

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Alternaria alternata* E *A. dauci* EM SEMENTES DE SALSA E SUA INFLUÊNCIA NA QUALIDADE FISIOLÓGICA¹

DANIELE CARDOSO PEDROSO², VANESSA OCOM MENEZES², MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ³, GRAZIELA PIVETA⁴, LILIAN MADRUGA DE TUNES⁵, JUCELI MULLER⁶, NILSON LEMOS DE MENEZES⁷.

RESUMO - O objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito da associação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade fisiológica de sementes de salsa inoculadas sob dois métodos, suspensão de conídios e restrição hídrica. Para a inoculação por suspensão, foi preparada uma solução contendo 10⁵ conídios de *A. alternata*, *A. dauci* e ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*), na qual as sementes permaneceram por 30 minutos. Para inoculação por restrição hídrica foi preparado meio BDA, acrescido com 33,10 g/L de manitol, no qual cresceram as colônias de *A. alternata*; *A. dauci* e *A. alternata* + *A. dauci*. As sementes permaneceram nas placas por 48 horas. Após os procedimentos de inoculação, a qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por testes realizados em condições controladas de laboratório e em casa de vegetação. As sementes de salsa tiveram a sua qualidade fisiológica prejudicada pela associação com *A. alternata* e *A. dauci* em condições de laboratório, especialmente com relação à germinação, primeira contagem de germinação, porcentagem de plântulas anormais, porcentagem de sementes mortas e ao teste de frio.

Termos para indexação: *Petroselinum crispum*, *Alternaria* spp., suspensão de conídios, restrição hídrica, vigor.

INOCULATION METHODS OF *Alternaria alternata* AND *A. dauci* IN PARSLEY SEEDS AND THEIR INFLUENCE ON THE PHYSIOLOGICAL QUALITY

ABSTRACT - The objective of the study was to evaluate the effect of the association of *Alternaria alternata* and *A. dauci* on the physiologic quality of parsley seeds inoculated by two methods: conidia suspension and water restriction. For the inoculation with suspension, a solution containing 10⁵ conidia of *A. alternata*, *A. dauci* and both species (*A. alternata* + *A. dauci*), was prepared in which the seeds remained for 30 minutes. For inoculation by water restriction, a PDA medium was prepared, supplemented with 33.1 g/L of manitol, in which the *A. alternata*, *A. dauci* and *A. alternata* + *A. dauci* colonies grew. The seeds remain on the plates for 48 hours. After the inoculation, the quality of the seeds was evaluated by testing in the laboratory and greenhouse. The parsley seeds had

¹ Submetido em 27/09/2009. Aceito para publicação 19/03/2010. Parte da dissertação de mestrado apresentada pelo primeiro autor ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, UFSM.

² Bióloga, Doutoranda do Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM, Cep: 97105-900, Santa Maria-RS. E-mail: daniboufsm@yahoo.com.br, vane_menezes@yahoo.com.br.

³ Eng. Agr. Dr., Profª. Adjunta, Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM, Santa Maria-RS, marlove@smail.ufsm.br.

⁴ Engr. Florestal, Doutoranda do Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM, grazipiveta@yahoo.com.br.

⁵ Eng. Agr., Doutoranda do Departamento de Fitotecnia, UFSM, lilianmtunes@yahoo.com.br.

⁶ Acadêmica do curso de Agronomia, Departamento de Defesa Fitossanitária, UFSM, juceli.muller@yahoo.com.br.

⁷ Eng. Agr. Dr., Prof. Adjunto, Departamento de Fitotecnia, UFSM, nlmenezes@smail.com.br.

their physiological quality damaged by association with *A. alternata* and *A. dauci* under laboratory conditions, especially in relation to germination, first count germination, abnormal seedlings, percentage of dead seeds and the cold test.

Index terms: *Petroselinum crispum*, *Alternaria* spp., conidia suspension, water restriction, vigor.

INTRODUÇÃO

A salsa [*Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill] é uma planta pertencente à família Apiaceae, que atinge sua importância não pelo volume ou valor de comercialização, mas pela ampla utilização como condimento e também para fins medicinais. Popularmente, a salsa é conhecida como salsinha, sendo comercializada para consumo, *in natura*, sozinha ou em conjunto com a cebolinha (*Allium fistulosum* L.) compondo o condimento conhecido como cheiro verde (Heredia et al., 2003).

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

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

Para a determinação do potencial fisiológico das sementes, quando se estuda a associação das mesmas com patógenos, é necessária a utilização de ferramentas como os métodos de inoculação de sementes. Em diversos estudos com a maioria dos fungos, a inoculação de sementes tem sido tradicionalmente realizada por meio do método da embebição das mesmas em suspensão de inóculo, como conídios. Como alternativa aos métodos tradicionais e baseada no princípio de controle de germinação, a inoculação sobre meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), utilizando a técnica de restrição hídrica, tem sido também empregada na promoção de infecção de sementes com fungos fitopatogênicos (Machado et al., 2001).

As alternarioses encontram-se entre as doenças

fúngicas mais comuns e importantes entre as culturas hortícolas (Töfoli; Domingues, 2004). Para cultura da salsa, a mancha de alternaria, que está relatada entre as principais doenças da cultura, é causada por *Alternaria dauci* (Reis et al., 2003). As espécies *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl e *A. dauci* (Kuhn) Groves & Skolko estão frequentemente associadas a sementes de apiáceas (Reis et al., 2006). O fungo *A. dauci* pode ser destrutivo a cultura de cenoura e coentro, além disso, é comprovadamente veiculado e transmitido, eficientemente, por sementes dessas espécies (Reis et al., 2006). No entanto, pouco é sabido sobre a interação dessas espécies, *A. alternata* e *A. dauci*, e sementes de salsa, especialmente, quando se trata de sua influência na qualidade fisiológica das mesmas. Portanto, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da associação de *A. alternata* e *A. dauci* no potencial fisiológico de sementes de salsa inoculadas com suspensão de conídios e utilizando restrição hídrica.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório e casa de vegetação, pertencentes à Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

Foram utilizadas sementes de salsa, da cultivar Lisa Comum, provenientes de cultivo agroecológico, da marca comercial Bionatur[®], produzidas em Candiota - RS. Sementes, não tratadas, provenientes da safra 2006/2007, foram submetidas à avaliação inicial de qualidade, através das seguintes determinações e testes:

Teor de água - foi determinado pelo método de estufa, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Teste de germinação - foi conduzido segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Análise sanitária - foi realizada através do método do papel filtro ou "blotter test", conforme metodologia proposta por Brasil (1992). Os fungos foram identificados com o auxílio de bibliografia especializada (Barnett; Hunter,

1998).

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

Obtenção do inoculo

O fungo *Alternaria alternata*, utilizado nesse trabalho, foi obtido a partir de sementes de salsa submetidas ao teste inicial de sanidade e *A. dauci* foi oriundo de folhas de cenoura com sintomas de doença. Os mesmos foram isolados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e as placas incubadas a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Colônias puras foram utilizadas para a inoculação das sementes.

Inoculação das sementes

A inoculação foi realizada de duas formas: na primeira, utilizou-se uma suspensão de conídios e, na segunda, meio BDA com o restritor manitol (C₆H₁₄O₆). A suspensão conidial foi obtida através de leituras em câmara de Neubauer e ajustada para 10⁵ conídios/mL para cada tratamento. No tratamento que consistia a associação das duas espécies, a suspensão conidial foi também ajustada 10⁵ conídios/mL, somando-se a quantidade de esporos de cada um dos fungos. As sementes, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, permaneceram imersas na suspensão por 30 minutos. Após secagem, por 30 minutos, em condições ambiente, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica. Pelo método da restrição hídrica, utilizou-se BDA acrescido do soluto manitol (33,10 g/L), segundo Coutinho et al. (2001). Discos de colônias puras de cada um dos fitopatógenos foram repicados para o meio com manitol, e mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C por sete dias. Para o tratamento que continha as duas espécies de *Alternaria*, foram colocados dois discos, um de cada fungo, nas extremidades opostas da placa, proporcionando uma mistura de micélios em toda a superfície do meio de cultura. Após esse período, as sementes de salsa, previamente desinfestadas com álcool e hipoclorito (1%) por um minuto, foram distribuídas sobre o micélio do fungo, correspondente a cada tratamento, em camada única, sendo levemente prensadas, onde elas permaneceram até o momento em que pelo menos uma das sementes apresentasse início de protrusão radicular, o que ocorreu 48 horas após a colocação no meio. As sementes foram, então, removidas do meio e colocadas a secar sobre papel filtro, em condições ambiente, por mais 48 horas. Somente após esse processo, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade fisiológica.

Para o método de inoculação por suspensão de conídios, os tratamentos consistiram em: T2- testemunha (água destilada e esterilizada); T3- suspensão de conídios de *A. alternata*; T4- suspensão de conídios de *A. dauci* e T5- suspensão de conídios de ambas as espécies (*A. alternata* + *A. dauci*). Para o método de inoculação por restrição hídrica, os tratamentos foram: T6- BDA + manitol (testemunha); T7- BDA + manitol + *A. alternata*; T8- BDA + manitol + *A. dauci*; T9- BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*. Além disso, foi considerado como testemunha absoluta (T1), o tratamento em que as sementes não foram submetidas a qualquer procedimento. O mesmo foi utilizado para garantir e/ou verificar se o tipo de inoculação (água estéril ou BDA + manitol), das respectivas testemunhas dos métodos suspensão de conídios e restrição hídrica, também não influenciaria nos resultados de qualidade.

Após a inoculação, foi realizada a análise sanitária das sementes, na qual, verificou-se 100% de sementes infestadas pelos fungos estudados em cada tratamento.

Os seguintes testes foram utilizados para a análise da qualidade fisiológica: **germinação e primeira contagem** – ambos realizados de acordo com metodologia proposta pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992); **comprimento de plântula** – realizado conforme descrito por Nakagawa (1999); **teste de frio** - realizado conforme recomendações de Cícero e Viera (1994).

Os demais testes foram realizados em casa de vegetação: **emergência** - realizado utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax®. A avaliação ocorreu aos 32 dias após a semeadura, quando a emissão de plantas tornou-se constante, computando-se a porcentagem de plantas normais emergidas; **índice de velocidade de emergência (IVE)** - calculado conforme Maguire (1962); **comprimento de plântula** - realizado em conjunto com o teste de emergência, determinando-se o comprimento da raiz, do hipocótilo e o comprimento total de dez plantas, por repetição, aos 32 dias após a semeadura; **número de folhas** - avaliou-se também, o número de folhas dessas mesmas dez plantas utilizadas no teste anterior, calculando-se uma média aritmética do número de folhas por planta, dividido pelo número de plantas avaliadas; **peso fresco e peso seco de plantas** - o peso fresco foi obtido pela pesagem de plantas normais obtidas ao final do teste de emergência e para determinação do peso seco, essas plantas foram secas em estufa com circulação de ar, regulada a 80 °C, onde elas permaneceram até a estabilização do peso seco e novamente foram pesadas. Calculou-se o peso médio somando-se o peso de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número

de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g/planta.

Análise estatística - O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado. Os dados de cada método de inoculação foram submetidos, separadamente, à análise de variância e ao teste F. A comparação das médias foi realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo cada método um fator isolado, no qual apenas os tratamentos foram comparados, empregando-se o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (Zonta et al., 1986). Os dados expressos em porcentagens foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de teor de água, germinação e sanidade não foram analisados estatisticamente, pois serviram apenas como base para o conhecimento inicial da qualidade da amostra adquirida.

O teor de água das sementes foi de 7,68% e a

porcentagem de germinação de 82%. É possível constatar, que o teor de água observado nas sementes de salsa foi relativamente baixo, o que permite uma maior confiabilidade aos resultados obtidos nos testes realizados. Na análise sanitária, detectaram-se os seguintes fungos: *Alternaria alternata* (9%) e *Cladosporium* spp (8%).

Os resultados referentes à avaliação da qualidade fisiológica das sementes de salsa, inoculadas com *A. alternata* e *A. dauci*, em laboratório encontram-se na Tabela 1. O método de suspensão de conídios permitiu verificar que as espécies de *Alternaria* causam um decréscimo na qualidade das sementes de salsa, uma vez que os testes realizados apresentaram, basicamente, o mesmo resultado, ou seja, sementes inoculadas obtiveram qualidade fisiológica inferior àquelas sem os patógenos, destacando-se *A. dauci* como o fungo mais prejudicial a sementes de salsa. O método utilizando restrição hídrica implicou em resultados semelhantes aos observados no método da suspensão de conídios, com as variáveis apresentando diferenças significativas entre os tratamentos.

TABELA 1. Médias das variáveis Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de suspensão de conídios e restrição hídrica em condições controladas de laboratório.

Tratamentos	Suspensão de Conídios					
	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	72 a*	82 a	0 b	12 bc	5,61 a	35 a
T2	66 a	83 a	0 b	7 c	2,76 b	30 ab
T3	56 ab	65 bc	8 a	23 ab	2,73 b	13 bc
T4	46 b	54 c	13 a	30 a	1,68 b	3 c
T5	52 ab	62 c	12 a	23 ab	1,25 b	21 ab
CV (%)	13,11	9,42	36,16	16,83	29,58	23,55
Tratamentos	Restrição Hídrica					
	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
T1	72 a*	82 a	0 b	12 c	5,61 b	35 a
T6	68 ab	75 ab	2 b	23 b	9,29 a	31 a
T7	64 ab	72 ab	1 b	23 b	5,54 b	30 a
T8	34 c	43 c	16 a	40 a	5,38 b	5 b
T9	49 bc	70 b	4 ab	26 b	7,02 ab	35 a
CV (%)	11,28	6,76	61,57	12,63	16,21	13,73

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: testemunha absoluta; T2: testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*; T6: testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); T7: BDA + manitol + *A. alternata*; T8: BDA + manitol + *A. dauci*; T9: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

Essa influência negativa dos patógenos pode ser observada no teste de primeira contagem (Tabela 1), no qual se verificou que os fungos contribuíram para que um número menor de plântulas normais fosse observado em ambos os métodos de inoculação. No entanto, pelo método do substrato agarizado, observa-se que ocorreu uma maior estratificação entre os tratamentos, nos quais se verificou que o patógeno que mais influenciou, negativamente, na qualidade das sementes de salsa foi *A. dauci*.

A continuidade desse resultado pode ser observada quando avaliada a porcentagem de germinação (Tabela 1). Nesse teste, fica clara a influência negativa dos fungos no processo germinativo, pois os tratamentos que continham os patógenos diferenciaram-se das testemunhas (T1 e T2) por obterem os menores valores quando se utilizou a suspensão de conídios. Já para o método da restrição hídrica, assim como no teste de primeira contagem, *A. dauci* prejudicou significativamente a germinação das sementes. Resultados semelhantes foram observados por Henrique et al. (2008), em seus trabalhos com inoculação de *A. alternata* em sementes de melão, onde verificaram que a presença do fungo acarretou em decréscimo significativo no potencial germinativo das sementes de *Cucumis melo* L.

Na avaliação da porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas (Tabela 1), confirmou-se o efeito nocivo dos patógenos, onde ambos promoveram um aumento no número de plantas defeituosas e morte das sementes inoculadas com suspensão de esporos. Sementes inoculadas, através da restrição hídrica, com *A. dauci* também resultaram em maior porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas, indo ao encontro dos resultados obtidos nos testes anteriores.

Em relação ao comprimento das plântulas (Tabela 1), com o uso da suspensão de conídios, observou-se novamente que *A. alternata* e *A. dauci* influenciaram de forma negativa no desenvolvimento das mesmas. Nos trabalhos realizados por Togni et al. (2005) com sementes de coentro, foram encontrados resultados semelhantes, pois a presença desses dois fungos, além de prejudicar a germinação, também interferiu no desenvolvimento das plântulas. Com relação à restrição hídrica, o teste de comprimento de plântulas não apresentou diferenças claras entre os tratamentos, no entanto, a testemunha (BDA + manitol) diferenciou-se dos demais, até mesmo da testemunha absoluta (T1).

No teste de frio (Tabela 1), o tratamento contendo sementes inoculadas apenas com *A. dauci* reduziu

drasticamente a porcentagem de plântulas normais, comprovando que esse patógeno interfere no potencial fisiológico de sementes de salsa em ambos os métodos utilizados para inocular as sementes.

Na Tabela 2, pode-se observar que a maioria das variáveis apresentou comportamento indiferenciado em relação aos tratamentos, ou naquelas em que se verificaram diferenças significativas, a mesma foi somente dos tratamentos de inoculação, em ambos os métodos, em relação à testemunha absoluta.

Na inoculação com suspensão, apenas o comprimento de hipocótilo (Tabela 2) mostrou as diferenças relatadas acima. No entanto, quando se utilizou restrição hídrica, para o número de folhas e peso seco de plantas, não se observaram diferenças significativas, mas, para a porcentagem de emergência, velocidade de emergência, comprimento de raiz e comprimento total de planta, os tratamentos de inoculação diferiram da testemunha absoluta (T1) e não entre si. Resultado semelhante foi observado, na avaliação do comprimento do hipocótilo, no entanto, apenas quando se avaliou o peso fresco das plantas, pode-se observar influência de *A. dauci* e *A. alternata*.

Os resultados demonstraram que *A. dauci* destaca-se como o patógeno mais prejudicial a sementes de salsa. Essa espécie de *Alternaria* é bastante conhecida por causar importantes doenças de parte aérea, como a queima das folhas em cenoura (Reis et al., 2006), destacando-se também por prejudicar a parte aérea de outras apiáceas como coentro e salsa (Reis et al., 2006; Reis et al., 2003). Além de ser relatado como agente causal de doença em parte aérea, nesse trabalho verificou-se que esse fungo prejudica, também, a qualidade de sementes de salsa. Por outro lado, *A. alternata* demonstrou-se menos agressivas às sementes de salsa, essa espécie já foi relatada como sendo saprófita por Ellis (1971). O fato da inoculação com os dois fungos ter sido menos prejudicial que a inoculação apenas com *A. dauci* pode ser explicado pela habilidade dos fungos em competirem por espaço e nutrientes. Os fatores que estão associados com essa competição entre as espécies de fungos são complexos (Horn, 2005). Normalmente os fatores ambientais e os aspectos fisiológicos das espécies ou isolados de patógenos influenciam a sua competição por espaço e nutrientes (Horn, 2005). Os isolados de *Alternaria* estudados, provavelmente, competiram por espaço ou até mesmo nutriente, estando presentes na mesma semente, o que, possivelmente, diminuiu sua ação nociva e/ou patogênica.

TABELA 2. Médias das variáveis Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVG), Peso Fresco (PF), Peso Seco (PS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH), Comprimento Total de Planta (CT) e Número de Folhas (NF) avaliadas na inoculação de sementes de salsa, cultivar Lisa Comum, com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de suspensão de conídios e restrição hídrica em casa de vegetação.

Tratamentos	Suspensão de Conídios							
	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	86 a*	1,31 a	0,11 a	0,012 a	6,93 a	7,26 a	14,19 a	2 a
T2	86 a	1,20 a	0,12 a	0,013 a	7,13 a	5,18 b	12,31 a	2 a
T3	72 a	0,94 a	0,09 a	0,009 a	6,52 a	4,91 b	11,43 a	2 a
T4	62 a	0,93 a	0,11 a	0,011 a	6,75 a	5,16 b	11,91 a	2 a
T5	74 a	0,82 a	0,09 a	0,008 a	6,75 a	5,05 b	11,80 a	2 a
CV (%)	14,82	22,46	28,4	35,15	16,84	14,83	13,55	20,88
Tratamentos	Restrição Hídrica							
	EP (%)	IVE	PF (g)	PS (g)	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)	NF
T1	86 a*	1,31 a	0,11 a	0,012 a	6,93 a	7,26 a	14,19 a	2 a
T6	14 b	0,38 b	0,11 a	0,018 a	4,16 b	5,81 ab	9,97 b	2 a
T7	12 b	0,26 b	0,04 b	0,001a	4,30 b	5,30 ab	9,60 b	2 a
T8	19 b	0,28 b	0,08 ab	0,056 a	3,76 b	5,56 ab	9,25 b	2 a
T9	15 b	0,25 b	0,07 ab	0,006 a	3,99 b	5,17 b	9,17 b	2 a
CV (%)	23,45	40,65	31,01	48,34	17,37	15,51	11,35	11,35

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; T1: testemunha absoluta; T2: testemunha da suspensão (água destilada e esterilizada); T3: suspensão de *A. alternata*; T4: suspensão de *A. dauci*; T5: suspensão de *A. alternata* + *A. dauci*; T6: testemunha da restrição hídrica (BDA + manitol); T7: BDA + manitol + *A. alternata*; T8: BDA + manitol + *A. dauci*; T9: BDA + manitol + *A. alternata* + *A. dauci*.

Ainda é importante salientar, a diferenciação de resultados observados entre os testes realizados em laboratório e os em casa de vegetação. Uma vez que, em laboratório as condições são ótimas para a realização dos testes, além de favorecerem o desenvolvimento das sementes, também podem ter favorecido a ação dos fungos, o que não ocorreu na casa de vegetação. Nesse ambiente, as condições, principalmente de temperatura, não são totalmente controladas, com isso, a ação nociva dos patógenos pode ter sido prejudicada, uma vez que, cada agente patogênico possui suas particularidades, entre elas a necessidade de condições favoráveis de temperatura e umidade, para agir. Divergências encontradas entre resultados obtidos em condições de laboratório e campo ou casa de vegetação implicam na necessidade de realizar um maior número possível de testes, pois cada teste fornece informações complementares para a decisão a respeito da classificação quanto à qualidade das sementes (Pedroso et al. 2008).

Além disso, apesar da restrição hídrica ser eficiente na

promoção de sementes infectadas, verificou-se pelo teste de emergência de plântulas, que o manitol parece ser prejudicial, pois nesse caso, apenas a testemunha absoluta (T1) se destacou, sendo que os demais valores de porcentagem de emergência observados foram bem inferiores. O manitol tem sido comumente utilizado como agente osmótico para simular condições de déficit hídrico porque é um composto quimicamente inerte e não tóxico (Ávila et al., 2007), que não deve causar alterações estruturais nas sementes, não pode penetrar através do sistema de membranas e nem ser metabolizado pela planta. No entanto, Durigon et al. (2008), constataram em seus trabalhos com diferentes potenciais osmóticos, que o uso do restritor manitol afeta, de forma negativa, a qualidade fisiológica de sementes de pepino.

CONCLUSÕES

Sementes de salsa têm sua qualidade prejudicada pela associação com *A. alternata* e *A. dauci*.

O patógeno *A. dauci* foi mais patogênico que *A. alternata*

às sementes de salsa.

O método da suspensão de conídios foi o mais adequado para inoculação de *A. alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A. de L.; SCAPUM, C.R. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.98-106, 2007.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365p.
- CÍCERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: UNESP/FCAV, 1994. p.151-164.
- COUTINHO, W.M.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; GUIMARÃES, R.M.; FERRERIRA, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.127-135, 2001.
- DURIGON, M.R.; MENEZES, V.O.; PEDROSO, D.C.; MILANESI, P.; MULLER, J.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. 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.
- ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes**. C.A.B. Commonwealth Mycological Institute Kew. Uk, 1971.
- HENRIQUE, D.F.; MENEZES, V.; PEDROSO, D.C.; RODRIGUES, J.; MUNIZ, M.F.B.; MULLER, J.; BLUME, E.; GARCIA, D.C. Inoculação de *Alternaria alternata* em sementes de melão através da restrição hídrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Brasileira de Horticultura. 2008. 1 CD –ROM.
- HEREDIA Z.N.A.; VIEIRA, M.C.; WEISMANN, M.; LOURENÇÃO, A.L.F. Produção e renda bruta de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p.574-577, 2003.
- HORN, B.W. Colonization of wounded peanut seeds by soil fungi: selectivity for species from *Aspergillus* section *Flavi*. **Mycologia**, v.97, p.202-217, 2005.
- MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.88-94, 2001.
- MAGUIRE, J.D. Spread of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.
- NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseado na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKY, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.2-1, p.2-21.
- NASCIMENTO, W.M. Temperatura x germinação. **Seednews**, v.4, n.4, 2000. p.44-45.
- PEDROSO, D.C.; MENEZES, V.O.; MUNIZ, M.F.B.; BELLÉ, R.; BLUME, E.; GARCIA, D.C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Zinnia elegans* jacq. Colhidas em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p.164-171, 2008.
- REIS A.; BOITEUX, L.S.; SILVA, P.P.; CÂMARA, M.P.S. *Alternaria dauci*, agente de manchas foliares em salsa e coentro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.202-203, 2003.
- REIS, A.; SATELIS, J.F.; PEREIRA, R.S.; NASCIMENTO, W.M. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, v.24, p. 107-111. 2006.
- TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiologia e manejo integrado. Divulgação Técnica. **Instituto Biológico**, v.66, n.1/2, p.23-33, 2004.
- TOGNI, D.A.J.; FRARE, V.C.; MORAES, M.H.D.; MELO, P.C.T.; MENTEN, J.O.M. Incidência e transmissão de patógenos em sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Summa Phytopathologica**, p.31- 76, supl, 2005.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986.150p.