

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

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Vanessa Ocom Menezes

Santa Maria, RS, Brasil

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

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

por

Vanessa Ocom Menezes

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

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

Santa Maria, RS, Brasil

2009

M543i Menezes, Vanessa Ocom, 1980-

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

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

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

CDU: 635.63

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

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

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

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

elaborada por
Vanessa Ocom Menezes

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

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

Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva - UFSM

Dr. Danton Camacho Garcia - UFSM

Santa Maria, 28 de fevereiro de 2009.

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

(Amyr Klink)

Dedico:

“À minha filha, Júlia, que é minha alegria e motivação de vida”

AGRADECIMENTOS

AGRADEÇO:

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

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

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

À Prof^a. Marlove Fátima Brião Muniz pela orientação, ensinamentos e acolhimento durante meu curso de mestrado

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

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

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

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

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

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

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

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

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

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

RESUMO

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

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

AUTORA: Vanessa Ocom Menezes
ORIENTADORA: Marlove Fátima Brião Muniz
Santa Maria, 28 de Fevereiro de 2009.

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

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

ABSTRACT

Master Science Dissertation
Program of Post-Graduation in Agronomy
Federal University of Santa Maria

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

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

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

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

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Wisconsin, Santa Maria-RS, 2008.....39
- Tabela 2 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Wisconsin, Santa Maria - RS, 2008...43
- Tabela 3 – Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 200848
- Tabela 4 – Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 200853
- Tabela 5 – Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Caipira, Santa Maria-RS, 2008.....57
- Tabela 6 – Dados médios obtidos nos testes utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Caipira, Santa Maria - 2008 – RS.....61
- Tabela 7 – Médias obtidas nos testes de crescimento de plântulas e massa seca de plântulas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 200865
- Tabela 8 – Médias obtidas nos testes de emergência de plantas e crescimento de plantas, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de três lotes de sementes de *Cucumis sativus* L., cultivar Caipira, após serem submetidas a diferentes tratamentos, Santa Maria - RS, 200869

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto de microscópio ótico mostrando os microconídios de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.). (aumento de 40 x)	30
Figura 2 - Sementes de pepino disposta sobre a colônia de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.).....	32
Figura 3 - Sementes de pepino dispostas sobre a colônia de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.) após 48 horas de contato.	32
Figura 4 - Grau de umidade (%) de sementes de três lotes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Wisconsin, Santa Maria - RS, 2008.	38
Figura 5 - Grau de umidade (%) de sementes de três lotes de <i>Cucumis sativus</i> L., cultivar Caipira, Santa Maria - RS, 2008	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 A cultura do pepineiro	16
2.2 Doenças das cucurbitáceas e do pepineiro	17
2.2.1 <i>Fusarium</i> spp.....	18
2.2.2 <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.)	19
2.3 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes	20
2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes	22
2.5 Método de inoculação de sementes por intermédio da técnica de restrição hídrica	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Origem e perfil dos lotes	27
3.2 Determinação do teor de umidade das sementes	28
3.3 Determinação do perfil fisiológico e sanitário dos lotes e obtenção e identificação do(s) isolado(s) fúngico(s)	28
3.4 Metodologia de inoculação de <i>Fusarium moniliforme</i> (Sheld.) em sementes de pepino pela técnica de restrição hídrica	30
3.4.1 Procedimentos de inoculação	30
3.5 Tratamentos	33
3.6 Testes em condições de laboratório	33
3.7 Testes em condições de ambiente parcialmente controlado	35
3.8 Procedimento estatístico	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Parte I - Cultivar Wisconsin	38
4.2 Parte II- Cultivar Caipira	56
5 CONCLUSÕES	73
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1 INTRODUÇÃO

A família Cucurbitaceae está dividida em cinco sub-famílias, Fevilleae, Melothriaceae, Cucurbitaceae, Sicyoideae e Cyclanthereae e, compreende, aproximadamente, 118 gêneros, compostos por 825 espécies. Os gêneros de importância econômica que compõem esta família são: *Cucurbita*, *Citrullus*, *Cucumis* e *Sechium*. Gêneros como *Lagenaria*, *Luffa* e *Monardica*, apresentam menor expressão econômica, no entanto podem ser cultivados em algumas áreas de agricultura tradicional.

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

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

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

Dentre os objetivos fundamentais de um sistema de produção de sementes, está a obtenção de uma maior qualidade fisiológica, permitindo que as

características das espécies sejam mantidas e expressas em campo. Assim, é de grande importância o desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes permitindo estimar o desempenho em condições do ambiente, bem como seu potencial de armazenamento e, assim diminuindo riscos decorrentes da comercialização de lotes deficientes em qualidade.

O fator sanitário também é de grande relevância, independente de sua transmissibilidade via semente. Sementes infectadas por patógenos apresentam um menor vigor e, sementes de menor vigor, conseqüentemente, são mais pré-dispostas ao ataque de organismos patogênicos. Desse modo, a integração entre os fatores fisiológico e sanitário na qualidade final das sementes é de suma relevância, quando se trata de sua produção.

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

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

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

patógeno, desenvolvida em meio de cultura. Esses métodos podem não assegurar a infecção das sementes e sim, apenas uma contaminação superficial das mesmas.

A metodologia de inoculação de fungos em sementes sobre meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), utilizando a técnica de restrição hídrica, surge como uma alternativa, de modo a promover altos índices de infecção, devido ao maior tempo de exposição que esta possibilita de contato das sementes com o patógeno. Alguns autores explicam que há um conteúdo mínimo de umidade que a semente deve atingir para que o processo germinativo seja iniciado e, desse modo, sob uma condição de déficit hídrico, as condições originais do meio onde as sementes estão dispostas está modificada. Então, a semente só inicia o processo de protusão radicular quando o conteúdo de água atinge um platô que depende de um potencial hídrico de equilíbrio específico, entre a semente e o meio externo. As condições favoráveis ao condicionamento osmótico variam amplamente em função das características das sementes de cada espécie e cultivar, e, possivelmente, entre lotes de uma mesma cultivar, em função dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos. Desta forma, cada potencial hídrico irá influenciar de maneira diferente na germinação e desenvolvimento da plântula de cada espécie.

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

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

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do pepineiro

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

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

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

2.2 Doenças das cucurbitáceas e do pepineiro

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

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

De acordo com Zitter et al. (1996), a murcha de fusário no pepineiro foi relatada em 1925, porém, primeiramente, descrita como causadora de danos em 1955, na Flórida. Este microrganismo pode atacar o pepineiro em qualquer estágio de seu desenvolvimento. “Damping – off” das mudas é comum, particularmente, em solos mais frios (18 – 20 °C), no entanto, “damping – off” de pré-emergência também pode ocorrer. Infecções, normalmente, se estabelecem em plantas mais velhas, resultando na murcha de toda planta e em conseqüente morte em três a cinco dias.

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

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

2.2.1 *Fusarium* spp.

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

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

O gênero pertence à subdivisão Deuteromycotina, anamórfico da ordem Hypocreales (subdivisão Ascomycotina) que reúne as fases teleomórficas do gênero *Fusarium*, como por exemplo, o gênero *Nectria*. Caracteriza-se pela produção de

conídios hialinos, septados, em forma de “canao” e denominados de macroconídios. Estes são produzidos nos esporodóquios, que consistem nas estruturas de frutificação do fungo. Algumas espécies produzem conídios em micélio aéreo, chamados de microconídios. Dependendo das condições ambientais podem ocorrer alternâncias na produção de macro e microconídios (<http://www.sis.agr.gc.ca/brd/fusarium/intro.html> acesso em 05/11/2008).

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

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

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

2.2.2 *Fusarium moniliforme* (Sheld.)

O fungo *Fusarium moniliforme* [sin. *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg] é um fungo comumente encontrado na cultura do milho e associado ao apodrecimento de

sementes, podendo interferir na qualidade fisiológica da semente e prejudicar o estande da lavoura (GOULART; FIALHO, 1999).

Os macroconídios de *F. moniliforme* são raros, hialinos, medindo de 2,4 - 4,9 x 15 - 60 µm, curvados nas extremidades, com 3 - 7 septos; os microconídios são abundantes, medindo 2 - 3 x 5 - 12 µm (SHURTLEFF, 1973). Muitos isolados do fungo *F. graminearum* produzem clamidósporos (WHITE, 1999), ao contrário de *F. moniliforme* (DENTI, 2000). Neste trabalho, utiliza-se a terminologia *Fusarium moniliforme*, embora Munkvold; O'mara (2002) optem por *F. verticillioides*. Os peritécios de *Gibberella fujikuroi* (anamorfo *F. moniliforme*) são globosos, lisos e com coloração azul-escura. As ascas são oblongas, medindo 75 - 100 x 10 - 16 µm, contendo oito ascósporos, que são retos, afinados nas extremidades, com constricção nos septos, normalmente, com um septo, medindo 4,5 - 7,0 x 12 - 17 µm e arranjados em duas fileiras irregulares (PEREIRA, 1997).

2.3 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes

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

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

Diversos são os testes utilizados para qualificar sementes de grandes culturas, mas para hortaliças, poucos são os testes disponíveis ou padronizados para essa avaliação. A primeira contagem de germinação é um teste bastante

utilizado e considerado simples, é realizado juntamente com o teste de germinação e, pode ser utilizado como um teste de vigor, pois, conforme a deterioração da semente avança a velocidade de germinação diminui. Desse modo, lotes com maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação são considerados mais vigorosos (NAKAGAWA, 1999). Esse teste, no entanto, pode apresentar baixa sensibilidade para estratificar lotes de diferentes vigor.

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

Esse teste vem sendo utilizado principalmente para a determinação do potencial fisiológico de sementes de milho (KRZYZANOWSKI et al., 1991; SILVA, 2000; CARVALHO et al., 2004), mas alguns autores já demonstram sua eficiência em sementes de hortaliças, como maxixe (TORRES et al., 1999) e tomate (RODO et al., 1998). Esse teste tem a finalidade de avaliar a habilidade das sementes germinarem quando expostas a condições de baixas temperaturas e alta umidade (CÍCERO et al., 1999). Um dos principais efeitos da baixa temperatura é dificultar a reorganização das membranas celulares durante a embebição, tornando mais lentos tanto esse processo como o de germinação (BURRIS; NAVRATIL, 1979). Sob tais condições, as sementes mais vigorosas têm maiores possibilidades de sobrevivência (FANAN, 2006).

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

Outros testes simples e práticos são os de velocidade de germinação e emergência, os quais, segundo Marcos Filho et al. (1987), baseiam-se no princípio de que a velocidade de germinação ou de emergência das plântulas é proporcional

ao vigor das sementes. Marcos Filho et al. (1984), trabalhando com testes para a avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo, concluíram que dentre os testes utilizados, o teste de velocidade de emergência foi considerado um dos mais eficientes para identificar diferenças entre o potencial de emergência das plântulas em campo.

2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes

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

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

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

Para a maioria dos fungos associados às sementes, o teste de incubação em substrato de papel, conhecido também como “Blotter Test”, é o mais freqüente e universal. Os critérios utilizados para a detecção de fungos do gênero *Fusarium* spp.

em sementes de pepino são baseados em aspectos morfológicos. Neste caso, procuram-se condições que possam estimular o fungo a produzir estruturas que permitam a sua identificação com auxílio de microscópio estereoscópico, como os conídios e conidióforos.

É comum adicionar ao substrato de papel, o sal de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 – D), de modo a evitar ou reduzir a germinação das sementes durante os testes de incubação, (MACHADO; LANGERAK, 1993). Mesmo esses testes sendo considerados rotineiros, eles ainda apresentam limitações, pois nem sempre permitem uma diagnose precisa e correta em termos de distinguir subespécies, variedades e raças (TANAKA; MENTEN, 1988; TANAKA, 1995; VIEIRA, 1996). Apesar de padronizado para a maioria dos fungos, o método apresenta limitações por ter, geralmente, sua sensibilidade comprometida em lotes de sementes altamente contaminados por microrganismos saprófitas e seu uso ser restrito a fungos necrotróficos que produzem estruturas de fácil identificação (MACHADO, 2002; MCGEE, 2002;).

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

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

O pepineiro é uma espécie propagada via sementes e, a produção brasileira de sementes de hortaliças ganhou um grande impulso no final da década de 90, principalmente, pela atuação de empresas multinacionais no mercado, que incentivaram a produção de pesquisas nessa área. Num primeiro momento, as

pesquisas voltaram-se para a introdução de materiais genéticos adaptados às condições de produção do Brasil, após uma fase de adequação inicial das cultivares, sistemas de produção, embalagens e comercialização, emergiu uma demanda por pesquisas que fornecessem informações capazes de permitir apoio ao controle de qualidade durante as diversas etapas do processo de produção de sementes (GOULART; TILLMANN, 2007)

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

A imersão das sementes em uma suspensão de conídios e/ou hifas ou apenas seu revestimento externo com esporos do fungo consiste num dos métodos mais simples e tradicionais de inoculação de sementes (AGARWAL; SINCLAIR, 1987; TANAKA; MENTEN, 1991). Outro método utilizado seria o contato das sementes com a colônia fúngica, desenvolvida em meios de cultura convencionais, como os meios agarizados (SANTOS, 1995; ALBUQUERQUE, 2000). Por estes métodos, no entanto, os fungos ficam, em sua maioria, aderidos ao tegumento das sementes, dessa maneira o processo de infecção não é assegurado, em níveis satisfatórios, mas sim apenas a contaminação superficial das sementes (TANAKA; MENTEN, 1991; MACHADO et al., 2001). Além disso, existe outro fator limitante, o tempo de exposição das sementes à colônia fúngica, visto que as sementes podem iniciar o processo de germinação em curto período de tempo, dependendo da espécie avaliada (MACHADO et al., 2001).

O interesse em tratamentos que envolvam o início das atividades pré-germinativas levou ao desenvolvimento de estudos envolvendo técnicas que permitam controlar a hidratação e a germinação das sementes. Entre estes estudos, destaca-se a técnica da restrição hídrica (MACHADO; LANGERAK, 2002) relatada para sementes de diferentes espécies, também referida como condicionamento osmótico (EIRA, 1988; GUIMARÃES, 1991; BRACCINI, 1996), "priming" (HEYDECKER et al., 1975), condicionamento fisiológico (DONI - FILHO, 1992), entre

outras denominações. A técnica da restrição hídrica consiste em colocar as sementes em contato com um substrato, com o potencial hídrico ajustado para que a semente absorva água até um nível em que todos os processos preparatórios à germinação ocorram, no entanto, sem atingir a fase de alongamento celular e, conseqüentemente, a emissão da radícula (HEYDECKER et al., 1975; BRADFORD, 1986).

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

Machado et al. (2001a) mostraram que o uso da restrição hídrica em meio BDA com manitol possibilitou um maior tempo de exposição de sementes de milho aos fungos *Diplodia maydis*, *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium acremonium* propiciando um maior número de plântulas doentes oriundas de sementes inoculadas e, que foram alcançados maiores índices de infecção das sementes em potenciais hídricos na faixa de -0,8 a -1,2 MPa. O mesmo comportamento foi verificado em experimentos com *Colletotrichum truncatum*, *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja (MACHADO et al, 2001) e, com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, e *Botryodiplodia theobromae* em sementes de algodão (MACHADO, 2002).

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

Por meio desta técnica, a inoculação de sementes mostra-se eficiente e bastante promissora para todos os patossistemas estudados (CARVALHO, 1999; MACHADO, 2002; MACHADO et al., 2001, 2002, 2004; COSTA et al., 2003; CELANO, 2004). A metodologia consiste na exposição das sementes ao fungo desenvolvido em meio

de cultura contendo um restritor hídrico, por diferentes períodos de tempo. Essa técnica permite a obtenção de sementes com diferentes potenciais de inóculo (COSTA et al., 2002; PRADO et al., 2002; SOUSA et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

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

3.1 Origem e perfil dos lotes

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

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

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

3.2 Determinação do teor de umidade das sementes

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

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

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

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

A determinação do perfil fisiológico dos lotes de sementes de pepino foi feita através de um teste de germinação, de modo a verificar se a porcentagem de germinação de cada lote estava dentro dos padrões normais previstos.

O teste de germinação foi realizado segundo esta metodologia: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada um dos lotes e para cada tratamento, semeadas em rolos de papel umedecidos com água destilada no volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, e posteriormente, levado ao germinador regulado a temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 h de escuro. As avaliações foram realizadas aos quatro e oito dias após a semeadura, sendo contabilizadas as porcentagens de plântulas normais (BRASIL, 1992).

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

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

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

Seguindo a metodologia descrita por Ventura (2000), esporos de cada colônia purificada foram repicados para três placas de Petri com meio de cultura BDA e incubadas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 72 horas, foram medidos os diâmetros das colônias desenvolvidas. Porções dessas colônias também foram transferidas para placas de Petri com meio de cultura ágar-água (AA) e folhas de cravo (FCA). Depois de dez dias, algumas folhas de cravo foram transferidas para lâminas e examinadas ao microscópio ótico bem como diretamente nas placas. A identificação da espécie de *Fusarium* foi feita seguindo a chave de classificação de Ventura (2000) e descrições feitas por Gerlach e Nirenberg (1982).

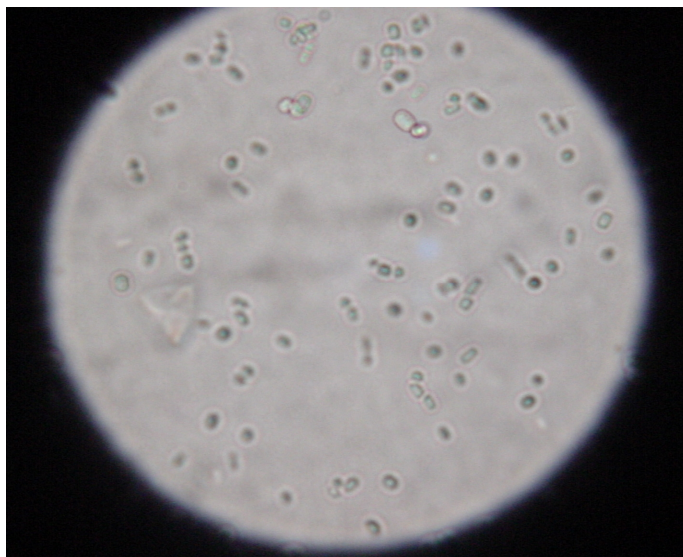


Figura 1. Foto de microscópio ótico mostrando os microconídios de *Fusarium moniliforme* (Sheld.). (aumento de 40 x).

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

3.4.1 Procedimentos de inoculação

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

Dessa forma, foram preparadas placas de Petri de vidro de 15 cm de diâmetro, contendo 50 mL de meio BDA com potencial de água de -0,8 MPa (Megapascal), obtido pela suplementação com 33,10 g/L de manitol, segundo Coutinho et al. (2001). O cálculo para obtenção da quantidade de manitol necessária para o potencial hídrico desejado foi obtido por meio da fórmula de Van't Hoff, citada por Souza; Cardoso, 2000.

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

sendo:

Ψ_{os} = Potencial osmótico (Mpa)

i = Coeficiente isotônico

R = Constante geral dos gases perfeitos (0,0083 Mpa x 1 x mol⁻¹ x K⁻¹)

T = Temperatura absoluta (°K)

C = Concentração (mol/L)

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



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

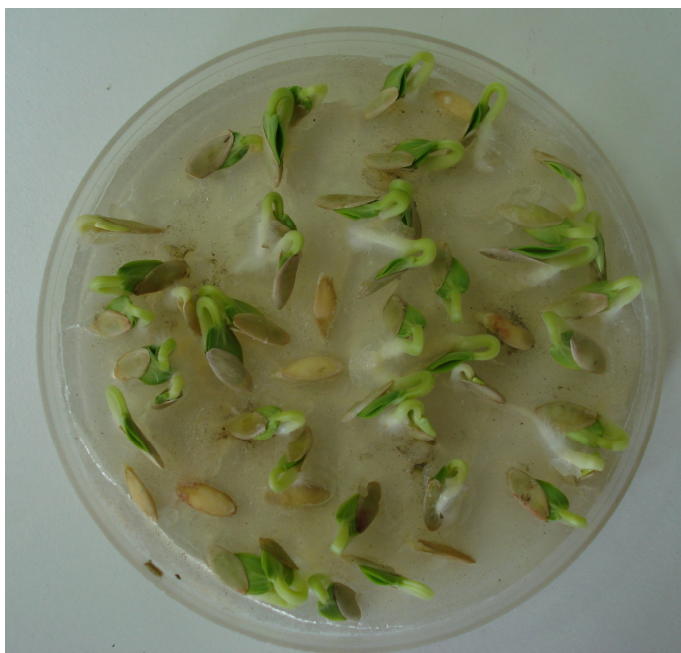


Figura 3: Sementes de pepino dispostas sobre a colônia de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) após 48 horas de contato.

3.5 Tratamentos

Foram aplicados cinco tratamentos para cada uma das cultivares e para cada um dos três lotes utilizados no experimento. Esses tratamentos foram prévios às aplicações dos testes e constaram de:

- **Tratamento 1 (T1):** testemunha absoluta, onde não foi aplicado nenhum tratamento, ou seja, sem restrição hídrica (0 Mpa).

- **Tratamento 2 (T2):** tratamento apenas com as sementes dispostas sobre o meio de cultura BDA, sem adição de manitol ao meio, o qual apresenta um potencial hídrico de, aproximadamente, - 0,35 Mpa (SOMMERS et al., 1970; WEARING; BURGUESS, 1979).

- **Tratamento 3 (T3):** tratamento com sementes dispostas em meio de cultura modificado pela adição do soluto manitol, num potencial hídrico de - 0,8 Mpa.

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

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

3.6 Testes em condições de laboratório

Os testes descritos a seguir foram realizados em condições controladas de laboratório. As avaliações realizadas foram: teste de germinação, primeira contagem de germinação, teste de frio, crescimento de plântulas (hipocótilo e radícula) e massa seca de plântulas (hipocótilo e radícula) e teste de sanidade.

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

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

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

Teste de crescimento de plântulas: foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes para todos os lotes, sendo a semeadura no terço superior do papel umedecido com água destilada, no volume de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos contendo as sementes foram levados aos germinadores por cinco dias, à temperatura constante de 25° C. Após cinco dias, as plântulas foram aleatoriamente separadas em quatro repetições de 10 plântulas para cada lote, sendo estas submetidas às medições (BRASIL, 1992).

Para obtenção dos dados de **comprimento de hipocótilo** foram realizadas as medidas da zona de diferenciação entre radícula/hipocótilo até os cotilédones, e para a medição da radícula foi considerado o comprimento da raiz primária, usando-

se régua com graduação em milímetros (mm). Os comprimentos, tanto de hipocótilo como de radícula, foram formados a partir da média das 10 plântulas avaliadas e expressos em centímetros (cm).

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

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

3.7 Testes em condições de ambiente parcialmente controlado

Os testes descritos a seguir foram realizados em condições parcialmente controladas de casa de vegetação. As avaliações realizadas foram: emergência de plântulas, comprimento de plantas (hipocótilo e radícula), massa seca de plantas (hipocótilo e radícula) e índice de velocidade de emergência (IVE).

Emergência de plantas: conduzido em casa de vegetação, utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax®, realizado com quatro

repetições de 25 sementes para cada lote e para cada tratamento. Foram feitas irrigações diárias e a avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas.

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

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

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

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

Onde:

IVE = índice de velocidade de emergência;

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

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

3.8 Procedimento estatístico

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

4.1 Parte I - Cultivar Wisconsin

Os lotes utilizados no experimento apresentaram valores iniciais distintos em relação ao grau de umidade das sementes de pepino, cultivar Wisconsin, o que pode ser visualizado na Figura 1.

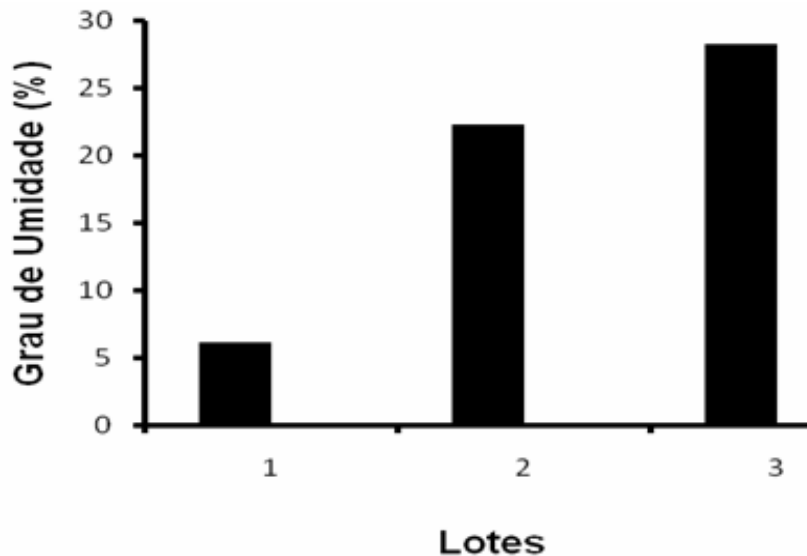


Figura 4: Grau de umidade (%) de sementes de três lotes de *Cucumis sativus* L., cultivar Wisconsin, Santa Maria - RS, 2008.

Nota-se uma acentuada variação nos graus de umidades entre lotes, sendo que sementes provenientes do lote 1 apresentaram uma porcentagem de umidade de 6,12%, enquanto sementes dos lotes 2 e 3, respectivamente, apresentaram porcentagens de umidade de 22,86 e 28,23%. Essa diferença, provavelmente,

ocorreu devido ao processo de diferenciação inicial de lotes através do envelhecimento artificial por diferentes períodos de tempo. Segundo Marcos Filho (1999), diferenças maiores que 2% no grau de umidade entre amostras são comprometedoras, sendo que variações acentuadas podem determinar diferenças na intensidade de deterioração das sementes.

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

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

Os dados referentes à avaliação inicial da qualidade sanitária dos três lotes de sementes de pepino, cultivar Wisconsin, encontram-se na Tabela 1. Foram detectados os seguintes fungos associados às sementes: *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Muccor* spp..

Tabela 1 – Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Wisconsin, Santa Maria-RS, 2008.

	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.
Lote				
1	1 a	7 a	13 a	1 a
2	0 a	11 a	10 a	0 a
3	0 a	18 a	11 a	0 a
C.V. (%)	0,53	6,07	5,77	1,01
	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizoctonia</i> spp.	<i>Muccor</i> spp.
Lote				
1	1 a	2 b	1 a	0 a
2	0 a	7 b	0 a	1 a
3	0 a	20 a	0 a	0 a
C.V. (%)	0,84	3,58	0,8	0,53

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

É possível constatar a baixa incidência de patógenos nos três lotes avaliados, demonstrando a boa qualidade sanitária dos mesmos. Os fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. foram os que obtiveram uma maior porcentagem nos três lotes.

Para *Aspergillus* spp. não houve diferença significativa entre os três lotes. Resultados semelhantes para esse fungo foram obtidos por Casaroli (2005) em estudos realizados com lotes de sementes de abóbora provenientes de diferentes sistemas de produção. É importante ressaltar que esse gênero destaca-se como um fungo de armazenamento, causador de podridões em sementes (MENTEN, 1995; ZITTER et al., 1996).

No entanto, para *Penicillium* spp., o lote 3 apresentou uma incidência bem superior aos demais (20%). Esse gênero é considerado um patógeno típico causador de podridão em sementes e responsável por reduções na viabilidade e longevidade (MACHADO, 1988). *Penicillium* spp. não é transmitido para as plântulas e plantas, como ocorre com o gênero *Fusarium* spp., o qual pode causar podridões de sementes, morte de plântulas em pré e pós-emergência, e podridões de raízes e colmos (PEREIRA, 1991). No entanto, *Penicillium digitatum* Sacc. pode promover podridões em frutos de cucurbitáceas (REGO, 1995). Muniz et al. (2004), em seus estudos realizados com sementes de duas cultivares de melão, constataram que *Aspergillus* spp. interfere na qualidade fisiológica do meloeiro. Cabe ressaltar, ainda que no presente trabalho, o lote 3 apresentava um grau de umidade superior aos demais lotes, o que pode ter favorecido o desenvolvimento desse patógeno.

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

Fusarium spp. apareceu em pequenas quantidades nos três lotes, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Esse fungo se destaca por ser transmitido via sementes e como importante patógeno em cucurbitáceas, como melancia e melão,

por causar murchas vasculares e tombamentos de plântulas, além de também podem atacar raízes e colo de planta abóbora e abobrinha (REGO, 1995; ZITTER et al., 1996). Da mesma forma que foi constatado para *Aspergillus* spp., Muniz et al. (2004), também constataram que *Fusarium oxysporum* prejudica a qualidade fisiológica de sementes de melão.

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes aos dados médios obtidos nos testes de germinação, primeira contagem de germinação e teste de frio, utilizados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pepino da cultivar Wisconsin, após serem submetidas a diferentes tratamentos.

Para o teste de germinação, observou-se que não houve interação entre os dois fatores avaliados no experimento, demonstrando que os resultados dos tratamentos aplicados nas sementes foram independentes dos lotes utilizados. No entanto, as maiores médias de germinação foram obtidas no lote 1, embora não tenham diferido do lote 2. As menores médias de germinação foram obtidas no lote 3, as quais, também, não diferiram estatisticamente do lote 2. Marcos Filho (2001) afirma que o teste de germinação apresenta limitações em termos de estratificação dos lotes e relação com os resultados em campo. No entanto, Bhering et al. (2000) avaliaram sementes de pepino e concluíram que o teste de germinação mostrou ser um bom indicativo de qualidade fisiológica das sementes mas, não garantiu uma alta emergência em campo de lotes com maior germinação. Outros autores, como Barros et al. (2002) e Cardoso (2003) também conseguiram separar lotes de sementes de abobrinha (*Cucurbita pepo*) e abobrinha cultivar Piramoita, respectivamente. Porém, esses autores detectaram diferentes níveis de qualidade fisiológica nos lotes avaliados, comprovando que o teste de germinação é um bom indicador de qualidade fisiológica para sementes dessa espécie.

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

Baseado nestes resultados, fica evidenciada a eficácia da metodologia de inoculação através da restrição hídrica, além de reforçar resultados de outros estudos, nesta linha de pesquisa, como os de Machado et al. (2004). Estes autores observaram que *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* e *Colletotrichum gossypii* e *C.*

gossypii var. *cephalosporioides* inoculados em sementes de algodoeiro, sob diferentes potenciais osmóticos (-0,4 a -1,0 MPa) provocaram redução de germinação e conseqüente aumento no porcentual de sementes mortas. Ainda, Machado et. al. (2001b), trabalhando com inoculação de *C.truncatum*, *Phomopsis*

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

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

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

sojae e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de soja, observaram que a porcentagem de germinação das sementes inoculadas com o fungo *C. truncatum* foi drasticamente reduzida e que o fungo *P. sojae* foi também extremamente agressivo, ocasionando uma redução da germinação para menos de 20% em sementes que permaneceram em contato com inóculo. Em relação a *S. sclerotiorum*, as sementes apresentaram germinação abaixo de 20% e nos potenciais de -0,6; -0,8 e no potencial hídrico de -1,0MPa, praticamente, não houve germinação, apresentando mais de 90% de sementes mortas.

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

Os tratamentos 4 e 5 apresentaram as menores médias, ratificando a influência de *F. moniliforme* na qualidade das sementes. Para o tratamento 2, o lote 3 apresentou uma maior porcentagem de germinação na primeira contagem (71%), em relação aos demais lotes, no entanto, essa porcentagem praticamente se estabilizou, aumentando muito pouco quando foi contabilizada a segunda contagem do teste de germinação, fato que não ocorreu com os demais lotes.

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

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

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

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

Na avaliação da porcentagem de plântulas anormais, verifica-se que no lote 1 as maiores porcentagens ocorreram nos tratamentos 2, 4 e 5. O manitol tem sido comumente utilizado como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico porque é um composto quimicamente inerte e não tóxico (ÁVILA et al., 2007), que não deve causar alterações estruturais nas sementes, não pode penetrar através do sistema de membranas e nem ser metabolizado pela planta. No entanto, o manitol não obedece completamente essas regras (RIBEIRO et al., 2002). Slavik (1974) considerou que o manitol, pode penetrar nas sementes durante a germinação, mostrando-se, inclusive fitotóxico, o que pode justificar a porcentagem de 17% de plântulas anormais no tratamento 2. Contudo, o tratamento 4 apresentou a maior porcentagem de plântulas anormais (29%), demonstrando o efeito da infecção pelo patógeno através da restrição hídrica. Os tratamentos 1 e 3 apresentaram baixa incidência de plântulas anormais. No lote 2, se mantêm as porcentagens maiores de plântulas anormais para os tratamentos 4 e 5. Já no lote 3, o tratamento 4 apresentou a maior porcentagem de plântulas anormais (32%), comprovando a interação entre o soluto manitol e a inoculação de patógenos em sementes. No tratamento 1 (testemunha absoluta), o lote 3 obteve os maiores índices de plantas anormais e, no tratamento 3, os maiores índices foram observados no lote 2. Henrique et al. (2008) utilizando a técnica da restrição hídrica para inoculação de *Alternaria alternata* em sementes de melão, obtiveram maiores índices de plantas anormais quando se inoculou o patógeno em sementes mais úmidas, o que no presente trabalho, é representado pelos lotes 2 e 3.

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

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

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

Os resultados relativos ao estresse causado as sementes de pepino pelo teste de frio para o lote 1, mostraram que os tratamentos 4 e 5 apresentam uma baixa porcentagem de plântulas normais em condições de frio, sendo 23 e 56 %. No lote 2, os tratamentos 2, 3 e 5 não diferiram entre si, embora tivessem diferido da testemunha absoluta (T1) e do tratamento 4. O tratamento 4 apresentou uma baixa porcentagem de plântulas normais (16%) em relação aos outros tratamentos, provavelmente, devido a combinação da quantidade de inóculo de *F. moniliforme* com as condições de baixa temperatura. No lote 3, apenas os tratamentos com inoculação de *F. moniliforme* diferiram dos demais, expressando baixos índices de plântulas normais. Nos tratamentos 1 e 5 apenas o lote 3 diferiu dos demais, apresentando uma menor porcentagem de plântulas normais no teste de frio. Estudos realizados por Jungues et al. (2008a) com sementes de cenoura inoculadas

com espécies de *Alternaria* através da técnica da restrição hídrica utilizando manitol, também afirmaram que lotes de sementes que receberam o inóculo e foram submetidas ao teste de frio tiveram menor porcentagem de plântulas normais do que a testemunha (sem inóculo)

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

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

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

Na Tabela 3 estão expressos os resultados relativos ao teste de crescimento de plântulas. Para todas as variáveis, ocorreu interação entre os fatores, indicando que o efeito dos tratamentos depende da qualidade das sementes, diferenciada através dos lotes. Constatou-se que na variável comprimento de hipocótilo, para o lote 1 todos os tratamentos diferiram significativamente da Testemunha (T1), no entanto, os tratamentos 2 e 3 não diferiram entre si. Esses tratamentos apresentavam uma baixa disponibilidade de água, devido ao potencial hídrico do meio de cultura e, segundo Silva (1989), em geral, a baixa disponibilidade de água

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

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

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

afeta o tamanho das plântulas. Os tratamentos 4 e 5, obtiveram as menores médias, 3,30 e 2,50 cm, respectivamente, demonstrando a interferência da inoculação de *F. moniliforme* no tamanho das plântulas. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Jungues et al. (2008), trabalhando com inoculação de *A. alternata* e *A. dauci* em sementes de cenoura, estes autores comprovaram que a presença dos patógenos, em geral, ocasionou plântulas com menores tamanhos, principalmente quando as sementes foram inoculadas com *A. alternata*. No entanto, Henrique et al. (2008), encontraram resultados divergentes para sementes de melão inoculadas através da restrição hídrica com *A. alternata*, esses autores constataram que as sementes com inóculo deram origem à plântulas com maiores comprimentos de hipocótilo, demonstrando que a *A. alternata* não afetou esse parâmetro. Para os lotes 2 e 3 não houveram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados.

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

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

Conforme Mathews; Powell (1986), a resposta das sementes colocadas para germinar sob condições de deficiência hídrica tem mostrado ser dependente da qualidade fisiológica da semente. Dessa forma, sementes com melhores qualidades

fisiológicas tem sido associadas com os melhores desempenhos em testes de vigor, o que pode ser observado para o lote 1.

Alguns estudos em outras espécies de hortaliças, feijão vignia (BIAS et al., 1999) e alface (FRAZIN, 2003) identificaram dificuldades na estratificação de lotes de sementes através da determinação do comprimento de plântula analisado manualmente, alegando que, para a avaliação do teste, são consideradas apenas as plântulas normais, as quais poderiam mascarar os resultados do teste, diminuindo as diferenças existentes entre os lotes. No entanto, há indicação de que o comprimento de plântulas pode ser um teste eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, por meio de métodos de análise computadorizada de imagens (MARCOS FILHO, 2001; SAKO et al., 2001).

Com relação aos resultados obtidos na determinação de fitomassa seca, os tratamentos sem a presença do patógeno (1, 2 e 3) no lote 1, não se diferenciaram estatisticamente. Para o lote 2, não houve diferença estatística entre esses tratamentos (1 e 2) e entre os tratamentos 3, 4 e 5, mas os tratamentos 1, 2 e 3, diferiram dos tratamentos com presença de *F. moniliforme*. Esses resultados mostram que plântulas oriundas de sementes inoculadas com *F. moniliforme* apresentam redução de massa. Para o lote 3, os tratamentos 2 e 5 não diferiram da testemunha, resultado que já era poderia ser esperado para o tratamento 5, pois este tratamento, combinado com o lote 3, apresentou uma alta média de comprimento de raiz, o que, certamente, influenciou no resultado da fitomassa seca da plântula. O tratamento 4 apresentou a menor média de fitomassa seca, o que também já era esperado, devido as médias de comprimento de hypocótilo e de raiz apresentadas. Esse teste informou que houve diferença estatística entre os lotes em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 5. Vidal (2005) trabalhando com sementes de abóbora de diferentes tamanhos observou estratificação nas classes de tamanho através da determinação da fitomassa seca de hypocótilos e raízes.

Estudos realizados por Henrique et al. (2008) com sementes de melão inoculadas com *A. alternata* corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, pois os autores afirmam que teste de fitomassa seca na presença de inoculação de patógenos não apresentou diferença estatística entre os lotes. Franzin et al. (2004) também não obtiveram diferenças significativas entre lotes de alface. Porém, as plântulas utilizadas no experimento foram obtidas a partir das plântulas normais do

teste de comprimento, o que pode ter influenciado os resultados dos autores. Tal fato, associado à reduzida massa produzida pelas sementes pequenas, exigiu cuidados redobrados na execução do teste, o que pode ter levado a desvios que não permitiram a diferenciação dos lotes.

Os resultados referentes aos testes realizados em condições parcialmente controladas: emergência e crescimento de plantas estão expostos na Tabela 4. É possível verificar-se que no teste de emergência em campo todos os tratamentos estratificaram os lotes em níveis de vigor e, que houve interação entre lotes e tratamentos, indicando a dependência do efeito de um fator sobre o outro. No lote 1, as maiores porcentagens de germinação foram obtidas no tratamento 1 (Testemunha), o qual diferiu dos demais tratamentos. Esses resultados são condizentes com o trabalho de Àvila et. al. (2007), testando diferentes potenciais hídricos através da utilização de manitol na germinação, em campo, de sementes de milho. O tratamento 2 não se diferenciou estatisticamente do tratamento 5. Isso pode ser explicado devido a adição de manitol ao meio de cultura no tratamento 2, o que diminuiu a porcentagem de emergência das plântulas, fato também observado no trabalho de Àvila et. al. (2007), que à medida que o potencial hídrico utilizado decrescia, a germinação decrescia também. Aqueles tratamentos onde houve a inoculação de *F. moniliforme* (T4 e T5) apresentaram as menores porcentagens de germinação em campo (34 e 40 %, respectivamente). Nos lotes 2 e 3, os resultados foram semelhantes, onde os tratamentos 1, 2 e 3 não se diferenciaram e, os tratamentos 4 e 5 mantiveram as menores porcentagens de germinação. Estudos realizados com inoculação artificial de sementes de soja com o fungo *C. truncatum* demonstraram que a emergência de plantas aos 21 dias foi praticamente nula, num potencial de $-1,0$ Mpa e que no meio sem restritor hídrico (potencial zero) a porcentagem de emergência de plantas foi de 30%, o que sugere uma grande agressividade desse patógeno (MACHADO, et al., 2001b).

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

Quando as sementes não foram submetidas a qualquer tratamento (Testemunha), houve diferenciação dos lotes de sementes de pepino em três níveis

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

	Emergência (%)				Índice de velocidade de emergência (IVE)				Comprimento de hipocótilo (cm)			
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
	Lotes											
Tratamentos												
T1	82 aA	59 aB	50 aB	64	17,16 aA	12,03 aB	8,88 aC	12,69	2,83 aA	2,36 aA	1,76 aB	2,32
T2	56 bcA	53 aAB	42 aB	50	9,17 bA	8,02 bA	8,08 aA	8,42	2,04 bA	1,78 abA	1,50 aB	1,76
T3	66 bA	66 aA	51 aB	61	14,52 aA	12,03 aA	9,93 aB	12,55	2,81 aA	2,41 aA	1,84 aB	2,35
T4	34 dA	28 bAB	16 bB	27	4,94 cA	4,38 cA	3,92 bA	4,41	1,37 cA	1,51 bA	1,22 aA	1,37
T5	40 cdA	35 bA	21 bB	32	5,90 cA	6,51bcA	4,45 bA	5,62	1,24 cA	1,25 bA	1,42aA	1,30
Média	56	48	3 36		10,34	8,83	7,05		2,06	1,87	1,55	
C.V. (%)	10,09				16,22				17,56			
	Comprimento de raiz (cm)				Massa seca (g)							
	Lotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média				
Tratamento												
T1	9,25 aA	6,66 aB	5,10 aC	7,00	0,76 aA	0,66 aB	0,419 abC	0,61				
T2	4,56 bA	3,73 bA	3,82 aA	4,06	0,51 aA	0,35 bB	0,342 bcB	0,40				
T3	9,15 aA	6,45 aB	4,68 aC	6,76	0,84 aA	0,61 aB	0,51 aC	0,65				
T4	2,50 cA	2,97 bcA	2,24 bA	2,57	0,24 cAB	0,31 bA	0,20 dB	0,27				
T5	1,89 cA	1,97 cA	2,07 bA	1,98	0,26 cA	0,28 bA	0,28 cdA	0,27				
Média	5,47	4,36	3,60		0,52	0,44	0,35					
C.V. (%)	14,37				12,01							

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

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

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

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

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

No teste de comprimento de raiz, o lote 1 exibiu o mesmo comportamento apresentado para o teste de comprimento de hipocótilo, devido as mesmas razões já

citadas acima. No lote 2, novamente, os tratamentos 1 e 3 diferiram dos demais, apresentando as maiores médias. Os tratamentos 4 e 5 obtiveram as menores médias, o que já era esperado, devido a inoculação de *F. moniliforme*. No lote 3, os tratamentos 1, 2 e 3 obtiveram as melhores médias de comprimento de raiz.

Vanzolini et al. (2007), trabalhando com lotes de sementes de soja obtiveram resultados consistentes, que permitiram concluir que o teste de comprimento de raiz é sensível para diferenciar lotes de sementes de acordo com sua qualidade fisiológica. Sampaio et al. (2001), comprovaram a possibilidade da estratificação de lotes de sementes de abóbora, em função do vigor, a partir dos testes de comprimento de raiz.

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

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

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

4.2 Parte II - Cultivar Caipira

Os três lotes de sementes de pepino, cultivar Caipira, apresentaram diferentes porcentagens iniciais quanto aos graus de umidade de suas sementes, o que pode ser visualizado na Figura 5.

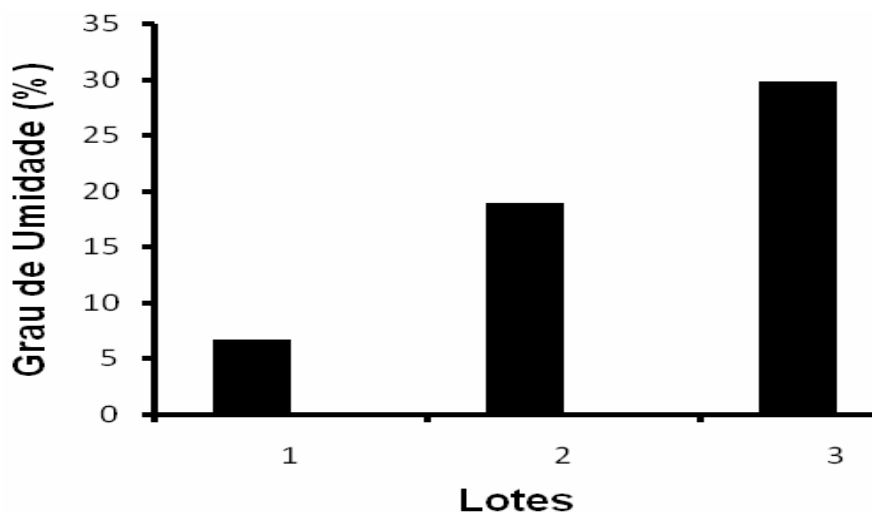


Figura 5: Grau de umidade (%) de sementes de três lotes de *Cucumis sativus* L., cultivar Caipira, Santa Maria - RS, 2008.

O lote 1, o qual não foi submetido ao envelhecimento acelerado (tempo zero) apresentou um percentual de umidade de 6,12%. Já, as sementes dos lotes 2 e 3 que foram submetidos a tempos de 12 e 36 horas de envelhecimento, respectivamente, apresentaram um grau de umidade de 22,26 e 28,23%.

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

Dessa forma, devem ser considerados o grau de umidade de segurança, o grau de umidade crítico e o teor letal de água para cada espécie. O grau de umidade de segurança corresponde à umidade que pode ser atingida sem prejuízos à viabilidade das sementes; o grau de umidade crítico refere-se ao grau de umidade

no qual é detectado o início da perda de viabilidade; e o teor letal de água significa o limite ao qual todas as sementes perdem a viabilidade (HONG; ELLIS, 1996).

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

Na tabela 5 estão expressos os dados referentes a análise sanitária inicial dos três lotes de sementes de pepino, cultivar Caipira.

TABELA 5 - Fungos associados a três lotes de sementes de pepino, cultivar Caipira, Santa Maria – RS, 2008.

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

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

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

Fusarium spp. foi detectado em todos os lotes, com uma maior porcentagem no lote 2 (6%), no entanto, este não diferiu estatisticamente do lote 1(3%) e, o lote

1 não diferiu do lote 3. Menezes et al. (2008), trabalhando com diferentes tempos de envelhecimento acelerado em sementes de zínia colhidas em diferentes épocas também encontraram incidência desse patógeno nas sementes, com maior expressão em um lote submetido a um período de 96 horas de envelhecimento artificial, ou seja, onde as sementes apresentavam um alto grau de umidade. Ainda, em trabalhos com zínia, Pedroso et al. (2008), obtiveram uma incidência de 95% de sementes contaminadas por *Fusarium* spp. naquelas sementes colhidas em um período de maior umidade relativa. Em sementes de cucurbitáceas, Muniz et al. (2004), comprovaram que *Fusarium oxysporum* é um importante patógeno da cultura do meloeiro, causando murchas vasculares.

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

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

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

Rhizopus spp. e *Trichoderma* spp. apareceram também em uma quantidade considerável no lote 2 (15 e 20%, respectivamente), no entanto não diferiram

estatisticamente dos outros lotes e, esses fungos, muitas vezes aparecem como contaminantes ou antagonistas nas amostras e não, necessariamente como patógenos.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Para sementes mortas, no lote 1, a maior porcentagem dessas ocorreu nos tratamentos 3 e 5. Nos lotes 2 e 3, nenhum dos tratamentos diferiu. Em relação aos lotes, apenas o lote 1 se diferenciou dos demais, no tratamento 5. Fato que mais uma vez ratifica os princípios da fitopatologia, que para que a doença ocorra necessita-se de um hospedeiro suscetível, um patógeno infectivo e um ambiente favorável, dinâmica que fundamenta as discrepâncias nos resultados. Esses resultados corroboram o que Machado et al. (2004) concluíram em seus trabalhos com sementes de algodão, que o uso inoculação de patógenos através da restrição hídrica aumenta o número de sementes mortas, devido ao índice de infecção alcançado pela técnica.

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

Segundo Burris; Navratil (1979), uma das principais conseqüências da baixa temperatura é dificultar a reorganização das membranas celulares durante a embebição das sementes, tornando mais lentos tanto esse processo como o de

germinação. Esse fato associado à baixa disponibilidade de água no meio, além da inoculação de *F. moniliforme*, certamente contribuiu para a expressão dessa baixa porcentagem de plântulas normais quando foi aplicado o tratamento 4 às sementes de pepino.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Para a variável massa seca de plântulas, também não houve interação significativa entre os dois fatores que compõem o bifatorial estabelecido no

experimento. Apenas a testemunha (T1) se diferenciou estatisticamente dos outros tratamentos, mostrando uma fitomassa seca superior. Conforme Ávila (2007), com relação a variável biomassa seca das plântulas, observou-se que, com o decréscimo do potencial osmótico, ocorreu redução na massa seca das plântulas de canola a partir do nível de potencial osmótico de - 0,50 MPa. A variação da biomassa seca nos níveis de potencial de zero a -0,50 MPa foi pequena, mas a partir do nível desse potencial, o decréscimo na biomassa seca foi bastante acentuado.

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

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

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

A maior média de porcentagem de emergência (58%) foi obtida no tratamento testemunha, o qual não diferiu do tratamento 3. Da mesma forma como ocorreu com a cultivar Wisconsin (parte I), os tratamentos 2 e 5 também não diferenciaram novamente. O tratamento 4 apresentou a menor porcentagem de emergência (19%), diferindo dos demais tratamentos, ratificando que esse tratamento constou da

combinação da restrição hídrica com a inoculação de patógeno. Estudos revelaram que sementes de soja inoculadas através da técnica

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

	Emergência (%)				Índice de velocidade de germinação				Comprimento de hipocótilo (cm)			
	Lotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média
Tratamentos												
T1	59	66	51	58 a	10,71 aB	15,53 aA	10,56 aB	12,20	4,57 aA	3,97 aB	3,25 aC	3,93
T2	50	43	31	41 b	8,98 abA	6,88 bA	7,63 abA	7,83	3,10 bA	2,98 aA	2,92 aA	3,00
T3	63	61	45	56 a	12,01 aA	9,56 bAB	7,39 aB	9,65	3,25 bA	2,18 cB	3,10 aA	2,84
T4	28	18	13	19 c	3,60 cA	3,36 cA	1,64 cA	2,89	2,25 cAB	2,15 cB	2,79 aA	2,40
T5	45	32	30	36 b	7,62 bA	7,07 bA	5,21 bA	6,63	2,30 cA	2,35 bcA	2,67 aA	2,44
Média	49 A	44 A	33 A		8,60	8,44	6,49		3,09	2,73	2,95	
C.V. (%)		9,69				19,26				11,72		
	Comprimento de raiz (cm)				Massa seca (g)							
	Lotes											
	L1	L2	L3	Média	L1	L2	L3	Média				
Tratamentos												
T1	8,89 aA	7,31 aB	5,85 aC	7,35	0,83 aA	0,67 aB	0,55 aC	0,68				
T2	5,44 bA	5,13 bA	4,72 bA	5,10	0,49 cA	0,46 bA	0,44 bA	0,46				
T3	5,85 bA	5,19 bA	5,44 abA	5,49	0,61 bA	0,63 aA	0,53 aB	0,59				
T4	3,28 cB	3,18 cB	5,77 aA	4,08	0,36 dB	0,29 cB	0,44 bA	0,36				
T5	3,37 cB	2,99 cB	5,25 abA	3,87	0,27 dA	0,28 cA	0,33 cA	0,29				
Média	5,37	4,76	5,41		0,51	0,47	0,46					
C.V. (%)		8,15				9,42						

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

da restrição hídrica com *Sclerotinia sclerotiorum*, num potencial de -1,0 MPa, foi letal a todas as sementes e, no meio sem restrição hídrica apenas 20% das sementes emergiram (MACHADO, et al., 2001b).

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

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

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

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

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

O tratamento 1 foi capaz de estratificar os lotes de sementes de pepino da cultivar Caipira em três categorias, de acordo com a sua qualidade fisiológica. O lote

1 obteve as maiores médias, sendo considerado o lote de qualidade superior, o lote 2 foi considerado como de qualidade fisiológica intermediária e, o lote 3, àquele com uma qualidade inferior. Os tratamentos 2 e 5 não foram eficientes para promover esse tipo de distinção fisiológica e, os tratamentos 3 e 4, conseguiram classificar as sementes de acordo com duas categorias fisiológicas.

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

No lote 3, a Testemunha (T1), sem qualquer tipo de tratamento, não se diferenciou dos tratamentos 3, 4 e 5. Fato semelhante ocorreu nesse mesmo experimento, porém em condições de laboratório e com a cultivar Wisconsin (parte1), onde os tratamentos 3, 4 e 5 não diferiram entre si, sendo que o tratamento 3 consiste de apenas meio BDA. Ávila (2007) justificou esse fato porque possivelmente há um maior crescimento do sistema radicular a procura de água em maiores profundidades, quando ocorre um caso de escassez de água.

Novamente, o tratamento 1 foi capaz de estratificar os lotes de sementes em três categorias, de acordo com a sua qualidade fisiológica. O lote 1 obteve as maiores médias, sendo considerado o lote de qualidade superior, o lote 2 foi considerado como de qualidade fisiológica intermediária e, o lote 3, àquele com uma qualidade inferior. Os tratamentos 2 e 3 não foram eficientes para promover esse tipo de distinção fisiológica e, os tratamentos 4 e 5, conseguiram classificar as sementes de acordo com duas categorias fisiológicas, sendo que o lote 3 foi aquele que obteve a maior média de comprimento de raiz, portanto, sendo considerado de melhor qualidade, fato que já foi discutido e justificado pelo exposto acima.

Na avaliação de fitomassa seca, no lote 1, o tratamento testemunha apresentou diferença estatística em relação os outros lotes, apresentando uma maior média. Os tratamentos 4 e 5 não diferiram entre si, apresentando as menores médias de fitomassa seca, concordando com os resultados encontrados para as variáveis comprimento de hipocótilo e de raiz. No lote 2, os tratamentos 1 e 3 não diferiram e apresentaram as médias maiores. O tratamento 2 diferiu dos demais e os

tratamentos 4 e 5 novamente não diferiram entre si e apresentaram as menores médias de massa seca. O lote 3 obteve resultados semelhantes ao 2, no entanto o tratamento 4 não diferiu do 2, apresentando uma média de fitomassa seca quase compatível com a Testemunha. Isso, provavelmente, é uma consequência da média obtida no comprimento de hipocótilo no tratamento 4, no lote 3.

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

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

5 CONCLUSÕES

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

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

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

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

ÀVILA, M.R. et al. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n1, p.98-106, 2007

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

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

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

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

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

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

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

BIAS, A. L. F. et al. Métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão vigna. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.3, p.651-660, 1999.
BORGES, E.E.L.; CASTRO, J.L.D.; BORGES, R.C.G. Avaliação fisiológica de sementes de cedro submetidas ao envelhecimento precoce. **Revista Brasileira de Sementes**, v.12, n.1, p.56-62, 1990.

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

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

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

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

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

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

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

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

CELANO, F.A.O. **Desempenho de sementes de algodão durante o armazenamento, após inoculação com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pela técnica de restrição hídrica**. 2004. 83 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

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

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

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

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

COSTA, M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.5, p. 1023-1030, 2003.

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

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

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

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

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

DONI-FILHO, L. **Efeito do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L).** 1988. 90f. (Tese Doutorado) - Piracicaba: ESALQ, São Paulo, 1992.

DUARTE, G.L. et al. Physiological quality of wheat seeds submitted to saline stress. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.28, n.1, p.122-126, 2006.

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

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

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

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

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

FRANZIN, S. M. **Qualidade fisiológica de sementes de alface – Métodos paraderminação e relação com a formação de mudas.** 2003. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

FRANZIN, S.M., et al. Avaliação do vigor de sementes de alface nuas e peletizadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.26, n.2, p.114-118, 2004.
GERLACH, W.; NIRENBERG, H. **The genus Fusarium: a pictorial atlas.** Berlin: Biologische Bundesanstalt für Land- und-und. Institut für Mikrobiologie, 406 p.1982.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

_____. Influência de *Alternaria alternata* e *Alternaria dauci* na qualidade fisiológica de sementes de cenoura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008 a. 1 CD –ROM.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SAMPAIO, T.G.; SAMPAIO, N.V.; DURAN, J.M. Efeito do tamanho, peso e conteúdo protéico de sementes de abóbora (*Cucurbita pepo* L.) cv. Caserta no desenvolvimento de plântulas. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 12., 2001, Curitiba. **Anais...** Londrina: ABRATES, v.11, n.2, p.26, 2001.

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

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

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

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

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

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

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

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

SOUZA, G.M.; CARDOSO, V.J.M. Effects of different environmental stress on seed germination. **Seed Science Technology,** Zürich, v.28, n.3, p.621-630, 2000.

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

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

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

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

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

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

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

TORRES, S.B. Germinação e desenvolvimento de plântulas de melancia em função da salinidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.68-72, 2007.

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

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

VENTURA, J.A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segredos. Parte II – Chaves para identificação. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 303-338, 2000.

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

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

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

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

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

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

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

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

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)