação. Foram consideradas como sementes

germinadas aquelas com sinais visíveis de emissão de radícula (comprimento maior que 0,1 cm). As plântulas foram medidas com uma régua (precisão de 0,1 cm).

### ***Micobiota***

A identificação e a contagem dos fungos foram realizadas examinando-se individualmente as sementes ou plântulas em microscópio estereoscópico, após sete dias de incubação. Em alguns casos, a identificação foi confirmada pela visualização das estruturas morfológicas dos fungos em microscópio óptico.

#### **3.1.4 Delineamento experimental**

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 5 + 1$ . As combinações entre solutos (cloreto de sódio e manitol) e potenciais osmóticos (0,0 MPa, -0,6 MPa, -1,2 MPa, -1,8 MPa, -2,4 MPa) foram utilizadas no método de incubação modificado com restrição hídrica e um tratamento adicional (método de incubação com congelamento). Para todos os tratamentos, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes (2 placas de Petri de 15 cm de diâmetro).

#### **3.1.5 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2000). Nas análises de variância, foram determinados os efeitos de solutos, dos níveis de potencial osmótico, da interação entre solutos e potenciais osmóticos e do contraste de interesse (fatorial vs. adicional). Devido à existência de apenas dois níveis (NaCl e manitol) do fator qualitativo (soluto), a

comparação entre as médias destes níveis, quando necessária, foi realizada pelo teste F. Equações de regressão foram ajustadas aos dados das variáveis analisadas quando verificados efeitos significativos ( $P \leq 0,05$ ) de potenciais osmóticos. Quando não houve normalidade e/ou homogeneidade dos erros, os dados foram previamente transformados, antes de serem submetidos à análise de variância.

### **3.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica, em relação ao crescimento micelial *in vitro*, dos principais fungos que se associam às sementes de trigo**

#### **3.2.1 Obtenção e multiplicação do inóculo**

Os isolados fúngicos utilizados foram obtidos de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) naturalmente infectadas, submetidas à análise sanitária pelo método de incubação em substrato de papel com congelamento. O isolamento dos fungos foi realizado por meio de transferência direta em câmara de fluxo laminar com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Os fungos foram cultivados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA (extrato de batata-dextrose-ágar) (Anexo C) em incubadora tipo BOD, com temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (luz branca).

#### **3.2.2 Crescimento micelial em meio de cultura osmoticamente modificado**

Os efeitos da restrição hídrica em relação ao crescimento micelial dos fungos foram avaliados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, utilizando-se meio BDA osmoticamente modificado. Os níveis testados, -0,6 MPa, -1,2 MPa, -1,8 MPa e -2,4 MPa, foram obtidos adicionando-se NaCl ou manitol ao meio BDA. Para o cálculo da quantidade de soluto, foi utilizado o programa SPMM

(Michel & Radcliffe, 1995), levando-se em consideração o potencial osmótico do meio BDA, de aproximadamente -0,35 MPa (Sommers et al., 1970; Wearing & Burgess, 1979). A temperatura considerada no cálculo dos níveis de potencial osmótico testados foi de 20°C. As concentrações dos solutos utilizados, em gramas/litro de meio BDA, para obter cada nível de potencial osmótico estão apresentadas na Tabela 2.

TABELA 2 - Quantidade de NaCl e manitol utilizada para ajustar o meio BDA em diferentes níveis de potencial osmótico. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Potencial osmótico (MPa)	g.L <sup>-1</sup> de meio BDA	
	NaCl	Manitol
-0,35	-	-
- 0,6	3,203	18,724
- 1,2	11,036	63,536
- 1,8	18,904	108,380
- 2,4	26,812	153,218

Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram distribuídos 25 ml de meio BDA previamente autoclavados a 120°C/20 minutos contendo diferentes níveis de potencial hídrico. Ao centro de cada placa foi colocado um disco de 0,4 cm com micélio do fungo testado, crescido em meio BDA (extrato de batata-dextrose-ágar) por 4-18 dias. As placas foram mantidas em câmara do tipo BOD, com temperatura de 20°C ± 1°C e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente). O diâmetro médio das colônias foi mensurado diariamente, exceto para *Stagonospora nodorum*, que foi realizado de três em três dias. O período final de avaliação para cada fungo foi estabelecido com base no dia anterior àquele em que o crescimento micelial atingiu as bordas da placa de Petri, sendo 4 dias para *Fusarium graminearum*, 5 dias para *Bipolaris sorokiniana*, 6 dias para *Drechslera tritici-repentis*, 7 dias para *Epicoccum purpuracens*, 8 dias para

*Alternaria alternata* e 18 dias para *Stagonospora nodorum*. Realizaram-se as medições com régua (precisão de 0,1 cm). O índice de crescimento micelial (ICM) foi determinado pela adaptação da fórmula proposta por Maguire (1962):

$$ICM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \dots + \frac{C_n}{N_n}, \text{ sendo:}$$

ICM = índice de crescimento micelial

$C_1, C_2, C_n$  = crescimento micelial efetivo das colônias na primeira, segunda e última avaliação

$N_1, N_2, N_n$  = número de dias após inoculação

### 3.2.3 Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2. As combinações entre solutos (cloreto de sódio e manitol) e potenciais osmóticos (-0,35 MPa, -0,6 MPa, -1,2 MPa, -1,8 MPa, -2,4 MPa) foram utilizadas para ajustar o meio BDA. Foram utilizadas quatro repetições (2 placas de Petri de 9 cm de diâmetro para cada repetição) de cada tratamento.

### 3.2.4 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2000). Nas análises de variância, foram determinados os efeitos de solutos, de potencial osmótico e da interação entre solutos e potenciais osmóticos. Devido à existência de apenas dois níveis (NaCl e manitol) do fator qualitativo (solute), a comparação entre as médias destes níveis, quando necessária, foi realizada pelo teste F. Equações de regressão foram ajustadas aos dados das variáveis analisadas quando verificados efeitos significativos ( $P \leq 0,05$ ) de potenciais osmóticos.



### 3.3. Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência (incidência e severidade) de fungos em sementes de trigo

Os efeitos da restrição hídrica em relação aos fungos, associados às amostras de sementes, foram avaliados, comparando-se o método de incubação em substrato de papel com restrição hídrica (solução de manitol ajustada no potencial osmótico de -1,10 MPa), com o método de incubação em substrato de papel modificado (congelamento) utilizado para inibir a germinação das sementes ou reduzir o comprimento das plântulas na detecção dos fungos associados às sementes, segundo a metodologia do item 3.1.2.

Foram examinadas sessenta amostras de sementes de trigo de diferentes cultivares originadas de diversas regiões do Brasil (Tabela 3).

**TABELA 3 - Características das amostras de sementes de trigo utilizadas para avaliação do efeito da restrição hídrica na ocorrência (incidência e severidade) de fungos no método de incubação em substrato de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003.**

<b>n°</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Safra</b>	<b>Município</b>	<b>Estado</b>
1	BRS-209	2002	Xanxerê	SC
2	IAPAR-87	2002	Xanxerê	SC
3	Funacep-22	2002	Xanxerê	SC
4	IAPAR-85	2002	Xanxerê	SC
5	Alcoover	2002	Xanxerê	SC
6	BRS-49	2002	Xanxerê	SC
7	Alcoover	2002	Arapoti	PR
8	CD-104	2002	Arapoti	PR
9	Onix	2002	Arapoti	PR
10	CD-105	2002	Arapoti	PR
11	OR-1	2002	Arapoti	PR
12	Avant	2002	Arapoti	PR
13	CD-106	2002	Ponta Grossa	PR
14	CD-105	2002	Ponta Grossa	PR
15	BRS-208	2002	Ponta Grossa	PR
16	OR-1	2002	Londrina	PR

...continua...

TABELA 3. Cont.

17	BRS-49	2001	Londrina	PR
18	Anahuac	1992	Londrina	PR
19	IAPAR-29	1997	Londrina	PR
20	BRS-192	2002	Ponta Grossa	PR
21	BRS-120	2002	Xanxerê	SC
22	Alcoover	2002	Ponta Grossa	PR
23	OR-1	2002	Ponta Grossa	PR
24	Taurus	2001	Arapongas	PR
25	IAC-289	1999	Lavras	MG
26	OR-1	2001	Ponta Grossa	PR
27	OR-1	2001	Ponta Grossa	PR
28	BR-40	2000	Dourados	MS
29	BR-40	2000	Dourados	MS
30	OR-1	2000	Ponta Grossa	PR
31	BRS-49	2001	Ponta Grossa	PR
32	BR-40	2000	Pelotas	RS
33	Avant	2002	Cambira	PR
34	Coodetec	2002	Cambira	PR
35	Linhagem	2000	Pelotas	RS
36	IAC-24	2002	Avaré	SP
37	BR-18	2002	Paraguaçu Paulista	SP
38	IAC-370	2002	Paraguaçu Paulista	SP
39	IAC-24	2002	Avaré	SP
40	IAC-24	2002	Avaré	SP
41	BR-18	2002	Paraguaçu Paulista	SP
42	IAC-370	2002	Avaré	SP
43	IAC-24	2002	Avaré	SP
44	IAC-24	2002	Avaré	SP
45	IAC-24	2002	Avaré	SP
46	BR-18	2002	Paraguaçu Paulista	SP
47	IAC-24	2002	Avaré	SP
48	BRS-49	2002	Passo Fundo	RS
49	BRS-120	2002	Mato Castelhano	RS
50	BRS-177	2002	Passo Fundo	RS
51	BRS-179	2002	Não Me Toque	RS
52	BRS-194	2002	São Luiz Gonzaga	RS
53	IAC-370	2002	Paraguaçu Paulista	SP
54	IAC-24	2002	Avaré	SP
55	BR-18	2002	Paraguaçu Paulista	SP
56	IAC-370	2002	Paraguaçu Paulista	SP
57	IAC-370	2002	Paraguaçu Paulista	SP
58	IAC-370	2002	Paraguaçu Paulista	SP
59	IAC-24	2002	Avaré	SP
60	IAC-24	2002	Avaré	SP

### **3.3.1 Avaliação da ocorrência (incidência e severidade) dos fungos nas amostras de sementes**

Decorrido o período de incubação (7 dias), procedeu-se ao exame individual das sementes ou plântulas, com auxílio de um microscópio estereoscópico, computando-se o percentual de incidência e severidade. Em alguns casos, a identificação foi confirmada pela visualização das estruturas morfológicas dos fungos em microscópio óptico.

A severidade baseou-se no percentual da superfície de cada semente recoberta por estruturas típicas de cada espécie de fungo, individualmente.

### **3.3.2 Análise estatística**

Os dados de incidência e severidade foram organizados e representados por meio de histogramas de distribuição de frequência, compostos por onze classes de amplitude dez.

### **3.4 Avaliação dos efeitos do potencial de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* no desempenho de sementes de trigo, por meio da técnica da restrição hídrica**

Neste trabalho, o objetivo foi avaliar o desempenho inicial de plântulas de trigo oriundas de sementes infectadas naturalmente por *Bipolaris sorokiniana* com diferentes densidades de inóculo. Foram utilizadas as mesmas sementes do experimento referente ao item 3.1 (BR-40, safra 2000, Dourados, MS), com perfil sanitário determinado pelo teste de incubação em substrato de papel com congelamento, segundo a metodologia descrita no item 3.1.2.

Para a seleção das sementes com diferentes níveis de potencial de inóculo (Tabela 4), e ainda não germinadas, lançou-se mão de um método de incubação das sementes em substrato de papel umedecido com solução de

manitol no potencial osmótico de -2,20 MPa. Este potencial hídrico foi obtido com adição de 164,47 g.l<sup>-1</sup> (0,9 M), conforme indicação do programa SPMM (Michel & Radcliffe, 1995). A temperatura utilizada no cálculo dos potenciais osmóticos foi de 20°C.

TABELA 4 - Escala de notas utilizada na separação das sementes de trigo nos diferentes potenciais de inóculo de *Bipolaris sorokiniana*. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nota	Categoria do potencial de inóculo	Ponto médio
0	Semente sadia	0
1	1% a 25%	12,5%
2	26% a 50%	37,5%
3	51% a 75%	62,5%
4	76% a 100%*	87,5%

\* Área física exposta da semente coberta por inóculo de *B. sorokiniana*.

Para obter sementes com diferentes níveis de inóculo foram distribuídas 6.000 sementes de maneira uniforme sobre placas de Petri de 15 cm de diâmetro (25 sementes por placa) contendo três folhas de papel de filtro umedecidas com solução de manitol, colocadas em câmara de incubação com temperatura de 20°C ± 1°C e fotoperíodo de 12 horas de luz negra durante cinco dias.

Após o período de incubação, com o auxílio de um microscópio estereoscópico, as sementes foram separadas de acordo com as categorias de potencial de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* desenvolvido na superfície das mesmas. De cada categoria, parte das sementes foi tratada com o fungicida difenoconazole na dose de 30 g de i.a./100 kg de sementes. Foram semeadas 100 sementes por tratamento em repetições de 25 por vaso (5 L), contendo substrato (solo:areia:materia-orgânica na proporção 1:1,5:1,5) autoclavado (120°C/60 minutos).

Os vasos foram mantidos em câmara de crescimento vegetal, regulada para uma temperatura de  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (lâmpada fluorescente) durante 23 dias. No mesmo dia em que as sementes foram semeadas em vasos, realizou-se a montagem do teste de germinação em rolo de papel (germitest) umedecido com água destilada esterilizada, 2,5 vezes o peso do papel seco, em germinador regulado à temperatura constante de  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . As avaliações foram realizadas seguindo os critérios estabelecidos e recomendados pelas Regras de Análise de Sementes (Brasil, 1992).

### **3.4.1 Avaliações**

No teste de germinação em rolo de papel foi determinado a porcentagem de germinação e o vigor das sementes de trigo.

Em câmara de crescimento vegetal, determinou-se o índice de velocidade de emergência (Maguire, 1962) até a estabilização da população e, aos 23 dias após a semeadura, foi avaliado o estande final, a altura, o peso de matéria fresca e peso de matéria seca da parte aérea e de raiz das plântulas de trigo. Para o peso seco, as plântulas foram secas em estufa de circulação de ar, a  $58^{\circ}\text{C}$  durante três dias, quando houve estabilização de peso.

### **3.4.2 Delineamento experimental**

Para o teste de germinação em rolo de papel, o delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) e para o experimento em câmara de crescimento vegetal foi o de blocos ao acaso (DBC) e, em esquema fatorial  $4 \times 2 + 2$ , sendo as combinações entre níveis de potencial de inóculo obtidas (0%, 12,5%, 37,5% e 62,5%) e tratamento de sementes (com ou sem fungicida). Os tratamentos adicionais (Saprófitas), continham sementes isentas de *Bipolaris*

*sorokiniana*, porém, com alta severidade de fungos saprofíticos (*Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* e *Epicoccum purpuracens*) (Tabela 2B). Cada parcela experimental foi constituída por um vaso com capacidade de cinco litros ou um rolo de papel, ambos com 25 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento.

### 3.4.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2000). Nas análises de variância, foram determinados os efeitos de potencial de inóculo, do tratamento de sementes e da interação entre potencial de inóculo e tratamento de sementes. Para o fator qualitativo (tratamento de semente), utilizou-se o teste de Tukey na comparação das médias. Equações de regressão foram ajustadas aos dados das variáveis analisadas quando verificado efeito significativo ( $P \leq 0,05$ ) do potencial de inóculo.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica em relação à germinação de sementes de trigo, comprimento de raiz seminal e ocorrência de fungos

#### 4.1.1 Germinação e comprimento de raiz seminal

Na avaliação da germinação de sementes de trigo pelo método de incubação em substrato de papel, foi verificado apenas efeito significativo ( $P \leq 0,01$ ) no fator potencial osmótico (Tabela 1A). Não foi verificada diferença entre os solutos NaCl e manitol (Tabela 5). Nos potenciais osmóticos mais negativos, a germinação das sementes decresceu, em ambos os solutos analisados (Figura 1). O potencial de -2,4 MPa foi o que mais reduziu a porcentagem de germinação das sementes (Figuras 2, 3 e 4).

Dentre os fatores considerados, apenas o fator potencial osmótico influenciou o comprimento de plântulas de trigo ( $P \leq 0,01$ ) (Tabela 1A); os solutos utilizados apresentaram efeitos iguais no mesmo potencial osmótico (Tabela 5). Pela Figura 1 é possível verificar que, quanto maior a concentração do soluto na solução utilizada para umedecer o substrato de papel, menor foi o comprimento da raiz seminal das plântulas de trigo submetidas ao método de incubação no presente caso.

O percentual médio da germinação de sementes do tratamento adicional (congelamento) foi de 13% (Tabela 5). Este valor pode ser considerado elevado, porém, verifica-se que a média do comprimento da raiz seminal foi de 0,5 mm (Tabela 5). A explicação para o elevado valor do percentual de germinação está relacionada com aquelas sementes que germinaram antes de serem colocadas no freezer. No entanto, após o congelamento, ocorreu a morte de todo material, incluindo a raiz. Deve-se ressaltar que, neste estudo, considerou-se como

sementes germinadas aquelas com protrusão radicular maior que 0,1 cm. Verifica-se, portanto, que as sementes de trigo apresentam um período menor que 24 horas para emissão de raiz seminal, em condições de suprimento adequado de água.

TABELA 5 - Valores médios do percentual de germinação e comprimento da raiz seminal de plântulas oriundas de sementes da cultivar de trigo BR-40 submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em substrato de papel padrão, com restrição hídrica e congelamento. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Variáveis	Tratamentos	Potencial osmótico (MPa)					Média
		0,0	-0,6	-1,2	-1,8	-2,4	
Germinação (%)	NaCl	98,0	99,5	94,5	83,0	38,0	82,6 a
	Manitol	99,5	99,0	98,0	92,0	26,0	82,9 a
	Congelamento	13,0	-	-	-	-	13,0 β
Comprimento de raiz seminal (mm)	NaCl	57,4	24,0	5,0	1,3	0,4	17,6 a
	Manitol	58,9	26,1	6,8	1,6	0,3	18,7 a
	Congelamento	0,5	-	-	-	-	0,5 β

Médias com a mesma letra, na coluna, são estatisticamente iguais pelo teste F ( $P \leq 0,05$ )  
 β = teste F significativo a 1% de probabilidade para o contraste fatorial vs. adicional

Vários autores verificaram a redução da germinação e comprimento de plântulas no método de incubação em substrato de papel para diversas espécies, como algodão (Machado, 2002), arroz e feijão (Coutinho, 2000), azevém (Magro et al., 2002), milho (Gravena et al., 2002), soja (Alves et al., 2002) e trigo (Del Ponte et al., 2001), quando utilizaram potenciais osmóticos em torno de -1,0 MPa, obtidos por diversos solutos.



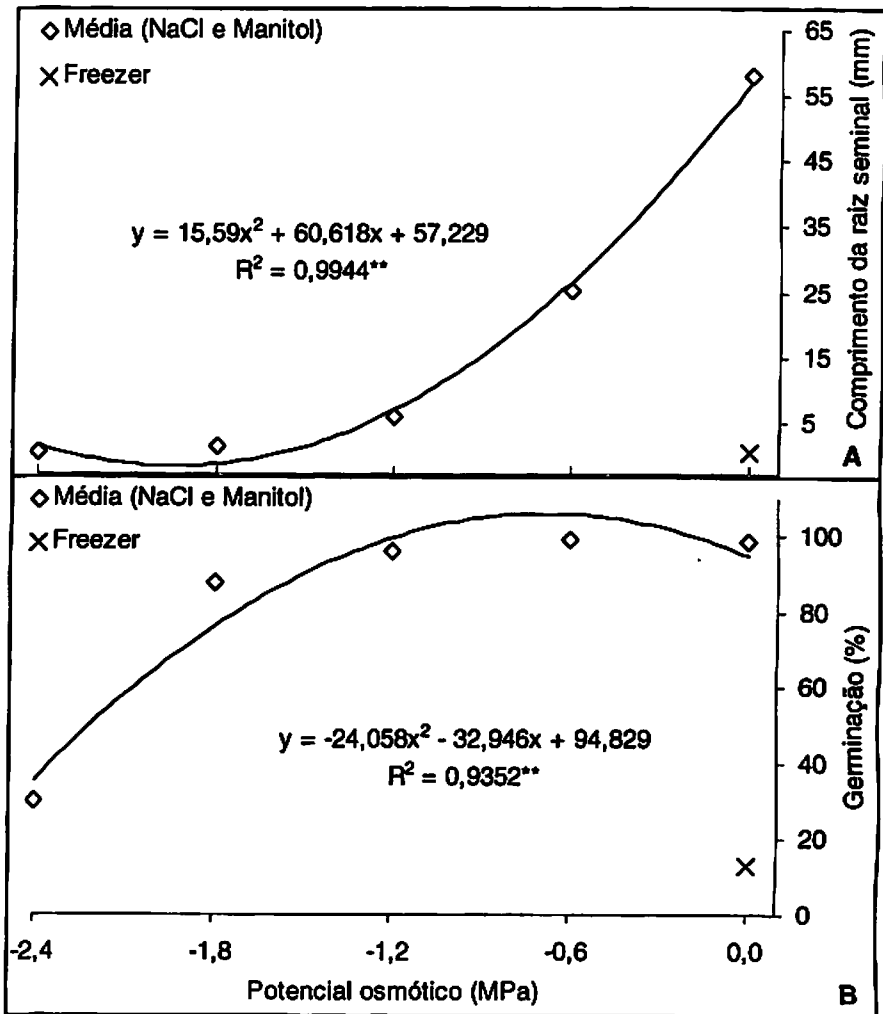


FIGURA 1. Análise de regressão relacionando o comprimento da raiz seminal (A) e a germinação de sementes (B) em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos NaCl e manitol pelo teste de incubação em substrato de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003.

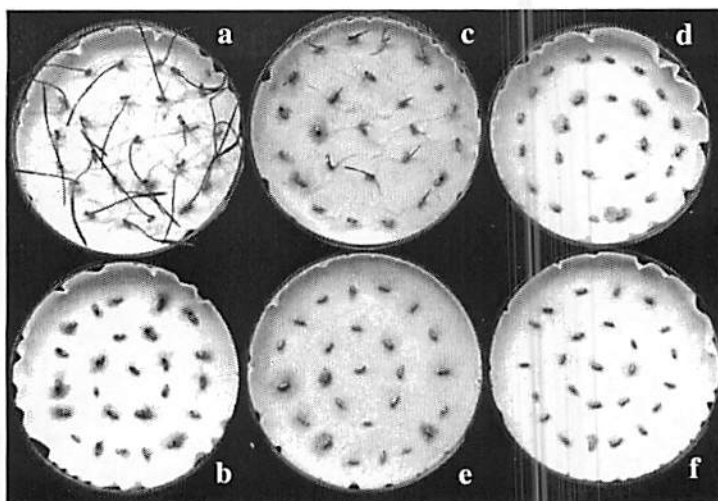


FIGURA 2. Germinação de sementes de trigo submetidas à incubação em substrato de papel padrão (a), método do congelamento (b), restrição hídrica com NaCl no potencial osmótico de -0,6 MPa (c), -1,2 MPa (d), -1,8 MPa (e) e -2,4 MPa (f). UFLA, Lavras, MG, 2003.

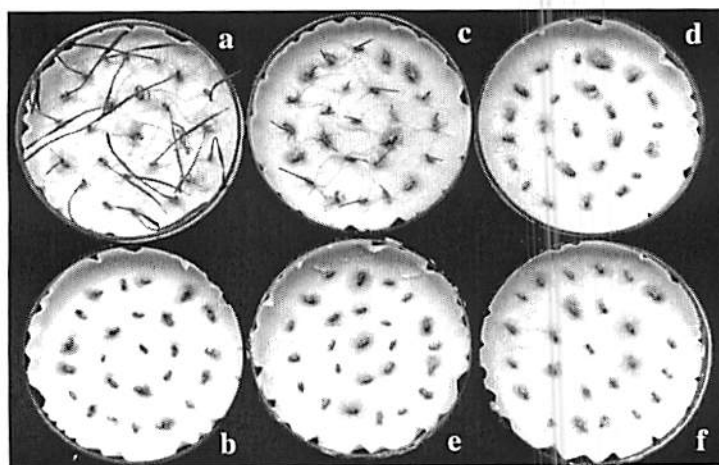


FIGURA 3. Germinação de sementes de trigo submetidas à análise sanitária pelos métodos de incubação em substrato de papel padrão (a), com congelamento (b) e restrição hídrica com manitol nos potenciais de -0,6 MPa (c), -1,2 MPa (d), -1,8 MPa (e) e -2,4 MPa (f). UFLA, Lavras, MG, 2003.

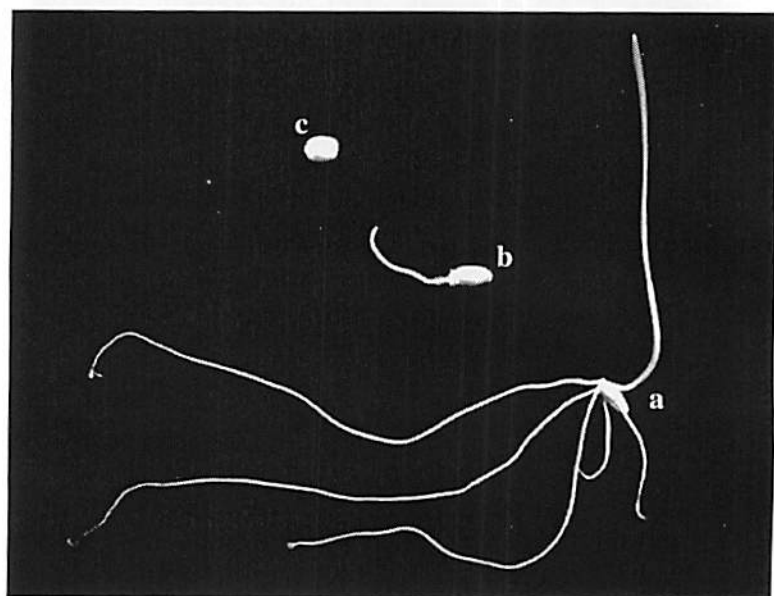


FIGURA 4. Plântulas oriundas de sementes de trigo submetidas à análise sanitária pelos métodos de incubação em substrato de papel padrão (a), com restrição hídrica (manitol / -1,1 MPa) (b) e com congelamento (c). UFLA, Lavras, MG, 2003.

#### 4.1.2 Ocorrência de fungos

O único fungo patogênico encontrado nas sementes de trigo, cultivar BR-40, foi *Bipolaris sorokiniana*. O efeito dos solutos NaCl e manitol nos diferentes potenciais osmóticos avaliados não influenciou a incidência deste fungo (Tabela 1A). Mesmo os potenciais osmóticos mais negativos não afetaram a porcentagem de incidência (Tabela 6), sendo um indicativo de que a técnica da restrição hídrica no método de incubação de sementes em substrato de papel é promissora na detecção de *Bipolaris sorokiniana*.

TABELA 6 - Incidência de *Bipolaris sorokiniana* em sementes do cultivar de trigo BR-40 submetidas ao teste de sanidade pelos métodos de incubação em substrato de papel padrão, com restrição hídrica e congelamento. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Variáveis	Tratamentos	Potencial osmótico (MPa)					Média
		0,0	-0,6	-1,2	-1,8	-2,4	
Incidência (%)	NaCl	53,5	51,5	58,5	55,0	50,0	53,7 a
	Manitol	48,5	58,0	59,5	55,0	57,5	55,7 a
	Congelamento	56,5	-	-	-	-	56,5

Médias com a mesma letra na coluna são estatisticamente iguais pelo teste F ( $P \leq 0,05$ )

Del Ponte et al. (2001) verificaram que não houve influência dos níveis de restrição hídrica estudados (-0,4 a -1,0 MPa), obtida por meio dos solutos manitol, KCl, NaCl, sacarose e PEG 8000 na detecção de fungos em sementes de trigo pelo método de incubação em substrato de papel.

Lângaro et al. (2001), pelo método osmótico de incubação em substrato de papel com sacarose (-1,43 MPa), também não verificaram influência deste método na incidência de *B. sorokiniana* quando comparado ao método do meio seletivo de Reis e incubação em meio BDA.

#### 4.2 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica no crescimento micelial *in vitro* dos principais fungos que se associam às sementes de trigo

Os resultados referentes aos índices de crescimento micelial (ICM) dos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum*, *Drechslera tritici-repentis*, *Stagonospora nodorum*, *Alternaria alternata* e *Epicoccum purpurascens*, em meio BDA e meio BDA modificado osmoticamente com NaCl e manitol, estão apresentados na Tabela 7.

Verificou-se na análise de variância (Tabela 2A) do índice de crescimento micelial de *Bipolaris sorokiniana*, que todas as fontes de variação foram significativas ( $P \leq 0,01$ ). Comparando-se o efeito dos solutos manitol e NaCl, em um mesmo nível de potencial osmótico (Tabela 7), o NaCl adicionado ao meio BDA, nos potenciais osmóticos -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa, proporcionou valores inferiores aos do manitol (Figura 5).

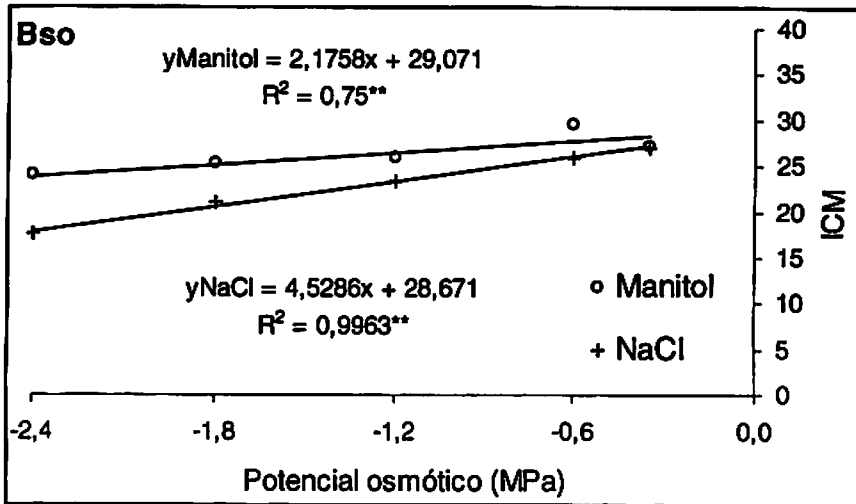


FIGURA 5. Análise de regressão relacionando o índice de crescimento micelial (ICM) de *Bipolaris sorokiniana* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos NaCl e manitol. UFLA, Lavras, MG, 2003.

TABELA 7 - Índice de crescimento micelial *in vitro* de fungos que se associam às sementes de trigo em diferentes níveis de potencial osmótico promovidos pela adição de NaCl ou manitol ao meio BDA. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Soluto	Potencial osmótico (MPa)					Média
	-0,35	-0,6	-1,2	-1,8	-2,4	
<i>Bipolaris sorokiniana</i>						
NaCl	26,96 a	25,94 b	23,32 b	20,87 b	17,53 b	22,92
Manitol	27,19 a	29,45 a	25,83 a	25,21 a	23,87 a	26,31
<i>Fusarium graminearum</i>						
NaCl	32,5 a	34,2 a	32,1 a	29,8 a	26,3 a	31,0
Manitol	32,5 a	35,2 a	31,5 a	27,0 b	23,5 b	30,0
<i>Drechslera tritici-repentis</i>						
NaCl	24,6 a	22,5 b	17,7 b	14,2 b	11,2 b	18,0
Manitol	23,8 a	26,3 a	25,7 a	24,8 a	22,5 a	24,6
<i>Stagonospora nodorum</i>						
NaCl	18,1 a	16,9 a	13,4 b	8,4 b	10,0 b	13,4
Manitol	18,4 a	19,1 a	21,1 a	21,3 a	24,1 a	20,8
<i>Alternaria alternata</i>						
NaCl	19,9 a	17,2 b	9,3 b	8,1 b	7,8 b	12,4
Manitol	19,5 a	21,6 a	23,8 a	24,3 a	22,7 a	22,3
<i>Epicoccum purpuracens</i>						
NaCl	25,1a	15,3b	9,3b	7,3b	6,1b	12,6
Manitol	24,8a	26,5a	26,2a	25,7a	24,7a	25,6

Médias com a mesma letra na coluna são estatisticamente iguais pelo teste F ( $P \leq 0,01$ )

Na análise de variância do índice de crescimento micelial de *Fusarium graminearum* foi verificado efeito significativo ( $P \leq 0,01$ ) da interação dos fatores soluto e potencial osmótico (Tabela 2A). O índice de crescimento micelial (ICM) do soluto manitol, quando comparado ao NaCl, nos potenciais osmóticos mais negativos (-1,8 MPa e -2,4 MPa) apresentou valores inferiores ( $P \leq 0,01$ ). Quando comparados os níveis de potencial osmótico para cada soluto, em ambos os casos, pelas curvas de regressão ( $P \leq 0,01$ ), o ICM foi inferior nos potenciais osmóticos mais negativos (Figura 6 e 11). Os pontos de máximo obtidos a partir da primeira derivada das equações foram de -0,11 MPa e -0,55 MPa para o soluto manitol e NaCl, respectivamente.

Para o fungo *Drechslera tritici-repentis* houve efeito significativo nos fatores soluto, potencial e sua interação ( $P \leq 0,01$ ). Realizada a análise do desdobramento de soluto dentro de cada nível de potencial osmótico, verifica-se pelo teste F ( $P \leq 0,01$ ), que as médias do ICM do soluto NaCl nos potenciais osmóticos -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa são inferiores às médias do manitol, em todos potenciais osmóticos (Tabela 7). A análise de variância revelou efeito significativo ( $P \leq 0,01$ ) dos diferentes níveis de potenciais osmóticos dentro de cada nível do fator soluto (Tabela 2A). Pela equação linear (Figura 7 e 11) em relação ao soluto NaCl, observaram-se efeitos negativos dos níveis de potencial osmótico no ICM. Nota-se que manitol não causou redução significativa do desenvolvimento de *Drechslera tritici-repentis*, sendo o valor -1,16 MPa o ponto de máximo. A coloração das colônias desse fungo apresentou variação quando desenvolvidas no soluto NaCl, nos potenciais osmóticos de -1,2, -1,8 e -2,4 MPa.

Para *Stagonospora nodorum*, verifica-se que a interação dos fatores estudados foi significativa pelo teste F ( $P \leq 0,01$ ) (Tabela 3A). A análise do desdobramento de soluto dentro dos níveis de potencial osmótico estão apresentados na Tabela 7. Os valores médios do índice de crescimento micelial

nos três potenciais osmóticos mais negativos (-1,2, -1,8 e -2,4 MPa) foram inferiores para o NaCl quando comparados aos valores do manitol. Pelo desdobramento dos níveis de potencial osmótico dentro de soluto (Figura 8 e 11), observa-se um efeito contrário no crescimento micelial, quando compara-se a equação linear do manitol com a do NaCl. A adição de altas concentrações de manitol ao meio BDA estimulou o crescimento de *S. nodorum*; já NaCl, em altas concentrações, provocou redução do desenvolvimento desse fungo.

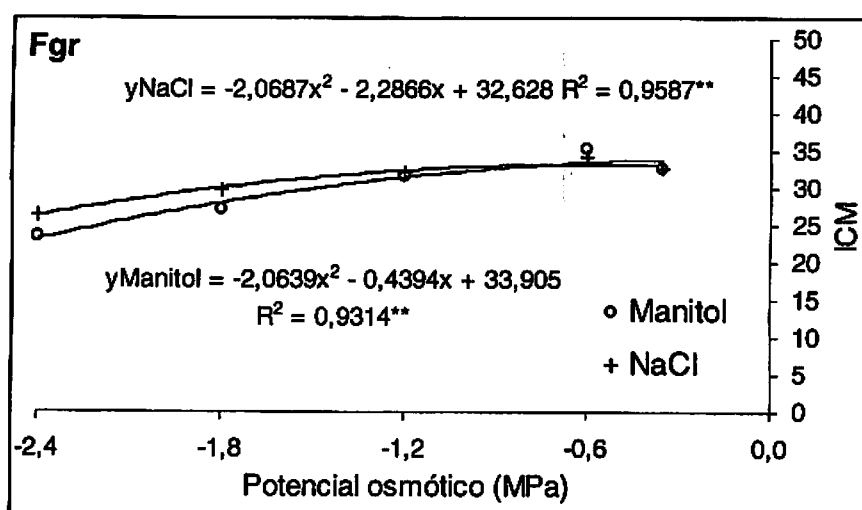
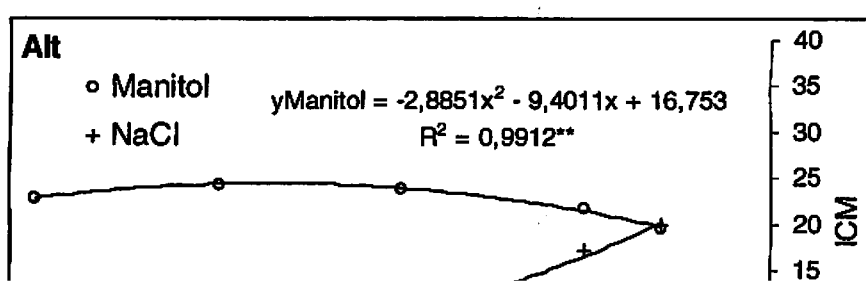


FIGURA 6. Análise de regressão relacionando o índice de crescimento micelial (ICM) de *Fusarium graminearum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos NaCl e manitol. UFLA, Lavras, MG, 2003.

No caso de *Alternaria alternata* (Tabela 1A), foi verificado efeito significativo ( $P \leq 0,01$ ) de todas as fontes de variação na análise de variância do índice de crescimento micelial. Quando comparados os valores das médias do ICM de cada soluto dentro dos níveis de potencial osmótico estudados, verificou-se efeito negativo do soluto NaCl nos quatro últimos níveis mais negativos de potencial osmótico (Tabela 7). Pela análise de regressão dos potenciais osmóticos nos níveis de soluto, à medida que a concentração de NaCl é aumentada, ocorre redução do ICM. A equação de regressão desse soluto possui ponto mínimo de -1,99 MPa (Figura 9). O soluto manitol apresentou ponto máximo de -1,63 MPa. A partir deste ponto, ocorreu uma pequena redução do ICM de *A. alternata*.





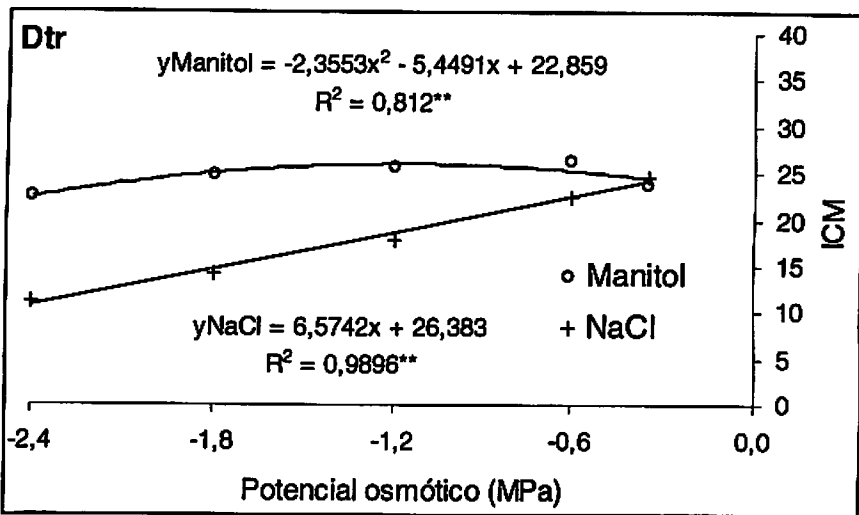


FIGURA 7. Análise de regressão relacionando o índice de crescimento micelial (ICM) de *Drechslera tritici-repentis* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos NaCl e manitol. UFLA, Lavras, MG, 2003.

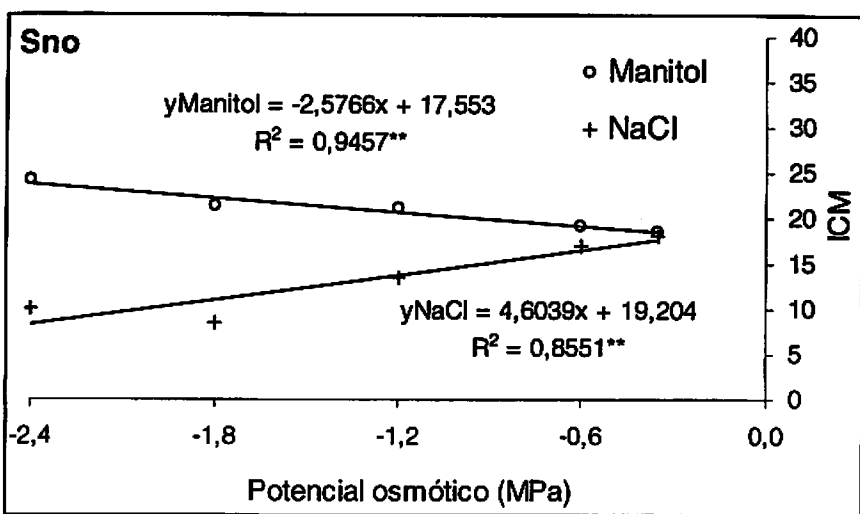
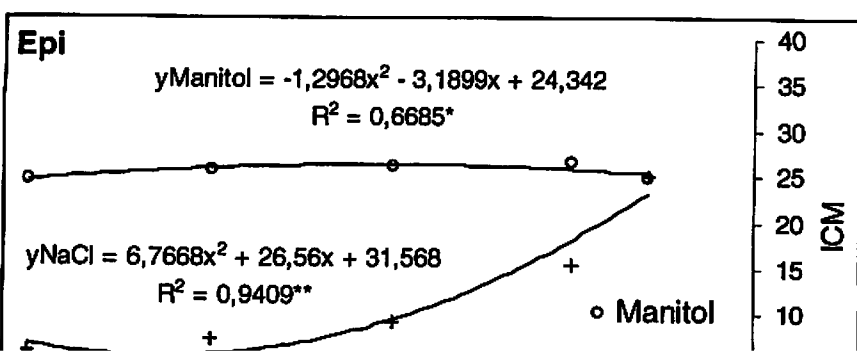


FIGURA 8. Análise de regressão relacionando o índice de crescimento micelial (ICM) de *Stagonospora nodorum* em diferentes níveis de potencial osmótico nos solutos NaCl e manitol. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Para o crescimento micelial de *Epicoccum purpuracens*, foi verificado efeito significativo da interação soluto x potencial osmótico (Tabela 2A). O soluto manitol proporcionou um maior crescimento micelial quando comparado aos resultados do soluto NaCl nos níveis -0,6, -1,2, -1,8 e -2,4 MPa (Tabela 7). Na análise de regressão (Figura 10), verificou-se que, nos potenciais osmóticos do meio BDA mais negativos, o ICM reduziu drasticamente. Em contrapartida, esse efeito negativo não foi verificado quando utilizou-se manitol incorporado ao meio BDA. Como pontos de mínimo (NaCl) e máximo (manitol), foram obtidos, respectivamente, valores de -1,96 MPa e -1,22 MPa.



Fazendo-se uma análise conjunta dos fungos avaliados, verificou-se que o NaCl reduziu o índice de crescimento micelial de todos os fungos, principalmente nos potenciais osmóticos mais negativos, ou seja, onde a concentração deste soluto era mais alta. O soluto manitol reduziu o desenvolvimento de *Fusarium graminearum* nos potenciais mais baixos. Para os demais fungos, doses crescentes de manitol adicionadas ao meio BDA não interferiram no ICM dos fungos estudados, chegando a estimular alguns, como *A. alternata* e *S. nodorum*.

A osmorregulação é um importante mecanismo dos microorganismos, servindo para manter o turgor das células e equilibrar o potencial hídrico entre suas células e o ambiente (Cook & Papendick, 1978). Muitos estudos do crescimento micelial *in vitro* de diversos fungos indicam que os organismos diferem na habilidade de absorver água do ambiente e cada espécie possui uma faixa adequada de potencial hídrico para o desenvolvimento (Brownell & Schneider, 1985; Woods & Duniway, 1986; Kackley et al., 1990). Isto comprova a variação do comportamento do crescimento micelial dos fungos estudados no presente trabalho.

A alta inibição do crescimento micelial dos fungos, observada em todos os potenciais osmóticos quando o soluto utilizado foi o NaCl, deve-se não só ao efeito direto da restrição hídrica no meio BDA, mas principalmente ao efeito tóxico do cátion sódio ( $\text{Na}^+$ ). Gao & Shaim (1995) destacaram que o crescimento reduzido de *Cryphonectria parasitica*, em meios que contêm sódio, foi devido ao efeito tóxico deste íon, quando comparado a outros solutos. Porém, um outro elemento pode também estar contribuindo com a reduzida taxa de crescimento no meio em que se utilizou NaCl como soluto, sendo este o íon cloro ( $\text{Cl}^-$ ).

Ao contrário do efeito do cloreto de sódio, manitol, mesmo no nível de potencial osmótico mais reduzido, proporcionou condições de estímulo ao

crescimento micelial da maioria dos fungos estudados. Neste caso, o produto deve ter sido utilizado pelos organismos como fonte adicional de carbono (Griffin, 1981; Moore-Landecker, 1982; Gow & Gadd, 1995). Constatação neste sentido foi também verificada por Carvalho (1999) em estudos com *Colletotrichum lindemuthianum*, que desenvolveu-se melhor em meio BDA com manitol. Um outro soluto que pode ter efeito semelhante é a sacarose. Gao & Shaim (1995), utilizando sacarose para modificar osmoticamente o meio BDA com manitol, verificaram um maior crescimento micelial de *C. parasitica*. Adebayo & Harris (1971) também observaram um desenvolvimento vigoroso de *Phytophthora cinnamomi* e *Alternaria tenuis* em meio agarizado contendo sacarose.

O índice de crescimento micelial de *Fusarium graminearum* foi semelhante ao observado por Cook & Papendick (1972). Estes autores relataram que o fungo *Fusarium roseum* f.sp. *cerealis* "Culmorum" apresentou acréscimo no crescimento até o potencial osmótico -0,8 MPa. Após este valor, houve redução em 50% do crescimento, observado no potencial -5,0 MPa. Os solutos utilizados nesse estudo foram sacarose, KCl, NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Wearing & Burgess (1979) verificaram que *F. graminearum* foi estimulado em seu crescimento até o potencial osmótico de -2,0 MPa (sacarose), diferenciando do resultado encontrado no presente trabalho. Sugere-se que isto seja devido à diferença da temperatura utilizada nos dois trabalhos. Os últimos autores realizaram o experimento a 25°C e a temperatura utilizada no presente trabalho foi de 20°C.

Um aspecto de interesse particular neste estudo foi a mudança de coloração de *Drechslera tritici-repentis* de marrom-acinzentado (BDA) para alaranjado (BDA + NaCl) em todos os níveis de potencial hídrico. Este efeito foi menos evidente quando utilizou-se manitol. Outros trabalhos também relataram a mudança de coloração da colônia fúngica em função dos solutos e potenciais

osmóticos. Por exemplo, este aspecto foi registrado por Alam et al. (1996) em relação a colônias de *Alternaria alternata* que modificaram a coloração em função do soluto utilizado. Em meios corrigidos por sacarose, eram quase brancas, em contraste com a coloração marrom-escura e castanho-claras quando foram utilizados  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{KCl}$ , respectivamente.

O uso de  $\text{NaCl}$  em meios de cultivo, em elevadas concentrações que propiciem potenciais hídricos baixos, provoca uma redução do desenvolvimento dos fungos considerados de campo. Em outros trabalhos, nestes potenciais prevalecem os fungos considerados de armazenamento como espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*. Por outros estudos tem se verificado também que potenciais hídricos de até  $-2,0$  MPa, para a maioria dos fungos, incluindo de campo e armazenamento, não são afetados estatisticamente.

É válido lembrar que a restrição hídrica, que se configura pelo teste de incubação em substrato de papel, durante o transcorrer do período de incubação, é um fator favorável para a esporulação por parte dos inúmeros fungos Hyphomycetes, caso de espécies de *Drechslera*, *Alternaria*, *Pyricularia*, etc. (Limonard, 1968).

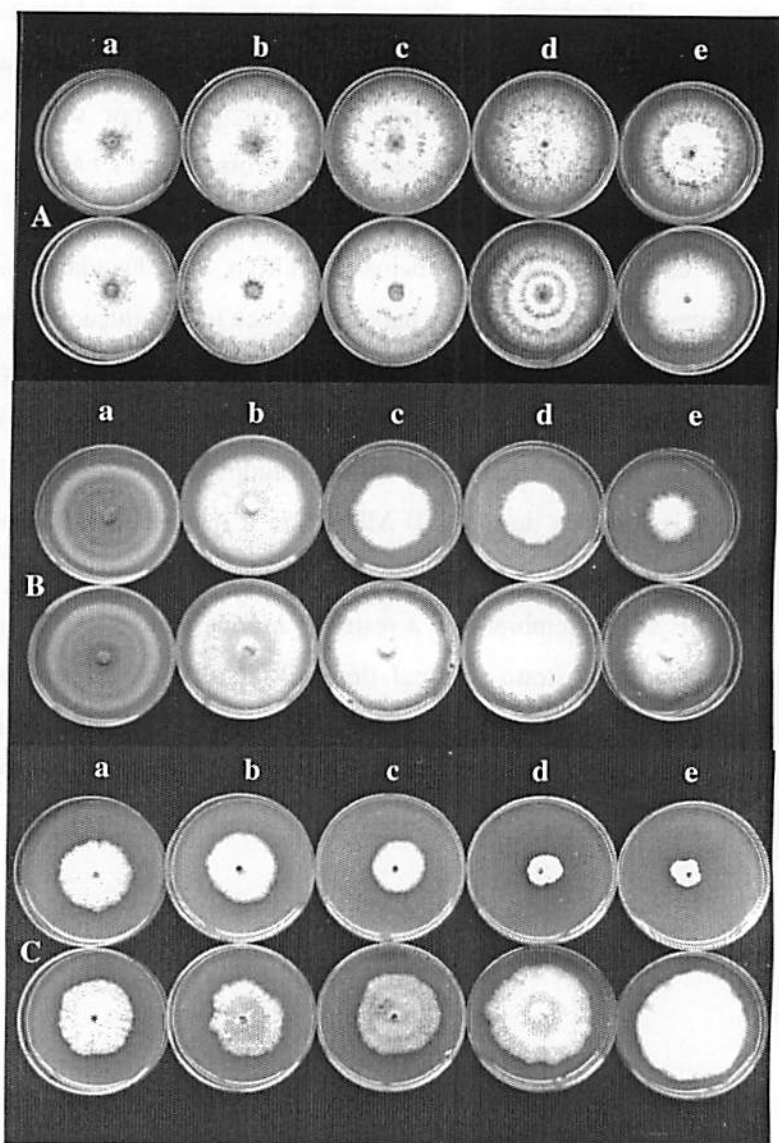


FIGURA 11. Crescimento micelial em meio BDA dos fungos *Fusarium graminearum* (A), *Drechslera tritici-repentis* (B) e *Stagonospora nodorum* (C) com NaCl (placas superiores) e manitol (placas inferiores) nos potenciais de -0,35 MPa (a), -0,6 MPa (b), -1,2 MPa (c), -1,8 MPa (d) e -2,4 MPa (e). UFLA, Lavras, MG, 2003.

#### 4.3 Avaliação dos efeitos da restrição hídrica na ocorrência (incidência e severidade) de fungos em sementes de trigo

A Tabela 8 contém o número de lotes em que foi verificada a presença dos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, *Fusarium graminearum*, *Pyricularia grisea*, *Penicillium* spp., *Aspergillus ochraceus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* e *Epicoccum purpuracens*, detectados pelo método de incubação em substrato de papel modificado com congelamento e em substrato de papel com restrição hídrica.

TABELA 8 - Ocorrência de fungos em sementes de 60 lotes de trigo provenientes de diferentes regiões do Brasil, submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel com congelamento e substrato de papel com restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

	Fungos	Ocorrência	
		n° de lotes	(%)
Patogênicos	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	56	93,3
	<i>Drechslera tritici-repentis</i>	15	25,0
	<i>Fusarium graminearum</i>	39	65,0
	<i>Pyricularia grisea</i>	18	30,0
Armazenamento	<i>Penicillium</i> spp.	17	28,3
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	22	36,7
Saprófitas	<i>Alternaria alternata</i>	60	100,0
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	56	93,3
	<i>Epicoccum purpuracens</i>	52	86,7

Os valores máximos de incidência e severidade de fungos detectados nas sessenta amostras de sementes avaliadas pelos métodos de incubação em substrato de papel com restrição hídrica e com congelamento estão na Tabela 9.

TABELA 9 - Valores máximos encontrados de incidência e severidade de fungos em sementes de 60 lotes de trigo, submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel com congelamento (Freezer) e substrato de papel com restrição hídrica (RH). UFLA, Lavras, MG, 2003.

Fungos	Incidência (%)		Severidade (%)	
	Freezer	RH	Freezer	RH
Patogênicos		<i>Bipolaris sorokiniana</i>		
	65,0	61,5	29,1	34,1
		<i>Drechslera tritici-repentis</i>		
	21,0	8,0	10,3	4,7
		<i>Fusarium graminearum</i>		
	71,5	67,5	38,0	33,8
	<i>Pyricularia grisea</i>			
	33,5	43,5	30,9	25,1
Armazenamento		<i>Penicillium spp.</i>		
	24,5	51,0	5,1	7,6
		<i>Aspergillus ochraceus</i>		
	12,0	28,0	8,2	10,9
Saprofíticos		<i>Alternaria alternata</i>		
	96,0	96,0	33,7	29,1
		<i>Cladosporium cladosporioides</i>		
	51,5	56,5	11,8	11,7
	<i>Epicoccum purpuracens</i>			
	61,0	70,0	15,6	12,9

Entre as sessenta amostras avaliadas, *Bipolaris sorokiniana* e *Fusarium graminearum* foram os fungos patogênicos de maior ocorrência, sendo detectados em 93,3% e 65,0% das amostras, respectivamente (Tabela 8).

Os fungos de armazenamento estavam presentes, em média, em 32,5% das amostras analisadas. Porém, os valores da média de incidência de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium spp.* são baixos, sendo de 6,41% e 2,85%, respectivamente (Tabela 10).

TABELA 10 - Médias de incidência e severidade de fungos em sementes de 60 lotes de trigo provenientes de diferentes regiões do Brasil, submetidas ao teste de sanidade pelo método de incubação em substrato de papel com congelamento (Freezer) e substrato de papel com restrição hídrica (RH). UFLA, Lavras, MG, 2003.

Fungos	Incidência (%)		Severidade (%)	
	Freezer	RH	Freezer	RH
Patogênicos	<i>Bipolaris sorokiniana</i>			
	9,13	9,13	12,61	11,22
	<i>Drechslera tritici-repentis</i>			
	3,10	0,90	5,53	1,87
	<i>Fusarium graminearum</i>			
	18,15	14,15	19,13	17,49
	<i>Pyricularia grisea</i>			
	7,42	10,61	19,80	16,29
Armazenamento	<i>Penicillium spp.</i>			
	2,85	6,41	1,99	3,16
	<i>Aspergillus ochraceus</i>			
	1,55	6,30	2,07	4,86
Saprofíticos	<i>Alternaria alternata</i>			
	57,64	54,43	22,17	19,46
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>			
	21,60	25,30	7,08	7,51
	<i>Epicoccum purpuracens</i>			
	22,57	26,69	8,24	8,54

Os histogramas de distribuição de frequência de todos os fungos avaliados estão representados nas Figuras 12 a 20.



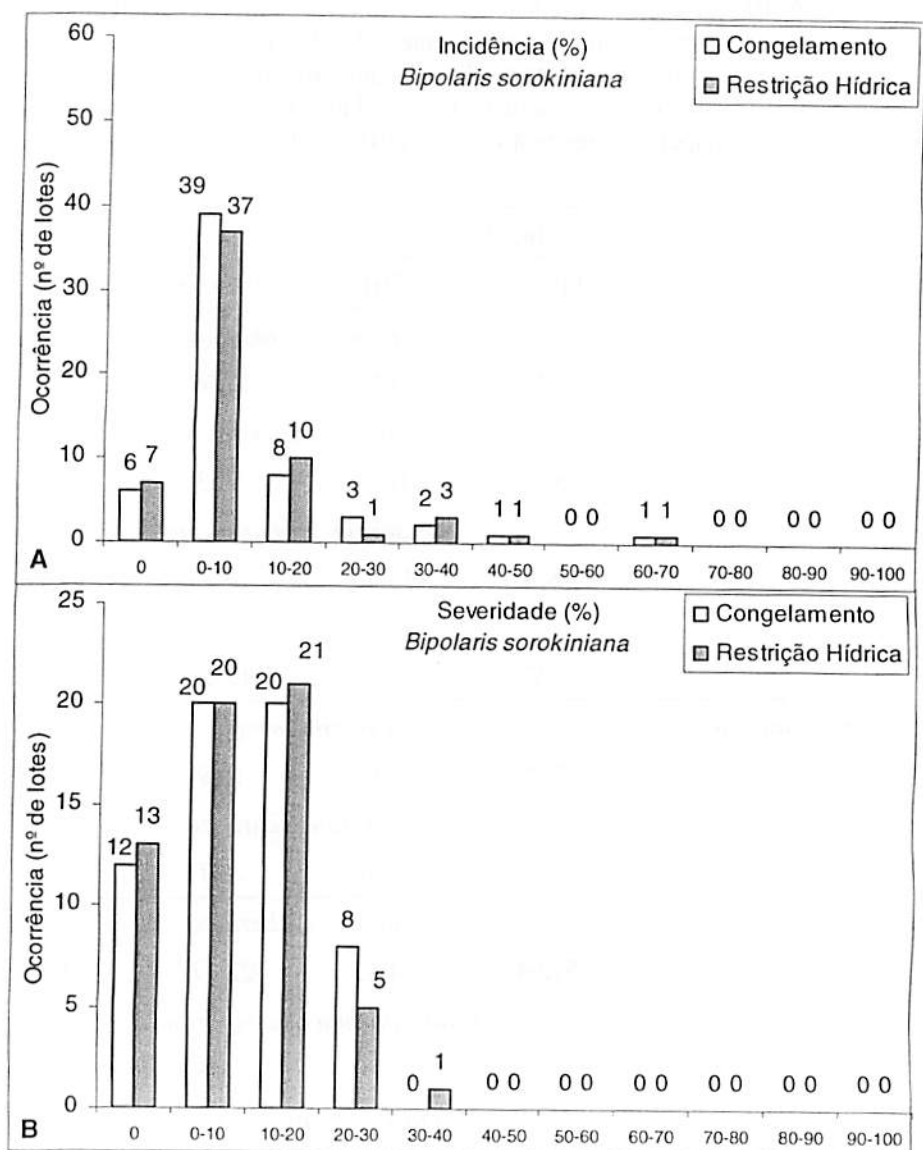


FIGURA 12. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Bipolaris sorokiniana* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

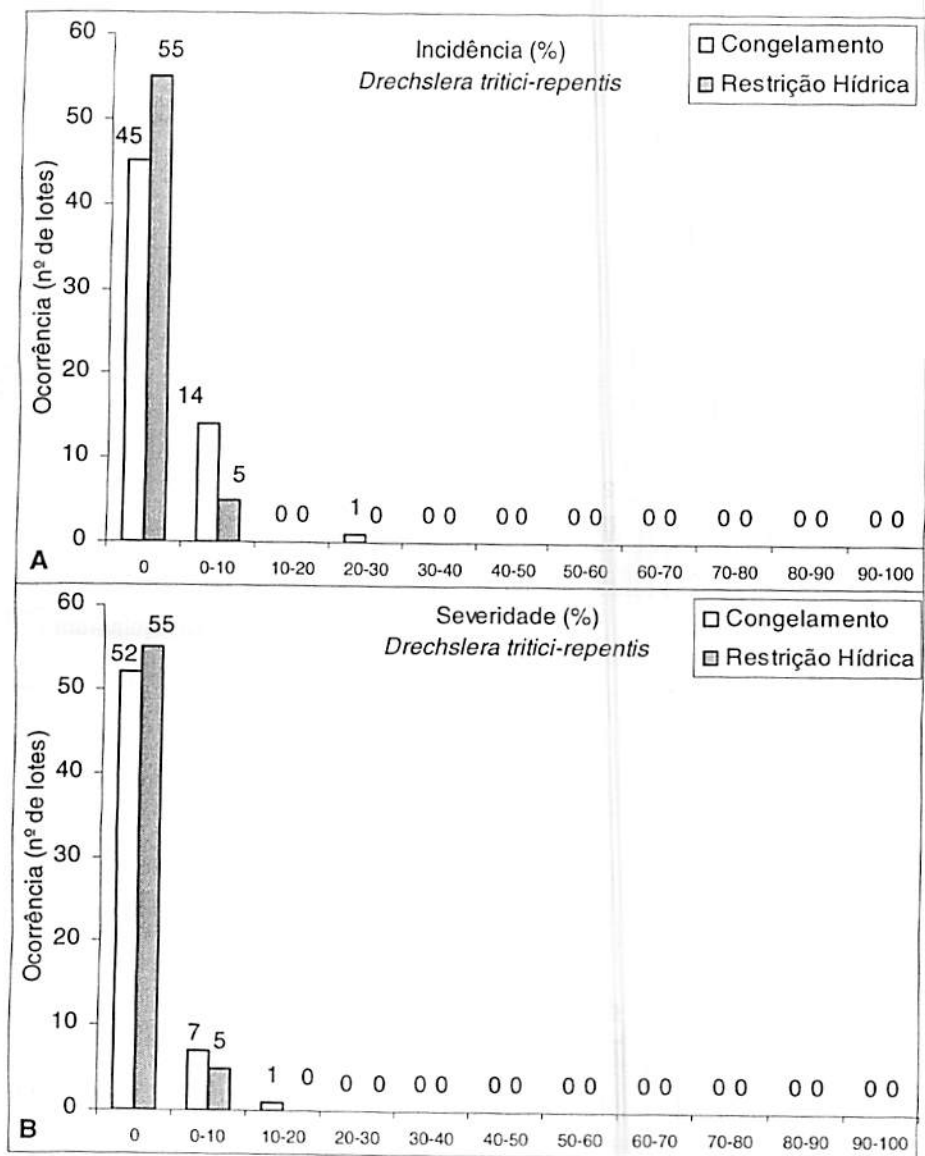


FIGURA 13. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Drechslera tritici-repentis* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

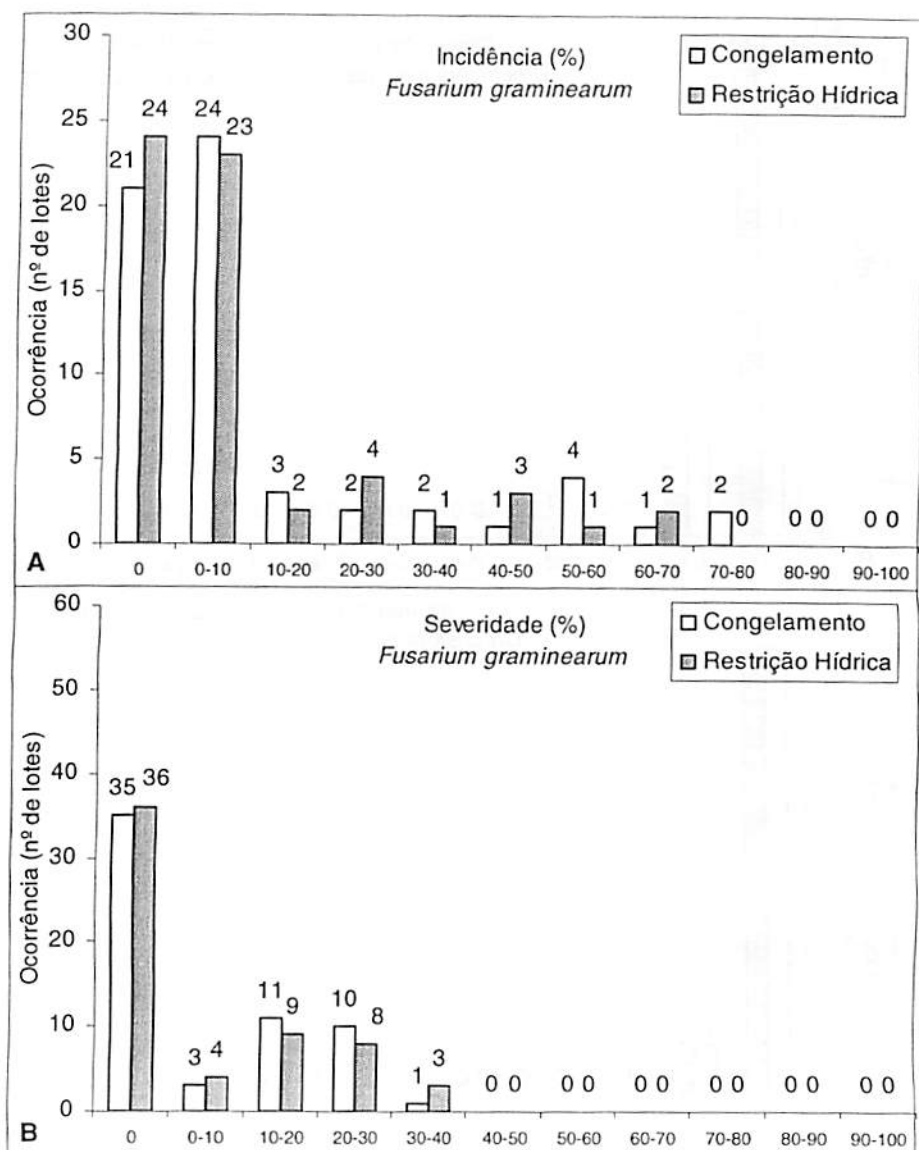


FIGURA 14. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Fusarium graminearum* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

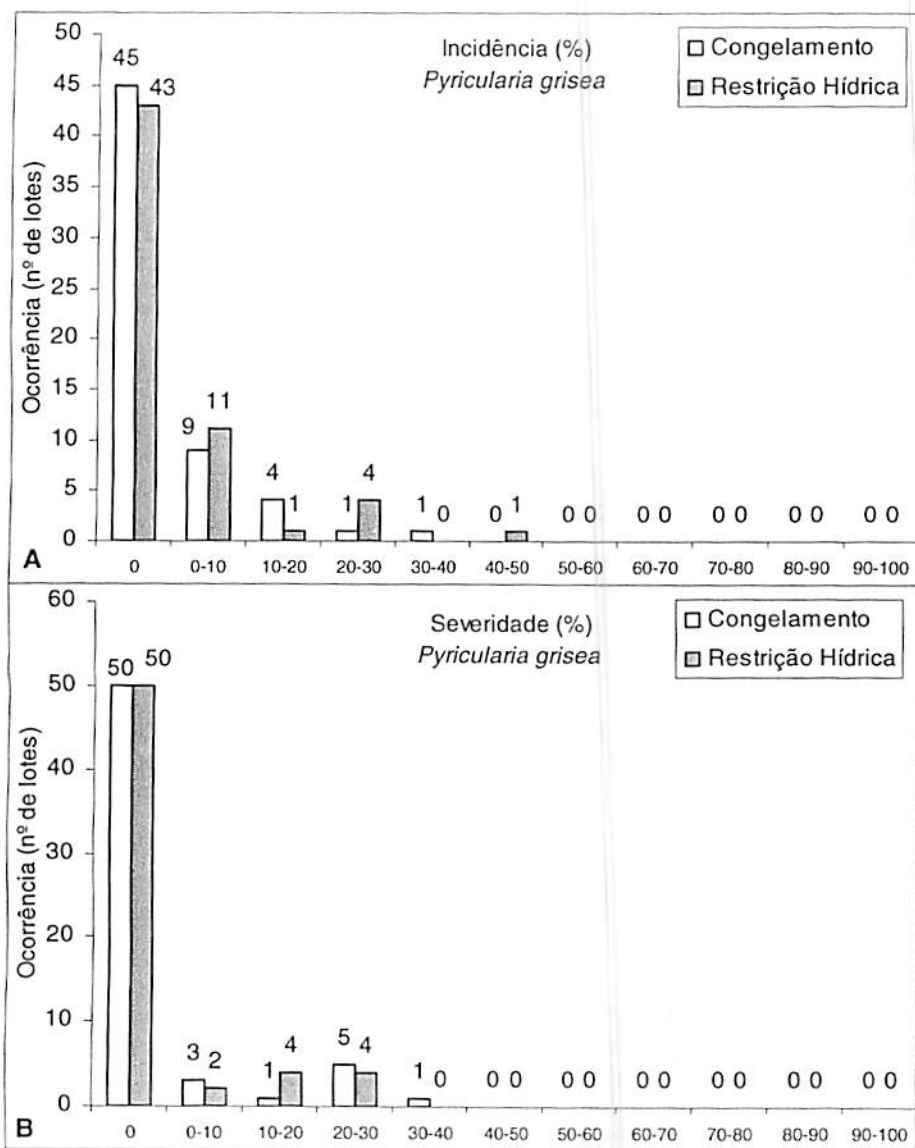


FIGURA 15. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Pyricularia grisea* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

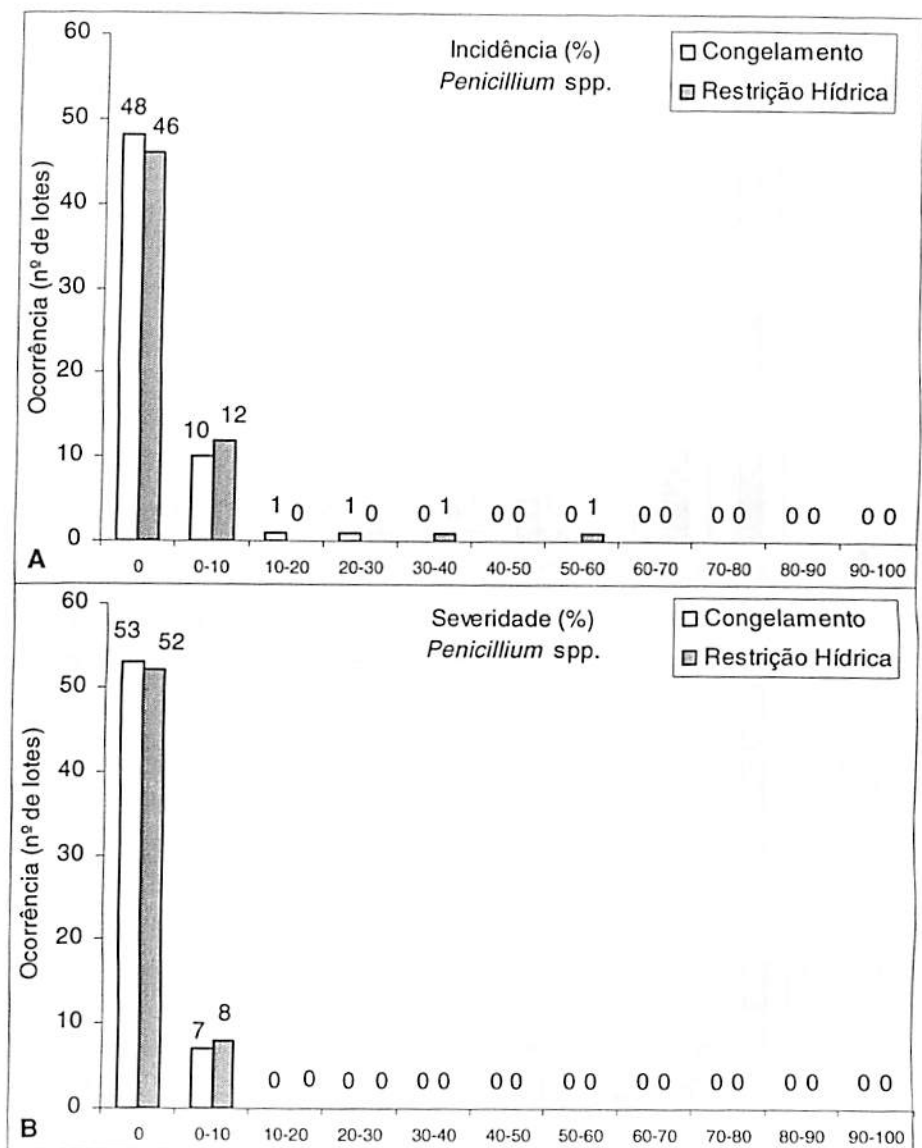


FIGURA 16. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Penicillium* spp. nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

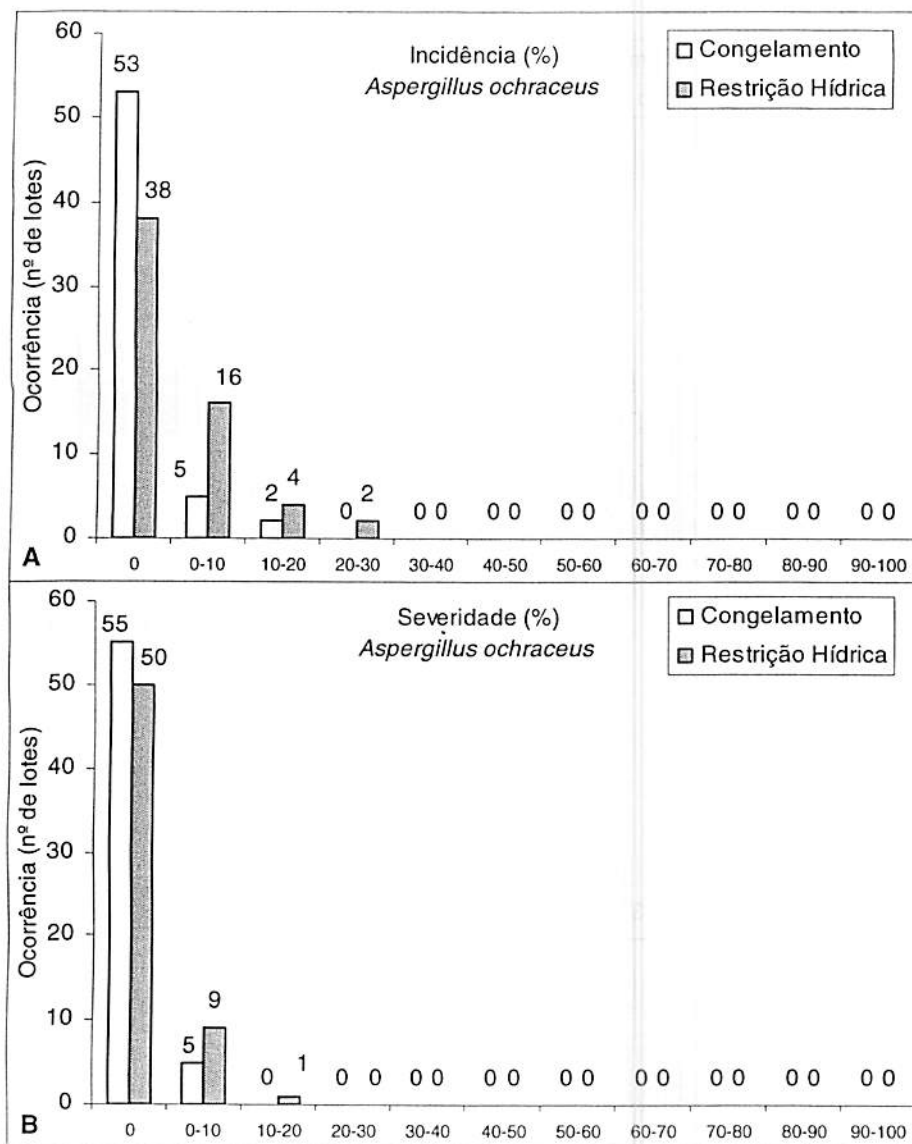


FIGURA 17. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Aspergillus ochraceus* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

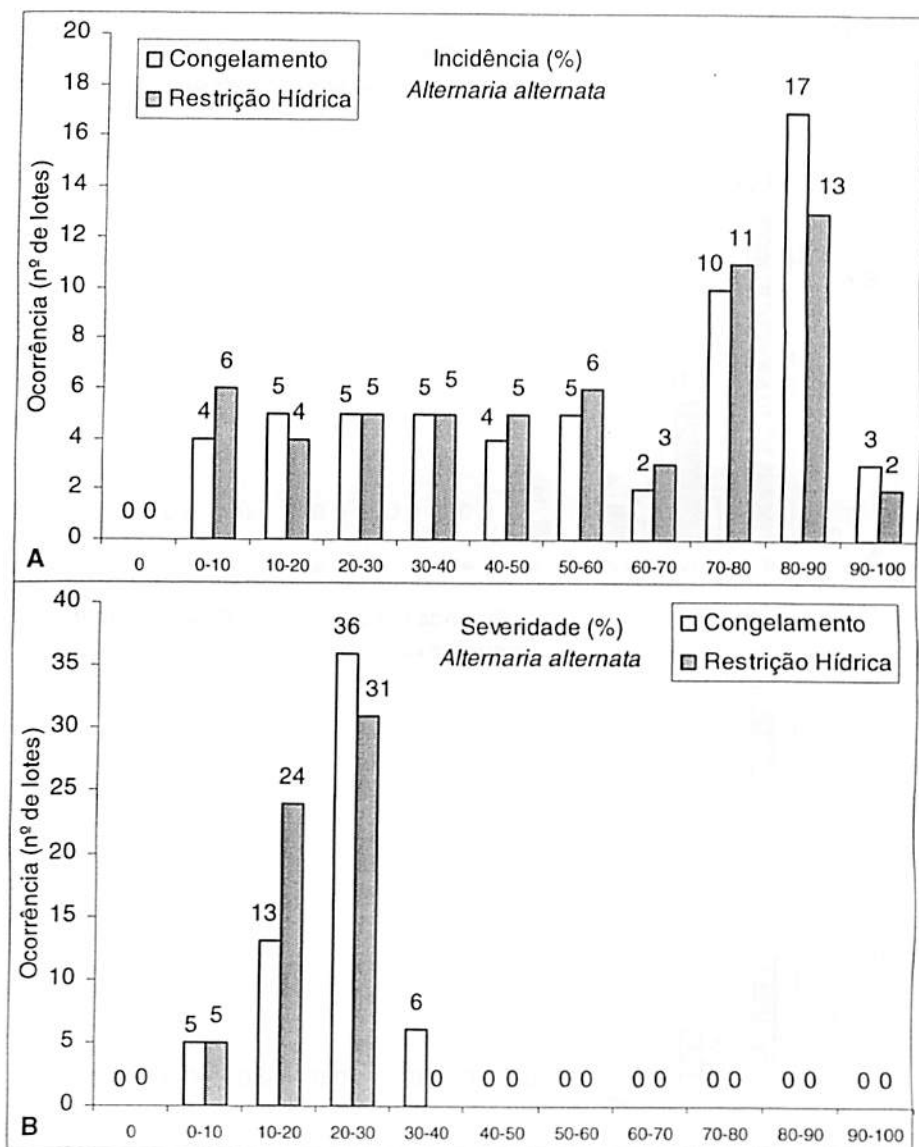


FIGURA 18. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Alternaria alternata* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

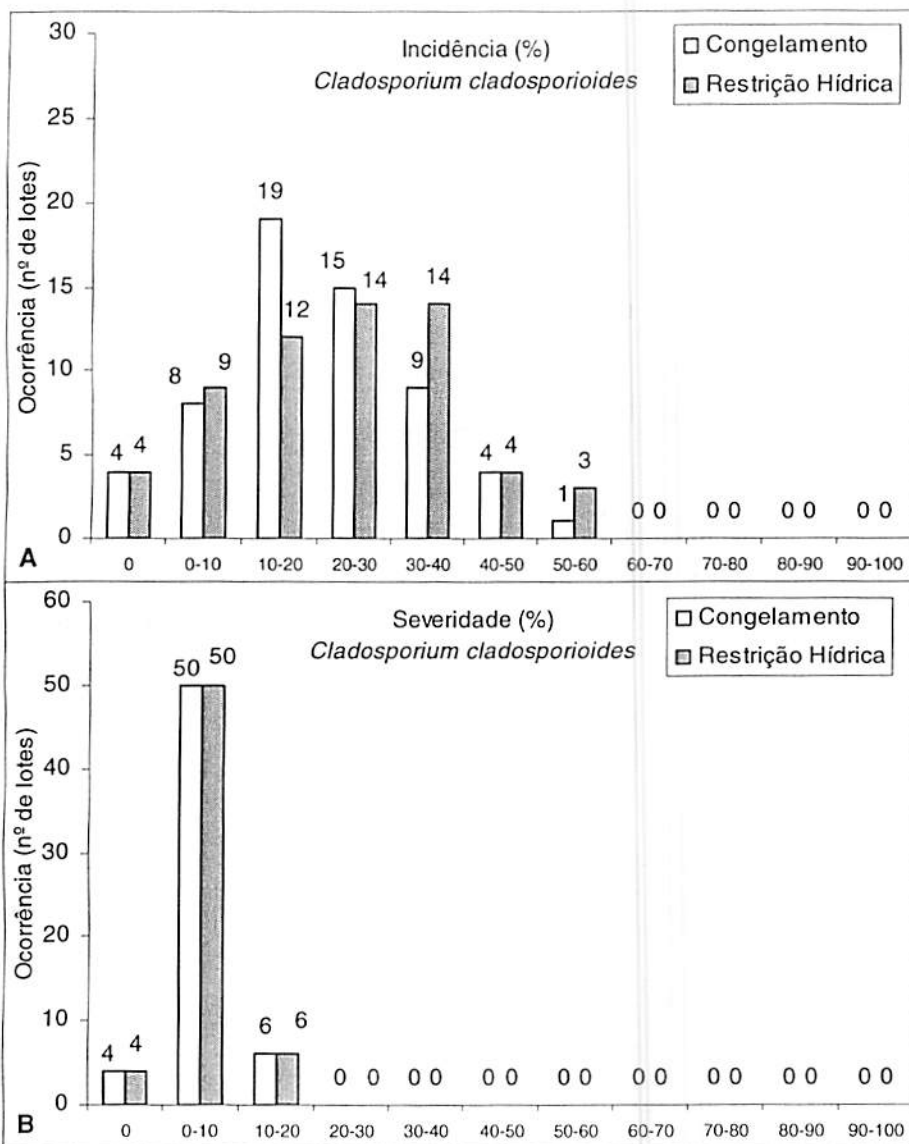


FIGURA 19. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Cladosporium cladosporioides* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.



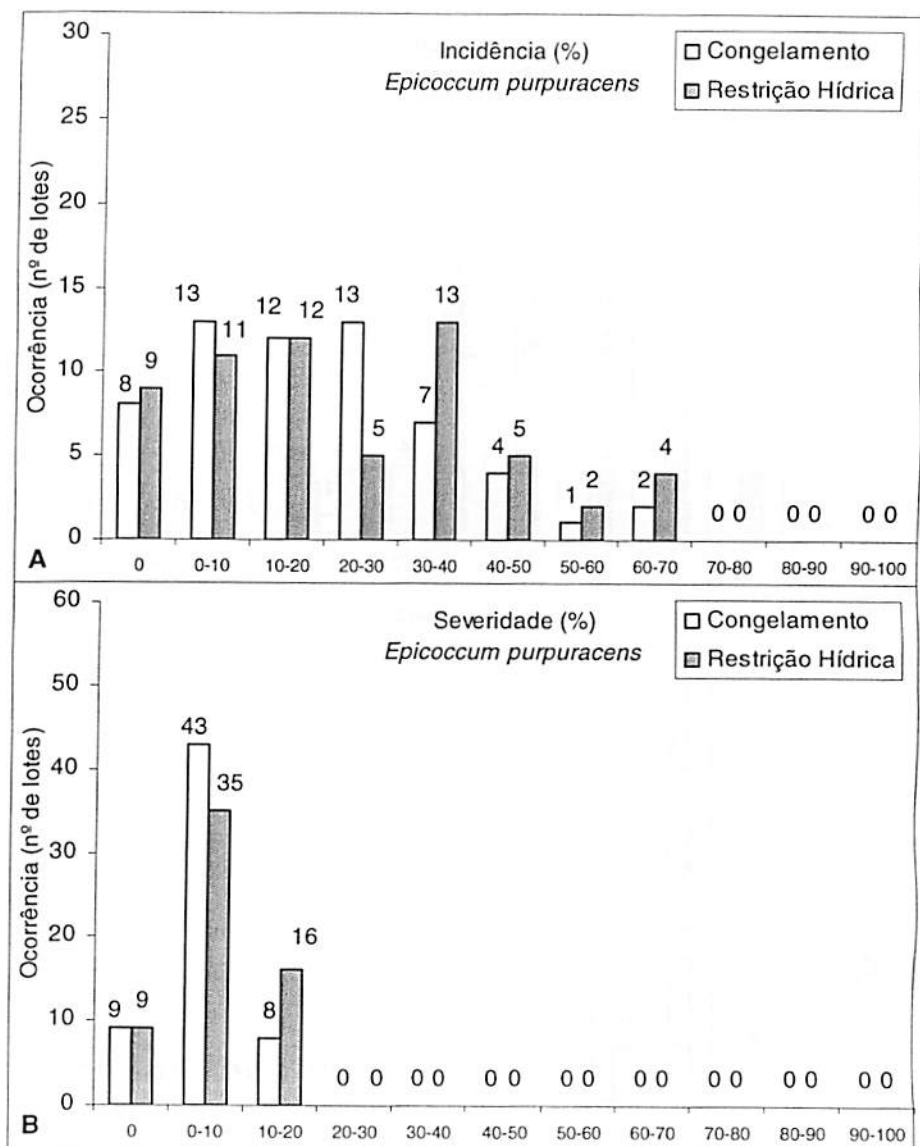


FIGURA 20. Número de lotes para cada classe de incidência (A) e severidade (B) de *Epicoccum purpuracens* nos testes de sanidade, pelos métodos de incubação em substrato de papel com congelamento e restrição hídrica. UFLA, Lavras, MG, 2003.

O método de incubação em substrato de papel com restrição hídrica, comparado ao método com congelamento, foi menos sensível na detecção de *Drechslera tritici-repentis* (Tabelas 8, 9 e 10). O maior valor de incidência obtido a partir da avaliação das 60 amostras de sementes de trigo no método de congelamento e restrição hídrica foi de 21% e 8%, respectivamente. O valor médio de incidência das 60 amostras, para este mesmo patógeno, foi de 3,1% e 0,9% para o método do congelamento e restrição hídrica, respectivamente. *D. tritici-repentis* apresentou dificuldade em formar conidióforos e conídios nas sementes submetidas ao teste de sanidade com restrição hídrica. Com isso, sua detecção e quantificação foram dificultadas.

Brodal (1997) relatou que na Noruega e Suécia é muito utilizado o teste de sanidade de incubação em substrato de papel umedecido com solução osmótica de sacarose 0,5 M "osmotic blotter" na detecção de *Drechslera* spp. Este método, ao contrário do método com congelamento, tem como fundamento examinar a coloração do substrato de papel logo abaixo das sementes em avaliação. Algumas espécies de *Bipolaris* e *Drechslera*, desenvolvidas em meio de cultura, produzem pigmentos conhecidos por antraquinonas (Sivanesan, 1987).

Brodal (1995) relatou que foram avaliadas 57 amostras de sementes de cevada, entre os anos de 1990-93, pelo Grupo Nórdico de Patologia de Sementes (*Nordic seed pathology group*). Foi comparado o método osmótico (sacarose 0,5 M) com o método de incubação com congelamento. O primeiro método foi 40% mais eficiente na detecção de *Drechslera* spp., com a vantagem de retardar a germinação das sementes.

Em estudo realizado por Brodal (1997), o método osmótico foi mais eficaz na detecção de *Drechslera* spp. em sementes de cevada, quando comparado ao congelamento e meio ágar. O mesmo autor salientou que o método osmótico é rápido e de fácil condução, pois não há necessidade de

auxílio de microscópio estereoscópico na avaliação das sementes.

No presente trabalho foi observada coloração rosa-claro do substrato de papel com restrição hídrica abaixo de sementes que pertenciam a lotes em que, por meio do método do congelamento, foi detectado *D. tritici-repentis*.

Sugere-se avaliar a incidência desse fungo baseando-se na coloração do papel de filtro, quando utilizado o método de incubação com restrição hídrica, ao contrário da esporulação, que é observada no método do congelamento.

#### 4.4 Avaliação dos efeitos do potencial de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* no desempenho de sementes de trigo por meio da técnica da restrição hídrica

A inclusão de um fungicida (difenoconazole) (Tabela 3B), aplicado às sementes neste estudo foi realizada com o intuito de se contar com um componente auxiliar nas avaliações dos reais efeitos de diferentes potenciais de inóculo de *Bipolaris sorokiniana*. Isto porque este aspecto não tem sido considerado em estudos sobre tratamento de sementes. A eficácia deste produto já tem sido comprovada em outros estudos realizados no Brasil para controle do referido fungo. Os valores de germinação e vigor, obtidos no teste de germinação, estão apresentados na Figura 21, Tabelas 11 e 4A. Verificou-se, em todas as classes de potencial de inóculo onde *B. sorokiniana* estava presente, que os tratamentos onde não foi aplicado o fungicida na semente foram inferiores aos que receberam o tratamento químico.

TABELA 11 - Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo submetidas ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nível de potencial de inóculo	Germinação (%)		Vigor (%)	
	T	NT	T	NT
0%	100 A	96 A	100 A	98 A
1% a 25%	91 A	78 B	92 A	86 A
26% a 50%	89 A	65 B	89 A	78 B
51% a 75%	85 A	58 B	85 A	66 B
Média	91	74	91	82
Saprófitas	98 A	93 A	99 A	94 A
CV (%)	8,25		6,55	

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) \*T Tratada \*\*NT Não tratada

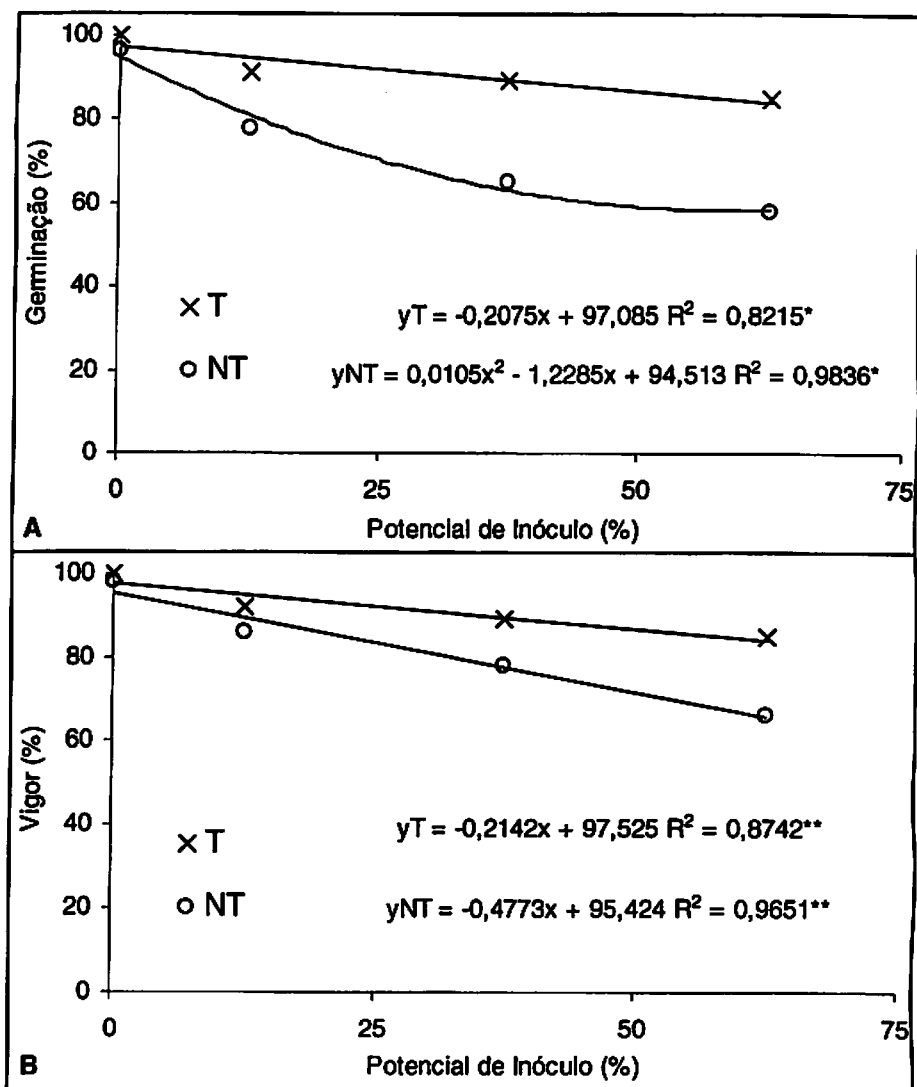


FIGURA 21. Análise de regressão relacionando a germinação (A) e o vigor (B) de sementes de trigo, obtidos pelo teste de germinação em rolo de papel, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Observando-se os valores entre potenciais de inóculo, na ausência do tratamento químico das sementes (NT), verifica-se que o efeito dos níveis de potencial de inóculo foram significativos pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ) e modelos de regressão foram ajustados. Em níveis crescentes da densidade de inóculo, a germinação e o vigor das sementes de trigo foram decrescentes (Figura 21). Com a técnica da restrição hídrica, há possibilidade de estudar o efeito isolado das classes de potencial de inóculo. Com exceção da classe "0%", as sementes de todas as demais classes apresentaram incidência de *B. sorokiniana* de 100%.

O desempenho das sementes de trigo, representado pelas variáveis estande final aos 23 dias após a emergência, índice de velocidade de emergência (Maguire, 1962) e altura de plântulas, obtidas através da avaliação dessas em câmara de crescimento vegetal, encontra-se na Tabela 12, Figuras 22 e 23.

TABELA 12 - Avaliação do desempenho de sementes de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nível de potencial de inóculo	Estande final (%)		IVE (Maguire)		Altura (mm)	
	T	NT	T	NT	T	NT
0%	99 A	98 A	5,8 A	6,1 A	230 A	220 A
1% a 25%	99 A	79 B	5,7 A	4,6 B	242 A	168 B
26% a 50%	94 A	62 B	5,4 A	3,5 B	236 A	139 B
51% a 75%	93 A	64 B	5,3 A	3,5 B	229 A	142 B
Média	96	76	5,6	17,7	234	167
Saprófitas	100 A	89 B	5,9 A	5,5 A	264 A	205 B
CV (%)	6,94		7,49		15,21	

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) \*T Tratada \*\*NT Não tratada

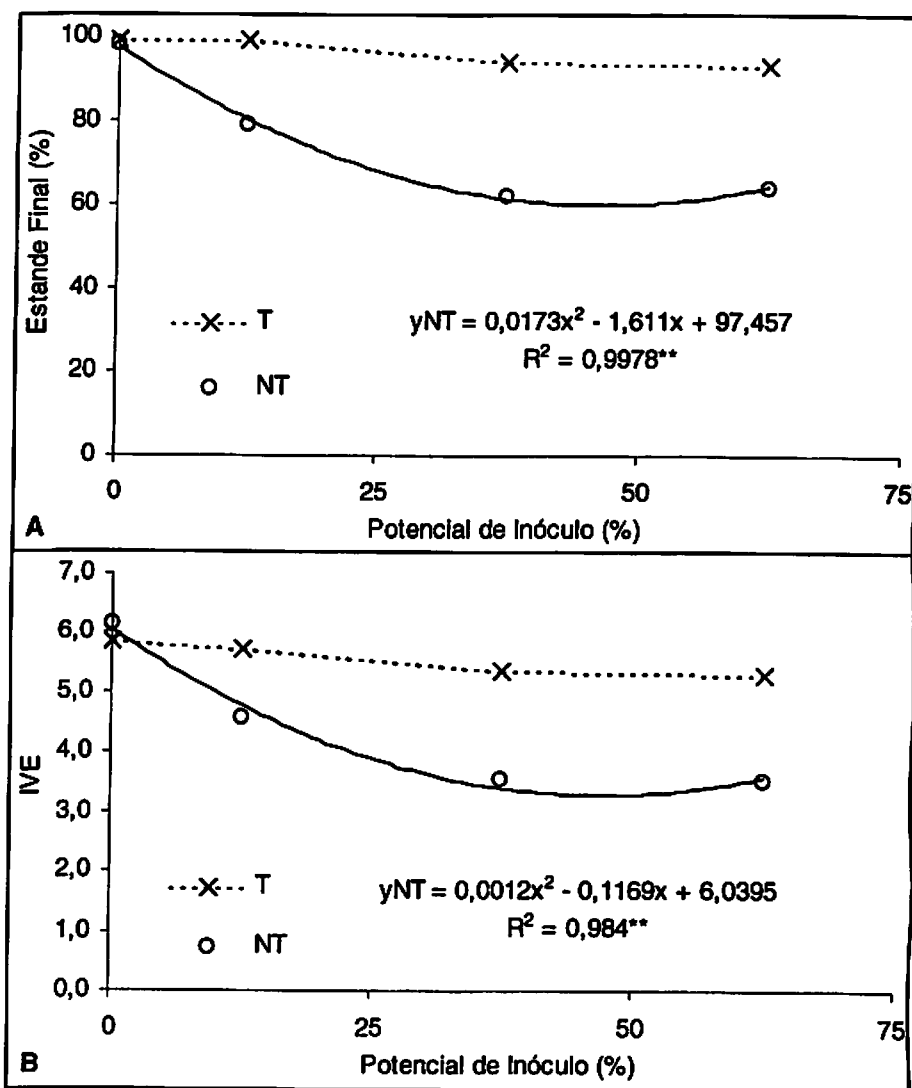


FIGURA 22. Análise de regressão relacionando o estande final (A) e o índice de velocidade de emergência (B) de plântulas de trigo, desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

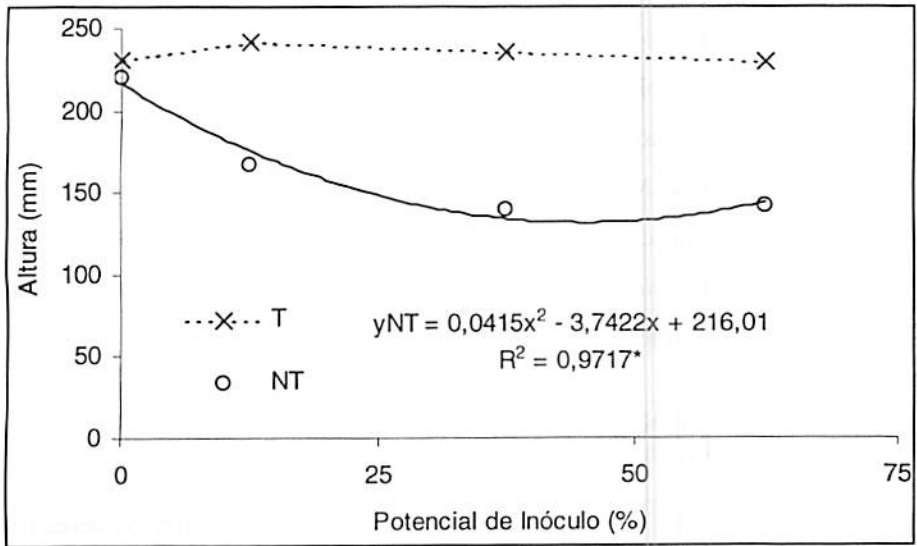


FIGURA 23. Análise de regressão relacionando a altura de plântulas de trigo, desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Em todas as variáveis estudadas, quando são comparadas as médias entre os níveis de potencial de inóculo, na presença do tratamento químico (T), diferenças não foram detectadas pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ) e nenhum modelo de regressão foi ajustado, indicando uma eficaz ação do fungicida utilizado. Porém, na ausência do tratamento químico (NT), consegue-se distinguir o efeito de níveis crescentes da densidade de inóculo de *B. sorokiniana*. Em densidades crescentes, o desempenho das sementes de trigo foi reduzindo gradativamente (Figuras 22, 23, 24, 25 e 26).

O tratamento com fungicida das sementes foi eficaz ( $P \leq 0,05$ ) para as variáveis peso de matéria fresca e peso de matéria seca da parte aérea e raízes (Tabelas 13, 14, 6A e 7A), quando avaliados em câmara de crescimento vegetal.



Nos tratamentos em que não foi utilizado tratamento químico (NT), na presença de *B. sorokiniana* e em níveis crescentes de potencial de inóculo, o efeito deste fungo foi negativo no desenvolvimento das plântulas. Sendo esse um patógeno que afeta a raiz das plântulas de trigo, a absorção de nutrientes foi prejudicada, debilitando a produção de massa vegetal (Figuras 24, 25 e 26).

Machado & Machado (2002) verificaram resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Verificou-se que os efeitos negativos de *Fusarium verticillioides* no desempenho de sementes de milho foram proporcionais ao aumento da densidade de inóculo deste patógeno.

TABELA 13 - Avaliação do desempenho de sementes de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nível de potencial de inóculo	Peso fresco parte aérea (g)		Peso seco parte aérea (mg)	
	T	NT	T	NT
0%	0,240 A	0,250 A	28,3 A	29,5 A
1% a 25%	0,275 A	0,162 B	33,7 A	20,1 B
26% a 50%	0,285 A	0,156 B	34,0 A	19,6 B
51% a 75%	0,263 A	0,139 B	30,5 A	16,4 B
Média	0,266	0,177	31,6	21,4
Saprófitas	0,308 A	0,278 A	35,8 A	32,9 A
CV (%)	22,61		20,34	

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) \*T Tratada \*\*NT Não tratada

Os resultados deste trabalho evidenciam a importância do potencial de inóculo de *B. sorokiniana*. Em boletins de análise sanitária apenas é informado o valor da incidência de um determinado fungo em uma amostra de sementes. Porém, esta informação é incompleta quando pretende-se, a partir destes boletins, efetuar uma recomendação de tratamento químico de sementes ou, ainda, rejeitar ou não um lote.

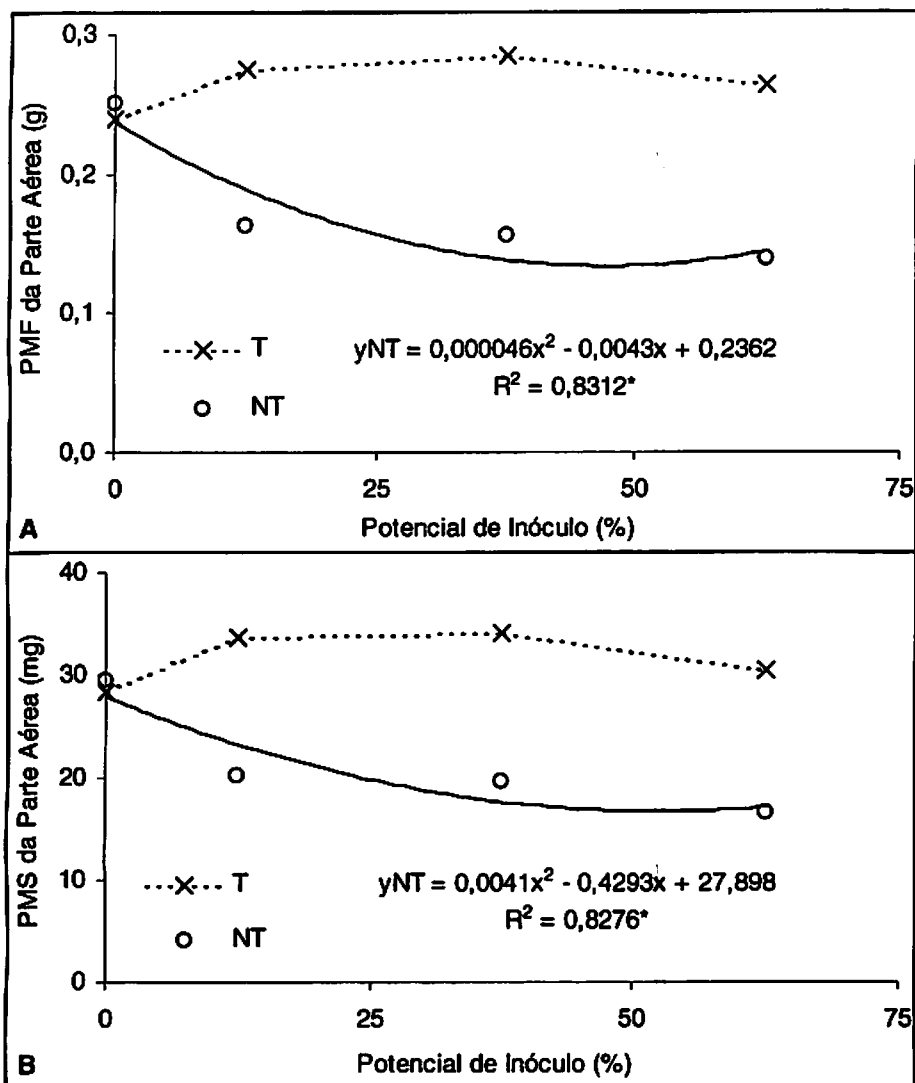


FIGURA 24. Análise de regressão relacionando o peso de matéria fresca (PMF) (A) e o peso de matéria seca (PMS) (B) da parte aérea de plântulas de trigo, desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

TABELA 14 - Avaliação do desempenho de sementes de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nível de potencial de inóculo	Peso fresco da raiz (g)		Peso seco da raiz (mg)	
	T	NT	T	NT
0%	0,292 A	0,344 A	22,3 A	29,8 A
1% a 25%	0,367 A	0,238 B	34,0 A	19,3 B
26% a 50%	0,358 A	0,218 B	31,8 A	20,2 B
51% a 75%	0,283 A	0,144 B	22,7 A	12,1 B
Média	0,325	0,236	27,7	20,4
Saprófitas	0,309 A	0,342 A	24,3 A	27,2 A
CV (%)	20,45		25,86	

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) \*T Tratada \*\*NT Não tratada

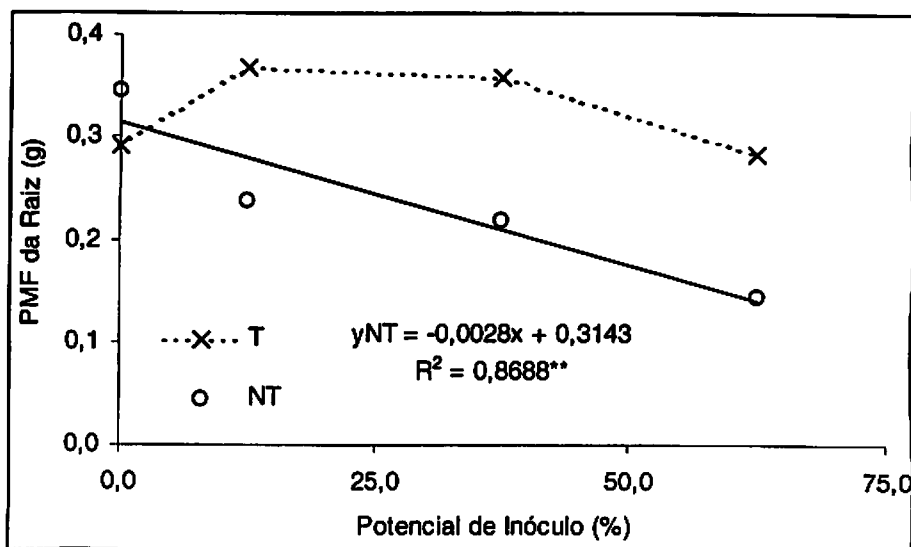


FIGURA 25. Análise de regressão relacionando o peso de matéria fresca (PMF) da raiz de plântulas de trigo, desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

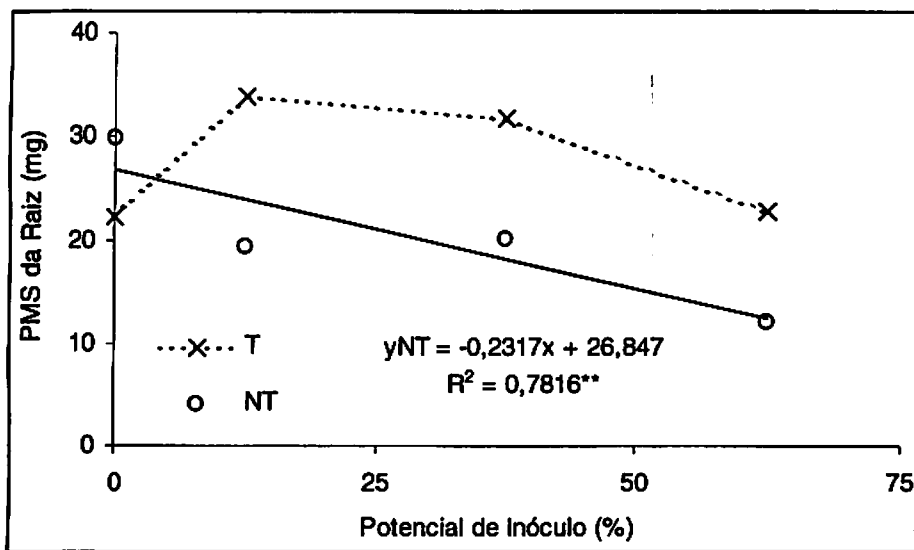


FIGURA 26. Análise de regressão relacionando o peso de matéria seca (PMS) da raiz de plântulas de trigo, desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal, em diferentes níveis de potencial de inóculo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Devido à sua ocorrência constante em níveis de até 100% (Goulart & Paiva, 1996) e eficiente transmissão (Reis & Forcelini, 1993), *B. sorokiniana* é o alvo principal do tratamento de sementes, cujo sucesso depende da eficácia do fungicida, do tratamento propriamente dito e do manejo dispensado à cultura (Forcelini, 1991). Sementes com alta incidência podem não germinar ou as plântulas produzidas podem morrer precocemente, reduzindo a densidade de plantas a campo (Lasca et al., 1986).

Goulart & Paiva (1996) testaram diversos produtos para o tratamento químico das sementes de trigo no controle de *B. sorokiniana* e *Pycularia grisea*. Difenconazole, como os demais fungicidas testados, foi eficaz no controle dos patógenos testados, obtendo emergência e rendimento de grãos satisfatórios, quando comparados à testemunha sem fungicida.

Forcelini (1992) não observou correlação entre diferentes percentuais de incidência de *B. sorokiniana* na semente com a transmissão deste patógeno para plântulas. Porém, o autor não considerou o potencial de inóculo da semente. Podem existir casos em que um lote com maior incidência de determinado patógeno, quando comparado a outro lote de mesma cultivar e qualidade fisiológica, apresente melhor desempenho no campo devido ao lote com menor incidência possuir maior potencial de inóculo por semente.

## 5 CONCLUSÕES

O método de incubação em substrato de papel com restrição hídrica induzida pela adição de manitol ao substrato, no potencial osmótico -1,10 MPa, não influenciou na detecção dos principais fungos veiculados por sementes de trigo. Isso equivale a dizer que a tecnologia da restrição hídrica pode substituir o método convencional de congelamento em testes de sanidade.

Por intermédio da técnica de restrição hídrica foi possível avaliar os efeitos de níveis crescentes do potencial de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* em relação ao desenvolvimento inicial das sementes de trigo e estabelecimento de plântulas nos testes de germinação em laboratório. Os efeitos, nestes casos, foram inversamente proporcionais aos potenciais de inóculo do fungo em foco.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCOVER, M.; GALDÊNCIO, C.A.; VIEIRA, L.G.E. A cultura do trigo no estado do Paraná. In: **Manual Agropecuário para o Paraná**. Londrina: IAPAR, 1978, p.449-450.
- ALVES, C.A. et al. Restrição hídrica como alternativa ao congelamento no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de soja. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais... Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo**, 2002. p.89.
- ADEBAYO, A.A.; HARRIS, R.F. Fungal growth responses to osmotic as compared to matric water potential. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v.35, n.3, p.465-469, May/June 1971.
- AGRIANUAL. **Trigo: mercado & perspectivas**. 2002. p.521.
- ALAM, S.; JOYCE, D.; WEARING, A. Effects of equilibrium relative humidity on in vitro growth of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v.36, n.3, p.383-388, 1996.
- BAI, G.; SHANER, G. Scab of wheat: prospects for control. **Plant Disease**, v.78, p.760-766, 1994.
- BARBA, J.T.; REIS, E.M.; FORCELINI, C.A. Efeito da temperatura e de fungicida na transmissão de *Bipolaris sorokiniana* da semente para plântulas de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.5, p.500-507, 2002.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BRACCINI, A. de L. et al. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, 1996.
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.5, p.1105-1112, Oct. 1986.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes.** Brasília: LANARV/SNAD/MA, 1992. 360p.

BRODAL, G. The osmotic method for detection of *Drechslera graminea* / *Drechslera teres* on barley seed as compared with the freezing blotter method. In: ISTA CONGRESS SEED SYMPOSIUM, 24., 1995. Abstracts... Copenhagen, Denmark: International Seed Testing Association (ISTA), 1995. p.24.

BRODAL, G. Comparative tests with the osmotic blotter method for detection of *Drechslera* spp. in barley seeds. In: HUTCHINS, J.D.; REEVES, J.C. **Seed health testing: progress towards the 21st century.** NIAB / ISTA / CAB International, 1997.

BROWNELL, K.H.; SCHNEIDER, R.W. Roles of matric and osmotic components of water potential and their interaction with temperature in the growth of *Fusarium oxysporum* in synthetic media and soil. **Phytopathology**, St. Paul, v.75, n.1, p.53-57, Jan. 1985.

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

CARVALHO, N.M. de.; NAKAGAWA, J. (Ed.). **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 3.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

CELANO, M.M. et al. Relação entre o potencial de inóculo de *Bipolaris sorokiniana* e desempenho de sementes de trigo submetidas à restrição hídrica. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p.87.

COLHOUN, J. Measurement of inoculum per seed and its relation to disease expression. **Seed Science & Technology**, v.11, p.665-671, 1983.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Consolidação do plantio.** Safra 2001/2002. Segundo levantamento - dezembro/2001. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/politica\\_agricola/safra/avalia.html](http://www.conab.gov.br/politica_agricola/safra/avalia.html). Acesso em: 19 jan. 2002.

COOK, R.J.; PAPENDICK, R.I. Influence of water of soils and plants on root disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.10, p.349-374, 1972.



- COOK, R.J.; PAPENDICK, R.I. Role of potential in microbial growth and development of plant disease, with special reference to postharvest pathology. *HortScience*, Alexandria, v.13, n.5, p.559-564, Oct. 1978.
- COUTINHO, W.M. **Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade.** 2000. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CUNFER, B.M. Survival of *Septoria nodorum* in wheat seed. *Transactions of the British Mycological Society*, v.77, p.161-164, 1981.
- DEL PONTE, E.M. et al. Restrição hídrica em testes de sanidade com sementes de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. *Anais...* Londrina: ABRATES, 2001. p.167.
- DIEHL, J.A. et al. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas no controle da podridão comum de raízes de trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v.8, p.65-71, 1983a.
- DIEHL, J.A.; TINLINE, R.D.; KOCHHANN, R.A. Perdas em trigo causadas pela podridão comum de raízes no Rio Grande do sul, 1979-1981. *Fitopatologia Brasileira*, v.8, p.507-511, 1983b.
- DUNIWAY, J.M. Water relations of water molds. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.17, p.431-460, 1979.
- FARIA, R.T. **de Estudos da lâmina de irrigação na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.), utilizando o sistema de aspersão em linha.** 1981. 71p. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. *Programa e Resumos...* São Carlos: UFSCar, 2000. p.235.
- FORCELINI, C.A. **Incidência, transmissão e controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo.** 1992. 114p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

- FORCELINI, C.A. Trigo - a importância do tratamento de sementes. *Correio Agrícola*, São Paulo, v.1, n.1, p.2-5, 1991.
- GAO, S.; SHAIN, L. Effect of osmotic potential on virulent and hypovirulent strains of the chestnut blight fungus. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, v.25, n.6, p.1024-1029, June 1995.
- GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Perdas em trigo (*Triticum aestivum*) causadas por *Pyricularia oryzae*. *Fitopatologia Brasileira*, v.15, p.122, 1990.
- GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Efeito do tratamento de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) com fungicidas para controle de *Helminthosporium sativum* e *Pyricularia oryzae*. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.20, n.1, p.25-30, 1996.
- GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A.; MESQUITA, A.N. Perdas em trigo causadas por *Pyricularia oryzae*. *Fitopatologia Brasileira*, v.17, p.129, 1992.
- GOW, N.A.R.; GADD, G.M. *The growing fungus*. Chapman & Hall, London, 1995. 473p.
- GRAVENA, J.C. et al. Utilização de restrição hídrica no método do papel de filtro para detecção de patógenos em sementes de milho. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. *Anais... Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo*, 2002. p.99.
- GRIFFIN, D.H. *Fungal physiology*. New York: John Wiley & Sons, 1981.383p.
- 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. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Escola Superior de Agricultura, Lavras.
- HEALD, F.D. The relation of spore load to the per cent of stinking smut appearing in the crop. *Phytopathology*, v.11, p.269-278, 1921.
- IGARASHI, S. et al. *Pyricularia* em trigo. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, v.11, p.351-352, 1986.
- KACKLEY, K.E.; GRYBAUSCAS, A.P.; DERNOEDEN, P.H. Growth of *Magnaporthe poae* and *Gaeumannomyces crustans* as affected by temperature-osmotic potential interactions. *Phytopathology*, St. Paul, v.80, n.7, p.646-650, July 1990.

KARAKI, G.N. Response of wheat and barley during germination to seed osmopriming at different water potential. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.181, n.4, p.229-235, 1998.

KIETREIBER, M. Wheat dwarf bunt/bunt (stinking smut) / smooth-spored bunt. In: **INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Handbook on seed health testing**. Zürich, 1984. (Working Sheet, 53).

LÂNGARO, N.C.; REIS, E.M.; FLOSS, E.L. Detection of *Drechslera avenae* in oat seeds. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.4, p.745-748, 2001.

LASCA, C.C.; BARROS, B.C.; CASTRO, J.L. Danos à cultura do trigo ocasionados por *Helminthosporium sativum* veiculado por sementes. **Summa Phytopathologica**, v.12, n.1-2, p.17, 1986.

LEBLOND, D. Relation entre le nombre de spores de maladies portées par les grains de semence et la manifestation de ces maladies dans le champ. **Report Quebec Society of Plant Pathology**, 1945-1947, p.141-145, 1948.

LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Wagenigen, v.33, n.3, p.343-513, 1968.

LUCCA FILHO, O.A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. das S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.276-298.

LUZ, W.C.; BERGSTROM, G.C. Temperature-sensitive development of spot blotch in spring wheat cultivars differing in resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.197-204, 1986.

LUZ, W.C.; LUZZARDI, G.C.; SANTIAGO, J.C. Importância de *Helminthosporium sativum*, em sementes de trigo no Brasil. In: **REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO**, 8., 1976, Ponta Grossa. Resumos... Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1976. p115-119.

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

MACHADO, A.Q.; MACHADO, J.C. Estudo da relação entre o potencial de inóculo de *Fusarium verticillioides* (syn. *F. moniliforme*) e o desempenho inicial 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.53.

MACHADO, J.C. Controle de fitopatógenos associados a sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.91, p.34-40, 1982.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 106p.

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

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

MACHADO, J.C.; LANGERAK, C.J.; JACCOUD-FILHO, D.S. Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis. **International Seed Testing Association (ISTA)**, 2002b. 138p.

MACHADO, J.C. et al. Use of water restriction to control seed germination in health testing incubation. **Proceeding of the International Seed Testing Association**, Zürich, 2001. 82p. Resumo Expandido.

MACHADO, J.C. et al. Use of water restriction technique in seed pathology. **ISTA**, Zürich, 2002a. No prelo.

MAGRO, T.D.; FARIAS, C.R.J.; CORREIA, C.; PIEROBOM, C.R. Restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. Anais... Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. p.90.

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

MATHUR, S.B.; CUNFER, B.M. **Seed-borne diseases and seed health testing of wheat**. Jordbrugsforlaget Frederiksbert, Denmark, 1993.

MATHUR, S.B. Testing seeds of tropical species for seed-borne diseases. **Seed Science & Technology**, v.11, p.113-128, 1983.

MATHUR, S.B.; LEE, S.L.N. A quick method for screening wheat samples for *Septoria nodorum*. *Seed Science & Technology*, v.6, p.925-926, 1978.

McMULLEN, M.; JONES, R.; GALLENBERG, D. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, v.81, p.1340-1348, 1997.

MEHTA, Y.R. *Doenças do trigo e seu controle*. São Paulo, Agronômica Ceres, 1978. 190p.

MEHTA, Y.R.; BASSOI, M.C. Guazatine plus as a seed treatment bactericide to eradicate *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* from wheat seeds. *Seed Science & Technology*, v.21, p.9-24, 1993.

MEHTA, Y.R.; IGARASHI, S. Sanidade de sementes de trigo no Paraná, seu efeito na infecção do sistema radicular e controle. In: REUNIÃO DA COMISSÃO NORTE BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 7., 1981, Ponta Grossa. Ata... Ponta Grossa: EMBRAPA, 1981. p18.

MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. *Agronomy Journal*, Madison, v.87, n.1, p.126-130, Jan./Feb. 1995.

MOORE-LANDECKER, E. *Fundamentals of the fungi*. 2.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1982. 578p.

MUNERATI, O. Osservazioni sulla recettivita del Frumento per carie. *Review of Applied Mycology*, v.2, p.262-263, 1992. Abstract.

NASSER, L.C.B. Testes de sanidade de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.). In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.). *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.469-480.

NEERGAARD, P. Detection of seed-borne pathogens by culture tests. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.1, n.1, p.217-254, 1973.

NEERGAARD, P. *Seed pathology*. 2.ed. London: MacMillan, 1979. 2v. 1191p.

ONIONS, A.H.S.; ALLSOPP, D.; EGGINS, H.O.W. *Smith's introduction to industrial mycology*. 7th.ed. Edward Arnold, 398p.

OSÓRIO, E.A. Doenças e seu controle. In: OSÓRIO, E.A. *A cultura do trigo*. São Paulo. Globo. v.10, p.125-129, 1992.

PANISSON, E.; REIS, E.M.; BOLLER, W. Efeito de época, do número de aplicações e de doses de fungicida no controle da giberela em trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v.27, n.5, p.495-499, 2002.

PARRY, D.W.; JENKINSON, P.; CLEOD, L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals-a review. *Plant Pathology*, v.44, p.207-238, 1995.

PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M. Doenças em cereais de inverno: aspectos epidemiológicos e controle. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1995.

PICININI, E.C. et al. Impacto econômico do uso do fungicida propiconazole na cultura de trigo (*Triticum aestivum*). *Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.21, n.3, 1996.

PRADO, P.E.R. et al. Eficácia do tratamento químico de sementes de algodoeiro 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.

REIS, E.M. Sementes de trigo infectadas por *Helminthosporium sativum*: fonte de inóculo para a podridão comum das raízes e seu controle pelo tratamento com fungicidas. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v.8, p.29-39, 1982.

REIS, E.M. *Doenças do trigo IV: Septorioses*. 2ed. São Paulo. 1987a.

REIS, E.M. *Patologia de sementes de cereais de inverno*. São Paulo, CNDA, 1987b. 32p.

REIS, E.M. *Doenças do trigo III: Giberela*. 2ed. São Paulo. 1988.

REIS, E.M.; FORCELINI, C.A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopatologia Brasileira, Brasília*, v.18, p.76-81, 1993.

REIS, E.M., BLUM, M.M.C.; CASA, R.T. Controle químico de *Gibberella zeae* em trigo, um problema de deposição de fungicidas em anteras. *Summa Phytopathologica*, v.22, p.39-42, 1996.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; MEDEIROS, C.A. *Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno*. Londrina: ES, 2001, 94p.

REIS, E.M.; FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C. Estratégias para o controle de doenças do trigo. Passo Fundo: EMBRAPA CNPT, 1988. 50p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 7).

RENNIE, W.J. Barley loose smut. In: INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Handbook on seed health testing. Zürich, 1988. (Working Sheet, 25).

SILVA, A.R. A cultura do trigo irrigada nos cerrados do Brasil Central. Brasília: EMBRAPA, 1976. 70p. (EMBRAPA. Circular Técnica, 5).

SIVANESAN, A. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. C.A.B. International Mycological Institute, 1987. (Mycological Papers, 158).

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

TOLEDO, J.; ROCCA, R.H.; ESCÓBAR, R.E. Transmisión, persistencia y control químico de *Bipolaris sorokiniana* causante de la punta negra del grano en trigo. Santa Cruz de la Sierra, Bolívia: CIAT, 1996. p. 87-106. (Informe Técnico. Proyecto de Investigación Trigo).

TOMASINI, R.G.A. Evolução histórica e aspectos econômicos. In: FUNDAÇÃO CARGILL. Trigo no Brasil. Campinas, 1982, p. 1-27.  
TUTE, J.; SHANER, G.; EVERSON R.J. Wheat scab in soft red winter wheat in Indiana in 1986 and its relation to some quality measurements. *Plant Disease*, v.74, p.959-962, 1990.

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.

WIESE, M.V. Compendium of wheat diseases. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1991. 112p.

WOODS, D.M.; DUNIWAY, J.M. Some effects of water potential on growth, turgor, and respiration of *Phytophthora cryptogea* and *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*, St. Paul, v.76, n.11, p.1248-1254, Nov. 1986.

## ANEXOS

### ANEXO A

### Página

TABELA 1A	Resumo da análise de variância dos dados referentes à germinação de sementes, comprimento da raiz seminal de plântulas de trigo e incidência de <i>Bipolaris sorokiniana</i> no teste de incubação em substrato de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	82
TABELA 2A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de crescimento micelial (ICM) de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , <i>Fusarium graminearum</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> isolados de sementes de trigo, em meio BDA padrão e em meio BDA osmoticamente modificado com NaCl ou manitol, em vários potenciais osmóticos. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	83
TABELA 3A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de crescimento micelial (ICM) de <i>Stagonospora nodorum</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Epicoccum purpuracens</i> isolados de sementes de trigo, em meio BDA padrão e em meio BDA osmoticamente modificado com NaCl ou manitol, em vários potenciais osmóticos. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	84
TABELA 4A	Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem de germinação e vigor de sementes de trigo submetidas ao teste de germinação em rolo de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	85
TABELA 5A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao estande final, índice de velocidade de emergência e altura, aos 23 dias após a emergência de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	86
TABELA 6A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso de matéria fresca e seca da parte aérea de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	87
TABELA 7A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso de matéria fresca e seca da raiz de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	88



TABELA 1A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à germinação de sementes, comprimento da raiz seminal de plântulas de trigo e incidência de *Bipolaris sorokiniana* no teste de incubação em substrato de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FV	GL	Quadrado médio		
		Germinação <sup>†</sup>	Comprimento da raiz seminal (mm)	Incidência (%) <i>Bipolaris sorokiniana</i>
Soluto	1	27,47 ns	12,66 ns	40,00 ns
Potencial	4	4023,89 **	4784,33 **	66,35 ns
Soluto x potencial	4	60,59 ns	1,82 ns	52,25 ns
Fatorial x adicional	1	9189,08 **	1129,79 **	11,78 ns
(Tratamento)	(10)	2555,18 **	2028,70 **	52,62 ns
Resíduo	33	44,24	4,22	42,82 ns
CV (%)		9,98	12,40	11,93

<sup>†</sup>dados transformados em arc sen  $\sqrt{x/100}$

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 2A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de crescimento micelial (ICM) de *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum* e *Drechslera tritici-repentis* isolados de sementes de trigo, em meio BDA padrão e em meio BDA osmoticamente modificado com NaCl ou manitol, em vários potenciais osmóticos. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Quadrado médio					
FV	GL	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Drechslera tritici-repentis</i>	
Soluto	1	114,72 **	11,20 **	436,00 **	
Potencial	4	66,67 **	117,76 **	82,62 **	
Soluto x potencial	4	10,17 **	5,70 **	51,51 **	
Resíduo	30	0,27	1,08	1,03	
CV (%)		2,11	3,42	4,77	

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade  
 \* teste F significativo a 5% de probabilidade  
 ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 3A. Resumo da análise de variância de variância dos dados referentes ao índice de crescimento micelial (ICM) de *Stagonospora nodorum*, *Alternaria alternata* e *Epicoccum purpuracens* isolados de sementes de trigo, em meio BDA padrão e em meio BDA osmoticamente modificado com NaCl ou manitol, em vários potenciais osmóticos. UFPA, Lavras, MG, 2003.

FV	GL	Quadro médio		
		<i>Stagonospora nodorum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Epicoccum purpuracens</i>
Soluto	1	557,64 **	969,44 **	1674,69 **
Potencial	4	14,29 *	32,14 **	120,85 **
Soluto x potencial	4	76,62 **	111,74 **	128,10 **
Resíduo	30	4,12	0,23	1,24
CV (%)		11,88	2,74	5,84

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

\* teste F significativo a 5% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 4A. Resumo da análise de variância dos dados referentes à porcentagem de germinação e vigor de sementes de trigo submetidas ao teste de germinação em rolo de papel. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FV	GL	Quadrado médio	
		Germinação (%)	Vigor (%)
Potencial de inóculo	3	1054,00 **	779,33 **
Fungicida	1	2312,00 **	722,00 **
P. inóculo x fungicida	3	222,67 *	107,33 *
Fatorial x adicional	1	1040,40 **	608,40 **
Entre adicionais	1	50,00 ns	50,00 ns
(Tratamento)	(9)	803,60 **	448,93 **
Resíduo	30	49,47	33,73
CV (%)		8,25	6,55

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

\* teste F significativo a 5% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 5A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao estande final, índice de velocidade de emergência e altura, aos 23 dias após a emergência de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FV	GL	Quadrado médio		
		Estande final (%)	IVE	Altura (mm)
Potencial de inóculo	3	761,33 **	4,45 **	2725,21 ns
Fungicida	1	3.362,00 **	9,76 **	36.046,13 **
P. inóculo x fungicida	3	390,00 **	1,95 **	3.066,88 *
Fatorial x adicional	1	462,40 **	3,27 **	7.209,23 *
Entre adicionais	1	242,00 *	0,41 ns	6.962,00 *
(Tratamento)	(9)	835,60 **	3,62 **	7.510,40 **
Bloco	3	22,80 ns	0,39 ns	12.539,77 **
Resíduo	27	37,02	0,15	997,34
CV (%)		6,94	7,49	

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

\* teste F significativo a 5% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 6A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso de matéria fresca e peso de matéria seca da parte aérea de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Quadrado médio			
FV	GL	Peso de matéria fresca (g)	Peso de matéria seca (mg)
Parte aérea			
Potencial de inóculo	3	0,0026 ns	41,36 ns
Fungicida	1	0,0629 **	835,59 **
P. inóculo x fungicida	3	0,0089 *	116,18 *
Fatorial x adicional	1	0,0329 **	387,88 **
Entre adicionais	1	0,0018 ns	15,90 ns
(Tratamento)	(9)	0,0147 **	190,22 **
Blocos	3	0,0134 **	172,39 **
Resíduo	27	0,0028	32,60
CV (%)		22,61	20,34

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

\* teste F significativo a 5% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

TABELA 7A. Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso de matéria fresca e peso de matéria seca da raiz de plântulas de trigo desenvolvidas em câmara de crescimento vegetal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Quadrado médio		Raiz	
	PV	GL	Peso de matéria fresca (g)
Potencial de inóculo	3	0,0171 **	156,68 *
Fungicida	1	0,0635 **	431,89 **
P. inóculo x fungicida	3	0,0178 **	202,27 **
Fatorial x adicional	1	0,0129 ns	19,85 ns
Entre adicionais	1	0,0022 ns	16,94 ns
(Tratamento)	(9)	0,0203 **	171,73 **
Blocos	3	0,0137 *	182,74 *
Resíduo	27	0,0035	39,68
CV (%)		20,45	25,86

\*\* teste F significativo a 1% de probabilidade

\* teste F significativo a 5% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

## ANEXO B

TABELA 1B. Qualidade física e fisiológica das sementes de trigo da cultivar BR-40, safra 2000, produzidas no município de Dourados, MS. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Cultivar	U (%)	PMS (g)	PH (kg/100 l)	G (%)
BR-40	10,38	24,24	79,29	96,0

U = umidade

PMS = peso de mil sementes

PH = peso do hectolitro

G = germinação

TABELA 2B. Qualidade sanitária das sementes de trigo da cultivar BR-40, safra 2000, produzidas no município de Dourados, MS. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Fungos	Incidência (%)
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	65,5
<i>Alternaria alternata</i>	40,5
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	37,0
<i>Epicoccum purpuracens</i>	15,5

TABELA 3B. Descrição do fungicida utilizado no tratamento químico das sementes de trigo. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nome técnico	Difenoconazole
Nome comercial	Spectro®
Grupo químico	Triazóis
Fórmula bruta	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
Massa molecular	406,27
Modo de ação	Fungicida sistêmico
Classe toxicológica	III



## ANEXO C

### Meio BDA (extrato de batata-dextrose-ágar)

Batata descascada.....	200 g
Dextrose.....	20 g
Ágar.....	20 g
Água destilada.....	1000 mL

### Boletins de garantia dos reagentes utilizados

<b>Cloreto de sódio crist.</b>	
Fórmula bruta	NaCl
Peso molecular	58,44
Teor (argentométrico)	min. 99,5%
pH (5% água)	5-8%
Sulfato (SO <sub>4</sub> )	máx. 0,001%
Fosfato (PO <sub>4</sub> )	máx. 0,0005%
Brometo (Br)	máx. 0,005%
Iodeto (I)	máx. 0,001%
Hexacianoferrato (Fe(CN) <sub>6</sub> )	máx. 0,0001 %
Nitrogênio total (N)	máx. 0,001%
<b>Metais pesados</b>	
Chumbo (Pb)	máx. 0,0005%
Ferro (Fe)	máx. 0,0001%
Bário (Ba)	máx. 0,001%
Cálcio (Ca)	máx. 0,002%
Magnésio (Mg)	máx. 0,001%
Potássio (K)	máx. 0,005%

## Boletins de garantia dos reagentes utilizados

<b>Manitol P.A.</b>	
Fórmula bruta	$C_6H_{14}O_6$
Peso molecular	182,17
Teor mínimo	99,0%
Rotação específica $[\alpha]_D^{25}$	+23,3° a 24,3°
Açúcares redutores	Passa no teste
Materiais insolúveis	máx. 0,01%
Perda por secagem a 105°C	máx. 0,05%
Resíduos após ignição	máx. 0,01%
Ácidos tituláveis	máx. 0,0008 meq/g
Métals pesados (como Pb)	máx. 5ppm.

<b>D (+) Glucose Anidra P.A. (Dextrose)</b>	
Fórmula bruta	$C_6H_{12}O_6$
Peso molecular	180,16
Rotação específica 25/25°	min. 52,5°C máx. 53,0°C
Perda por secagem a 105°C	máx 0,2%
Acidez (como $CH_3COOH$ )	máx. 0,0015%
Cloreto (Cl)	máx. 0,01%
Sulfato e Sulfito (como $SO_4$ )	máx. 0,005%
Amido	passa no teste
Arsênico (As)	máx. 0,00004%
<b>Metais pesados</b>	
Chumbo (Pb)	máx. 0,0005%
Ferro (Fe)	máx. 0,0005%