

Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro

Daniele C. Pedroso¹, Marlove F. B. Muniz¹, Lilian V. M. de Tunes²,
Juceli Müller¹, Emanuele Junges¹ & Ricardo F. dos Santos¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Defesa Fitossanitária, Campus Universitário, Avenida Roraima, 1000, Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil. E-mail: danibuofsm@yahoo.com.br; marlovemuniz@yahoo.com.br; juceli.muller@yahoo.com.br; manujunges@yahoo.com.br; ricardojui@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Av. Eliseu Maciel (Departamento de Fitotecnia), Capão do Leão, CEP 96010-900, Capão do Leão- RS, Brasil. E-mail: lilianmtunes@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da associação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro inoculadas sob dois métodos: suspensão de conídios e restrição hídrica. Para a inoculação por suspensão foi preparada uma solução contendo 10^6 conídios mL⁻¹ de *A. alternata* e de *A. dauci* separadamente e de *A. alternata* + *A. dauci*, conjuntamente, na qual as sementes permaneceram 30 minutos. Para inoculação por restrição hídrica foi preparado meio BDA, acrescido com 33,10 g L⁻¹ de manitol, no qual cresceram as colônias de *A. alternata*; *A. dauci* e *A. alternata* + *A. dauci*. As sementes permaneceram nas placas por 48 h. Após os procedimentos de inoculação a qualidade das sementes foi avaliada por testes realizados em laboratório e em casa de vegetação. *Alternaria alternata* e *A. dauci* influenciam, de forma negativa, na qualidade das sementes e no desenvolvimento das plântulas de coentro. Além disto, os métodos, a suspensão de conídios e a restrição hídrica, foram eficientes na contaminação das sementes de coentro por *A. alternata* e *A. dauci*.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum*, inoculação artificial, restrição hídrica, sanidade de sementes, suspensão de esporos

Influence of Alternaria alternata and A. dauci in the cilantro seeds quality

ABSTRACT

The objective of the work was to evaluate the effect of *Alternaria alternata* and *A. dauci* association in the quality of cilantro seeds inoculated under two methods: conidial suspension and hidric restriction. For the inoculation with suspension, was prepared a solution containing 10^6 conidia mL⁻¹ of *A. alternata*, *A. dauci* and both species (*A. alternata* + *A. dauci*), in which the seeds remained for 30 minutes. For inoculation by hidric restriction, was prepared PDA medium, supplemented with 33.10 g L⁻¹ of manitol, which grew in the colonies of *A. alternata*, *A. dauci* and *A. alternata* + *A. dauci*. The seeds were kept in the plates for 48 h. After the inoculation, the seeds quality was evaluated by laboratory and greenhouse tests. *Alternaria alternata* and *A. dauci* influence negatively the seed quality and seedling development and the two methods of inoculation were effective in contamination of coriander seed.

Key words: *Coriandrum sativum*, artificial inoculation, hidric restriction, seed health, spore suspension

Introdução

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma hortaliça que abrange grande importância comercial, decorrente de sua ampla utilização condimentar no Brasil, principalmente nas regiões norte e nordeste. Seu cultivo pode ser explorado durante o ano todo (Grangeiro et al., 2011), característica que contribuiu bastante, para o atual aumento de área cultivada no País (Torres et al., 2012); no entanto, esta hortaliça enfrenta problemas relacionados à qualidade das sementes.

A qualidade da semente, caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos, pode ser limitada por uma série de fatores, dentre os quais os mais nocivos está a ocorrência de micro-organismos associados (Machado, 2000).

Dentre os patógenos encontrados em sementes de coentro, os fungos são os mais frequentes, especialmente os do gênero *Alternaria* (Reis et al., 2006).

Além de prejuízos na qualidade das sementes, espécies deste gênero, como *A. alternata* e *A. dauci*, podem ser transmitidas via semente (Togni et al., 2005), causando doença na parte aérea das plantas.

O fungo *Alternaria dauci* é o agente causador de uma doença denominada queima das folhas, bastante conhecida na cultura da cenoura; no entanto, com um volume maior de chuva, Reis et al. (2003) constataram grande incidência e severidade dessa doença nos cultivos de coentro, decorrentes, provavelmente, da associação deste patógeno com as sementes, uma vez que o mesmo é transmissível pela semente.

Na literatura brasileira existem poucas informações sobre a influência desses fungos na qualidade das sementes de coentro. Neste contexto, a utilização de técnicas de inoculação torna-se fundamental para estudos aprofundados das relações de patógenos com sementes.

A imersão das sementes em suspensão de conídios e/ou hifas é um dos métodos mais simples e tradicionais que existem; entretanto, o processo de infecção não é assegurado pois os fungos ficam aderidos restritamente ao tegumento das sementes, caracterizando uma contaminação superficial (Machado et al., 2001).

Como alternativa a este método e na tentativa de assegurar a infecção das sementes, novas técnicas ganham evidência, entre as quais se encontra a restrição hídrica, processo que se baseia no controle da hidratação e da germinação das sementes (Machado & Langerak, 2002). Obtendo resultados satisfatórios na inoculação de fungos em feijão, milho e soja (Machado et al., 2001).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro inoculadas por suspensão de conídios e por restrição hídrica.

Material e Métodos

Foram utilizadas sementes de coentro, cultivar Verdão, produzidas em Candiota, RS, as quais foram submetidas, inicialmente, à avaliação de teor de água, germinação e sanidade.

O teor de água foi determinado com base no peso úmido das sementes, pelo método de estufa a alta temperatura, de

acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Utilizaram-se duas subamostras de 5 g de peso úmido de sementes, colocadas em estufa a temperatura constante de 105 ± 3 °C, durante o período de 24 h; após este período, as subamostras secas foram pesadas; o resultado final foi expresso pela média aritmética, em porcentagens, das subamostras.

A germinação foi conduzida com quatro repetições de 50 sementes semeadas em caixas plásticas tipo “gerbox”, sobre duas folhas de papel filtro, umedecidas com água destilada e esterilizada, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As caixas foram mantidas em germinador (20-30 °C), com fotoperíodo de 8 h, quando submetidas à temperatura de 30 °C; as contagens foram realizadas aos sete e 21 dias após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, avaliando-se também a porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas.

A sanidade foi avaliada através do método do papel filtro, utilizando-se uma amostra de 200 sementes, dividida em quatro repetições de 50. Utilizaram-se caixas plásticas do tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com álcool (70 %) e hipoclorito (1 %) nas quais as sementes foram colocadas, sob duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada e esterilizada e incubadas a 25 °C, com 12 h de regime de luz, durante 24 h; em seguida, para a inibição da germinação, foram submetidas ao método do congelamento por 24 h. Após esse procedimento, foram então incubadas novamente a 25 °C, durante sete dias, com 12 h de regime de luz, conforme metodologia proposta por Brasil (2009). As análises foram realizadas com o auxílio de lupa e microscópio óptico, para observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados de acordo com a bibliografia especializada de Barnett & Hunter (1998), determinando-se a porcentagem de sementes infestadas por fungos. Por fim, foram realizados, após as avaliações iniciais, os seguintes procedimentos para instalação dos experimentos:

Obtenção do inóculo - os fungos *Alternaria alternata* e *A. dauci* utilizados neste trabalho, foram obtidos a partir de sementes de coentro submetidas ao teste inicial de sanidade, além de isolados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata + dextrose + água) e as placas incubadas a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h; somente após a purificação das colônias de cada espécie, obtidas por sucessivas repicagens, foi realizada a inoculação das sementes.

De modo a facilitar a esporulação das espécies de *Alternaria* após o crescimento, as colônias fúngicas sofreram injúrias utilizando-se radiação UV, por meio de exposição (a 30 cm de distância) à lâmpada UV (marca Toshiba, modelo GL 30T8, potência 30 W) acoplada no interior de câmara de fluxo laminar (Pulz & Massola Jr, 2009). Após este procedimento as placas de Petri foram mantidas estritamente no escuro.

A inoculação das sementes foi realizada de duas formas: na primeira, utilizou-se uma suspensão de conídios e, na segunda, meio BDA com o restritor manitol ($C_6H_{14}O_6$).

A concentração da suspensão conidial foi estimada através de leituras em câmara de Neubauer e ajustada para 10^6 conídios mL^{-1} para cada espécie de *Alternaria*; na inoculação com a

associação das duas espécies a suspensão conidial também foi ajustada para 10^6 conídios/mL, somando-se a quantidade de esporos (50 % para cada espécie) dos fungos. As sementes, previamente desinfestadas com álcool (70 %) e hipoclorito (1 %) por um minuto, permaneceram imersas na suspensão por 30 minutos; após secagem por 48 h, as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade.

No método da restrição hídrica utilizou-se BDA acrescido do soluto manitol (33,10 g/L), conforme Coutinho et al. (2001). Discos de colônias puras de cada um dos patógenos foram repicados para o meio com manitol e mantidos em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C, durante sete dias. Para o tratamento com as duas espécies de *Alternaria* foram colocados discos de cada fungo em extremidades opostas à placa, proporcionando uma mistura de micélios em toda a superfície do meio de cultura; após este período, as sementes de coentro, previamente desinfestadas com álcool (70 %) e hipoclorito (1 %) por um minuto, foram distribuídas em camada única sobre o micélio de cada uma das espécies fúngicas estudadas. As sementes permaneceram sobre o micélio dos fungos até o momento em que pelo menos uma delas apresentasse início de protrusão radicular, o que ocorreu 48 h após a sua colocação no meio de cultura. As mesmas foram, então, removidas do meio e colocadas a secar sobre papel filtro, por mais 48 h. Somente após este processo as sementes foram submetidas aos testes para avaliação da qualidade.

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 disto, 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 cada método de inoculação, foi realizada novamente a análise sanitária, conforme Brasil (2009), para confirmar a contaminação das sementes, em que se observou que 100% das sementes se encontravam infestadas pelos fungos estudados em cada tratamento; observou-se, inclusive, a presença de ambos, em sementes submetidas à inoculação com *A. alternata* e *A. dauci*.

Os testes a seguir, utilizados para a análise da qualidade fisiológica das sementes, foram repetidos com resultados semelhantes na primeira avaliação (ou avaliação original) e na segunda (repetição dos testes) realizadas:

Germinação - realizada conforme já descrito acima, de acordo com metodologia proposta pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Primeira contagem - consistiu no registro da porcentagem de plântulas normais verificadas na primeira contagem do teste de germinação, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Comprimento de plântula - avaliou-se o comprimento médio das plântulas normais obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 10 sementes. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em germinador (20-30 °C), com 8 h de luz a 30 °C, durante sete dias. Após este período, avaliou-se o comprimento total das plântulas com auxílio de uma régua graduada em milímetros; o comprimento médio foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e se dividindo pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros/plântula, conforme descrito por Nakagawa (1999).

Teste de frio - realizado com quatro repetições de 50 sementes semeadas em rolo de papel filtro umedecido com água destilada e esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos permanecendo por sete dias em câmara (do tipo BOD) na temperatura constante de 10 °C. Após este período os mesmos foram transferidos para o germinador (20 - 30 °C) onde permaneceram por mais sete dias e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme recomendação de Cícero & Viera (1994).

Emergência - realizada utilizando-se bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantmax®. A avaliação ocorreu aos 21 dias após a semeadura quando a emissão de plântulas se tornou constante, computando-se a porcentagem de plântulas normais emergidas.

Índice de velocidade de emergência (IVE) - esse teste foi realizado em conjunto com a emergência, em casa de vegetação, no qual se realizaram contagens diárias de plântulas emergidas nas bandejas, até obter-se número constante. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de emergência, 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 plântulas por repetição, aos 21 dias após a semeadura.

Massa seca - obtida pela pesagem de plântulas normais obtidas ao final do teste de emergência; as mesmas foram secadas em estufa com circulação de ar, regulada a 80 °C, onde permaneceram até a estabilização da massa seca e novamente pesadas. Calculou-se a massa média somando-se a massa de dez plantas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plantas normais pesadas, com resultados expressos em g/planta.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. 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, cada método constituindo um fator isolado no qual apenas os tratamentos foram comparados. Os dados expressos em porcentagens foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$, empregando-se o Software Sistema de Análises Estatísticas – SANEST (Zonta & Machado, 1986).

Resultados e Discussão

Os dados iniciais de teor de água, germinação e sanidade das sementes de coentro não foram analisados estatisticamente

pois serviram apenas como base para o conhecimento inicial da amostra adquirida.

O teor de água de 6,8 %, verificado nessas sementes, pode ser considerado baixo, fato este imprescindível para a realização dos testes uma vez que baixos teores de água contribuem para resultados mais consistentes. O efeito do teor de água nas sementes se dá principalmente por intensificar sua respiração (Freitas, 2009), se a semente atingir teores de água elevados, a sua atividade respiratória pode tornar-se intensa e, com isto, haver um consumo considerável de material de reserva e decréscimo de energia, provocando maior deterioração e perda de vigor (Carvalho & Nakagawa, 2000). Sendo assim, considera-se que os resultados obtidos não foram influenciados pelo teor de água das sementes mas pela associação das mesmas com os agentes patogênicos estudados.

A porcentagem inicial de germinação foi de 86%, valor este adotado como base ou como testemunha absoluta, sendo 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, conforme observado por Sousa et al. (2008) em sementes de algodão inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

Na análise sanitária inicial, verificou-se a presença dos seguintes fungos: *Aspergillus* (1%), *Alternaria alternata* (13%), *A. dauci* (12%), *Cladosporium* (4%) e *Penicillium* (8%). Esses resultados também contribuíram para uma avaliação mais precisa pois, apesar desses gêneros fúngicos comumente ocorrerem em sementes de coentro (Trigo et al., 1997), sua baixa porcentagem de incidência, além de conferir ao lote uma qualidade sanitária satisfatória, também assegura a não interferência dos mesmos na avaliação das espécies de *Alternaria* inoculadas.

Na análise de qualidade, realizada após a inoculação das sementes com suspensão de conídios (Tabela 1), pode-se verificar que a testemunha absoluta obteve os melhores resultados em relação às sementes inoculadas, inclusive a testemunha do método, no teste de primeira contagem, germinação, comprimento de plântula e no teste de frio; o mesmo não foi verificado na porcentagem de plântulas anormais e de sementes mortas; neste caso, os resultados obtidos com a testemunha absoluta foram estatisticamente iguais aos obtidos com a testemunha da inoculação para ambas as análises (testes originais e repetição dos testes) realizadas com as sementes de coentro.

Esta diferença entre testemunha absoluta e testemunha do método de inoculação, sugere que o método da suspensão de conídios possa ter influenciado na qualidade das sementes, conforme já relatado por Sousa et al. (2008); no entanto, a ação dos patógenos foi significativamente mais prejudicial para a qualidade das sementes de coentro.

Verificou-se, na primeira contagem de germinação (Tabela 1), que as sementes inoculadas com *A. alternata* e com *A. dauci*, isoladas ou em conjunto, apresentaram menor porcentagem de plântulas normais em relação à testemunha nos testes originais e, quando os testes foram repetidos, os resultados obtidos com essas sementes inoculadas não diferiram da referida testemunha. As informações oferecidas pelo teste de primeira

contagem são consideradas preliminares, no que diz respeito ao potencial fisiológico das sementes, pois se avalia indiretamente a velocidade de germinação das sementes (Bhering et al. 2000). Tão logo se avaliou o teste de germinação pôde-se encontrar diferenças significativas entre a testemunha e as sementes inoculadas com os agentes patogênicos, tanto no teste original como na sua repetição.

Tabela 1. Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) de sementes de coentro inoculadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de suspensão de conídios

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
Suspensão de Conídios (testes originais)						
T1	81 a*	87 a	1 b	0 c	7,05 a	81 a
T2	68 b	82 b	3 b	0 c	6,80 b	68 b
T3	62 c	68 c	15 a	10 b	2,40 e	31 c
T4	61 c	62 c	13 a	19 a	2,71 c	27 c
T5	64 c	65 c	16 a	20 a	2,55 d	31 c
CV (%)	2,43	2,70	16,54	11,99	0,60	3,20
Suspensão de Conídios (repetição dos testes)						
T1	81 a*	87 a	1 b	1 c	7,04 a	81 a
T2	64 b	80 b	1 b	1 c	5,48 b	57 b
T3	60 b	64 c	12 a	12 b	2,69 c	30 c
T4	59 b	64 c	14 a	22 a	2,76 c	28 c
T5	62 b	67 c	14 a	20 a	2,71 c	29 c
CV (%)	2,76	3,40	21,45	17,19	0,80	4,31

* 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*

A porcentagem germinativa (Tabela 1), tanto nos testes originais quanto na sua repetição, sofreu decréscimo significativo quando as sementes foram inoculadas com *A. alternata* e com *A. dauci*, isoladas e conjuntamente. Esses resultados estão de acordo com os observados em uma investigação feita com lotes de sementes de coentro, a qual revelou que sementes contaminadas com *A. dauci* e *A. alternata* apresentaram diminuição significativa na porcentagem de germinação (Togni et al., 2005). Decréscimo no potencial germinativo também foi observado em trabalhos realizados por Verzignassi et al. (1997), com sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni inoculadas com *A. alternata* e *A. steviae* e por Pedrosa et al. (2010), com inoculação de *A. alternata* e *A. dauci* em sementes de *Petroselinum crispum* (Mill.) A.W. Hill.

Os resultados obtidos avaliando-se a porcentagem de plântulas anormais (Tabela 1), demonstraram que houve influência negativa dos fungos no desenvolvimento das plântulas de coentro, para sementes inoculadas com ambos *A. alternata* e *A. dauci*, separadamente ou em conjunto, seguindo a mesma tendência dos testes de primeira contagem e de germinação, para ambas as avaliações (originais e repetição).

A porcentagem de sementes mortas (Tabela 1) foi igualmente influenciada (tanto nos testes originais como na repetição dos mesmos), pela presença de *A. alternata* e de *A. dauci* nas sementes, os quais ocasionaram a morte de um número maior de sementes em relação às testemunhas, resultados esses verificados também por Pedrosa et al. (2010) em sementes de salsa as quais, quando inoculadas por suspensão de conídios, obtiveram uma porcentagem maior de sementes mortas em

relação àquelas sem os patógenos, tal como uma porcentagem maior de plântulas anormais.

Na avaliação do comprimento (Tabela 1), as sementes submetidas à inoculação com as espécies fúngicas isoladas e em conjunto, apresentaram deficiência no tamanho das plântulas, ratificando, assim, como para plântulas anormais, a influência negativa desses patógenos no crescimento de coentro. Tais resultados estão de acordo com os encontrados por Togni et al. (2005) também com sementes de coentro, nas quais a presença de *A. alternata* e *A. dauci*, além de prejudicar a germinação também interferiu no desenvolvimento da espécie vegetal.

O teste de frio (Tabela 1) seguiu a mesma tendência dos resultados obtidos no teste de germinação para sementes inoculadas com *A. alternata* e com *A. dauci* isoladas ou em conjunto, as quais apresentaram menor vigor em relação às testemunhas, nos testes originais e na repetição desses testes; redução do vigor foi também observada por Magalhães et al. (2004), quando avaliaram o desempenho de sementes de cenoura portadoras de *Alternaria* spp..

Quando se analisaram as sementes inoculadas por restrição hídrica (Tabela 2), a testemunha absoluta apresentou os melhores resultados de qualidade em relação às sementes inoculadas no teste de primeira contagem, germinação, sementes mortas e teste de frio; já para a porcentagem de plântulas anormais e para o comprimento de plântula, não houve diferença entre a testemunha absoluta e a testemunha da restrição hídrica em ambas as avaliações (testes originais e repetição dos testes) realizadas.

Tabela 2. Primeira Contagem de Germinação (PC), Germinação (G), Plântulas Anormais (PA), Sementes Mortas (SM), Comprimento de Plântula (CP) e Teste de Frio (TF) de sementes de coentro inoculadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica

Tratamentos	PC (%)	G (%)	PA (%)	SM (%)	CP (cm)	TF (%)
Restrição Hídrica (testes originais)						
T1	81 a*	87 a	1 c	1 c	7,04 a	81 a
T6	70 b	76 b	1 c	9 b	7,00 a	67 b
T7	54 c	56 c	25 b	12 b	4,82 b	70 b
T8	52 c	54 c	25 b	13 b	5,35 b	71 b
T9	17 d	26 d	59 a	26 a	2,02 c	48 c
CV (%)	3,36	3,30	13,75	13,25	8,79	3,01
Restrição Hídrica (repetição dos testes)						
T1	81 a*	87 a	1 c	0 d	7,04 a	81 a
T6	79 a	79 b	0 c	6 c	7,09 a	70 b
T7	56 b	57 c	25 b	12 b	5,42 b	71 b
T8	54 b	55 c	22 b	11 b	5,14 c	69 b
T9	18 c	29 d	58 a	22 a	1,89 d	54 c
CV (%)	3,15	2,89	10,54	12,26	0,64	2,37

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

Neste caso, diferente do método de suspensão, a ação de ambos os fungos, quando aplicados concomitante nas sementes, foi a mais nociva, de acordo com os resultados dos testes de primeira contagem e de germinação, com as avaliações de plântulas anormais, sementes mortas e comprimento de plântula e também no teste de frio (Tabela 2).

Diferente dos métodos usuais de inoculação, o uso de substrato agarizado complementado por um soluto (no caso manitol), permite a exposição direta das sementes à colônia

fúngica por um tempo relativamente maior, baseado no princípio de controle de germinação (Machado et al., 2001). Tal fato pode ter favorecido e/ou garantido a infecção das sementes de coentro permitindo, desta forma, a influência negativa dos patógenos, sobretudo quando os mesmos atuaram em conjunto nas sementes.

A infecção de sementes é um aspecto de grande relevância, haja vista que, neste caso, existe maior facilidade por parte do patógeno, em prejudicar a qualidade e o vigor das sementes, conforme se observou nos resultados. Além disto, a localização do inóculo na semente tem efeito decisivo no processo de transmissão à planta sendo que, quanto mais profunda a infecção maiores são as chances de ser produzida uma plântula com sintoma (Dhingra, 2005).

Os testes realizados em casa de vegetação (Tabela 3) confirmaram a ação desfavorável dos fungos no desenvolvimento das plântulas. Os patógenos presentes nas sementes contribuíram para uma porcentagem menor de emergência de plântulas de coentro, em especial quando as sementes continham *A. dauci* associado, isolado ou em conjunto com *A. alternata*. A mesma tendência foi seguida quando se avaliou a velocidade de emergência e apesar de a mesma ser reduzida na presença de *A. alternata* isolado, o retardo gerado pela associação das sementes com *A. dauci* e *A. dauci* + *A. alternata* foi bem mais significativo.

Tabela 3. Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Massa Seca (MS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH) e Comprimento Total de Planta (CT) de sementes de coentro, inoculadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de suspensão de conídios

Tratamentos	EP (%)	IVE	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)
Suspensão de Conídios					
T1	91 a*	1,61 a	13,25 a	8,80 b	22,05 a
T2	92 a	1,59 a	12,41 b	9,47 a	21,90 b
T3	85 b	1,52 b	12,23 c	8,45 c	20,68 c
T4	74 c	1,35 c	10,54 e	7,45 e	17,99 e
T5	75 c	1,35 c	11,25 d	8,28 d	19,53 d
CV (%)	3,03	2,58	0,27	0,33	0,18
Suspensão de Conídios (repetição dos testes)					
T1	91 a*	1,61 a	13,25 a	8,80 b	22,05 a
T2	90 a	1,53 a	12,35 b	9,44 a	21,79 b
T3	81 b	1,45 b	12,18 c	8,28 d	20,46 c
T4	70 c	1,33 c	10,24 e	8,18 e	18,42 e
T5	71 c	1,28 c	11,20 d	8,67 c	19,87 d
CV (%)	2,57	2,99	0,28	0,32	0,18

* 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*

Da mesma forma que influenciou na velocidade de emergência, *A. dauci* prejudicou o crescimento das plântulas, sobremaneira quando se encontrava isolado, com menor comprimento de raiz e de hipocótilo e, conseqüentemente, menor comprimento total, em ambas as avaliações realizadas (originais e repetição).

Resultados semelhantes foram encontrados com sementes inoculadas através da restrição hídrica (Tabela 4), caso em que *A. dauci* se destacou como o patógeno mais nocivo, principalmente quando se encontrava isolado na semente, exceto quando foi avaliado o comprimento de raiz em que ambos os patógenos associados prejudicaram seu desenvolvimento.

Tabela 4. Emergência de plântulas (EP), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Massa Seca (MS), Comprimento de Raiz (CR), Comprimento de Hipocótilo (CH) e Comprimento Total de Planta (CT) de sementes de coentro, cultivar Verdão, inoculadas com *Alternaria alternata* e *A. dauci*, através de restrição hídrica

Tratamentos	EP (%)	IVE	CR (cm)	CH (cm)	CT (cm)
Restrição Hídrica					
T1	91 a	1,62 a	13,11 b	7,46 a	20,57 b
T6	78 b	1,24 b	15,29 a	6,44 b	21,75 a
T7	46 c	0,95 c	5,05 c	6,30 c	11,35 c
T8	32 d	0,75 d	4,58 d	5,42 d	10,00 e
T9	45 c	0,78 d	4,26 e	6,28 c	10,54 d
CV (%)	3,91	3,50	0,37	0,48	0,28
Restrição Hídrica					
T1	91 a'	1,62 a	13,11 b	7,46 a	20,57 b
T6	82 b	1,20 b	15,43 a	6,57 b	22,00 a
T7	55 c	0,89 c	5,37 c	6,47 c	11,84 c
T8	40 d	0,74 d	4,76 d	5,62 e	10,38 e
T9	42 d	0,88 c	4,64 e	6,31 d	10,93 d
CV (%)	2,98	2,21	0,42	0,57	1,92

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

A ação isolada de *A. dauci* pode estar relacionada com o modo de contaminação das sementes, uma vez que este patógeno tem a capacidade de infectar sementes, penetrando em seus tecidos internos da semente, podendo chegar até o embrião (Muniz & Porto, 1999), o que faz com que seja um patógeno consideravelmente de maior virulência em relação à *A. alternata* que, comumente, fica aderido à superfície da semente ao invés de penetrar nos tecidos de reserva e no embrião resultando em infestação ou contaminação superficial, ao invés de infecção, o que, segundo Machado (1994), pode tornar o patógeno mais suscetível à ação dos inúmeros fatores ambientais; neste caso, a ação do ambiente não controlado da casa de vegetação pode ter prejudicando o desenvolvimento e até mesmo a patogenicidade de *A. alternata* permitindo, assim, que o mesmo não influenciasse tão significativamente na porcentagem e velocidade de emergência, tal como no crescimento das plântulas de coentro.

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que a associação de *A. alternata* e *A. dauci* com sementes de coentro, resulta em perdas significativas na qualidade das mesmas e no desenvolvimento das plântulas; sendo assim, o tratamento de sementes seria uma ferramenta de grande valia para se obter qualidade sanitária e, conseqüentemente, melhor qualidade fisiológica.

Além disto, ambos os métodos de inoculação demonstraram eficiência na contaminação das sementes, o que foi confirmado através da sua análise sanitária e da inoculação permitindo, então, a avaliação da influência dos patógenos na qualidade das sementes de coentro.

Conclusões

Alternaria alternata e *A. dauci* influenciam, de forma negativa, na qualidade das sementes e no desenvolvimento das plântulas de coentro.

Os métodos de inoculação, suspensão de conídios e restrição hídrica, foram eficientes na contaminação das sementes de coentro por *Alternaria alternata* e *A. dauci*.

Literatura Citada

- Barnett, H. L.; Hunter, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. St Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.
- Bhering, M. C.; Dias, D. C. F. S.; Gomes, J. M.; Barros, D. I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. Revista Brasileira de Sementes, v.22, n.2, p.171-175, 2000. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2000/v22n2/artigo23.pdf>>. 02 Dez. 2012.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.
- Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- Cícero, S. M.; Vieira, R. D. Teste de frio. In: Vieira, R. D.; Carvalho, N. M. de. (Eds.). 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.; Ferreira, 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 agar-água. Revista Brasileira de Sementes, v.23, n.2, p.127-135, 2001. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2001/v23n2/artigo19.pdf>>. 08 Dez. 2012.
- Dhingra, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: Zambolin, L. (Ed.). Sementes: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV. 2005. p.11-75.
- Freitas, R. A. Deterioração e armazenamento de sementes de hortaliças. In: Nascimento, W. M. (Ed.) Tecnologia de sementes de hortaliças. 1.ed. Brasília: Embrapa hortaliças, 2009. p.155-182.
- Grangeiro, L. C.; Freitas, F. C. L.; Negreiros, M. Z.; Marrocos, S. T. P.; Lucena, R. R. M.; Oliveira, R. A. Crescimento e acúmulo de nutrientes em coentro e rúcula. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.1, p.11-16, 2011. <<http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i1a634>>.
- Machado, J. C. Padrões de tolerância de patógenos associados a sementes. Revisão Anual de Patologia de Plantas. v. 2, p.229-263, 1994.
- Machado, J. C. Tratamento de sementes no controle de doenças. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.
- Machado, J. C.; Langerak, C. J. General incubation methods for routine seed health analysis. In: Machado, J. C.; Langerak, C. J.; Jaccoud-Filho, D. S. (Eds.) Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis. International Seed Testing Association, 2002. p.48-80.
- 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. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/2001/v23n2/artigo12.pdf>>. 28 Nov. 2012.
- Magalhães, F. H. L.; Machado, J. C.; Vieira, M. G. G. C.; Guimarães, R. M.; Oliveira, J. A.; Ledo, C. A. S. Desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de *Alternaria* após o condicionamento fisiológico com adição de thiram. Ciência Agrotecnologia, v.28, n.5, p.1007-1014, 2004. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000500006>>.

- 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. <<http://dx.doi.org/10.2135/crops.ci1962.0011183X000200020033x>>.
- Muniz, M. F. B.; Porto, M. D. M. Presença de *Alternaria* spp. em diferentes partes da semente de cenoura e em resíduos culturais e efeito do tratamento de sementes na sua transmissão. *Revista Brasileira de Sementes*, v.21, n.1, p.187-193, 1999. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1999/v21n1/artigo28.pdf>>. 28 Nov. 2012.
- 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. p.2-1-2-21.
- Pedroso, D. C.; Menezes, V. O.; Muniz, M. F. B.; Piveta, G.; Tunes, L. M.; Müller, J.; Menezes, N. L. Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.32, n.3, p.79-85, 2010. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222010000300009>>.
- Pulz, P.; Massola Jr., N. S. Efeito de meios de cultura e fatores físicos no crescimento e esporulação de *Alternaria dauci* e *A. solani*. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.2, p.121-126, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052009000200007>>.
- 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, suplemento, 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, n.1, p.107-111, 2006. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000100022>>.
- Sousa, M. V.; Machado, J. C.; Pfenning, L. H.; Kawasaki, V. H.; Araújo, D. V.; Silva, A. A.; Neto, A. M. Métodos de inoculação e efeitos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro. *Tropical Plant Pathology*, v.33, n.1, p.41-48, 2008. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000100007>>.
- 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*, v.31, suplemento, p.76-76, 2005.
- Torres, S. B.; Dantas, A. F.; Pereira, M. F. S.; Benedito, C. P.; Silva, F. H. A. Deterioração controlada de sementes de coentro. *Revista Brasileira de Sementes*, v.34, n.2, p.319-326, 2012. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222012000200018>>.
- Trigo, M. F. O. O.; Trigo, L. F. N.; Pierobom, C. R. Fungos associados às sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Sementes*, v.19, n.2, p.214-218, 1997. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1997/v19n2/artigo12.pdf>>. 29 Nov. 2012.
- Verzignassi, J. R.; Vida, J. B.; Homechin, M. Ocorrência e transmissão de *Alternaria steviae* E *A. alternata* em sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Revista Brasileira de Sementes*, v.19, n.2, p.283-287, 1997. <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1997/v19n2/artigo23.pdf>>. 29 Nov. 2012.
- Zonta, E. P.; Machado, A. A. Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150p.