

**DESEMPENHO DE SEMENTES DE
CENOURA INFECTADAS POR ESPÉCIES DE
Alternaria APÓS CONDICIONAMENTO
FISIOLÓGICO**

FLÁVIO HENRIQUE LINHARES MAGALHÃES

2000

FLÁVIO HENRIQUE LINHARES MAGALHÃES

**DESEMPENHO DE SEMENTES DE CENOURA INFECTADAS POR
ESPÉCIES DE *Alternaria* APÓS O CONDICIONAMENTO
FISIOLÓGICO**

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

Orientador

Prof. Dr. José da Cruz Machado

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2000

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

Magalhães, Flávio Henrique Linhares

Desempenho de sementes de cenoura infectadas por espécies de *Alternaria*
após o condicionamento fisiológico / Flávio Henrique Linhares Magalhães. --
Lavras : UFLA, 2000.

45 p. : il.

Orientador: José da Cruz Machado.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Pré-condicionamento fisiológico. 2. *Priming*. 3. Polietileno glicol 6000. 4.
Nitrito de potássio. 5. Fungicida. 6. Thiram. 7. Fungo. 8. Semente. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.1394

FLÁVIO HENRIQUE LINHARES MAGALHÃES

**DESEMPENHO DE SEMENTES DE CENOURA INFECTADAS POR
ESPÉCIES DE *Alternaria* APÓS CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO**

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


APROVADA em 20 de Março de 2000

Dr. João Almir Oliveira

UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães

UFLA


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

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

"Concedei-nos, Senhor, a SERENIDADE necessária para aceitar as coisas que não podemos modificar, CORAGEM para modificar aquelas que podemos e SABEDORIA para distinguir umas das outras."

Reinhold Niebuhr

A Maria Luiza Linhares Magalhães (*in memoriam*), por incentivar-me a seguir o caminho do conhecimento.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Poder Superior que a tudo conduz.

À Universidade Federal de Lavras-UFLA/Departamento de Fitopatologia.

À Cordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de pesquisa.

Ao Professor Dr. José da Cruz Machado, pela orientação e confiança depositada na minha capacidade.

À Professora Dra. Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pela co-orientação e sugestões bem oportunas.

Ao Professor MSc. Renato Mendes Guimarães, pelas sugestões, explicações e boa vontade.

Ao Biólogo Dr. João Almir de Oliveira, pela solicitude e boa vontade.

Ao professor Dr. Júlio Sílvio de Sousa Bueno Filho e ao Msc. Carlos Alberto Ledo, pelo auxílio na realização das análises estatísticas.

Aos amigos João Custódio Barbosa de Carvalho, Maria Luiza Nunes Costa, Mauro Koozo Kimura, Rogério Amaro Gonçalves, Wirton Macedo Coutinho, Ângela de Fátima Carvalho Santos, Ana Maria dos Santos Castro, Dona Zélia, Flávia Andréa Neri Silva, Marcos Antônio Pimenta, Nair, Terezinha de Jesus Abnassif Ferreira Maia.

Aos professores Egberto Araújo e Conceição Araújo, pelo imenso carinho.

Ao Senhor Abner Botrel, mestre de sabedoria.

A turma de Areia-PB, Daniel, Paulo, Ricardo, Remo, Giovani e Edson.

A tia Terezinha, a avó Áurea, a João de Siqueira Magalhães, Fábio, Fabíola e Valéria, todos companheiros de viagem nessa vida.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

A Elda Bonilha Assis Fonseca, pelo carinho e crescimento pessoal proporcionado pela relação que decidimos partilhar, compreendendo-nos um ao outro, bem como a nós mesmos.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Pré-condicionamento fisiológico de sementes	3
2.2 Pré-condicionamento fisiológico em sementes de cenoura.....	6
2.3 Relações hídricas em sementes e microrganismos	7
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Escolha da amostra de sementes de cenoura	11
3.2 Pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura.....	12
3.2.1 Montagem do aparato para o pré-condicionamento fisiológico das sementes.....	12
3.2.2 Cálculo das soluções osmóticas.....	15
3.2.3 Tratamentos de pré-condicionamento fisiológico.....	16
3.3 Avaliações das sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico ..	17
3.3.1 Teste de sanidade e quantificação do inóculo	17
3.3.2 Teste de germinação	18
3.3.3 Testes de vigor: primeira contagem, índice de velocidade de emergência de plântulas, estando aos 14 dias e peso seco de plântulas.....	18
3.3.4 Análise estatística	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Incidência e densidade de inóculo de <i>Alternaria dauci</i> e <i>Alternaria radicina</i> nas sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico.	21
4.2 Porcentagem de germinação das sementes submetidas ao pré- condicionamento	26
4.3 Avaliação do vigor (primeira contagem, índice de velocidade de emergência, estando aos 14 dias e peso seco de plântulas)	28
5 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXO	42

RESUMO

MAGALHÃES, Flávio Henrique Linhares. **Desempenho de sementes de cenoura infectadas por espécies de *Alternaria* após o condicionamento fisiológico.** Lavras: UFLA, 2000. 45p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).*

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura em duas soluções arejadas, uma de PEG 6000 e, outra com KNO_3 , com adição de Thiram, sobre a qualidade fisiológica e o desenvolvimento da micoflora presente nas mesmas. Os experimentos consistiram em pré-condicionar sementes de cenoura cultivar híbrida carol em um aparato para filtrar, bombear e umedecer o ar para arejamento das soluções de PEG 6000 e KNO_3 em um potencial osmótico de -1,1 MPa a 25 °C, por sete dias. Após o pré-condicionamento, as sementes foram lavadas, secas ao ar por 48 horas e submetidas aos testes de sanidade (*blotter test*) com quantificação de inóculo, germinação, primeira contagem, índice de velocidade de emergência de plântulas, estande aos 14 dias e peso de matéria seca de plântulas. O pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura em soluções de PEG 6000 e KNO_3 , com aeração, aumenta a porcentagem média de incidência e a densidade de inóculo dos fungos *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* associada às sementes. A adição do fungicida Thiram às soluções osmóticas de PEG 6000 e KNO_3 , nas concentrações de 1% e 1,5%, elimina esses fungos associados às sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em solução aerada. No pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura infectadas por esses fungos em soluções aeradas, é necessário o tratamento fungicida para controlar *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina*. Em alguns testes (índice de velocidade de emergência e peso seco de matéria seca de plântulas), o pré-condicionamento fisiológico, com a adição de Thiram, por ambos os solutos testados, melhorou a qualidade fisiológica das sementes.

*Comitê Orientador: José da Cruz Machado – UFLA (Orientador) Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira – UFLA e Renato Mendes Guimarães – UFLA

ABSTRACT

MAGALHÃES, Flávio Henrique Linhares. Performance of carrot seeds infected by *Alternaria* species after physiological conditioning. Lavras: UFLA, 2000. 45p. (Dissertation - Master in Phytopathology).*

The objective of this work was to investigate the effects of the physiological pre-conditioning of carrot seeds in two aerated solutions, one of PEG 6000 and another with KNO_3 , with the addition of Thiram on the physiological quality and the development of the mycoflora present in them. The experiments consisted of pre-conditioning the carrot seeds, hybrid cultivar carol in an apparatus for filtering, pumping and moistening the air for the aerating of the solutions of PEG 6000 and KNO_3 into a osmotic potential of -1.1 MPa at 25°C for seven days. After pre-conditioning, the seeds were washed, air dried for 48 hours and submitted to the health tests (blotter test) with the quantification of inoculum, germination, first count, emergence velocity index of seedlings, stand at 14 days and dry matter weight of seedlings. The physiological pre-conditioning of carrot seeds in PEG 6000 and KNO_3 solutions at the concentrations of 1% and 1.5%, eliminates those fungi associated to the seeds submitted to the physiological pre-conditioning in aerated solution. In the physiological pre-conditioning of carrot seeds infected by those fungi in aerated solutions, the fungicide treatment is necessary to control both *Alternaria dauci* and *Alternaria radicina*. In some tests (emergence velocity index and dry matter weight of seedlings) the physiological pre-conditioning with the addition of Thiram for both the tested solutes improved the physiological quality of the seeds.

*Guidance Committee: José da Cruz Machado - UFLA (Adviser) Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira - UFLA and Renato Mendes Guimarães - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma planta que produz raiz aromática e comestível, com alto teor de vitamina A. Essa hortaliça é uma das mais consumidas no Brasil (Afonso Neto, 1984; Viggiano, 1984).

Em condições de campo, sementes de cenoura podem ter baixa germinabilidade e/ou germinar lentamente, resultando em uma emergência insatisfatória e numa população heterogênea de plantas (Corbineau, Picard e Comê, 1994).

O pré-condicionamento fisiológico pode ser empregado para melhorar a qualidade fisiológica das sementes. A técnica visa ao controle da velocidade de embebição de água pelas sementes, pelo uso de soluções osmóticas ajustadas a potenciais hídricos que permitam a ocorrência dos processos fisiológicos iniciais (fases I e II), sem atingir umidade suficiente para que ocorra o alongamento celular e, conseqüentemente, a emergência de radícula (fase III). O condicionamento osmótico favorece a emergência das radículas de forma mais rápida e uniforme (Heydecker, Higgins e Turner, 1975 e Bradford, 1986).

O pré-condicionamento pode influenciar a microflora presente na superfície ou no interior das sementes ou ser influenciado pela mesma (Biniek e Tylkowska, 1987).

A associação de fungos com sementes é responsável pela disseminação de patógenos em novas áreas de cultivo, transmissibilidade à progênie resultante e redução da qualidade fisiológica das mesmas. Dentre os fungos que se associam às sementes de cenoura, *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko e *Alternaria radicina* Meier, Drechsler, & Eddy são os mais importantes.

Durante o condicionamento osmótico, alguns fungos associados às sementes podem crescer melhor do que em condições normais. Para minimizar

esse problema, adicionam-se à solução osmótica fungicidas, os quais protegem as sementes contra a micoflora durante esse processo, e podem eliminar possíveis infecções de sementes causadas por esses organismos (Biniek e Tylkowska, 1987).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura infectadas com *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* e a influência do fungicida Thiram adicionado à solução, em relação ao condicionamento fisiológico e aos fungos associados às sementes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pré-condicionamento fisiológico de sementes

Em culturas de ciclo curto, como as hortaliças, o período compreendido entre a sementeira e o estabelecimento das plântulas representa uma fase crucial no ciclo de produção. A uniformidade e a porcentagem de emergência podem ter grande impacto na qualidade e na produção final. No ambiente do solo, estresses físicos tais como temperaturas extremas, excesso ou déficit de água, salinidade, incrustações e estresses biológicos, incluindo insetos e patógenos, podem afetar adversamente a germinação e o crescimento de plântulas (Bradford, 1986).

Muitas tentativas têm sido feitas para aumentar o desempenho das sementes no campo, tais como uso de técnicas de pré-semeadura. Dentre essas técnicas, destaca-se o *priming*, também denominado de condicionamento fisiológico. Essa técnica consiste em colocar sementes em contato com uma solução aquosa osmoticamente ativa, para que iniciem o processo de embebição, que é paralisado quando o equilíbrio entre o potencial hídrico da semente e o potencial hídrico da solução é atingido. O potencial hídrico da solução é ajustado de maneira a permitir todos os processos preparatórios da germinação das sementes sem atingir umidade suficiente para que ocorra a emergência de radícula (Heydecker, Higgins e Turner, 1975; Marcos Filho, 1986; Doni Filho 1992; Vazquez, 1995). Quando o obstáculo à germinação (deficiência hídrica) é removido ocorre um rápido crescimento do eixo embrionário (Heydecker e Gibbins, 1978).

O *priming* propicia alguns benefícios tais como, germinação mais rápida das sementes em condições adversas, emergência precoce, germinação sincronizada e germinação de sementes em temperaturas mais altas ou mais baixas que sementes não tratadas suportariam (Heydecker, Higgins e Turner,

1975). A emergência rápida também constitui um fenômeno de escape das plantas ao ataque de patógenos, que é um benefício indireto do pré-condicionamento (Neergaard, 1977).

A utilização da técnica do condicionamento osmótico requer um preciso controle do suprimento de água para cada semente atingir e manter o potencial hídrico desejado. Além disso, a manutenção de um adequado suprimento de oxigênio para cada semente, o controle da temperatura desejada e a não colonização por microrganismos que possam ser prejudiciais são fundamentais (Heydecker e Coolbear, 1977).

A contaminação por patógenos e colonização por microrganismos não patogênicos associados às sementes, que poderiam impedir o acesso das sementes ao oxigênio, devem ser evitadas utilizando-se HgCl, hipocloritos, fungicidas e bactericidas (Heydecker e Coolbear, 1977). Segundo esses autores, fungicidas como Benomyl e Thiram apresentam vantagens, mas com alguns prováveis efeitos negativos.

A temperatura, a concentração do agente osmótico e a duração do tratamento são fatores importantes para proporcionar condições favoráveis ao condicionamento. A combinação desses fatores varia em função das características das sementes de diferentes espécies e cultivares e, possivelmente, entre lotes de uma mesma cultivar (Heydecker, Higgins e Turner, 1975).

Vários produtos têm sido utilizados para ajustar o potencial hídrico de soluções utilizadas no condicionamento de sementes de cenouras, dentre os quais, K_3PO_4 , KNO_3 , polietileno glicol (PEG 6000) e NaCl (Haigh e Barlow, 1987; Biniek e Tylkowska, 1987; Dearman, Brocklehurst e Drew, 1987; Finch-Savage, 1990; Petch et al., 1991; Maude, Drew e Nienow, 1992; Andrade, 1993; Biniek, 1994; Cantliffe e Elballa, 1994; Yanmaz, 1994 e Peluzio, 1999).

Uma solução que esteja em contato com tecidos vivos deve apresentar as seguintes características: o soluto não pode ser tóxico ou ocasionar alterações

estruturais; não penetrar através do sistema de membranas; não ser metabolizado pelas sementes; não estar sujeito a mudanças causadas por microrganismos durante a prolongada imersão dos tecidos na solução (Slavick, 1974).

O polietileno glicol, de fórmula geral $\text{HOCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ e peso molecular acima de 4000, apresenta as características descritas no parágrafo anterior e, por isso, tem sido muito utilizado no condicionamento fisiológico. As soluções de PEG são viscosas e limitam a transferência de oxigênio, quando comparadas com a água, comprometendo a disponibilidade de O_2 (Mexal et al., 1975). Esse fato tem contribuído para o insucesso de várias tentativas de condicionamento osmótico com PEG em algumas espécies (Lopes, 1996). Os sais têm a vantagem em relação ao PEG 6000 de não reduzirem a disponibilidade de oxigênio dentro da solução (Heydecker e Coolbear, 1977).

A quantidade de água absorvida pelas sementes em soluções isotônicas de diferentes composições químicas varia de acordo com o soluto utilizado na preparação da solução (Broclehurst e Dearman, 1984). Segundo esses autores, as moléculas dos compostos de baixo peso molecular são capazes de penetrar nos tecidos das sementes, reduzindo o potencial osmótico interno e possibilitando as sementes absorverem mais água do meio.

A diferença na germinação entre espécies e cultivares submetidas a uma solução osmótica dificulta a seleção de um produto osmótico universal para o *priming*, pois, dentre outros fatores, a absorção de água e solutos pelas sementes depende da permeabilidade do tegumento e das suas características intrínsecas (Lopes, 1996). Para a maioria das espécies, o potencial osmótico utilizado no pré-condicionamento está na faixa de -1,5 MPa a -0,5 MPa, a uma temperatura de 10 °C a 25 °C, por 5 a 20 dias (Heydecker, Higgins e Turner, 1975; Bradford, 1986).

2.2 Pré-condicionamento fisiológico em sementes de cenoura

Vários trabalhos foram desenvolvidos para avaliar os efeitos do pré-condicionamento osmótico em relação à melhoria da qualidade fisiológica de sementes de cenoura. O condicionamento osmótico de sementes de cenoura aumentou a produção total de sementes, melhorou o tempo de emergência e uniformizou o estande no campo (Szafirowska, Khan e Peck, 1981; Brocleyhurst e Dearman, 1983b; Brocleyhurst e Dearman, 1984; Petch et al., 1991; Yanmaz, 1994)

No pré-condicionamento de sementes de cenoura têm sido utilizados os potenciais osmóticos de -1,5 MPa (Szafirowska, Khan e Peck, 1981; Brocleyhurst e Dearman, 1984; Finch-Savage, 1990) e -1,0 MPa (Brocleyhurst e Dearman, 1983a; Brocleyhurst e Dearman, 1983b; Cantliff e Elballa, 1994) a 15 °C, por 14 dias.

O condicionamento osmótico de sementes de cenoura com a adição de fungicidas químicos, tem sido eficiente na melhoria da qualidade fisiológica e sanitária das sementes, eliminando os fungos associados às sementes ou protegendo-as de infecções (Biniek e Tylkowska, 1987; Dearman, Brocleyhurst e Drew, 1987; Dearman, Drew e Brocleyhurst, 1987; Maude, Drew e Nienow, 1992).

O *priming* de sementes de cenoura, previamente tratadas com Thiram e Benomyl em solução arejada de PEG 6000, no potencial osmótico de -1,0 MPa a 15 °C, por 10, 14 ou 17 dias, reduziu o tempo de germinação. Os lotes de sementes com germinação lenta foram mais beneficiados pelo *priming* do que os lotes com maior velocidade (Dearman, Brockleyhurst e Drew, 1987).

O pré-condicionamento de sementes de cenoura infectadas com *Alternaria dauci* não alterou a taxa de transmissão do patógeno, quando comparadas com sementes não tratadas (Maude, Drew e Nienow, 1992). Nesse estudo, o iprodione aplicado nas sementes infectadas, na dosagem de 5g i.a. por

kg de sementes, reduziu eficientemente a transmissão do patógeno. A adição de Thiram ao fluido do pré-condicionamento (solução de PEG a um potencial osmótico de -1,0 MPa), e a posterior aplicação de iprodione nas sementes submetidas ao pré-condicionamento a 15 °C, por 14 dias aumentou a emergência e produção de cenoura no campo.

A imersão de sementes de cenoura em Thiram 75%, dissolvido em acetona ou diclorometano nas concentrações de 0,05; 0,1 ou 0,2 Molal, por 30, 60 e 120 minutos e, posteriormente, pré-condicionadas em PEG 6000 a -0,575 MPa, melhorou a germinação das sementes (Biniek e Tylkowska, 1987). Nesse estudo, em lotes de sementes com alta germinação, o uso do diclorometano e o condicionamento por sete dias promoveu o melhor resultado. A influência do condicionamento sobre o tempo médio de germinação foi melhor em amostras de baixa germinação. O diclorometano foi efetivo em propiciar a penetração do Thiram dentro dos tecidos da semente durante o condicionamento, protegendo-as da micoflora e eliminando a infecção por *Alternaria radicina*.

2.3 Relações hídricas em sementes e microrganismos

O potencial hídrico é uma expressão do estado de energia da água, o qual determina a disponibilidade de água no sistema solo-planta-atmosfera (Cook e Papendick, 1978). É representado pela letra grega ψ (psi) e expressa o potencial químico (energia livre por mol) da água em um sistema ou parte de um sistema, e o potencial químico da água livre, em condições iguais de pressão atmosférica e temperatura (Duniway, 1979). As unidades de medidas mais usadas para expressar o potencial hídrico são o bar (1 bar = 100 joules = 0,987 atmosferas) e o megaspascal (1 MPa = 10 bars).

O potencial hídrico (ψ_w) é resultante da interação entre três potenciais: osmótico (ψ_o), que representa a concentração de solutos dissolvidos nas células;

mátrico (ψ_m), que está relacionado com a capacidade de matrizes, como parede celular, amido e proteínas, hidratarem-se e ligarem-se à água e o de pressão (ψ_p), relacionado à força contrária exercida pela parede celular externa, devido à resistência desta à expansão (Cook e Papendick, 1978). O potencial hídrico total de células vivas é determinado pela soma dos componentes de pressão (positivo), mátrico (negativo) e osmótico (negativo).

Em sementes secas, os efeitos mátricos são especialmente importantes. A rápida entrada de água dentro das sementes deve-se principalmente, a uma força mátrica (Salisbury e Ross, 1991).

O processo de germinação é iniciado com entrada de água na semente por embebição e utilização de substâncias de reserva da própria semente (Popinigis, 1985).

Em condições normais de germinação, as sementes apresentam geralmente um padrão trifásico de embebição (Bewley e Black, 1994). Na fase inicial de embebição (fase I), ocorre uma absorção rápida de água e o início da degradação das reservas das sementes, decorrente das forças mátricas que atuam nos tecidos das mesmas. A fase II é caracterizada pelo transporte ativo das reservas desdobradas na fase anterior para o tecido meristemático e por pequenas mudanças no conteúdo de água das sementes (Carvalho e Nakagawa, 1988). Na fase III de germinação, ocorre o alongamento celular e a emergência da radícula, resultantes da organização de substâncias complexas desdobradas na fase I e transportadas na fase II (Carvalho e Nakagawa, 1988).

Sementes secas em equilíbrio higroscópico com o ar em uma umidade relativa de 50% pode estar com um potencial hídrico (ψ) de aproximadamente -100 MPa, proporcionando um gradiente hídrico favorável à absorção de água pelas sementes quando essas são colocadas em água pura ou em substratos com potenciais hídricos maiores que -2,0 MPa, segundo Bradford (1986). Ainda de acordo com esse autor, a emergência da radícula ocorre quando o conteúdo de

água da semente atinge um platô, que depende de um potencial hídrico de equilíbrio específico entre a semente e o meio externo.

À medida em que se inicia a embebição, as sementes lixiviam principalmente açúcares, ácidos orgânicos, íons, aminoácidos e proteínas. Nas sementes mais vigorosas, o restabelecimento do sistema de membranas celulares ocorre logo após o início da hidratação, minimizando o problema (Marcos Filho, 1986). Em condições de campo, esses solutos (principalmente os açúcares) podem estimular o desenvolvimento de fungos e bactérias, prejudicando o estabelecimento das plântulas (Vazquez, 1995).

A faixa de potencial hídrico adequada para o crescimento de bactérias e fungos varia -0,3 MPa a -0,5 MPa. O crescimento é impedido, ou quase inibido, na faixa de -4,0 MPa a -5,0 MPa de potencial hídrico (Cook e Papendick, 1978).

As bactérias e fungos, como *Pythium* spp., requerem potenciais hídricos mais positivos para o crescimento e são geralmente inibidos em potenciais hídrico mais negativos de que -3,0 MPa. Fungos pertencentes ao gênero *Fusarium* podem crescer em potenciais hídricos mais negativos que -10,0 MPa e -12,0 MPa. Algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* podem crescer em potenciais hídricos mais negativos que -25,0 MPa. Para muitos microrganismos, os requerimentos exatos em potencial hídrico são ainda desconhecidos, mas há evidências de que os microrganismos diferem entre si, em relação ao potencial hídrico requerido. Além disso, os requerimentos de um organismo específico variam com a temperatura, pH e vários outros fatores. Geralmente, quanto mais favoráveis forem a nutrição e o ambiente, menor o potencial hídrico de que o microrganismo precisa para crescer (Cook e Papendick, 1978).

O crescimento micelial do fungo *Alternaria alternata* em meio BDA osmoticamente modificado com KCl, CaCl₂, sacarose, ou a mistura dos sais NaCl, KCl e Na₂SO₄, foi estimulado pela diminuição da umidade relativa de equilíbrio de 99,7% para 99,3% (-0,36 MPa para -1,0 MPa de potencial

osmótico). O crescimento em diâmetro da colônia decresceu com a diminuição de 99,3 a 94,3% (-1,0 a -8,0 MPa de potencial osmótico da água) (Alam, Joyce e Wearing, 1996). Foi atribuído o efeito estimulador de crescimento micelial dos fungos à absorção de solutos e a um melhor ajuste osmótico das células fúngicas, os quais proporcionaram maior turgor para extensão celular, e a redução do crescimento micelial aos efeitos diretos da restrição hídrica induzida pelos solutos utilizados.

Potenciais hídricos de -6,0 MPa a -8,0 MPa, em solo, inibiram o crescimento micelial de *Alternaria tenuis* Nees. O mesmo efeito ocorreu em meio de ágar ajustado osmoticamente com potenciais de -13,0 MPa a -14,0 MPa (Adebayo e Harris, 1971). Nesse estudo, o fungo teve um crescimento ótimo em potenciais hídricos de 0 MPa a -1,0 MPa e um crescimento médio em potenciais de -3,0 MPa a -4,0 MPa.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia e de Análises de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG, no período de julho de 1999 a janeiro de 2000. Avaliaram-se os efeitos do pré-condicionamento fisiológico com a adição de fungicida em relação à germinação, emergência de plântulas e micoflora associada às sementes de cenoura.

3.1 Escolha da amostra de sementes de cenoura

Para a seleção da amostra a ser utilizada neste estudo, 35 amostras fornecidas por diversas entidades produtoras foram analisadas pelo *blotter test*, considerando-se a quantificação da porcentagem de sementes infectadas por *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina*. Com base nessa análise, foi selecionada a amostra da cultivar híbrida carol, safra 1998, fornecida pela empresa Agroflora S.A. Reflorestamento e Agropecuária. Essa amostra foi a única que apresentou os dois principais fungos fitopatogênicos transmitidos pelas sementes de cenoura: *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina*, na qual constatou-se os níveis de incidência de 1,25% e 2,0%, respectivamente. A porcentagem de germinação do lote foi de 76,25%. As sementes dessa amostra não foram submetidas a nenhum tipo de tratamento pós-colheita e estavam acondicionadas em lata. Logo após o recebimento, as amostras foram armazenadas em câmara fria e seca a 10 °C, para posterior utilização nos ensaios.

3.2 Pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura

3.2.1 Montagem do aparato para o pré-condicionamento fisiológico das sementes

O aparelho de pré-condicionamento fisiológico (Figuras 1 e 2), adaptado e baseado no modelo de Warren e Bennett (1999), consiste de uma câmara de filtragem (caixa de vidro selada com adesivo epóxi e uma camada sobreposta de cola de silicone para vedação, com entradas de ar constituídas por membranas Durapore - Milipore® - de 4,7 cm de diâmetro e 0,22 μm de abertura de poro), contendo em seu interior bomba de ar (arejador de aquário), na qual conectam-se as câmaras de umidificação, que por sua vez, são conectadas às câmaras de pré-condicionamento fisiológico. O ar atravessa as membranas da câmara de filtragem, que remove as impurezas é bombeado por meio de uma mangueira com válvula de controle (aplicador para soluções parenterais, esterilizado em óxido de etileno) para a parte inferior interna da câmara de umedecimento, sendo borbuhlado em 400 ml de água destilada e esterilizada. A câmara de umidificação aumenta a umidade do ar, que entra na câmara de pré-condicionamento fisiológico para reduzir a evaporação, que alteraria o potencial osmótico da solução.

A câmara de pré-condicionamento fisiológico consiste de um frasco de erlenmeyer (250 ml de capacidade) contendo 150 ml da solução osmótica, selado com uma rolha perfurada, na qual é introduzida uma pipeta para entrada de ar em um orifício e uma mangueira no outro orifício para saída de ar. O ar que supre de oxigênio a solução osmótica é transportado por uma mangueira, com válvula, conectada a uma pipeta que penetra a rolha até a parte inferior interna da câmara de pré-condicionamento, sendo borbuhlado na solução osmótica contendo as sementes. O ar sai do sistema por meio de borbuhlamento dentro de um tubo de esterilização (tubo de ensaio 198 x 23 mm de diâmetro),

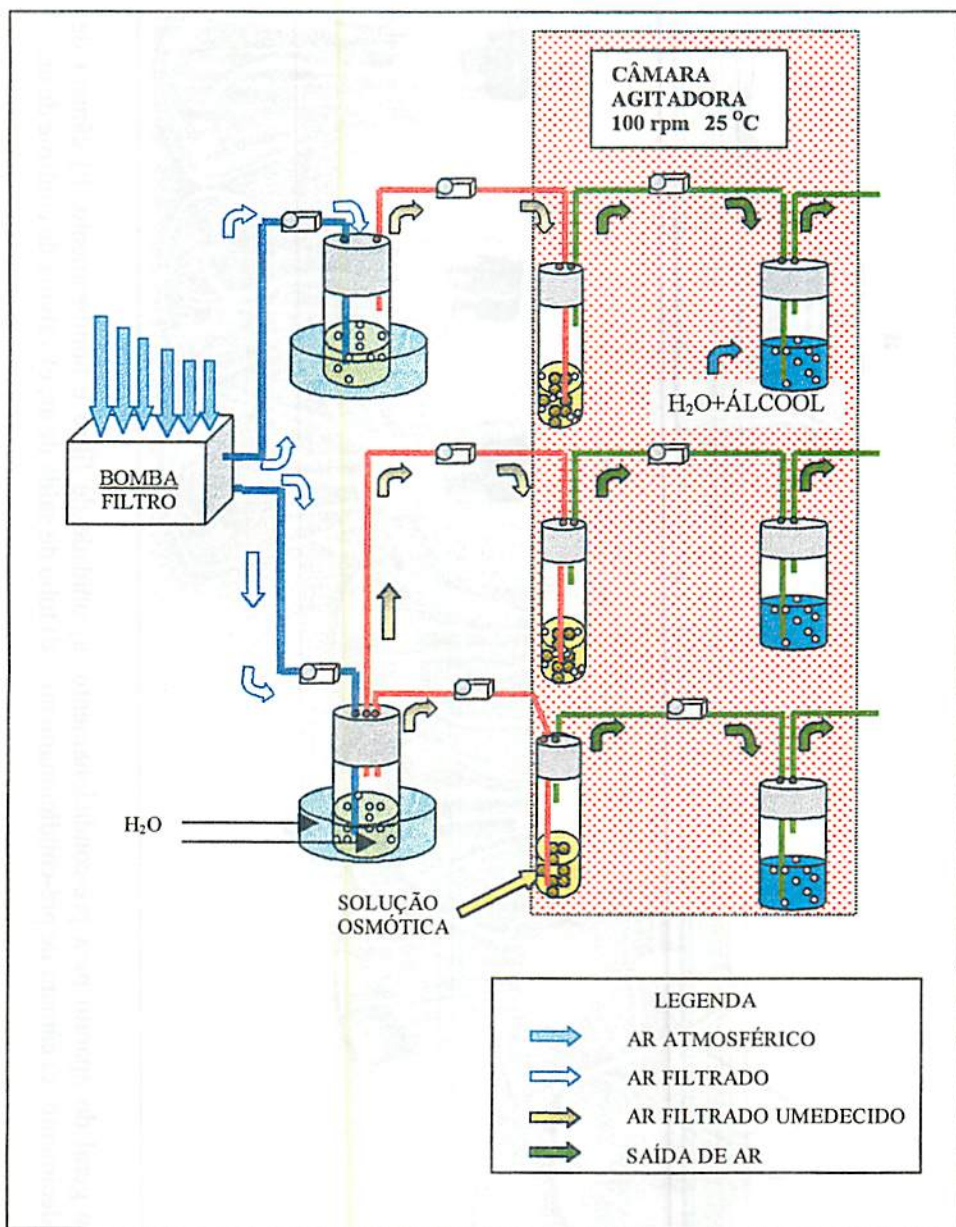


FIGURA 1 - Esquema de funcionamento do aparato de pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura com assepsia. UFLA, Lavras-MG, 2000.

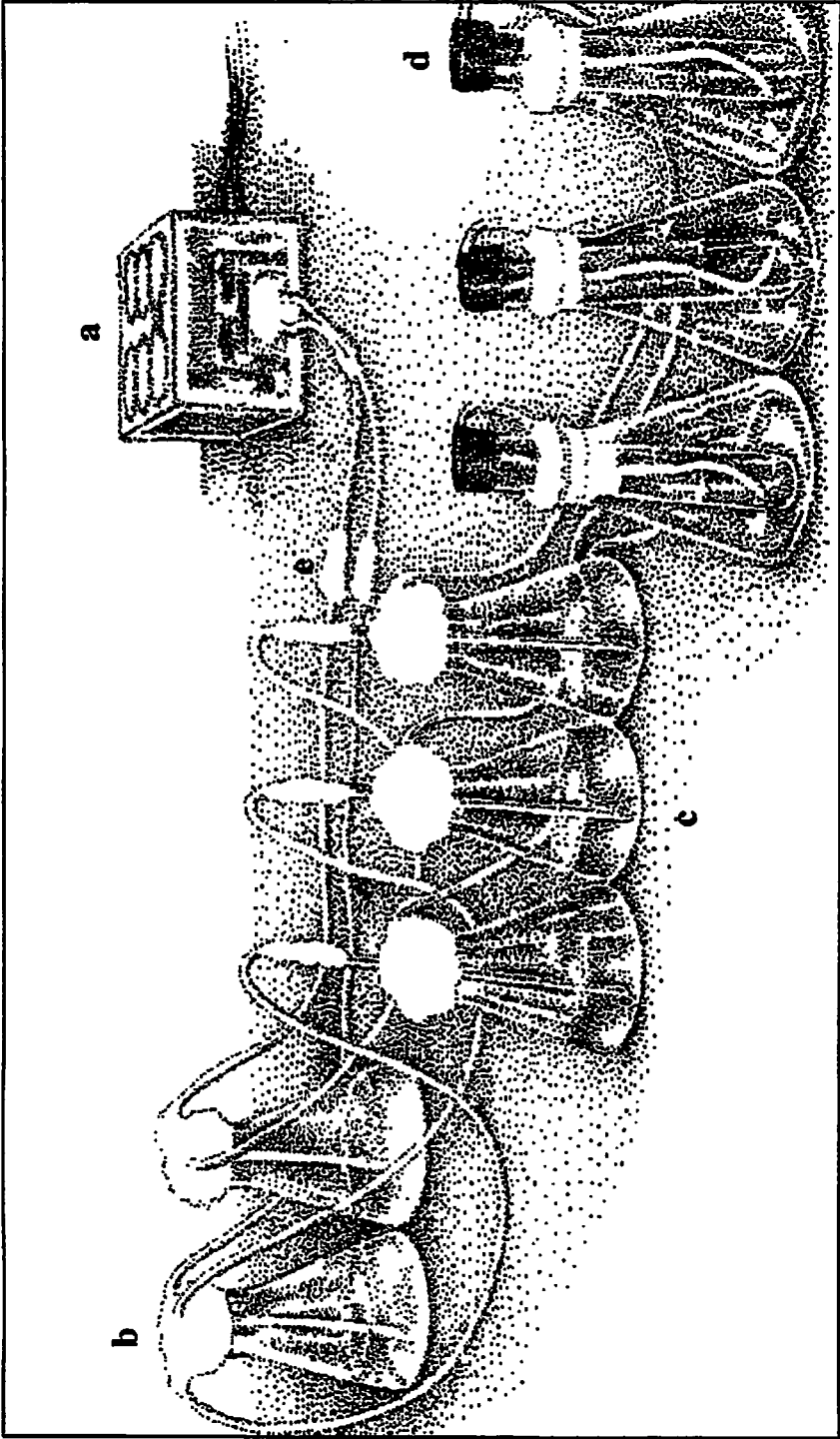


FIGURA 2 - Visão geral do aparato para pré-condicionamento; a) unidade de filtro e bombeamento; b) câmara de umedecimento; c) câmara de pré-condicionamento ; d) tubo de saída de ar; e) válvula de controle de ar.

que recebe ar da saída do erlenmeyer de pré-condicionamento. Esse tubo contém 60 ml de uma mistura de 60% de água e 40% de álcool etílico para evitar contaminações por microrganismos provenientes do ambiente. A câmara de pré-condicionamento e os tubos de saída de ar são mantidos em um aparelho agitador com temperatura controlada de 25 °C.

3.2.2 Cálculo das soluções osmóticas

Na preparação das soluções osmóticas com potencial de -1,1 MPa, utilizaram-se, como agentes osmóticos, o polietileno glicol (PEG 6000) ou o nitrato de potássio (KNO₃) nas seguintes concentrações: 311,33 g de PEG 6000 ou 26,084g de KNO₃/kg de água (0,258 molal). A temperatura utilizada no cálculo foi de 25 °C. Para o cálculo das concentrações de PEG, utilizou-se a fórmula proposta por Michael e Kaufmann (1973):

$$\psi_s = - (1,18 \times 10^{-2})C - (1,18 \times 10^{-4})C^2 + (2,67 \times 10^{-4})C T + (8,39 \times 10^{-7})C^2 T$$

sendo:

ψ_s = potencial osmótico ou potencial de soluto (bars)

C = concentração (g de PEG / kg de água)

T = temperatura (°C)

Para o cálculo da concentração de KNO₃, utilizou-se a fórmula proposta por Griffin (1972) citado por Alam, Joyce e Wearing (1996):

$$\Pi = (-R \times T \times p \times v \times m \times \phi) \times 10^3$$

sendo:

Π = potencial osmótico (MPa)

R = constante dos gases (83,141 x 10⁻⁷ m³ / MPa. °K)

T = temperatura (K)

P = densidade da água na temperatura T

v = íons por molécula

m = molalidade

ϕ = coeficiente osmótico na molalidade m e temperatura T

Os valores de ϕ foram obtidos pela interpolação dos dados obtidos de tabelas de coeficiente osmóticos elaboradas por Robinson e Stokes (1949) e os valores de P pelo software SPM (Michel e Radcliffe, 1995).

As soluções osmóticas foram esterilizadas para utilização nos ensaios.

3.2.3 Tratamentos de pré-condicionamento fisiológico

O aparelho para o pré-condicionamento osmótico foi esterilizado em câmara de formol a 10% (câmara de filtragem e bomba de ar). As mangueiras utilizadas foram adquiridas já esterilizadas em óxido de etileno e as demais partes (câmaras de umedecimento e pré-condicionamento) foram esterilizadas e montadas, utilizando-se cola de silicone em ambiente asséptico. Os tratamentos de pré-condicionamento realizados consistiram em imergir 3 g de sementes de cenoura em soluções arejadas de potencial osmótico com -1,1 MPa, contidas nas câmaras de pré-condicionamento, utilizando-se dois solutos (PEG 6000 e KNO_3 , três níveis de adição do fungicida Thiram, na forma de suspensão concentrada (dissulfeto de tetrametil tiuram, 500g/l, 50% m/v) à solução (0,0%; 1,0% ou 1,5% de i.a.) e um tratamento adicional (sementes não pré-condicionadas e não tratadas com fungicida) como testemunha. As câmaras de pré-condicionamento foram seladas com cola de silicone e, juntamente com os tubos de esterilização de saída de ar, foram colocadas no interior de um aparelho agitador tipo *shaker* regulado em 100 rpm, a uma temperatura de 25 °C, no escuro, por um período de sete dias. Ao término desse período, as sementes retiradas foram lavadas em água corrente por três minutos e, em seguida, em 500 ml de água destilada para a remoção do excedente superficial dos resíduos dos tratamentos. Após a

lavagem, as sementes foram secas sobre discos de papel de filtro em ambiente de sala, durante dois dias.

3.3 Avaliações das sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico

As sementes, após secagem, foram submetidas aos testes de sanidade e quantificação do inóculo, de germinação e de vigor.

3.3.1 Teste de sanidade e quantificação do inóculo

O teste de sanidade foi conduzido pelo método de incubação em papel de filtro com congelamento (*deep freezing blotter method*), conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Distribuíram-se as sementes 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. As sementes foram inicialmente incubadas por 24 horas, sob temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, depois a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas em congelador e, posteriormente, incubadas a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ em câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz negra (comprimento de onda próximo a ultravioleta) durante sete dias. Para a identificação e a contagem dos fungos utilizou-se microscópio estereoscópico. Em alguns casos, a identificação foi confirmada em microscópio óptico.

Para quantificar o inóculo foi utilizada uma escala de notas de 0 a 3, referente ao percentual do patógeno nas sementes submetidas ao teste de sanidade, sendo 0 ausência de esporos do fungo; 1 presença do fungo ocupando aproximadamente de 1% a 10% da semente; 2 fungo ocupando entre 11% e 50% da semente; e 3 estruturas do fungo cobrindo acima de 50% da semente. A densidade de inóculo (DI) foi calculada pela fórmula de McKinney (1923) modificada:

$$DI = \frac{\sum (\text{graus da escala} \times \text{freqüência})}{\text{Número de sementes} \times \text{grau máximo}} \times 100$$

Os dados obtidos foram expressos em porcentagem.

3.3.2 Teste de germinação

Para avaliação da porcentagem de germinação, as sementes foram distribuídas em gerboxes previamente esterilizados, contendo duas folhas de papel mata borrão previamente esterilizadas e umedecidas com o volume de água destilada e esterilizada 2,5 vezes o peso do substrato. Utilizaram-se quatro repetições de 100 sementes. Os gerboxes com as sementes foram colocados em câmara do tipo BOD com temperatura alternada de 30 °C/12 horas de luz e 20 °C/12 horas de escuro. A avaliação foi realizada aos sete e 14 dias, após a semeadura, conforme os critérios das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

3.3.3 Testes de vigor: primeira contagem, índice de velocidade de emergência de plântulas, estando aos 14 dias e peso seco de plântulas

A primeira contagem foi avaliada pela porcentagem de plântulas normais determinadas no sétimo dia originadas das sementes submetidas ao teste de germinação. Para avaliação do índice de velocidade de emergência (IVE), estando aos 14 dias e peso seco de plântulas, semearam-se 50 sementes, a uma profundidade de 1,5 cm, por bandeja. As bandejas continham oito litros de substrato esterilizado constituído de solo, areia e esterco bovino na proporção de 1:1:1, respectivamente. Após a semeadura, as bandejas foram distribuídas no interior de uma câmara de crescimento vegetal com temperatura de 25 °C ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Para o cálculo do IVE, contaram-se diariamente o

número de plântulas emergidas até o dia em que cessou a emergência de plântulas e ocorreu a estabilização do número das mesmas. O IVE foi definido pela fórmula de Maguire (1962), citado por Nakagawa (1994):

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

IVE = índice de velocidade de emergência

E_1, E_2, E_n = número de plântulas emergidas na primeira, segunda e última contagem

N_1, N_2, N_n = número de dias de semeadura

O estande foi avaliado aos 14 dias, considerando-se o percentual de plântulas normais emergidas.

O peso de matéria seca (parte aérea e sistema radicular) de plântulas foi avaliado aos 25 dias após a semeadura. O sistema radicular e a parte aérea das plântulas, após lavagem por imersão em água, foram colocadas em sacos de papel e secos em estufa de circulação forçada por 24, horas sob temperatura de 70 °C. Após esse período, foram resfriados em dessecador e pesadas.

3.3.4 Análise estatística

Nas avaliações do índice de velocidade de emergência (IVE), estande aos 14 dias e peso de matéria seca de plântulas, o delineamento estatístico utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial $2 \times 3 + 1$, sendo dois solutos (PEG 6000 e KNO_3), três concentrações do fungicida Thiram (0%, 1% e 1,5%) e um tratamento adicional (sementes sem tratamento). No teste de germinação, primeira contagem e sanidade (incidência e severidade) utilizou-se o mesmo arranjo de tratamentos, contudo o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLM do SAS® (SAS Institute, 1992). Nas análises de variâncias determinaram-se os efeitos de solutos, dos níveis das concentração de Thiram,

da interação entre solutos e concentrações de Thiram e do contraste entre o tratamento adicional (testemunha) e os demais tratamentos.

Em razão de não ter havido normalidade e/ou homogeneidade dos erros, os dados de índice de velocidade de emergência (IVE) e peso de matéria seca de plântulas foram previamente transformados em $\log(x + 1)$, antes de serem submetidos à análise de variância. O contraste entre as médias dos tratamentos em que se utilizaram os solutos nas diferentes concentrações de Thiram e o tratamento-testemunha (sementes sem tratamento) foi realizado pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$). Equações de regressão foram ajustadas aos dados das variáveis analisadas para cada soluto testado quando a interação soluto x concentrações de Thiram foi significativa ($P < 0,05$).

No teste de sanidade (incidência e severidade), os dados não apresentaram variância e foram analisados qualitativamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Incidência e densidade de inóculo de *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* nas sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico.

A porcentagem média de sementes de cenoura infectadas por *Alternaria dauci* submetidas ao pré-condicionamento fisiológico elevou-se de 1,25% (média da testemunha) para 8,50%, nos tratamentos em que se utilizou KNO_3 , e 30% no tratamento em que se utilizou PEG 6000, ambos na ausência de Thiram (Figura 3). Comportamento semelhante foi verificado em relação ao fungo *Alternaria radicina*, cujo índice de contaminação de sementes foi aumentado de 2% para 5,25% e para 18,75% em KNO_3 e PEG 6000, respectivamente (Figura 4). A densidade média de inóculo de *Alternaria dauci* na testemunha aumentou de 0,83% para 14,67%, no tratamento em que se utilizou PEG 6000 e 4,50% no tratamento que utilizou KNO_3 (ambos na ausência de Thiram) (Figura 5). Para *Alternaria radicina*, a densidade de inóculo variou nas sementes de 1,58% (testemunha) para 7,33%, (PEG 6000) e para 1,92% (KNO_3) no tratamento sem Thiram (Figura 6). Nas concentrações de 1,0% e 1,5%, o fungicida Thiram foi efetivo na erradicação de ambos os patógenos.

Os resultados obtidos com relação à eliminação dos fungo associados às sementes, em função do tratamento de pré-condicionamento com adição de fungicidas, estão de acordo com os obtidos por Biniek e Tylkowska (1987), que constataram que a imersão de sementes de cenoura em Thiram (75% dissulfeto de tetrametilthiuram) dissolvido em acetona ou diclorometano nas concentrações de 0,05; 0,1 ou 0,2 Molal, por 30, 60 e 120 minutos, protegeu as sementes da micoflora durante o condicionamento e eliminou *Alternaria radicina* associada às sementes.

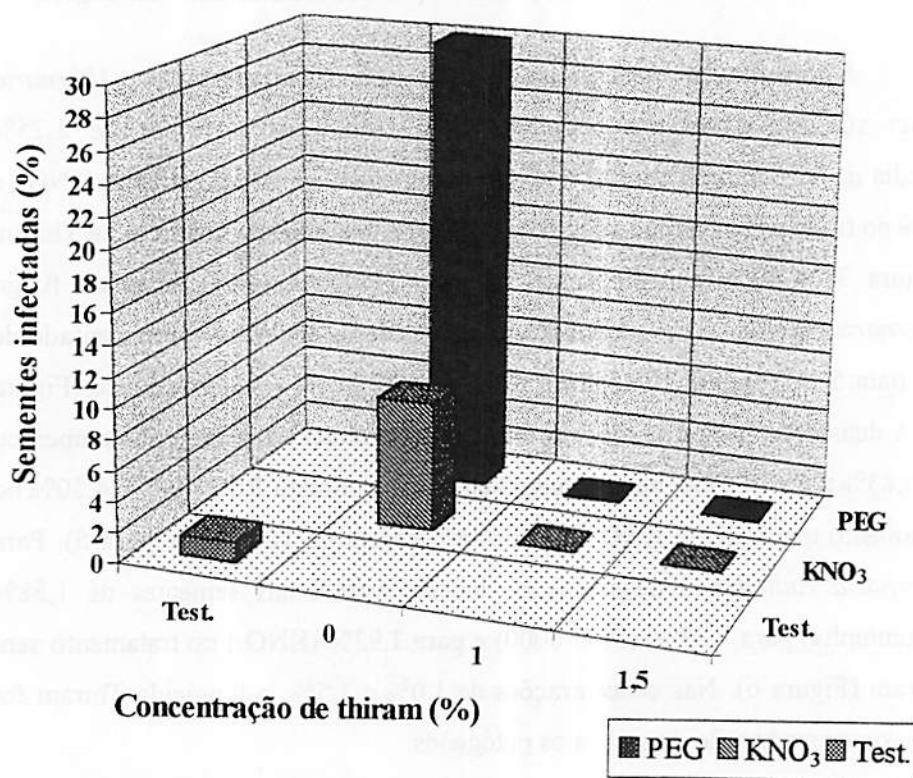


FIGURA 3 - Percentagens médias de sementes infectadas por *Alternaria dauci* em sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

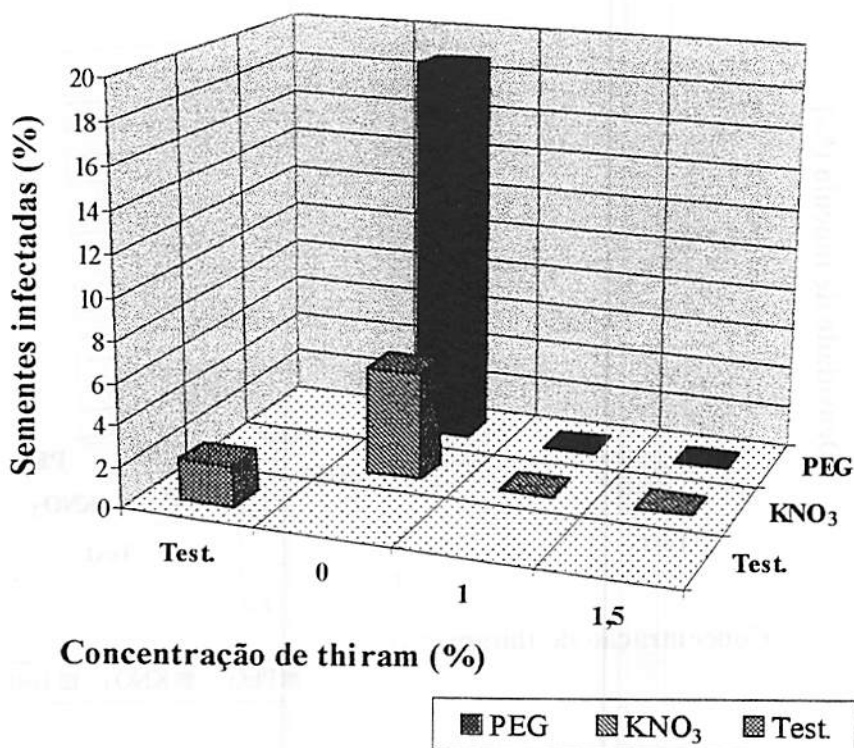


FIGURA 4 - Porcentagens médias de sementes infectadas com *Alternaria radicina* em sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função da concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

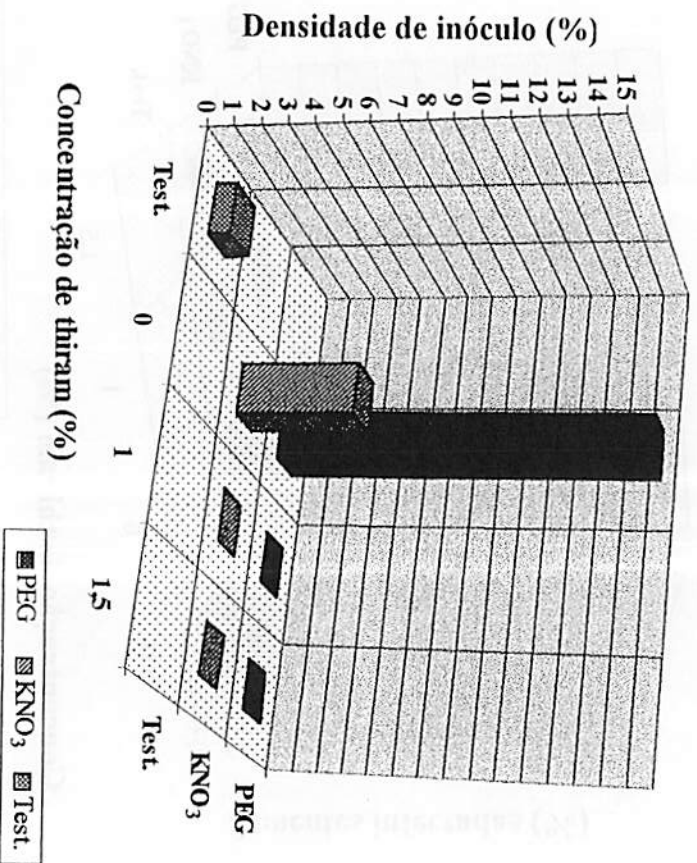


FIGURA 5 - Densidade média de inóculo de *Alternaria dauci* em sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

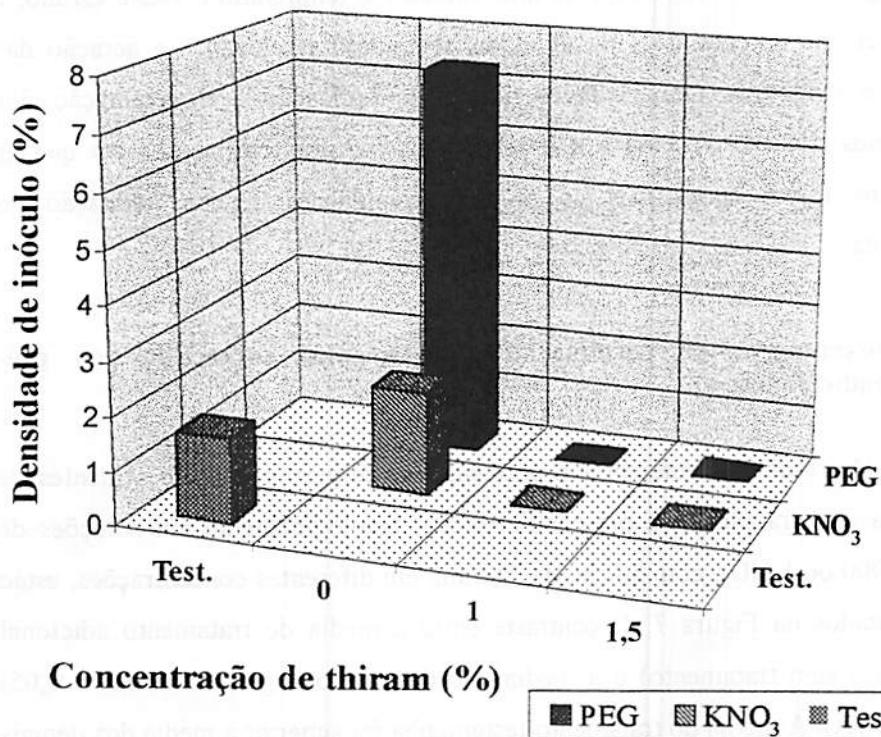


FIGURA 6 - Densidades médias de inóculo de *Alternaria radicina* em sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Em outro estudo, Lopes (1996) observou que o condicionamento de sementes de cebola, utilizando soluções de PEG 6000 a -0,75 MPa na temperatura de 20 °C, por um período de oito dias, prejudicou a germinação das sementes, principalmente por causa de uma maior multiplicação de microrganismos em condições de alta umidade e temperatura. Neste estudo, é provável que as condições de umidade, temperaturas elevadas e aeração das soluções osmóticas tenham favorecido a multiplicação e disseminação dos patógenos *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* nos tratamentos em que as sementes foram submetidas ao pré-condicionamento sem a utilização do fungicida.

4.2 Porcentagem de germinação das sementes submetidas ao pré-condicionamento

Os resultados referentes à porcentagem de germinação de sementes de cenoura sem tratamento e pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com adição de Thiram, em diferentes concentrações, estão apresentados na Figura 7. O contraste entre a média do tratamento adicional (sementes sem tratamento) e a média dos demais foi significativo ($P < 0,05$) (Tabela 1A). A média do tratamento-testemunha foi superior à média dos demais tratamentos, evidenciando que o pré-condicionamento fisiológico neste trabalho não foi eficiente na melhoria da qualidade fisiológica das sementes. Verificaram-se efeitos significativos ($P < 0,05$) de solutos, concentrações de Thiram e da interação solutos x concentrações de Thiram (Tabela 1A). Nos tratamentos que utilizaram PEG 6000 com fungicida, houve uma maior porcentagem de germinação do que nos tratamentos que se utilizaram KNO₃. Nos tratamentos que utilizaram PEG 6000, à medida que aumentou a concentração de Thiram, aumentou também a porcentagem de germinação.

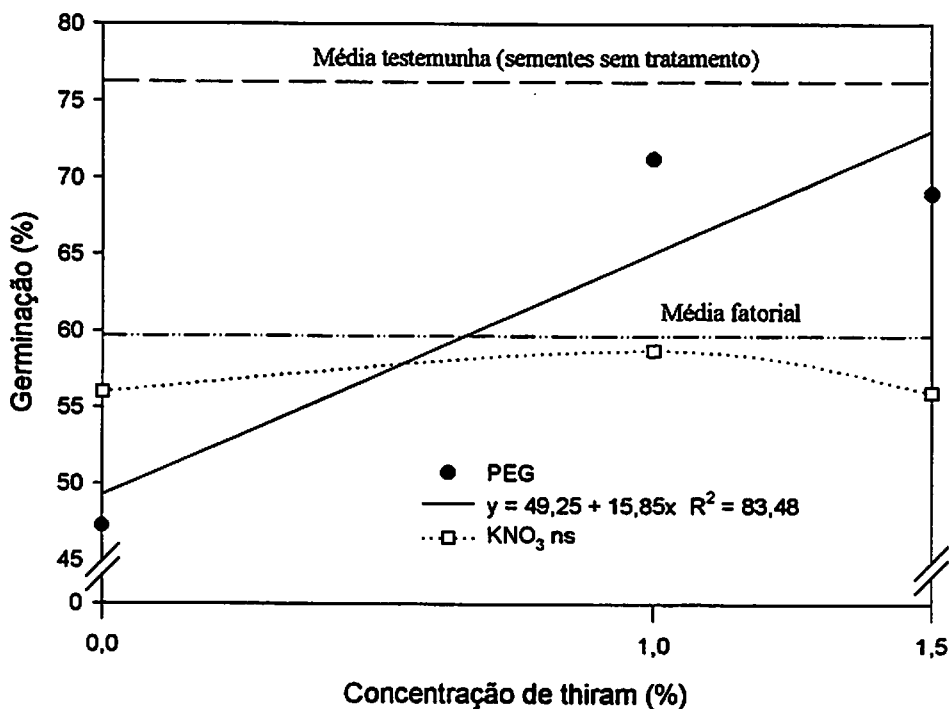


FIGURA 7 - Porcentagens médias de germinação de sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função da concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Utilizando o teste de Dunnett ($P < 0,05$) (Tabela 6A) para contrastar a média de cada tratamento utilizado com a média da testemunha, verificou-se que os tratamentos com PEG 6000 nas concentrações de 1% e 1,5% não diferiram estatisticamente da testemunha (sementes sem tratamento). Nos tratamentos em que não utilizaram o fungicida, em ambos os solutos, constatou-se um aumento na incidência de fungos (ver item 4.1). É provável que isso tenha influenciado na redução da qualidade fisiológica das sementes, tanto nos tratamentos que utilizaram PEG 6000 quanto nos que utilizaram KNO_3 . Com relação aos tratamentos que se utilizaram KNO_3 com adição de fungicidas (concentrações de 1% e 1,5%), verificou-se a alta eficiência desses em eliminar a infecção causada pelos fungos, o que possibilitaria uma maior eficiência no condicionamento fisiológico, mas não ocorreu, possivelmente pelo fato desse produto ter uma interação negativa com o fungicida testado, afetando adversamente a germinação.

4.3 Avaliação do vigor (primeira contagem, índice de velocidade de emergência, estande aos 14 dias e peso seco de plântulas)

Os resultados referentes à primeira contagem da germinação de sementes de cenoura sem tratamento e pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 , com adição de Thiram, em diferentes concentrações, estão apresentados na Figura 8. O contraste entre a média do tratamento adicional (sementes sem tratamento) e a média dos demais foi significativo ($P < 0,05$) (Tabela 2A). A média do tratamento-testemunha foi superior à média dos demais tratamentos, evidenciando que o pré-condicionamento fisiológico não foi eficiente na melhoria do vigor das semente. Foram verificados efeitos significativos ($P < 0,05$) de solutos e da interação solutos x concentrações de Thiram (Tabela 2A). A primeira contagem das sementes pré-condicionadas com PEG foi maior do que nas sementes pré-condicionadas com KNO_3 .

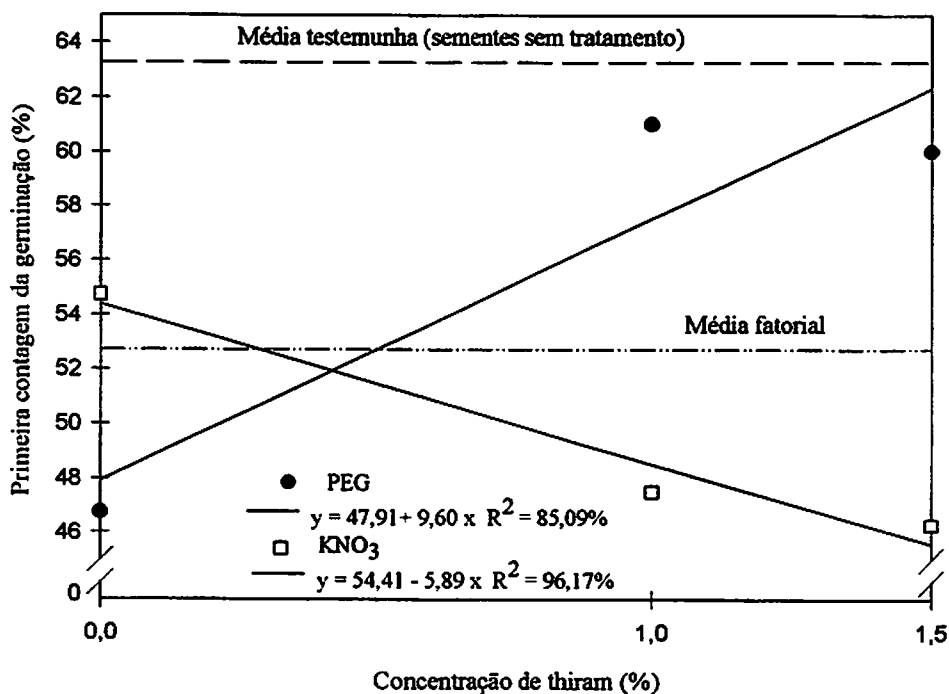


FIGURA 8 - Porcentagens médias de germinação obtidas da primeira contagem do teste de germinação de sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 , com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Nos tratamentos em que foi utilizado PEG 6000, à medida que aumentou a concentração de Thiram, aumentou o vigor das sementes. Nos tratamentos em que se utilizaram KNO_3 , à medida em que aumentou-se a concentração de Thiram diminuiu a porcentagem de sementes germinadas na primeira contagem.

Pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$) (Tabela 6A), verificou-se que os tratamentos envolvendo PEG 6000 nas concentrações de 1% e 1,5% de Thiram não diferiram estatisticamente da testemunha (sementes sem tratamentos), enquanto que os tratamentos que utilizaram KNO_3 afetaram a porcentagem de sementes germinadas na primeira contagem, provavelmente pelos mesmos motivos discutidas no item 4.2.

Os resultados referentes ao índice de velocidade de emergência de plântulas e estande aos 14 dias estão apresentados nas Figuras 10 e 11, e o peso seco de plântulas na Tabela 5A. Na avaliação do índice de velocidade de emergência e do peso seco de plântulas, o contraste entre a média do tratamento-testemunha e a média dos demais tratamentos foi significativo ($P < 0,05$) (Tabelas 3A e 5A). Os valores observados no tratamento-testemunha foram inferiores à média dos demais tratamentos, evidenciando os efeitos do condicionamento fisiológico na melhoria do índice de velocidade de emergência e no aumento do peso seco de plântulas.

Na avaliação do estande aos 14 dias, o contraste entre o tratamento-testemunha e os demais tratamentos foi não-significativo (Tabela 4A). Foram verificados efeitos significativos ($P < 0,05$) de solutos, concentrações de Thiram e da interação entre esses dois fatores. Nos tratamentos que utilizaram PEG 6000, à medida que aumentou a concentração de Thiram aumentou o índice de velocidade de emergência. Nos tratamentos que utilizaram KNO_3 , à medida que aumentou a concentração do fungicida, houve uma redução no estande das plântulas.

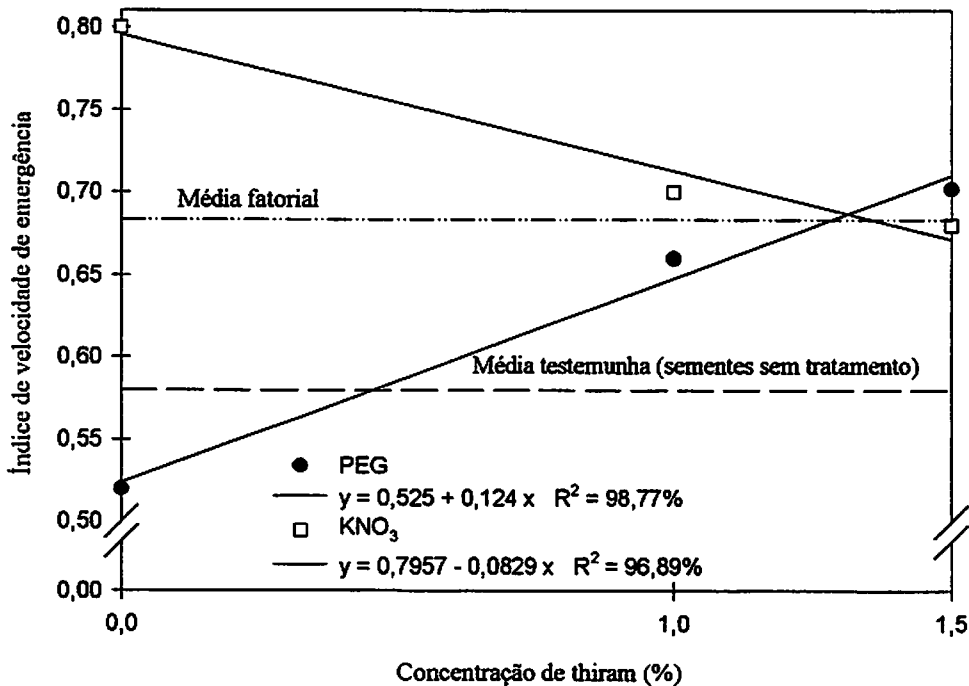


FIGURA 10 - Índices médios de velocidade de emergência de plântulas oriundas de sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

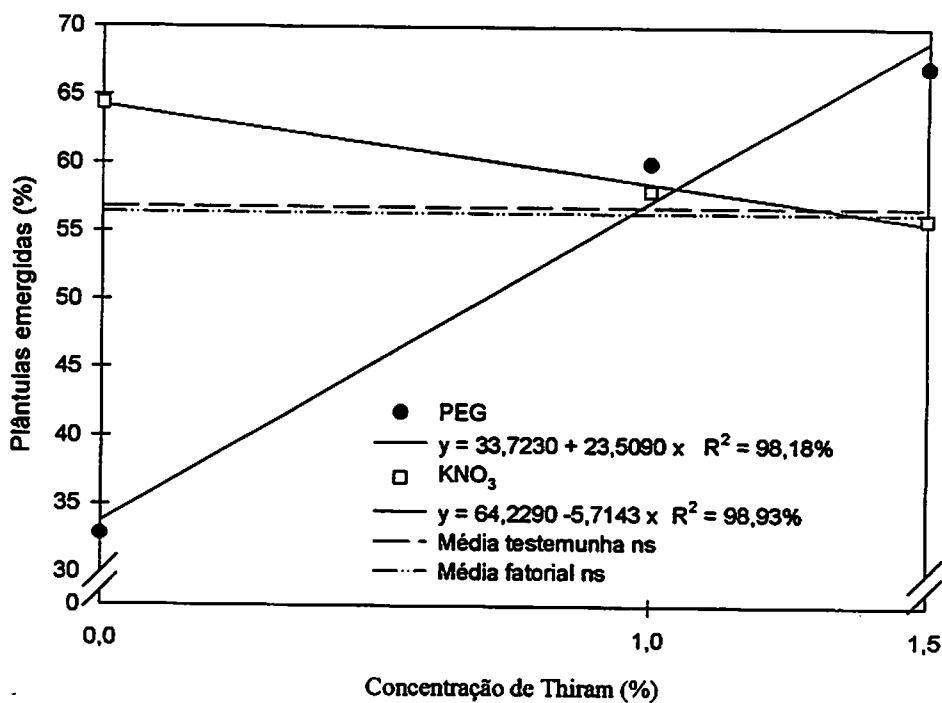


FIGURA 11 - Estande de plântulas aos 14 dias, oriundas de sementes de cenoura submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃, com potencial osmótico de -1,1 MPa, em função de concentrações de Thiram adicionado à solução. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Na avaliação de peso seco de plântulas, não foram verificados efeitos significativos ($P < 0,05$) dos solutos e das concentrações de Thiram testadas, porém, houve efeito significativo da interação entre esses dois fatores, mas as relações lineares que poderiam explicar os efeitos apresentaram baixos coeficientes de determinação ($R^2 = 44,77\%$ para o PEG e $42,86\%$ para o KNO_3).

Na avaliação do índice de velocidade de emergência, verificaram-se efeitos significativos ($P < 0,05$) de solutos e da interação entre solutos e concentrações de Thiram (Tabela 3A). Os tratamentos que utilizaram PEG 6000, à medida que aumentou a concentração de Thiram aumentou o índice de velocidade de emergência. Nos tratamentos que utilizaram KNO_3 , mesmo reduzindo o índice de velocidade de emergência, à medida em que se aumentou a concentração do fungicida, houve uma melhoria na velocidade de emergência das plântulas.

Os resultados obtidos (índice de velocidade de emergência e peso seco de plântulas) corroboram com os de Dearman, Brocklehurst e Drew (1987), Dearman, Drew e Brocklehurst (1987) e Maude, Drew e Nienow, (1992) que constataram a eficiência do condicionamento com a adição de fungicidas químicos, na melhoria da qualidade fisiológica de sementes de cenoura.

Comparando resultados obtidos nos testes de germinação e primeira contagem da germinação com os testes de índice de velocidade de emergência de plântulas, estando aos 14 dias e peso seco de plântulas, foram verificadas diferenças com relação à eficiência dos solutos testados. Enquanto nos testes de germinação e primeira contagem da germinação, nos quais são utilizados papel mata-borrão como substrato, os tratamentos com PEG 6000 tiveram uma porcentagem de germinação e primeira contagem da germinação maior do que nos tratamentos com KNO_3 , nos testes de índice de velocidade de emergência de plântulas, estando aos 14 dias e peso seco de plântulas, os quais são realizados em substrato de solo, o KNO_3 foi superior ao PEG na melhoria da qualidade

fisiológica das sementes. Esse fato pode estar relacionado com as condições de desenvolvimento dos testes, nos quais as propriedades dos solutos podem influenciar nos resultados dos testes por aspectos fitotóxicos ou nutricionais dos mesmos.

5 CONCLUSÕES

- 1) O pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura em soluções de PEG 6000 e KNO_3 com aeração, no potencial osmótico de $-1,1$ MPa, aumenta a porcentagem média de incidência e a densidade de inóculo dos fungos *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* associada às sementes.
- 2) A adição do Thiram às soluções osmóticas de PEG e KNO_3 , nas concentrações de 1% e 1,5%, elimina os fungos *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* associados às sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em solução aerada.
- 3) No pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura infectadas por *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* em soluções aeradas, é necessário o tratamento fungicida para controlar esses organismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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/Jun. 1971.
- AFONSO NETO, M.J. Umbelíferas: olerícolas de valor alimentício, condimentar e medicinal. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.10, n.120, p.1, dez. 1984.
- 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*, Collingwood, v.36, n.3, p.383-388, 1996.
- ANDRADE, A.P. Condicionamento osmótico de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.) em diferentes níveis de cloreto de sódio. Pelotas: UFPel, 1993. 55p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of development and germination*. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BINIEK, A. The influence of osmoconditioning in polyethylene glycol (PEG 6000) on the germination and emergence of carrot and parsley seeds. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.371, p.77-81, 1994.
- BINIEK, A.; TYLKOWSKA, K. Germination and mycoflora of carrot seeds treated with thiram and conditioned in polyethylene glycol (PEG 6000). *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.215, p.225-230, 1987.
- 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 e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.

BROCKLEHURST, P.A.; DEARMAN, J.A. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination. *Annals of Applied Biology*, London, v.102, n.3, p.577-584, Jun. 1983a.

BROCKLEHURST, P.A.; DEARMAN, J.A. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. II. Seedling emergence and plant growth. *Annals of Applied Biology*, London, v.102, n.3, p.585-593, Jun. 1983b.

BROCKLEHURST, P.A.; DEARMAN, J.A. A comparison of different chemicals for osmotic treatment of vegetable seed. *Annals of Applied Biology*, London, v.105, n.2, p.391-398, Oct. 1984.

CANTLIFFE, D.J.; ELBALLA, M.; Improved germination of carrot at stressful high temperature by seed priming. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, Florida, v.107, p.121-128, 1994.

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

COOK, R. J.; PAPENDICK, R.I. Role of water 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.

CORBINEAU, F.; PICARD, M.A.; CÔME, D. Effects of temperature, oxygen and osmotic pressure on germination of carrot seeds: evaluation of seed quality. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.354, p.9-15, June 1994.

- DEARMAN, J.; BROCKLEHURST, P.A.; DREW, R.LK. Effects of osmotic priming and ageing on the germination and emergence of carrot and leek seed. *Annals of Applied Biology*, London, v.111, n.3, p.717-722, Dec. 1987.
- DEARMAN, J.; DREW, R. L. K.; BROCKLEHURST, P. A. Effect osmotic priming, rising and storage on the germination and emergence of carrot seed. *Annals of Applied Biology*, London, v.111, n.3, p.723-727, Dec. 1987.
- DONI FILHO, L. Efeitos do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba: ESALQ, 1992. 108p. (Dissertação-Doutorado em Agronomia).
- DUNIWAY, J.M. Water relations of water molds. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.17, p.431-460. 1979.
- FINCH-SAVAGE, W.E. The effects of osmotic seed priming and the timing of water availability in the seedbed on the predictability of carrot seedling establishment in the field. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.267, p.209-216, 1990.
- HAYGH, A.M.; BARLOW, E.W.R. Germination and priming of tomato, carrot, onion, and sorghum seeds in a range of osmotica. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.112, p.202-208, 1987.
- HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance - survey and attempted prognosis. *Seed Science and Technology*, Norway, v.5, n.2, p.353-425, 1977.
- HEYDECKER, W.; GIBBINS, B. M. The priming of seed. *Acta Horticulturae*, n.83, p. 213-223, 1978.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y.J. Invigoration of seeds? *Seed Science and Technology*, Norway, v.3, n.3-4, p.881-888, 1975.

LOPES, H.M. Embebição e condicionamento fisiológico de sementes de cebola influenciados por temperatura e potencial osmótico da solução. Viçosa:UFV, 1996. 103p. (Dissertação-Doutorado em Agronomia).

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, Piracicaba, 1986. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.11-39.

McKINNEY, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal Agricultural Research*, Washington, v. 26, n.5, p.195-219, Nov.1923.

MAUDE, R.B.; DREW, R.L.K.; NIENOW, A.W. Strategies for control of seed-borne *alternaria dauci* (leaf blight) of carrots in priming and process engineering systems. *Plant Pathology*, London, v.41, n.2, p.204-214, Apr. 1992.

MEXAL, J.; FISHER, J.T.; OSTERYOUNG, J.; REID, C.P.P. Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant-water relations. *Plant Physiology*, Rockville, v.55, p.20-24, 1975.

MICHEL, E.B.; KAUFMANN, R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, Rockville, v.51, p.914-916, 1973.

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

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de (eds.). *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-85.

NEEGAARD, P. *Seed pathology*. London: MacMillan, 1977. 2v. 1977.

- PELUZIO, L.E.** Condicionamento osmótico de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.): efeitos na germinação, emergência e no seu desempenho no campo. Viçosa: UFV, 1999. 105p. (Dissertação-Doutorado em Agronomia).
- PETCH, G.M.; MAUDE, R.B.; BUJALSKI, W.; NIENOW, W.** The effects of re-use of polyethylene glycol priming osmotica upon the development of microbial populations and germinations and of leeks and carrots. *Annals of Applied Biology*, London, v.119, p.365-372, 1991.
- POPINIGIS; F.** Fisiologia da semente. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p
- ROBINSON, R.A.; STOKES, R.H.** Tables of osmotic and activity coefficients of electrolytes in aqueous solution at 25 °C. *Faraday Society Transactions*. London, n.45, p.612-624. 1949.
- SAS Institute Inc.** SAS technical report SAS / STAT software: changes and enhancement release 607, Cary Nc: SAS Institute Inc., 1992. (Programa de computador)
- SALISBURY, F.B.; ROOS, C.W.** *Plant Physiology*. 4ed., Belmont, Wadsworth, 1991. 682p.
- SLAVICK, B.** *Methods of studying plant water relations*. New York: Springer-Verlag, 1974. 449p. (Ecological Studies, 9).
- SZAFIROWSKA, A.; KHAN, A.A.; PECK, N.H.** Osmoconditioning of carrot seeds to improve seedling establishment and yield in cold soil. *Agronomy Journal*, Madison, v.73, n.5, p. 845-848, Oct. 1981.
- VAZQUEZ, G.H.** Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento. Piracicaba: ESALQ, 1995. 138p. (Dissertação-Mestrado em Agronomia).

VIGGIANO, J. Produção de sementes de algumas umbelíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.120, p.60-65, dez. 1984.

WARREN, J.E.; BENNETT, M. A. Bio-osmopriming tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed for improved stand establishment. **Seed Science and Technology**, Norway, v.27, n.2, p.489-499, 1999.

YANMAZ, R. Effects of pre-sowing PEG (polyethylene glycol) treatments on the germination and emergence rate and time of carrot seeds. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.362, p.229-234, 1994.

ANEXO

Página

TABELA 1A	Resumo da análise de variância dos dados referentes à germinação de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram.....	43
TABELA 2A	Resumo da análise de variância dos dados referentes à primeira contagem de germinação de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram.	43
TABELA 3A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de emergência de plântulas oriundas de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram.....	44
TABELA 4A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao estande, aos 14 dias, de plântulas oriundas de sementes de cenoura, pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 , com adição de Thiram.	44
TABELA 5A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso seco de plântulas oriundas de sementes de cenoura, pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram.....	45
TABELA 6A	Teste de Dunnett ($P < 0,05$) para o contraste entre médias dos tratamentos de pré-condicionamento, com adição de Thiram, e a testemunha (sementes não condicionadas e não tratadas com Thiram) nas avaliações de germinação e primeira contagem de sementes de cenoura.....	45

TABELA 1A – Resumo da análise de variância dos dados referentes à germinação de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
(Tratamentos)	(6)	(425,1428)
Solutos	1	187,0416 **
Concentrações de Thiram	2	404,5416 **
Solutos x conc. de Thiram	2	308,2916 **
Testemunha vs. fatorial	1	938,1488 **
Erro	21	37,1904

** = teste F significativo a 1% de probabilidade

CV = 9,82%

TABELA 2A – Resumo da análise de variância dos dados referentes à primeira contagem de germinação de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
(Tratamentos)	(6)	(217,1190)
Solutos	1	247,0416 **
Concentrações de Thiram	2	25,5416 ns
Solutos x conc. de Thiram	2	311,7916 **
Testemunha vs. fatorial	1	381,0059**
Erro	21	33,8095

** = teste F significativo a 1% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

CV = 10,72%

TABELA 3A – Resumo da análise de variância dos dados referentes ao índice de velocidade de emergência de plântulas oriundas de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO₃ com adição de Thiram. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
(Tratamentos)	(6)	(0,0408)
Bandeja	4	0,0033 ns
Solutos	1	0,0720 **
Concentrações de Thiram	2	0,0022 ns
Solutos x conc. de Thiram	2	0,6092 **
Testemunha vs. fatorial	1	0,0401 *
Erro	23	0,0053

* e ** = teste F significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente
 ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade
 CV = 11,03%

TABELA 4A – Resumo da análise de variância dos dados referentes ao estande aos 14 dias de plântulas oriundas de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO₃ com adição de Thiram. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
(Tratamentos)	(6)	(603,7436)
Bandeja	4	52,6011 ns
Solutos	1	276,7680 **
Concentrações de Thiram	2	452,8307 **
Solutos x conc. de Thiram	2	28,507 **
Testemunha vs. fatorial	1	0,7488 ns
Erro	23	42,7128

** = teste F significativo a 1% de probabilidade
 ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade
 CV = 11,64%

TABELA 5A – Resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso seco de plântulas oriundas de sementes de cenoura pré-condicionadas fisiologicamente em soluções de PEG 6000 ou KNO_3 com adição de Thiram. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
(Tratamentos)	(6)	(0,0126)
Bandeja	4	0,1105 **
Solutos	1	10,0020 ns
Concentrações de Thiram	2	0,0010 ns
Solutos x conc. de Thiram	2	0,0250 **
Testemunha vs. fatorial	1	0,0208 **
Erro	23	0,0045

** = teste F significativo 1% de probabilidade

ns = teste F não significativo a 5% de probabilidade

CV = 15,24%

TABELA 6A - Teste de Dunnett ($P < 0,05$) para o contraste entre médias dos tratamentos de pré-condicionamento, com adição de Thiram, e a testemunha (sementes não condicionadas e não tratadas com Thiram) nas avaliações de germinação e primeira contagem de sementes de cenoura. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Tratamentos	Germinação	Primeira contagem
Testemunha		
PEG com 0% de Thiram	***	***
PEG com 1% de Thiram	ns	ns
PEG com 1,5% de Thiram	ns	ns
KNO_3 com 0% de Thiram	ns	***
KNO_3 com 1% de Thiram	***	***
KNO_3 com 1,5% de Thiram	***	***

*** significativo a 5%

ns = não significativo