

DESEMPENHO DE SEMENTES DE CENOURA PORTADORAS DE ESPÉCIES DE *Alternaria* APÓS O CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO COM ADIÇÃO DE THIRAM¹

Performance of carrot seeds holding *Alternaria* species after physiological conditioning with addition of thiram

Flávio Henrique Linhares Magalhães², José da Cruz Machado³, Maria das Graças G. Carvalho Vieira⁴, Renato Mendes Guimarães⁴, João Almir Oliveira⁵, Carlos Alberto da Silva Ledo⁶

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho investigar os efeitos do pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura, cultivar híbrida Carol, com incidência dos patógenos *Alternaria dauci* de 1,25% e *A. radicina* de 2,0%, em duas soluções osmóticas arejadas uma de PEG 6000 e outra com KNO₃, com adição de thiram, sobre a qualidade fisiológica e o desenvolvimento da micoflora presente nas sementes. O pré-condicionamento foi efetuado em um sistema integrado com mecanismos de filtragem bombeamento e umedecimento do ar para arejamento das soluções de PEG 6000 e KNO₃ em um potencial osmótico de -1,1 MPa a 25°C, por sete dias. Após o pré-condicionamento, as sementes foram lavadas, secas ao ar por 48 horas e submetidas aos testes de sanidade (incubação em substrato de papel) com quantificação de inóculo, germinação, primeira contagem, índice de velocidade de emergência de plântulas, estando aos 14 dias e peso de matéria seca de plântulas. O pré-condicionamento fisiológico das sementes em ambas as soluções propiciou aumento da incidência e da densidade de inóculo dos fungos *A. dauci* e *A. radicina* associados às sementes. O fungicida thiram adicionado às referidas soluções osmóticas, nas concentrações de 1% e 1,5%, foi eficaz em eliminar esses fungos associados às sementes. O índice de velocidade de emergência e o peso de matéria seca de plântulas foram aumentados com o pré-condicionamento fisiológico, com a adição de thiram, por ambos os solutos testados, resultando em melhoria da qualidade fisiológica das sementes.

Termos para indexação: Pré-condicionamento fisiológico, priming, polietileno glicol 6000, nitrato de potássio, fungicida, fungo, semente.

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the effects of the physiological pre-conditioning of carrot seeds cv. hybrid "Carol" with 1.25% and 2.0% incidence of *Alternaria dauci* and *A. radicina* in two osmotically aerated solutions, one of PEG 6000 and another with KNO₃, with the addition of thiram on the physiological quality and the development of the mycoflora associated. The essays consisted of pre-conditioning carrot seeds, in an integrated system composed by mechanisms of filtering, pumping and moistening the air for the aeration of both solutions at an osmotic potential of -1.1MPa at 25°C for seven days. After pre-conditioning, the seeds were washed, air dried for 48 hours and submitted to blotter test with quantification of inoculum, germination, first count, emergence speed index of seedlings, stand at 14 days and weight of dry matter of seedlings. The physiological pre-conditioning of carrot seeds in the osmotic solutions provided conditions for the increase of the incidence and inoculum density of both *Alternaria* species. In the osmotic solutions with additions of thiram at the concentrations of 1% and 1.5%, was able to eliminate those fungi associated to the seeds submitted to the pre-conditioning. In some tests (emergence speed index and weight of dry matter seedlings) the physiological pre-conditioning with the addition of thiram for both solutes provided conditions for improving the physiological quality of the seeds.

Index terms: Physiological pre-conditioning, priming, polyethylene glycol 6000, potassium nitrate, fungicide, fungi, seed.

(Recebido para publicação em 24 de junho de 2003 e aprovado em 1º de julho de 2004)

1. Parte do trabalho de dissertação de Mestrado do primeiro autor, apoio CAPES.

2. Engenheiro Agrônomo, M.Sc. Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Caixa Postal 3037 – 37200-000 – Lavras, MG.

3. Engenheiro Agrônomo, Ph.D, Professor do Departamento de Fitopatologia/UFLA, machado@ufla.br

4. Engenheiro Agrônomo, Dr. Professor do Departamento de Agricultura/UFLA.

5. Biólogo, Dr. Professor do Departamento de Agricultura/UFLA.

6. Engenheiro Agrônomo, Dr. Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Caixa Postal 07, 44380-000 – Cruz das Almas, BA. led@cnpmf.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Sementes de cenoura podem ter baixa germinabilidade e/ou germinar lentamente em condições de campo, resultando em uma emergência desigual e numa população heterogênea de plantas (CORBINEAU et al., 1994). Redução na qualidade fisiológica de sementes pode também ser devida à associação de fungos com sementes, a qual é responsável pela disseminação de patógenos em novas áreas de cultivo e transmissibilidade à progênie resultante. Entre os fungos que se associam às sementes de cenoura, *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko e *Alternaria radicina* Meier, Drechsler & Eddy são os mais importantes.

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

No entanto, o pré-condicionamento pode influenciar a microflora presente na superfície ou no interior das sementes ou ser influenciado por ela (BINIEK e TYLKOWSKA, 1987) e durante o processo, alguns fungos associados às sementes podem desenvolver melhor do que em condições normais, aumentando, assim, a sua disseminação.

Para minimizar esse problema, um procedimento adotado é a adição de fungicidas à solução osmótica, tendo esses produtos a finalidade de conferir proteção às sementes contra a microflora durante o processo de condicionamento fisiológico, podendo eliminar possíveis infecções de sementes causadas por esses organismos (BINIEK e TYLKOWSKA, 1987).

Conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar o desempenho de sementes de cenoura infectadas por *Alternaria dauci* e *A. radicina* após o pré-condicionamento fisiológico, na presença do fungicida thiram adicionado à solução de pré-condicionamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia e de Análises de Sementes do Departamento de

Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG, no período de julho de 1999 a janeiro de 2000.

Para a seleção do lote a ser utilizado neste trabalho, foram examinadas 35 amostras de sementes de cenoura, sem tratamento pós-colheita. O lote escolhido foi da cultivar híbrida Carol, safra 1998, apresentando 76,25% de germinação, com incidência de *A. dauci* de 1,25% e de *A. radicina*, 2,0%.

O pré-condicionamento fisiológico das sementes de cenoura foi efetuado por meio do aparelho de pré-condicionamento fisiológico (Figura 1), adaptado e baseado no modelo de Warren e Bennett (1999). O aparelho consistiu de uma câmara de filtragem com entradas de ar constituídas por membranas Durapore - Milipore® - de 4,7 cm de diâmetro e 0,22 µm de abertura de poro, contendo em seu interior bomba de ar (arejador de aquário), na qual conectam-se as câmaras de umidificação do ar e de pré-condicionamento fisiológico e tubos de saída de ar. A câmara de pré-condicionamento fisiológico consistiu de um frasco de Erlenmeyer de 250 ml contendo solução osmótica. A câmara de umidificação consistiu de um frasco de Erlenmeyer de 500 ml contendo água esterilizada. O tubo de saída de ar continha uma mistura de 60% de água e 40% de álcool etílico, para evitar contaminações por microrganismos provenientes do ambiente externo. As mangueiras de conexão (aplicador para soluções parenterais) foram desinfestadas em óxido de etileno; a câmara de filtragem foi previamente tratada em atmosfera contendo formol e os demais componentes foram autoclavados.

Na preparação das soluções osmóticas com potencial de -1,1 MPa, utilizaram-se o polietileno glicol (PEG 6000) na concentração de 311,33 g/kg de água ou o nitrato de potássio (KNO₃) na proporção de 26,084 g /kg de água (0,258 molal). Para o cálculo das concentrações de PEG (25°C), utilizou-se a fórmula proposta por Michael e Kaufmann (1973): $\psi_s = -(1,18 \times 10^{-2})C - (1,18 \times 10^{-4})C^2 + (2,67 \times 10^{-4})C T + (8,39 \times 10^{-7})C^2 T$, sendo ψ_s = potencial osmótico ou potencial de soluto (bars), C = concentração (g de PEG / kg de água), T = temperatura (°C). A concentração de KNO₃ (25°C) foi calculada pela fórmula proposta por Griffin (1972), citado por Alam et al. (1996): $\Pi = (-R \times T \times p \times v \times m \times \phi) \times 10^3$, sendo Π = potencial osmótico (MPa), R = constante dos gases (83,141 x 10⁻⁷ m³ / MPa. °K), T = temperatura (°K), p = densidade da água na temperatura T, v = íons por molécula, m = molalidade, ϕ = coeficiente osmótico na molalidade m e temperatura T. Os valores de ϕ foram obtidos pela interpolação dos dados obtidos de tabelas de coeficientes osmóticos elaboradas por Robinson e Stokes (1949) e os valores de p, pelo software SPM (MICHEL e RADCLIFFE, 1995).

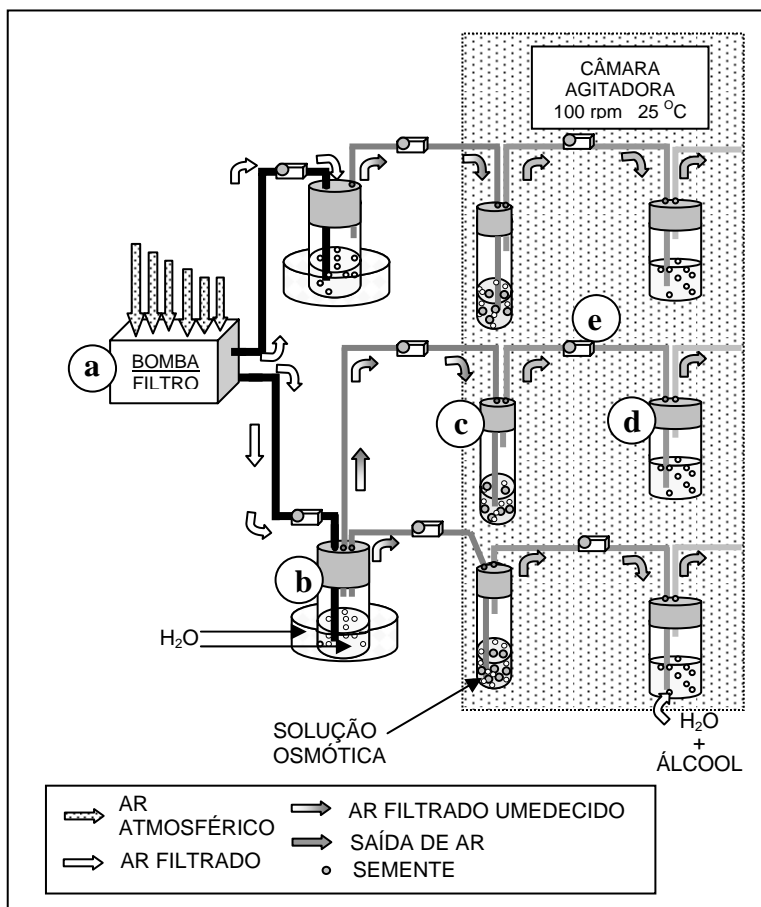


FIGURA 1 – Esquema de funcionamento do sistema de pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura com assepsia. a) unidade de filtro e bombeamento; b) câmara de umedecimento; c) câmara de pré-condicionamento; d) tubo de saída de ar; e) válvula de controle de ar.

Os tratamentos consistiram em imergir 3 g de sementes de cenoura em 150 ml de soluções (-1,1 MPa) esterilizadas contidas nas câmaras de pré-condicionamento, utilizando-se os solutos PEG 6000 e KNO_3 , três níveis de adição do fungicida thiram à solução (0,0%; 1,0% ou 1,5% de i.a.) e um tratamento-testemunha constituído por sementes não pré-condicionadas e não tratadas com fungicida.

A operação de montagem do equipamento foi efetuada em ambiente asséptico. Após a montagem, os tubos de saída de ar e as câmaras de pré-condicionamento foram colocados em agitador (100 rpm/25°C) no escuro, durante sete dias. Em seguida, as sementes foram lavadas e secas durante dois dias em temperatura ambiente; após esse período, foram utilizadas nos ensaios.

O teste de sanidade das sementes foi conduzido pelo método de incubação em substrato de papel de fil-

tro com congelamento, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Distribuíram-se 25 sementes por placa de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo três folhas de papel de filtro esterilizadas e umedecidas em água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}/24$ horas, depois mantidas a $-20^\circ\text{C}/24$ horas e novamente incubadas a $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}/12$ horas de luz negra (próximo ao ultravioleta) durante sete dias. A identificação e contagem dos fungos foram realizadas utilizando-se microscópio estereoscópico e, quando necessário, confirmada em microscópio óptico.

Para quantificar o inoculo, foi utilizada uma escala de notas de 0 a 3, sendo 0 = ausência de esporos do fungo; 1 = fungo ocupando de 1% a 10% da semente; 2 = fungo ocupando entre 11% e 50% da semente; e 3 = fungo cobrindo acima de 50% da semente. A densidade de inoculo (DI) foi calculada pela fórmula de McKinney (1923) modificada:

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

No teste de germinação, as sementes foram distribuídas em gerboxes, contendo duas folhas de papel mata-borrão umedecidas com o volume de água destilada 2,5 vezes o peso do substrato. Os gerboxes, os papéis e a água foram previamente esterilizados. Utilizaram-se quatro repetições de 100 sementes. Os gerboxes com as sementes foram mantidos em câmara do tipo BOD (30°C/12 horas de luz e 20°C/12 horas de escuro). A avaliação foi realizada aos 7 e 14 dias, após a semeadura, conforme os critérios das RAS (BRASIL, 1992).

A primeira contagem foi avaliada pela porcentagem de plântulas normais determinadas no sétimo dia originadas das sementes submetidas ao teste de germinação. Para avaliação do índice de velocidade de emergência (IVE), estando aos 14 dias e peso seco de plântulas, semearam-se, a uma profundidade de 1,5 cm, 50 sementes por bandeja contendo substrato esterilizado constituído de solo, areia e esterco bovino na proporção de 1:1:1, respectivamente. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas a 25°C ± 2°C com fotoperíodo de 12 horas. O IVE foi definido pela fórmula de Maguire (1962), citado por Nakagawa (1994): $IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$, IVE = índice de

velocidade de emergência, E_1 , E_2 , E_n = número de plântulas emergidas na primeira, segunda e última contagem, N_1 , N_2 , N_n = número de dias após a semeadura.

O estande foi avaliado aos 14 dias, considerando-se o percentual de plântulas normais emergidas. O peso de matéria seca de plântulas foi avaliado aos 25 dias após a semeadura.

O delineamento estatístico utilizado para IVE, estando aos 14 dias e peso de matéria seca de plântulas foi o de blocos ao acaso (cinco blocos) em esquema fatorial 2 (solutos PEG 6000 e KNO₃) x 3 (concentrações de thiram) +1 tratamento-testemunha adicional (sementes sem tratamento). No teste de germinação, primeira contagem e sanidade (incidência e severidade), utilizou-se o mesmo arranjo de tratamentos, porém, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLM do SAS® (SAS INSTITUTE, 1992).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem média de sementes de cenoura infectadas por *A. dauci* submetidas ao pré-condicionamento fisiológico elevou-se de 1,25% (tra-

tamento-testemunha) para 8,5%, no tratamento em que se utilizou KNO₃, e 30% no tratamento em que se utilizou PEG 6000, ambos na ausência de thiram (Figura 2a). Em relação ao fungo *A. radicina*, o índice de contaminação de sementes pré-condicionadas sem thiram foi aumentado em cerca de três vezes o índice inicial de 2,0% em KNO₃ e em nove vezes o índice inicial em PEG 6000 (Figura 2b). A densidade média de inóculo de *A. dauci* aumentou de 0,83% (tratamento-testemunha) para 4,50% (KNO₃) e 14,67% (PEG 6000), ambos na ausência de thiram (Figura 2c). Para *A. radicina*, a densidade de inóculo variou nas sementes de 1,58% (tratamento-testemunha) para 1,92% (KNO₃) e 7,33% (PEG 6000) nas sementes pré-condicionadas sem thiram (Figura 2d). Nas concentrações de 1,0% e 1,5%, o fungicida thiram foi efetivo na erradicação de ambos os patógenos. Os resultados obtidos com relação à eliminação dos fungos associados às sementes, em função do tratamento de pré-condicionamento com adição de fungicidas, estão de acordo com informações relatadas por Biniek e Tytkowska (1987), os quais constataram que a prévia imersão de sementes de cenoura em thiram (75% dissulfeto de tetrametiltiuram) a 0,2 mol dissolvido em diclorometano protegeu as sementes da micoflora durante o condicionamento e eliminou *A. radicina* associada às sementes, que anteriormente apresentavam 52,5% de incidência desse fungo.

Em estudo realizado por Lopes (1996) com sementes de cebola, constatou-se que o condicionamento de sementes, utilizando soluções de PEG 6000, prejudicou a germinação das sementes, sendo atribuída a microrganismos a causa principal desse dano.

Neste estudo, é provável que as condições de umidade, temperaturas elevadas e aeração das soluções osmóticas tenham favorecido a multiplicação e disseminação dos patógenos *A. dauci* e *A. radicina* nos tratamentos em que as sementes foram submetidas ao pré-condicionamento sem a adição do fungicida e influenciando na redução da qualidade fisiológica das sementes.

Em relação à germinação de sementes (Figura 3a) e à primeira contagem da germinação (Figura 3b), a média do tratamento-testemunha foi superior à média dos demais tratamentos, evidenciando que o pré-condicionamento fisiológico neste trabalho não foi eficiente na melhoria da germinação das sementes. No teste de Dunnett ($P < 0,05$), verificou-se que os tratamentos com adição de fungicida nas concentrações de 1% e 1,5% com PEG 6000 não diferiram estatisticamente do tratamento-testemunha e com KNO₃ afetaram adversamente a germinação (Figura 3a).

Para o índice de velocidade de emergência e peso seco de plântulas, os valores observados no tratamento-testemunha foram inferiores à média dos demais tra-

tamentos, evidenciando os efeitos do condicionamento fisiológico na melhoria do índice de velocidade de emergência e no aumento do peso seco de plântulas (Figura 3c e 3e).

No estande aos 14 dias, a média dos valores observados no tratamento-testemunha não diferiu da média dos demais tratamentos (Figura 3d).

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

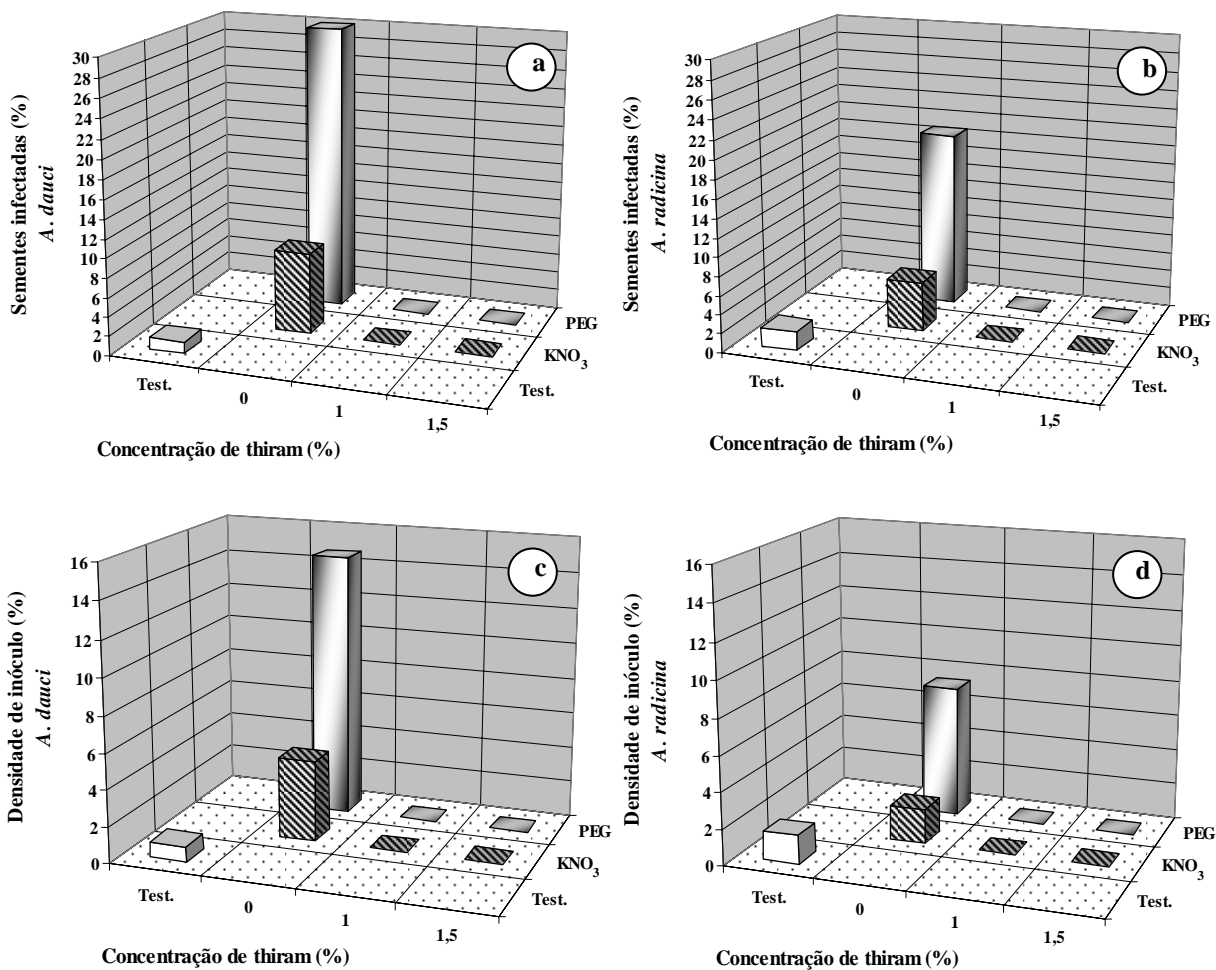


FIGURA 2 – Incidência e densidade de inóculo de *Alternaria dauci* (a,c) e *A. radicina* (b,d) nas sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em soluções de PEG 6000 ou KNO₃ a -1,1 MPa, em função de concentrações de thiram adicionado à solução.

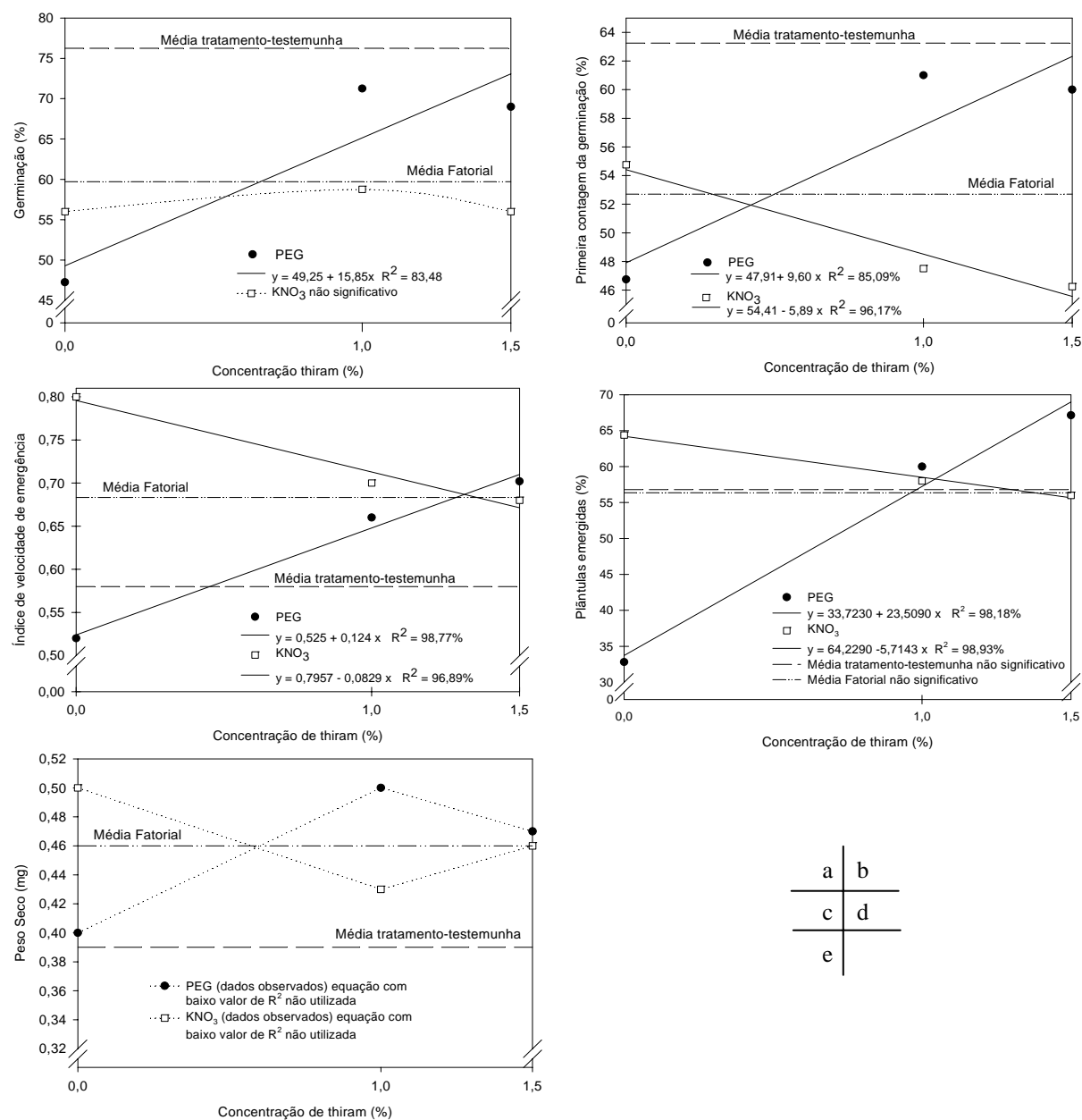


FIGURA 3 – Porcentagem média de germinação (a), Primeira contagem da germinação (b), IVE (c), Plântulas emergidas aos 14 dias (d) e Peso seco de plântulas (e) oriundos de sementes infectadas por *Alternaria dauci* e *A. radicina*, pré-condicionadas em soluções de PEG 6000 ou KNO₃ a -1,1 MPa, em função de concentrações de thiram adicionado à solução.

Entre os solutos testados, houve diferenças em relação à eficácia. Enquanto nos testes de germinação e primeira contagem da germinação, nos quais é utilizado papel mata-borrão como substrato, os tratamentos com PEG 6000 resultaram em uma maior porcentagem de germinação e primeira contagem da germinação, nos testes de índice de velocidade de emergência de plântulas e estande aos 14 dias, os quais são realizados em substrato de solo, o KNO₃ foi superior ao PEG na melhoria da qualidade fisiológica das sementes. Esse fato pode estar relacionado com as condições de desenvolvimento dos testes, nos quais as propriedades dos solutos podem influenciar nos resultados, em razão de aspectos fitotóxicos ou nutricionais.

CONCLUSÕES

O pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura em soluções de PEG 6000 e KNO₃ com aeração, no potencial osmótico de -1,1 MPa, proporciona condições favoráveis para o aumento da porcentagem média de incidência e a densidade de inóculo dos fungos *Alternaria dauci* e *A. radicina* inicialmente presentes nas sementes.

A adição do thiram às soluções osmóticas de PEG e KNO₃, nas concentrações de 1% e 1,5%, determina a eliminação dos fungos *A. dauci* e *A. radicina* associados às sementes submetidas ao pré-condicionamento fisiológico em solução aerada.

No pré-condicionamento fisiológico de sementes de cenoura infectadas por *A. dauci* e *A. radicina* em soluções aeradas, faz-se necessário o tratamento fungicida para controlar esses microrganismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAM, S.; JOYCE, D.; WEARING, A. Effects of equilibrium relative humidity on *in vitro* growth of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 36, n. 3, p. 383-388, 1996.
- BINIEK, A.; TYLKOWSKA, K. Germination and mycoflora of carrot seeds treated with thiram and conditioned in polyethylene glycol (PEG 6000). **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 215, p. 225-230, 1987.
- BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 5, p. 1105-1112, Oct. 1986.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- CORBINEAU, F.; PICARD, M. A.; CÔME, D. Effects of temperature, oxygen and osmotic pressure on germination of carrot seeds: evaluation of seed quality. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 354, p. 9-15, June 1994.
- DEARMAN, J.; BROCKLEHURST, P. A.; DREW, R. L. K. Effects of osmotic priming and ageing on the germination and emergence of carrot and leek seed. **Annals of Applied Biology**, London, v. 111, n. 3, p. 717-722, Dec. 1987.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y. J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Technology**, Norway, v. 3, n. 3-4, p. 881-888, 1975.
- LOPES, H. M. **Embebição e condicionamento fisiológico de sementes de cebola influenciados por temperatura e potencial osmótico da solução**. 1996. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.
- McKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.
- MAUDE, R. B.; DREW, R. L. K.; NIENOW, A. W. Strategies for control of seed-borne *Alternaria dauci* (leaf blight) of carrots in priming and process engineering systems. **Plant Pathology**, London, v. 41, n. 2, p. 204-214, Apr. 1992.
- MICHEL, B. E.; RADCLIFFE, D. A computer program solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 1, p. 126-130, Jan./Feb. 1995.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de (Eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 49-85.
- ROBINSON, R. A.; STOKES, R. H. Tables of osmotic and activity coefficients of electrolytes in aqueous solution at 25°C. **Faraday Society Transactions**, London, n. 45, p. 612-624, 1949.

SAS INSTITUTE. **SAS technical report SAS/STAT software**: changes and enhancement release 607. Cary, 1992.

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