

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERFERÊNCIA DE PATÓGENOS NOS RESULTADOS DOS  
TESTES DE VIGOR EM SEMENTES DE FEIJOEIRO**

**Thaís Frigeri**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia Panizzi**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Nelson Moreira de Carvalho**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção e Tecnologia de Sementes).

**JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL**

**Fevereiro de 2007**

F912i Frigeri, Thaís  
Interferência de patógenos nos resultados dos testes de vigor em sementes de feijoeiro / Thaís Frigeri. -- Jaboticabal, 2007  
ix, 77 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007  
Orientadores: Rita de Cássia Panizzi  
Banca examinadora: Margarete Camargo, Juliana Altafin Galli  
Bibliografia

1. *Colletotrichum dematium* f. *truncata*. 2. *Colletotrichum lindemuthianum*. 3. *Macrophomina phaseolina*. 4. qualidade fisiológica. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.531:632.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**THAÍS FRIGERI** - nascida em 20 de junho de 1981, em Paraíso, SP, é Engenheira Agrônoma formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP - Câmpus de Jaboticabal, SP, em março de 2005. É filiada ao Conselho Regional de Engenharia, Arquitetura e Agronomia de São Paulo desde 2005. Em março de 2005, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção e Tecnologia de Sementes, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP - Câmpus de Jaboticabal.

## Dedico

Aos meus pais, Antônio e Édna,  
que foram essenciais na obtenção desse título, trabalhando dobrado, sacrificando seus sonhos para realização dos meus, não medindo esforços para que eu obtivesse sucesso em mais uma etapa da minha vida e que jamais me deixaram desistir.

Em especial ao meu namorado Oldemar,  
pelo amor, apoio, ajuda, incentivo, companheirismo e cumplicidade constantes nesses anos, e principalmente pela paciência e compreensão. Obrigada pela demonstração constante de carinho e respeito em todas as horas, durante esta caminhada.

## Ofereço

A minha avó, Aracy (*in memoriam*),  
que durante toda minha vida cuidou de mim, contribuindo para a pessoa que hoje sou. Que Deus a tenha consigo.

## Agradecimentos

À Deus que está acima de todas as coisas;

À grande mestre Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita de Cássia Panizzi, pelo apoio nesses anos de orientação, amizade, conselhos, ensinamentos e paciência;

Ao Prof. Dr. Nelson Moreira de Carvalho pela amizade e por acreditar que eu seria capaz de realizar esse trabalho;

Ao meu irmão Cleder, pelo carinho, amizade e ajuda em todas as horas;

Aos membros da banca examinadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarete Camargo e Dr<sup>a</sup> Juliana Altafin Galli, pelo carinho que dedicaram à leitura de meu trabalho e pelas sugestões feitas para sua melhoria;

Aos professores e amigos Rubens Sader, Domingos Fornasieri Filho e Rouverson Pereira da Silva por trazerem para minha vida uma insubstituível alegria;

Às funcionárias do Departamento de Fitossanidade, Rosângela Teodoro dos Santos Souza, Lúcia Rita Ramos Guerreiro, pela ajuda e boa vontade em me auxiliarem na realização desse trabalho e funcionários do Departamento de Fitotecnia, Rubens (Faro-fino), Mauro e em especial ao Lázaro José Ribeiro da Silva (Gabi); pela ajuda em todos os momentos, ensinamento e sincera amizade;

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mara pela paciência e ajuda nas análises químicas;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da Bolsa de Mestrado;

Aos meus colegas de pós-graduação Adriana Wain, Auricléia, Breno, Bruno, César, Magnólia e à estagiária Maria Isabel Sartis Leme pela amizade, companheirismo, paciência e alegria nesses anos de convivência que jamais serão esquecidos;

Às amigas Adriana Ursulino, Gilcileia dos Santos Rizzatti e Lúcia Lopes, que estiveram do meu lado, ajudando, apoiando, incentivando e alegrando;

À todos os demais colegas, amigos, funcionários, acadêmicos e pós-graduandos que convivi durante estes anos, que direta ou indiretamente contribuíra para a concretização desse sonho.

## SUMÁRIO

Página

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	iii
<b>RESUMO</b> .....	vi
<b>SUMMARY</b> .....	viii
<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>II. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1. A análise de sementes.....	4
2.2. Interferência de fungos na produção de sementes .....	5
2.3. Fungos importantes para a cultura do feijoeiro .....	7
2.4. Testes de vigor .....	11
2.5. Teste de Condutividade Elétrica .....	12
2.6. Influência de fungos nos resultados dos testes de vigor.....	17
2.6.1. Influência de fungos nos resultados do teste de Condutividade Elétrica ..	18
2.7. Técnica da restrição hídrica para inoculação de sementes com patógenos.	19
<b>III. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
3.1. Obtenção e multiplicação do inóculo .....	23
3.2. Período de inoculação das sementes com <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	24
3.3. Inoculação das sementes com <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	24
3.4. Testes para avaliação das sementes .....	25
3.4.1. Sanidade das sementes.....	25
3.4.2. Determinação do teor de água.....	25
3.4.3. Teste de Germinação.....	26
3.4.4. Índice de Velocidade de Emergência .....	26
3.4.5. Peso da Matéria Seca da plântula .....	27

3.4.6. Envelhecimento Acelerado .....	27
3.4.7. Teste de Frio .....	27
3.4.8. Teste de Condutividade Elétrica .....	28
3.4.9. Análise química da água de embebição das sementes .....	28
3.4.10. Análise química do meio de cultura .....	29
3.5. Teste de Condutividade Elétrica em lotes com diferentes níveis de infestação por <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .....	29
3.6. Análise estatística .....	30
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
4.1. Determinação do período de inoculação das sementes para <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> .....	31
4.2. Teor de água das sementes .....	34
4.3. Efeito dos fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> na qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro .....	36
<b>V. CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
<b>VI. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>57</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Caracterização inicial da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro, cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007 .....	22
2	Incidência (%) de fungos em sementes de feijoeiro, utilizadas no experimento. Jaboticabal – SP, 2007. ....	22
3	Período de inoculação das sementes de feijoeiro com <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> , para que o fungo atinja o interior das mesmas. Jaboticabal – SP, 2007 .....	31
4	Incidência de <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> em sementes de feijoeiro, cultivares Carioca e FT Nobre, detectados pelo método do papel de filtro, após 15 dias da inoculação artificial das sementes. Jaboticabal – SP, 2007.....	33
5	Teor de água (%) de sementes de feijoeiro infectadas com os fungos e sadias, em meios de cultura com e sem restrição hídrica, cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.....	35
6	Porcentagem de germinação em areia de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.....	37
7	Índice de Velocidade de Emergência (IVE) de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum</i>	



	<i>lindemuthianum</i> , para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	40
8	Peso de Matéria Seca das plântulas ( $\text{mg plântula}^{-1}$ ) originadas de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	40
9	Porcentagem de germinação de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , obtida no Teste de Frio, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	42
10	Porcentagem de germinação de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , obtida no Teste de Envelhecimento Acelerado, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	44
11	Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	46
12	Lixiviação de potássio, cálcio e magnésio ( $\text{mg Kg}^{-1}$ de semente) na água de embebição de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> e <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> , obtida no Teste de Condutividade Elétrica, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	49
13	Concentração dos íons potássio, cálcio e magnésio ( $\text{mg Kg}^{-1}$ de meio de cultura) em meio de cultura BDA com e sem restrição	

	hídrica, com e sem sobreposição de sementes de feijoeiro, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007. ....	53
14	Efeito de diferentes níveis de infestação de sementes de feijoeiro com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> sobre os resultados da Condutividade Elétrica. Jaboticabal – SP, 2007. ....	54

## INTERFERÊNCIA DE PATÓGENOS NOS RESULTADOS DOS TESTES DE VIGOR EM SEMENTES DE FEIJOEIRO

**RESUMO** - O objetivo dessa pesquisa foi verificar a influência de *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum* na qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro, em especial nos resultados do teste de condutividade elétrica. Foram utilizadas sementes das cultivares Carioca e FT Nobre. As sementes foram infectadas com os fungos em meio de cultura BDA sem e com restrição hídrica (acrescido de manitol a -1,0 MPa). Nos tratamentos testemunhas foram utilizados os mesmos meio de cultura, porém, sem a presença dos fungos. Para cada tratamento as sementes foram sobrepostas nos meios de cultura por 16 horas para *M. phaseolina* e por 48 horas para o caso de *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*. Após secagem natural foram realizados testes de sanidade, germinação em areia e de vigor, como, índice de velocidade de emergência, peso da matéria seca da plântula, teste de frio, teste de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Também foram realizadas análises na água de embebição das sementes no teste de condutividade elétrica, determinando-se as concentrações de potássio, cálcio e magnésio, assim como nos meios de cultura utilizados com e sem a sobreposição de sementes, para verificação da hipótese de consumo de nutrientes das sementes pelos fungos. Além disso, o teste de condutividade elétrica também foi realizado em lotes com 0, 25, 50, 75 e 100% de sementes infestadas com o fungo *C. lindemuthianum*. Os resultados obtidos permitiram concluir que a infecção de

sementes de feijoeiro com *M. phaseolina* pelo período de 16 horas e de *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum* por 48 horas com o uso de manitol (-1,0 MPa) para restrição hídrica é suficiente para verificar a interferência desses organismos na qualidade fisiológica das sementes; a germinação de sementes de feijoeiro, cultivares Carioca e FT Nobre, é afetada por *M. phaseolina*, e não por *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*; o desempenho das sementes contaminadas com *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*, nos testes de vigor (Envelhecimento Acelerado, Teste de Frio e Condutividade Elétrica) da cultivar FT Nobre é mais afetado pelos fungos; sementes infectadas com *M. phaseolina* e *C. lindemuthianum* apresentam valores de condutividade elétrica menores que sementes sadias, provavelmente devido a esses microorganismos consumirem nutrientes desse órgão; a interferência de *C. lindemuthianum* nos resultados do teste de condutividade elétrica para avaliar vigor de sementes é detectada em lotes a partir de 75% de sementes contaminadas da cultivar Carioca e de 25% para a cultivar FT Nobre.

**Palavras-chaves:** *Colletotrichum dematium* f. *truncata*, *Colletotrichum lindemuthianum*, condutividade elétrica, *Macrophomina phaseolina*, qualidade fisiológica

## INTERFERENCE OF PATHOGEN IN THE RESULTS OF THE VIGOR TESTS IN BEAN SEEDS

**SUMMARY** - The aim of this research was to verify the influence of *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* and *Colletotrichum lindemuthianum* in the physiological quality of bean seeds, special in the results of electrical conductivity test. There were used seeds from Carioca and FT Nobre cultivars. The seeds were artificially inoculated with fungi *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* and *C. lindemuthianum* in BDA medium culture with and without hydric restriction (it was added -1,0 MPa manitol). In the control treatment there was used the same medium culture without the presence of the fungi. For each treatment the seeds were placed on the medium culture for 16 hours for *M. phaseolina* and 48 hours for *C. dematium* f. *truncata* and *C. lindemuthianum*. After a nature dry, seeds were evaluated, by the blotter test, sand germination and vigor tests: speed of emergence index, seedlings dry weigh, cold, accelerated aging and electrical conductivity tests. Analyses from the imbibition water of the seeds in the electrical conductivity test, were also done a measuring of concentrations of potassium, calcium and magnesium, as well as in the medium culture used with and without the seeds, to verify the hypothesis of seeds nutrients consumption by the fungi. Moreover, the electrical conductivity test was also developed in lots with 0, 25, 50, 75 and 100% of seeds artificially inoculated with fungi *C. lindemuthianum*. The obtained results had allowed to conclude that the infection of bean seeds with *M. phaseolina* for the period of 16 hours and *C. dematium* f. *truncata* and *C. lindemuthianum* for 48 hours with the use of manitol (- 1,0 MPa) for

hydric restriction is enough to verify the interference of these organisms in the physiological quality of the seeds; the germination bean seeds for Carioca and FT Nobre cultivar is affected by *M. phaseolina*, and not for *C. dematium* f. *truncata* and *C. lindemuthianum*; the performance of the infected seeds with *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* and *C. lindemuthianum*, in the vigor tests (Accelerated aging, Cold and Electrical conductivity tests) of FT Nobre cultivar is more affected by the fungi; infected seeds with *M. phaseolina* and *C. lindemuthianum* present lower values of electrical conductivity than in healthy ones; probably these microorganisms consumed nutrients of these seeds; the interference of *C. lindemuthianum* in the results of the bulk of electrical conductivity to evaluate the vigor of the seeds is detected in lots beginning with 75% of contaminated seeds from Carioca cultivar and 25% from FT Nobre cultivar.

**Keywords:** *Colletotrichum dematium* f. *truncata*, *Colletotrichum lindemuthianum*, electrical conductivity, *Macrophomina phaseolina*, physiological quality

## I. INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie da família das leguminosas, a qual representa a principal fonte de proteínas de origem vegetal, além de ser o terceiro fornecedor de calorias na alimentação brasileira. Em diferentes cultivares, o conteúdo de proteína pode variar de 18 a 35%, estando comumente entre 23 e 26% em base seca. O conteúdo de gordura é baixo (1 a 3%) e o de carboidrato, representado principalmente pelo amido, varia de 60 a 65% (SGARBIERI & GARRUTI, 1986; CARNEIRO, 1999).

É a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus*, contribuindo com aproximadamente 95% da produção mundial de feijão (FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ, citada por YOKOYAMA et al., 1996).

O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, que dentre as leguminosas comercializadas no mercado interno e externo, ocupa um lugar de destaque. No entanto, a cultura apresenta baixa produtividade devido, entre outros fatores, à utilização de grãos, ao invés de sementes, para o plantio. A taxa de utilização de sementes certificadas de feijão é muito baixa, em torno de 10% (TROMBETA, 1994). Isso significa que a grande maioria dos produtores raramente adquire sementes, utilizando-se de grãos, nem sempre de boa qualidade, para a semeadura de seus campos de produção. O uso de sementes certificadas de boa qualidade poderia contribuir com acréscimo de até 40% na produtividade, devido à melhor qualidade fisiológica da semente e também à utilização de cultivares melhoradas geneticamente, mais resistentes às doenças que incidem no feijoeiro (EMBRAPA, 1985).

Por essas razões a semente tem papel muito importante na produção agrícola, sendo um dos principais, senão o principal insumo da agricultura.

A avaliação da qualidade fisiológica das sementes é um aspecto importante a ser considerado por um programa de produção, pois a elucidação dos fatores que possam afetar a qualidade dessas sementes depende diretamente da eficiência dos métodos utilizados para determiná-la. Sendo assim, os testes de vigor contribuem para estimar a qualidade fisiológica de um determinado lote de sementes, pois frequentemente lotes de sementes que apresentam germinação semelhante exibem comportamento distinto no campo ou no armazenamento (DIAS & MARCOS FILHO, 1995a).

Dentre os testes de vigor considerados mais importantes pela International Seed Testing Association, destaca-se o teste de condutividade elétrica como um dos indicados para estimar o vigor de sementes, devido sua objetividade e rapidez. Além da facilidade de execução na maioria dos laboratórios de análise de sementes, o teste de condutividade apresenta menores despesas em equipamento e treinamento de pessoal, de modo a permitir a agilização das tomadas de decisões (DIAS et al., 1998; RODO et al., 1998; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

O teste de condutividade elétrica é um dos de maior potencial para a utilização em empresas produtoras de sementes, considerando-se que seus resultados são obtidos através da leitura direta de valores de condutividade, o que elimina a possibilidade de interpretações subjetivas.

No entanto, vários fatores podem causar interferência no teste de condutividade elétrica, como por exemplo, a presença de danos mecânicos ou causados por insetos, o tamanho das sementes, o genótipo, o teor de água das sementes por ocasião do teste, o tratamento químico, a qualidade da água, temperatura, duração de embebição, uniformidade da amostra, recipiente utilizado, higienização do equipamento, os genótipos dentro da mesma espécie, a idade e a coloração das sementes (KRZYZANOWSKI et al., 1991; PANOBIANCO & VIEIRA, 1996; VIEIRA et al., 1996; ALBURQUERQUE et al., 2001). Contudo,



alguns fatores não foram ainda suficientemente esclarecidos, sendo um desses a presença de patógenos nas sementes. Uma hipótese para a alteração no resultado da Condutividade Elétrica seria que o fungo ao se desenvolver nas sementes, consumiria nutrientes desta, resultando em menor quantidade de eletrólitos presentes na água de embebição.

A presença de fungos no interior da semente pode permanecer macroscopicamente indetectável por um longo tempo, durante o qual o crescimento fúngico continua às expensas dos tecidos desse órgão. Isso causa danos que podem levar, finalmente, à completa perda de viabilidade da semente (BERJAK, 1987). No processo deteriorativo ocorrem mudanças fisiológicas e estruturais independentes dos microrganismos, mas a presença desses aumenta o nível de deterioração da estrutura celular (BARTON, 1985; CHERRY & SKADSEN, 1983 citados por MANTOVANELI, 2001).

No entanto, apesar do conhecimento da influência dos fungos na qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro, a literatura sobre o assunto é escassa e os resultados, bastante contraditórios.

Diante do exposto, o objetivo dessa pesquisa foi verificar se sementes de feijoeiro colonizadas por fungos, podem apresentar alteração na qualidade fisiológica, especialmente no resultado do teste de condutividade elétrica.

## II. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A análise de sementes

A semente é um insumo indispensável na produção agrícola, desempenhando importante papel para o aumento quantitativo e qualitativo de produtividade, portanto, a utilização de sementes de alta qualidade é um fator preponderante para o sucesso de qualquer cultura (GASPAR & NAKAGAWA, 2002).

O aumento da produção de sementes no Brasil, nos últimos anos, tem levado as empresas produtoras a buscarem um aprimoramento técnico de suas atividades, o que visa, basicamente, o aumento de produtividade associado a um incremento na qualidade do produto colhido. Assim, a tecnologia de sementes, como um segmento do processo de produção, tem procurado aprimorar os testes de germinação e vigor com objetivo de que os resultados expressem a real qualidade fisiológica de um determinado lote de sementes (VIEIRA, 1994).

A principal finalidade da análise de sementes é a de determinar a qualidade de um lote de sementes e, conseqüentemente, o seu valor para a semeadura. A análise é caracterizada pelo exame pormenorizado e crítico de uma amostra, com o objetivo de avaliar sua qualidade. A análise, ainda, é utilizada em trabalhos de pesquisa e na identificação de problemas de qualidade e suas causas. Assim, para a obtenção de sementes com um nível de qualidade proposto, é importante manter a produção sob controle e, dessa forma, a análise se constitui em instrumento imprescindível (NOVEMBRE, 2001).

Ainda segundo NOVENBRE (2001), no processo de produção de sementes, a análise é realizada com dois objetivos principais: atender às exigências para a comercialização das sementes e controle de qualidade da produção.

A tecnologia de sementes tem procurado aperfeiçoar os testes de germinação e de vigor de modo a obter resultados que expressem o comportamento efetivo das sementes no campo. Nesse caso, tem-se destacado o interesse pelos testes de vigor, principalmente em programas internos de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes (VIEIRA et al., 1996).

## **2.2. Interferência de fungos na produção de sementes**

Segundo TANAKA (1982), mesmo utilizando sementes saudáveis, muitas doenças podem ocorrer no campo, por contaminação, pelos processos naturais de disseminação dos patógenos. Além disso, as sementes podem constituir um veículo de disseminação de patógenos para áreas livres. As sementes são responsáveis por propagar aproximadamente 90% das plantas cultivadas destinadas à alimentação humana e animal (NEERGAARD, 1979). Sabe-se que muitas doenças existentes no Brasil tiveram seus agentes causais introduzidos através de sementes que carregam interna ou externamente organismos patogênicos.

Segundo MACHADO (1988), entre os agentes patogênicos para plantas, os fungos são os mais ativos, tendo uma maior habilidade em penetrar diretamente nos tecidos vegetais e aí alojarem-se mais facilmente. O inóculo pode ser transportado via semente, na forma de micélio e/ou de esporos, mas a taxa de transmissão do patógeno, entre outros fatores, depende fundamentalmente da quantidade e localização do inóculo na semente (NEERGAARD, 1979; MACHADO, 1988; MENTEN, 1991a).

Os patógenos transportados por sementes podem associar-se às mesmas de diferentes maneiras, contaminando-as superficialmente, ou colonizando os tecidos internos (TEIXEIRA et al., 1997).

Em muitos casos, a semente com baixa incidência de fungos germina quando semeada em condições ambientais favoráveis. No entanto, em ambiente adverso, a germinação é lenta e os fungos infectantes têm oportunidade de colonizar a semente e a plântula em desenvolvimento, ou mesmo podem causar a morte das mesmas após a semeadura (CASA et al. 1995). Isso ocorre devido à rapidez de desenvolvimento e a alta agressividade de certos patógenos latentes na semente, os quais retornam à atividade assim que encontram condições favoráveis, matando a semente antes que essa evidencie os primeiros indícios de germinação (MENTEN, 1991a).

A morte de sementes e o tombamento, causados por patógenos transportados pelas sementes, ocorrem principalmente sob condições desfavoráveis à emergência de plântulas. Assim, baixa temperatura, excesso ou escassez de umidade, mal preparo do solo e semeadura inadequada retardam a germinação e desenvolvimento de plântulas, proporcionando tecidos altamente vulneráveis, à disposição dos patógenos, por um período de tempo mais longo (NEERGAARD, 1977, MENTEN, 1991b).

Os patógenos causam danos às plantas através da interferência em diversos processos fisiológicos essenciais. Existem patógenos que destroem os órgãos de reserva ou tecidos jovens; outros que danificam o sistema radicular ou o sistema vascular, afetando, respectivamente, a absorção e o transporte de água e nutrientes; outros patógenos interferem na fotossíntese, enquanto um grupo especializado afeta a distribuição da seiva elaborada. Esses danos ocorrem pela ação de enzimas, toxinas e reguladores de crescimento produzidos por esses microrganismos. Patógenos ligados a todos esses grupos de doenças podem estar associados às sementes (NEERGAARD, 1977; MENTEN, 1991b; MACHADO 1988).

De acordo com CARVALHO (1997), a transmissão de patógenos, através das sementes, deve ser avaliada sob dois aspectos gerais, uma vez que os danos são variáveis. Alguns patógenos provocam perdas, considerando o campo de produção, restringindo seus efeitos à redução de rendimento, sem, no entanto, afetar a viabilidade das sementes. Outros patógenos se caracterizam por, além de provocar reduções no rendimento, concentrar seus efeitos danosos sobre a semente, quando colonizam seu embrião. Como consequência direta têm-se reduções na porcentagem de germinação e no vigor, com reflexos negativos sobre a aprovação dos lotes.

### **2.3. Fungos importantes para a cultura do feijoeiro**

De acordo com MENEZES (1985) a maior parte dos agentes causais das principais doenças que afetam a cultura do feijoeiro pode ser transportada por sementes. Entre tais agentes encontram-se os fungos: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *F. solani* f. sp. *phaseoli*, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

As enfermidades que afetam o feijoeiro são consideradas a principal causa da baixa produtividade dessa cultura, e, entre essas está a antracnose, causada pelos fungos *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) e *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (MENEZES, 1987; KRONKA, 2000), e a podridão cinzenta do caule, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Tasse) Goid.(TOLEDO & MARCOS FILHO, 1977; ANSELME, 1981; LASCA, et al., 1983; VIEIRA, 1983; MENEZES, 1987).

A grande importância destas doenças advém do fato de seu agente causal ser eficientemente transmitidos pelas sementes (ZAMBOLIM & CHAVES, 1978; POMPEU, 1980, 1982; VECHIATO et al., 2000), pois, apesar deles estarem disseminados em regiões produtoras de feijão, a utilização constante de sementes portadoras dos patógenos pode aumentar o inóculo em áreas onde a doença já

esteja estabelecida, inviabilizando a produção das lavouras de feijoeiro (VECHIATO et al., 2000). É o caso da antracnose que se encontra largamente distribuída no mundo inteiro, afetando, principalmente, lavouras estabelecidas em regiões temperadas e subtropicais, onde causa maiores danos (SCHWARTZ, 1994).

O fungo *C. lindemuthianum*, foi descrito pela primeira vez por Saccardo & Magnus em 1878, como *Gloeosporium lindemuthianum*, com base em material coletado por Lindemuth, em Bonn, Alemanha. Posteriormente, Scribner, notando a presença de setas, transferiu-o para o gênero *Colletotrichum*. A nomenclatura hoje empregada para a fase imperfeita do agente causal da antracnose do feijoeiro comum é *C. lindemuthianum* (Sacc. & Mahn.) Scrib. (ZAUMEYER & THOMAS, citados por SARTORATO, 1988). O micélio é septado e ramificado e sua coloração, à medida que envelhece, varia de hialina a quase negra. Os conídios são hialinos, uniceclulares, oblongos e cilíndricos, medindo de 2,5-5,5 micra x 9,5-22,0 micra. Estes conídios são produzidos nos corpos de frutificação do patógeno, os acérvulos, onde se verifica abundante esporulação, formando uma massa gelatinosa de coloração rósea (SARTORATO, 1988; SCHWARTZ, 1994).

A sobrevivência de *C. lindemuthianum* se dá, de um ano para outro, nas sementes e em restos de cultura. Normalmente, uma massa gelatinosa envolve os milhares de esporos produzidos nos acérvulos, nas lesões. Esta massa gelatinosa se dissolve na presença de água, de modo que os esporos se disseminam com facilidade em condições de alta umidade. (SARTORATO, 1988; SARTORATO et al., 1996). O patógeno pode ser disseminado por sementes, implementos agrícolas, pelo homem, insetos e outros animais, que entrem em contato com plantas doentes (ZAMBOLIM & CHAVES, 1978).

A doença desenvolve-se principalmente sob condições de alta umidade (92 a 100%) e em temperaturas entre 18 e 22°C (KIMATI, 1980). A umidade relativa superior a 92% é necessária durante toda a fase de germinação do conídio e esporulação.

Plantas originadas de sementes infectadas apresentam lesões levemente deprimidas, de tamanhos variáveis e de coloração parda a negra, ou muitas vezes podem não apresentar sintomas (KIMATI, 1980). As sementes infectadas originam lesões nos cotilédones, hipocótilos e folhas primárias, que podem atuar como fonte de inóculo secundário no campo de produção (KIMATI, 1980; MACHADO, 1988). Em geral, as lesões são caracteristicamente pardo-escuras, com contornos pardo-avermelhados, e quando as condições de umidade e temperatura são favoráveis, forma-se uma massa de esporos de coloração rosada no centro das lesões (CHAVES, 1980).

Segundo TU (1981), uma taxa de apenas 0,5% de sementes infectadas, considerando-se a ocorrência de precipitação acompanhada de vento, é suficiente para produzir infecção em um hectare inteiro da cultura. VECHIATO et al. (1997) verificaram que, para níveis de incidência de 1,0 a 2,0% de *C. lindemuthianum* nas sementes, a transmissão do patógeno foi de 100%.

Embora em menor freqüência e com menor importância, a antracnose do feijoeiro também pode ser causada por *C. dematium* f. *truncata*. O fungo apresenta esporos unicelulares e falcados, e numerosas setas escuras. A medida dos esporos varia de 23-30 x 3-4 micra (PARADELA FILHO & POMPEU, 1974). Segundo esses autores, essas características se assemelham às encontradas por Andrus & Moore em 1935, quando isolaram de feijão-de-lima (*Phaseolus lunatus* L.) um fungo com características do gênero *Colletotrichum*, apresentando conídios entre numerosas setas escuras, que foi classificado como *Colletotrichum truncata* (Schw.). Segundo a chave de classificação de Von Arx (1957), citada por PARADELA FILHO & POMPEU (1974), o fungo classificado por Andrus & Moore e os fungos *Colletotrichum glycines* e *Colletotrichum viciae* foram considerados como sinônimos de *Colletotrichum dematium* f. *truncata*.

As perdas ocasionadas por essa doença podem ser da ordem de 100%, quando se utilizam sementes infectadas e as condições ambientes são favoráveis ao fungo (SCHWARTZ, 1994), podendo causar ainda diminuição no rendimento

da cultura e depreciação do produto, inviabilizando sua comercialização (SARTORATO et al., 1996).

*Macrophomina phaseolina* é um fungo polífago, com grande variabilidade patogênica e alta capacidade de sobrevivência em condições adversas, tendo ampla distribuição geográfica e com vasta literatura sobre pesquisas em todas as regiões do planeta. A fonte de inóculo primária é constituída pela semente infectada, restos de cultura colonizados pelo micélio do fungo e escleródios (DHINGRA & SINCLAIR, 1974).

Embora esse fungo possa ser transmitido de um campo para outro pelo movimento do solo, água de irrigação ou chuva, o meio de transmissão mais eficiente para as principais culturas é a semente. A densidade de inóculo de *M. phaseolina* aumenta se o hospedeiro suscetível for cultivado continuamente. Em algumas culturas, o inóculo proveniente de sementes é mais importante que do inóculo do solo para iniciar o desenvolvimento da doença (DHINGRA & SINCLAIR, 1978).

Sendo um agente fitopatogênico pouco especializado, *M. phaseolina* abrange um espectro de hospedeiros constituídos por mais de 300 espécies vegetais (GHAFAR & ZENTMYER, 1968). Isto explica sua ampla distribuição geográfica e, segundo KIMATI (1980), o fungo sobrevive de um ano para outro em seus hospedeiros ou em restos de cultura, favorecido por sua capacidade saprofítica e pela formação de escleródios, os quais podem permanecer viáveis no solo por mais de um ano.

Em feijoeiro, esse fungo causa a podridão cinzenta do caule. Plantas de feijoeiro infectadas a partir do inóculo presente no solo apresentam sintoma com tendência a se localizar, geralmente, na parte basal da haste. A infecção da semente é resultante da invasão das vagens, principalmente nas incidências de fim de ciclo e quando as vagens entram em contato com o solo contaminado (KIMATI, 1980).



*Macrophomina phaseolina* é um patógeno que causa doença com maior intensidade em condições secas e temperaturas altas, favorecendo o aparecimento dos sintomas nas plantas atacadas (EDMUNDS, 1964).

De acordo com DRINGRA & SINCLAIR (1978), a temperatura ótima para crescimento de *M. phaseolina* varia entre 25 e 37°C, dependendo da espécie cultivada. Pouco ou nenhum crescimento pode ocorrer abaixo de 10°C e acima de 40°C. Temperatura é também um fator de grande importância na germinação de picnidiosporos do fungo e, segundo DHAR & SARBHOY (1989), a faixa de máxima germinação para o isolado por eles estudado foi de 25 a 30 °C.

#### **2.4. Testes de vigor**

Freqüentemente observam-se que lotes de sementes apresentando porcentagem de germinação semelhante exibem comportamentos distintos no campo e/ou no armazenamento. A perda de germinação é um indicativo importante da perda de qualidade, mas é a última consequência, ou seja, o evento final desse processo. Desta forma, o uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento da qualidade das sementes, a partir da maturidade, pois a queda do vigor precede a perda de viabilidade (DIAS & MARCOS FILHO, 1995b).

Portanto, o principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros adequados, comuns à deterioração das sementes, de forma que, quanto mais distante da perda da capacidade de germinação estiver o parâmetro empregado, mais promissor será o teste, fornecendo, assim, informações complementares àquelas obtidas através do teste padrão de germinação (AOSA, 1983).

O vigor de sementes, como definido pela International Seed Testing Association (ISTA, 1995), é um índice do grau de deterioração fisiológica e/ou integridade mecânica de um lote de sementes de alta germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento no ambiente.

A definição de vigor de sementes como formulada pela Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1983) é semelhante. O vigor de sementes é tido como “aquela propriedade das sementes que determina o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob uma ampla faixa de condições de campo”.

As definições dadas pela ISTA e AOSA apenas descrevem as conseqüências práticas do vigor das sementes, sendo este referido como um “índice” ou “aquela propriedade da semente”.

Os testes de vigor contribuem para detectar essas informações e, conseqüentemente, são úteis nas tomadas de decisões para o destino de um lote de sementes. Entre esses, vale ressaltar o teste de condutividade elétrica que, é um teste de vigor rápido e objetivo, que pode ser conduzido facilmente pelos vários laboratórios de análise de sementes, com o mínimo de gasto com equipamentos e treinamento de funcionários (HAMPTON & TEKRONY, 1995).

## **2.5. Teste de Condutividade Elétrica**

A utilização de métodos rápidos, confiáveis e de fácil execução para estimar a viabilidade das sementes já é uma necessidade nas instituições de pesquisas, empresas e laboratórios de análise de sementes. Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com eventos iniciais da seqüência de deterioração das sementes tais como, degradação das membranas celulares e redução das atividades respiratórias e biossintéticas (DIAS & MARCOS FILHO, 1996).

O teste de condutividade elétrica baseia-se no fato de que o vigor está relacionado à integridade do sistema de membranas celulares e dessa forma avalia indiretamente o estado de degeneração das membranas (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). Esse é de grande interesse na determinação do vigor de sementes, em virtude de permitir que o processo de deterioração seja detectado

em sua fase inicial, possibilitando que os efeitos na qualidade fisiológica das sementes sejam reduzidos ou minimizados (DIAS & MARCOS FILHO, 1995b).

A causa da desestruturação do sistema de membranas seria a ação de grupos químicos altamente reativos denominados de radicais livres, os quais são formados pela oxidação de ácidos graxos insaturados (BEWLEY, 1986). Essa desestruturação, segundo CARVALHO (1994), teria reflexos principais na capacidade da membrana em regular o fluxo de entrada e saída de água e de solutos. A extensão da desorganização das membranas celulares pode usualmente ser estimada pela magnitude dos solutos lixiviados de sementes embebidas em água.

Dentro do contexto de que o processo de deterioração da semente se inicia com a perda da integridade das membranas celulares, sementes com baixo vigor tendem a apresentar desorganização na estrutura das membranas celulares, permitindo, quando do início da absorção de água por uma semente posta para germinar, um aumento na lixiviação de solutos, tais como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e substâncias fenólicas, e de íons inorgânicos:  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  e  $Na^+$  (AOSA, 1983 e VIEIRA, 1994).

O teste de condutividade elétrica permite a identificação dos lotes de menor vigor que deverão ser armazenados sob condições mais favoráveis, e, durante a comercialização, serem encaminhados para regiões de menor possibilidade de estresses ambientais, ou para agricultores de melhor nível tecnológico (DIAS & MARCOS FILHO, 1995a).

BRUGGING et al. (1991) trabalhando com sementes de milho sem danos e com danificações severas no endosperma e embrião, concluíram que os danos sofridos contribuíram para aumentar, significativamente, a quantidade de substâncias lixiviadas, substâncias estas localizadas no pericarpo das sementes, as quais foram responsáveis pelo rápido aumento de eletrólitos lixiviados durante as primeiras horas de embebição das sementes.

MARQUES et al. (2002) concluíram que, com o aumento do volume de água, ocorre maior diluição e conseqüentemente a diminuição dos valores de

condutividade elétrica. A concentração de solutos se torna maior com o passar do período de embebição, aumentando os valores desse parâmetro.

Em estudo realizado por VANZOLINI & NAKAGAWA (1999) com sementes de amendoim, o valor da condutividade elétrica tendeu a diminuir à medida que o teor de água das sementes aumentou de 5% para 9%. Após diferentes períodos de embebição das sementes, verificaram que a influência dos teores de água empregados no teste só se manifestou até três horas de embebição, havendo no menor teor de água (5%) menor embebição da semente, enquanto com seis horas a diferença de teor de água inicial deixou de existir. Verificou-se que o teor de água atingido pelas sementes durante o processo de embebição, aparentemente, não se relaciona com a lixiviação dos exsudados, conseqüentemente com a qualidade destas.

Segundo VIEIRA et al. (2004), em sementes de soja, à medida que se diminui a quantidade de água no substrato há redução na associação entre condutividade elétrica e emergência de plântulas. Isso permite que esse seja usado com sucesso na avaliação do vigor de sementes de soja e na identificação de lotes com maior potencial de emergência em campo.

O aumento no valor da condutividade elétrica em função da diminuição do teor de água das sementes deve estar relacionado com o processo de reorganização da dupla camada lipídica da membrana celular, em função do processo de reidratação da semente. Quanto menor o teor de água da semente, maior o estado de desorganização da membrana celular, logo, maior o tempo necessário para que ocorra a reorganização desta e conseqüentemente redução da lixiviação, quando comparada a sementes com maior teor de água (BEWLEY & BLACK, 1985).

Uma outra hipótese para explicar a maior lixiviação de solutos nas sementes com menor teor de água é a possível ocorrência de dano por embebição. Os mecanismos de dano por embebição, assim como o por baixas temperaturas, têm sido considerados como injúria física às membranas, ou seja,

como um bloqueio no sistema metabólico e, ainda, como uma combinação de injúria metabólica e física, possivelmente a nível molecular (POLLOCK, 1969).

ROSA et al. (2000) verificaram que, em sementes de milho, quando imersas diretamente em água, sem passarem por qualquer processo de reidratação, os valores de condutividade elétrica foram notadamente maiores, indicando que houve perda de solutos devida ao próprio processo de embebição de água. A absorção de água pelas sementes com umidade inicial de 11% tem uma velocidade favorecida pelos altos gradientes de potencial hídrico entre o seu interior e a água circundante, não permitindo tempo hábil para que os sistemas de membranas recuperem sua característica semi-permeável; ocorre então, uma grande perda de solutos, principalmente pelas sementes com sistemas de membranas mais danificados.

O efeito da temperatura sobre a embebição e lixiviação pode estar relacionado com alterações na viscosidade da água, interferindo tanto na quantidade como na velocidade de liberação dos exsudados (MARCHI & CÍCERO, 2002).

Segundo VIEIRA (1994), VANZOLINI & NAKAGAWA (1999) e GASPARI & NAKAGAWA (2002), maior temperatura de embebição das sementes provoca aumento da energia de ativação das moléculas, alterando a viscosidade da água e, conseqüentemente, aumentando os valores de condutividade elétrica.

RODO et al. (1998), em experimento realizado com duas cultivares de tomate, observaram que o teste de condutividade elétrica conduzido na temperatura de 25°C apresentou maior eficiência na separação de lotes de sementes, em relação à de 20°C, a partir de quatro horas de embebição.

ALBUQUERQUE et al. (2001) verificaram que, em sementes de girassol, a temperatura de 30°C propiciou liberação de eletrólitos significativamente superior à temperatura de 25°C. Verificaram ainda que, com o aumento do período de embebição, houve uma maior quantidade de eletrólitos liberados, sendo que, entre os períodos de 20 e 24 horas, não ocorreram diferenças significativas, e, após o período de 24 horas, os valores se estabilizaram.

O tempo de embebição das sementes é variável de acordo com a espécie. Normalmente, tem-se recomendado a avaliação da condutividade elétrica após um período de imersão de 24 horas, para espécies de sementes grandes, tais como ervilha (BRADNOCK & MATTHEWS, 1970), milho (BRUGGINK et al., 1991), soja (DIAS & MARCOS FILHO, 1995b) e sementes de Ingá (BARBEDO & CÍCERO, 1998), para detecção de diferenças de vigor.

A redução no tempo de embebição é de grande importância para os programas de controle de qualidade de sementes onde se buscam informações sobre o vigor dos lotes em períodos de tempo relativamente curtos. Segundo VIEIRA & KRZYZANOWSKI (1999) em sementes pequenas é possível reduzir o período de embebição para o teste de condutividade elétrica. Tal fato foi verificado por GASPAR & NAKAGAWA (2002) em sementes de milheto, onde nas duas horas iniciais de embebição ocorreu uma taxa de lixiviação que possibilitou a avaliação da condutividade elétrica da solução de embebição dessas e a diferenciação dos lotes. À semelhança do observado, DIAS, et al. (1998), verificaram que em sementes de quiabo e de feijão-de-vagem o período de embebição para o teste de condutividade elétrica pode ser menor que o usualmente recomendado (24 horas), já que com quatro horas foi possível se obter uma indicação do lote de maior vigor.

Em sementes de amendoim, VANZOLINI & NAKAGAWA (1999) também verificaram que é possível reduzir o tempo de embebição das sementes para três horas e assim possibilitar o descarte de lotes de qualidade inferior, independente da temperatura de embebição.

KUO (1989) observou a existência de variabilidade na permeabilidade do tegumento entre genótipos de soja estudados, mostrando ser, o teste de condutividade elétrica, eficiente no monitoramento da diferença dessa permeabilidade. O mesmo foi observado por PANOBIANCO et al. (1997) em sementes de soja, por VIEIRA et al. (1996) em feijão, e VANZOLINI & NAKAGAWA (1998) em amendoim, confirmando a hipótese de ser a condutividade influenciada pelo genótipo testado. Também SÁ (1999) verificou

diferenças nos resultados do teste de condutividade elétrica em genótipos diferentes de tomate. Tais resultados dificultam a obtenção de padrões para afirmar que um determinado lote apresenta baixo, médio ou alto nível de vigor, pois dentro de uma mesma espécie, tem-se verificado uma grande variação na apresentação dos resultados (VIEIRA, 1994).

Embora alguns autores recomendem o uso de sementes previamente selecionadas, ou seja, sem qualquer tipo de injúrias (AOSA, 1983; MARCOS FILHO et al., 1987; KRZYZANOWSKI et al., 1991), devem-se levar em consideração os objetivos do trabalho a ser executado. No caso de realizar-se o teste de condutividade elétrica, por exemplo, como um teste de rotina em um laboratório de análise de sementes, e que o teste esteja dentro de um sistema de controle de qualidade, não se justifica a escolha, visto que a sub-amostra utilizada não estaria representando o lote a ser testado. Neste caso, devem-se utilizar sementes puras como para qualquer outro dos testes a ser realizado, como recomendado por LOEFFLER et al. (1988). Além do mais, esses mesmos autores verificaram que é impraticável e muito subjetivo identificar e selecionar, visualmente, sementes danificadas ou atacadas por algum fungo. Entretanto, sabe-se que sementes injuriadas causam aumentos significativos na condutividade elétrica de um determinado lote de sementes (TAO, 1978). Além de todos esses fatores inerentes à semente e ao método aplicado, NAKAGAWA et al. (2001) observaram, em sementes de aveia preta, que a adubação PK também contribuiu para elevar o teor desses elementos, com conseqüente aumento dos valores de condutividade elétrica, em decorrência do seu efeito sobre o teor desses elementos na composição química das sementes produzidas.

## **2.6. Influência de fungos nos resultados dos testes de vigor**

Segundo CARVALHO (1989) vários trabalhos evidenciam que os fungos transmitidos pelas sementes são responsáveis pela redução da germinação dessas, bem como de sua emergência em campo.

MENTEN (1978) observou relação inversa entre a incidência de microrganismos e os resultados dos testes fisiológicos, em sementes de feijão.

MARCOS FILHO (1994) ressaltou que temperatura e umidade elevadas podem inibir a manifestação de alguns microrganismos; assim, os dados obtidos no teste de envelhecimento acelerado podem ser superiores aos observados no teste de germinação com as mesmas amostras. Portanto, as condições impostas pelo teste de envelhecimento artificial não agiriam apenas no comportamento das sementes, mas também influenciaram na ação de microrganismos participantes da deterioração.

A presença do fungo *M. phaseolina*, segundo NADALETO (2004), interferiu negativamente no desempenho fisiológico das sementes de feijão envelhecidas artificialmente, corroborando os resultados obtidos por FURLAN (1986) e SILVA & SILVA (2000) com fungos do gênero *Fusarium*, na mesma cultura.

Entretanto BALARDIN et al. (1992) detectaram o fungo *C. lindemuthianum* em amostra de sementes de feijoeiro de municípios produtores do Estado de Santa Catarina e não observaram relação significativa entre a ocorrência desse e os parâmetros fisiológicos: poder germinativo e vigor, comportando-se as sementes apenas como fonte de inóculo e veículo para disseminação do patógeno, provavelmente por este não ter atingido o embrião das sementes.

### **2.6.1. Influência de fungos nos resultados do teste de Condutividade Elétrica**

O vigor de sementes pode ser afetado por sua qualidade sanitária. A presença de patógenos associados às sementes, bem como a realização de tratamento fungicida também têm sido relacionados como parâmetros que podem interferir nos resultados de condutividade elétrica.

Segundo MENTEM (1978), para se ter uma avaliação mais eficiente da qualidade das sementes, é necessário determinar sua sanidade. No entanto,



existem poucos relatos sobre a interferência de fungos associados às sementes nos testes de vigor comumente empregados nos laboratórios de análise de sementes.

O teste de condutividade elétrica foi utilizado por LOEFFLER et al. (1988) para avaliar a qualidade de sementes de soja. Os resultados mostraram que sementes com elevados níveis de *Phomopsis* sp. ou *Cercospora kikichii*, com fissuras moderadas e severas no tegumento apresentaram liberação excessiva de eletrólitos, ao passo que sementes altamente infectadas, porém com tegumento intacto, mostraram baixa condutividade e alto potencial de qualidade. Portanto, o efeito do fungo sobre o vigor não se evidencia quando as sementes se apresentam intactas, e sementes intactas não serão identificadas nestas condições.

RAMOS (2005) observou que, para sementes de milho, o teste de condutividade elétrica também não foi capaz de diferir o vigor de lotes de sementes contaminadas, ou não, pelo fungo *Fusarium graminearum*. Sementes de três cultivares de feijoeiro infectadas com o fungo *M. phaseolina*, apresentaram valores mais baixos de condutividade elétrica, quando comparadas às sementes saudáveis. Uma hipótese para tal fenômeno seria que o fungo, ao se desenvolver internamente nas sementes, consumiu nutrientes dessas, resultando em menor quantidade de eletrólitos presentes na água de embebição (NADALETO, 2004). Tal fato foi confirmado por PINTO (2005) também em sementes de feijoeiro.

## **2.7. Técnica da restrição hídrica para inoculação de sementes com patógenos**

O desenvolvimento de métodos eficazes e confiáveis para infectar sementes é de grande utilidade em Patologia de Sementes. Sementes infectadas são necessárias, por exemplo, para o desenvolvimento de tecnologias, visando a detecção e o controle de patógenos transmitidos por elas, em estudos epidemiológicos das doenças resultantes da associação desses com as sementes,

e em outros estudos e demonstrações que fazem uso de sementes com patógenos (CARVALHO, 1999).

Um fator importante na relação semente-patógeno é a água. O estabelecimento do conceito potencial químico da água permitiu a criação de uma linguagem comum e simples entre cientistas, capaz de expressar o comportamento físico da água no sistema solo – planta – atmosfera. O movimento da água, tanto no estado líquido como de vapor, é definido por um conceito único, expresso pelo potencial hídrico (CARVALHO, 1999). De acordo com esse conceito, o potencial hídrico ( $\psi$ ), expresso em unidades de energia ou pressão, corresponde à diferença entre potencial químico da água em um sistema, e o potencial químico da água pura, nas mesmas condições de pressão atmosférica e temperatura (SALISBURY & ROSS, 1991).

O ajuste osmótico, ou osmoregulação é o fenômeno pelo qual as células ajustam-se a grandes mudanças no potencial osmótico do ambiente, através de uma regulação das quantidades de solutos osmoticamente compatíveis dentro das células (SALISBURY & ROSS, 1991). O acúmulo de solutos é encontrado em bactérias, fungos, plantas e animais, indicando que a maioria, ou todos os organismos, são capazes de ajustes osmóticos, até certo ponto (THOMAS et al., 1995).

As sementes durante o processo de germinação passam por três etapas fisiológicas. Na primeira, ocorre uma rápida absorção de água, iniciando o processo de degradação de suas reservas. Na segunda etapa ocorre pequena variação no conteúdo de água das sementes, havendo transporte de substâncias metabolizadas na etapa anterior. A terceira etapa tem início quando a semente atinge teor de água alto o suficiente para que, nos tecidos meristemáticos, as células iniciem a divisão mitótica, o que leva ao crescimento do eixo embrionário (CARVALHO E NAKAGAWA, 1988). Em sementes de feijoeiro, por exemplo, o teor de água exigido para a emissão da raiz primária, situa-se na faixa de 48 a 50 % (SHIOGA, 1990).

Baseadas na seqüência de eventos do processo germinativo, várias técnicas de controle de hidratação e germinação foram desenvolvidas. Dentre elas destaca-se o condicionamento osmótico de sementes, também referido como “priming”, restrição hídrica e condicionamento fisiológico (COUTINHO, 2000).

Vários produtos já foram utilizados para o ajuste do potencial hídrico de substratos em estudos envolvendo o condicionamento osmótico de sementes de diferentes espécies. Entre estes, citam-se sais como  $MgSO_4$ ,  $NaCl$ ,  $MgCl_2$ ,  $K_3PO_4$ ,  $KH_2PO_4$ , glicerol, manitol e polietileno glicol (PILL, 1994).

Da mesma forma que acontece com as sementes, a célula microbiana apresenta um potencial hídrico menor que o ambiente que a circunda, em virtude do que a célula absorverá água até que o equilíbrio se estabeleça. O processo inverso também pode ocorrer, e, se essa condição persistir, resultará em perda de turgor, com posterior dessecação e morte da célula, a não ser que o microrganismo desenvolva mecanismos de osmoregulação ou estruturas de resistência, que confirmam proteção à perda de água (COOK & PAPENDICK, 1978).

O ajuste do potencial hídrico de substratos agarizados, em relação ao desenvolvimento de microrganismos, normalmente é feito pela adição de solutos osmoticamente ativos, como  $CaCl$ ,  $KCl$ ,  $NaSO_4$  (JOANNOU, et al., 1977; GAO & SHAIN 1995) ou pela adição de polietileno glicol (JOANNOU et al., 1977), mais utilizado em meios líquidos, pois o ágar não solidifica-se em altas concentrações de polietileno glicol, como verificado por BROWNELL & SCHNEIDER (1985).

Embora o método de infecção de sementes por fungos através de meios agarizados seja amplamente utilizado em todo o mundo, a adaptação da técnica de condicionamento osmótico, vem conferir-lhe maior eficiência, pois essa técnica permite a utilização de períodos de inoculação maiores, sem que as sementes germinem sobre o meio e, conseqüentemente inviabilize seu posterior aproveitamento.

### III. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios de Produção e Tecnologia de Sementes, Fitopatologia e de Fertilidade do Solo da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP.

Foram utilizadas sementes de feijoeiro, cultivares Carioca (Peneira 14) e FT Nobre (Peneira 13), safra 2004-2005, obtidas junto ao Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP e IAC (Instituto Agrônômico de Campinas), Campinas - São Paulo, respectivamente. As sementes foram analisadas quanto à germinação e vigor (Tabela 1) e sanidade (Tabela 2) para a caracterização dos lotes utilizados.

**Tabela 1.** Caracterização inicial da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro, cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Cultivares	Teor de Água		GA	IVE	MS	TF	EA	CE
	Antes	Após EA						
	-----(%)------		----(%)----		-(mg plântulas <sup>-1</sup> )-	----(%)-----		( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )
Carioca	12,4	28,3	97,0	16,00	108,45	91,0	74,0	53,0
FT Nobre	11,3	29,9	95,0	15,50	101,04	87,0	64,0	66,4

GA: Germinação em Areia; IVE: Índice de Velocidade de Emergência; MS: Matéria Seca das Plântulas; TF: Teste de Frio; EA: Envelhecimento Acelerado; CE: Condutividade Elétrica.

**Tabela 2.** Incidência (%) de fungos em sementes de feijoeiro, utilizadas no experimento. Jaboticabal – SP, 2007.

Cultivares	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Aspergillus</i> spp.		<i>Penicillium</i> sp.	
	s/d	c/d	s/d	c/d	s/d	c/d
Carioca	5	2	29	5	14	3
FT Nobre	6	1	42	6	21	5

s/d: sem desinfestação das sementes; c/d: com desinfestação das sementes.

As sementes foram conservadas em câmara fria (10°C e 60% U.R.) até a realização do experimento.

### 3.1. Obtenção e multiplicação do inóculo

Foram utilizados os fungos *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum* pertencentes à micoteca do Departamento de Fitossanidade, os quais foram isolados de sementes de feijoeiro e conservados em meio de cultura BDA contidos em tubos de ensaio, com o crescimento micelial recoberto com óleo mineral estéril. Esses foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e, após cerca de 15 dias de incubação, discos de 0,5 cm de diâmetro, retirados da periferia das colônias fúngicas, foram transferidos para placas de Petri contendo os seguintes meios de cultura: BDA (água de 200g de batata cozida; 20g de dextrose; 20g de Ágar; e água – q.s.p. 1000mL) e BDA acrescido de manitol, no potencial hídrico de -1,0 MPa (BDA acrescido de 73,77g de manitol; água – q.s.p. 1000mL). Em ambos os tratamentos, os fungos foram incubados a  $25 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de 12 horas, por aproximadamente 15 dias.

A concentração do soluto (manitol) foi obtida pela fórmula de Van't Hoff (SALISBURY & ROSS, 1991):

$$P_o = -C_iRT$$

(1)

Onde:

$P_o$  = Potencial osmótico (MPa);

$i$  = Constante de ionização;

$R$  = Constante geral de gases ( $0,00831 \text{ x Kg x MPa x mol}^{-1} \text{ x K}^{-1}$ );

$T$  = Temperatura absoluta ( $T^{\circ}\text{C} + 273$ );

$C$  = Concentração (moles  $\text{Kg}^{-1}$  de água).

### **3.2. Período de inoculação das sementes com *Colletotrichum dematium* f. *truncata***

Para identificação do melhor período de incubação das sementes com o fungo *C. dematium* f. *truncata*, foram testados os períodos de 16, 32 e 48 horas para as cultivares Carioca e FT Nobre em meio BDA sem e com restrição hídrica (acrescido de manitol a -1 MPa).

Foram selecionadas, visualmente, sementes sem trincas e posteriormente desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio e água destilada (1:1) por 30 segundos. Posteriormente, foram lavadas com água destilada autoclavada e secas sobre folhas de papel de filtro esterilizadas, a temperatura ambiente em câmara de fluxo laminar, por cerca de duas horas.

Após a secagem, as sementes foram distribuídas nas placas de Petri, sobre o meio de cultura com as colônias do fungo e sobre o meio de cultura sem o fungo, em camada única e levemente pressionadas sobre o meio de cultura. O melhor período de incubação escolhido foi o que proporcionou maior quantidade de sementes com *C. dematium* f. *truncata* em seu interior, o mesmo ocorrendo para *C. lindemuthianum*.

Para *M. phaseolina*, o período de infecção utilizado foi o recomendado por NADALETO (2004). Segundo o autor, a melhor porcentagem de recuperação desse fungo, em sementes de feijoeiro, foi obtida com 16 horas de infecção por contato.

### **3.3. Inoculação das sementes com *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum***

As sementes foram inoculadas com os fungos *M. phaseolina* por 16 horas e *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum* por 48 horas conforme o procedimento descrito no item 3.2.. Após os períodos de contato, as sementes

foram retiradas e secas em temperatura ambiente (25 a 30°C) em câmara de fluxo de ar forçado até as sementes retornarem ao peso antes do processo de infecção, após o que, os testes foram realizados.

### **3.4. Testes para avaliação das sementes**

#### **3.4.1. Sanidade das sementes**

Após o processo de infecção, as sementes obtidas nos períodos de contato descrito no item 3.2. foram submetidas ao teste de sanidade pelo método do papel de filtro (LIMONARD, 1966), com e sem assepsia superficial, para verificação da eficiência desse processo.

Foram utilizadas 100 sementes de feijão para cada cultivar, com desinfestação superficial pela solução de hipoclorito de sódio e água (1:3), por 3 minutos e 100 sementes sem desinfestação prévia. As sementes foram colocadas equidistantes entre si em placas de Petri de 9 cm de diâmetro (10 sementes por placa), sobre três folhas de papel de filtro embebidas em água e mantidas em câmara de incubação à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e luz branca alternada (12 horas de luz e 12 horas de escuro) por 15 dias, pois aos sete dias não foi possível observar a recuperação dos patógenos por esse teste. Após esse período foi avaliada a incidência de fungos nas sementes, as quais foram examinadas com auxílio de microscópio estereoscópio. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes infectadas.

#### **3.4.2. Determinação do teor de água**

O teor de água foi realizado pelo método da estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  por 24 horas, utilizando-se duas sub-amostras de 50 sementes para cada tratamento, pesadas em balança de precisão (BRASIL, 1992); os resultados foram expressos em porcentagem.

### 3.4.3. Teste de Germinação

Os testes de germinação e vigor foram realizados foram constituídos de quatro tratamentos: 1 - sementes sobrepostas em meio de cultura BDA com a colônia do fungo (BDA+F), 2 - sementes sobrepostas em meio de cultura BDA acrescido de manitol com a colônia do fungo (BDA+M+F), 3 - sementes sobrepostas em meio de cultura BDA sem fungo (BDA) e 4 - sementes sobrepostas em meio de cultura BDA acrescido de manitol sem fungo (BDA+M).

O teste de germinação foi realizado utilizando-se quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em areia, em caixas plásticas, e mantidas em condições ambiente de laboratório (25 a 30°C). As avaliações foram realizadas aos nove dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

### 3.4.4. Índice de Velocidade de Emergência

O índice de velocidade de emergência foi realizado juntamente com o teste de germinação em areia. As plântulas normais emergidas foram diariamente contadas até a estabilização do seu número (NAKAGAWA, 1999). Ao final do teste, com os dados diários do número de plântulas normais, foi calculado o índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962) pela fórmula:

$$IVE = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \dots + E_n/N_n \quad (2)$$

Onde:

IVE = índice de velocidade de emergência

$E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_n$  = números de plântulas normais contados na 1ª, 2ª e última contagem, respectivamente.

$N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_n$  = números de dias da semeadura à 1ª, 2ª e última contagem respectivamente.



### **3.4.5. Peso da Matéria Seca da plântula**

Seguindo a metodologia descrita por NAKAGAWA (1994), após encerrado o teste de germinação em areia, as plântulas normais de cada repetição foram retiradas do substrato e contadas. Com o auxílio de uma lâmina de barbear, foram removidos os cotilédones e estas colocadas em sacos de papel. A seguir foram postas para secar em estufa termoelétrica regulada a 80°C, até que o peso das amostras se estabilizasse. Após esse período, as plântulas foram esfriadas em dessecador e pesadas em balança de precisão. O resultado foi expresso em mg plântula<sup>-1</sup>.

### **3.4.6. Envelhecimento Acelerado**

A metodologia para o envelhecimento acelerado adotada foi a recomendada pela AOSA (1983) e complementada por KRZYZANOWSKI et al. (1991). Foi realizado com uma camada única de sementes, distribuídas sobre uma tela fixada no interior de caixas plásticas de germinação tipo “gerbox” (11,0 x 11,0 x 3,5 cm), para cada tratamento. No interior de cada caixa foram adicionados 40 mL de água destilada para formar uma câmara úmida. Em seguida, as caixas foram fechadas e mantidas em incubadora do tipo BOD, a 42°C, durante 72 horas (MARCOS FILHO, 1994). Após o período de envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente, e a avaliação das plântulas normais realizada no quinto dia após a semeadura. Foi também determinado o teor de água das sementes antes e após o envelhecimento acelerado.

### **3.4.7. Teste de Frio**

Foi adotado o método do teste de frio com solo, utilizando como substrato uma mistura de 2/3 de areia e 1/3 de solo. Foram realizadas quatro repetições de

50 sementes para cada cultivar. O substrato foi colocado em caixas plásticas (26 x 16 x 8,5 cm), e as sementes foram colocadas em orifícios rasos, previamente perfurados sobre o substrato com marcador e então cobertas com uma camada de aproximadamente três centímetros do mesmo substrato e umedecidas até 70% de sua capacidade de retenção de água. As caixas foram tampadas e acondicionadas em câmara fria à temperatura de 10°C permanecendo aí por sete dias. Após esse período, as caixas foram retiradas da câmara fria e mantidas em temperatura ambiente (25°C a 30°C) por cinco dias, quando foi realizada a contagem do número de plântulas normais (CÍCERO & VIEIRA, 1994).

#### **3.4.8. Teste de Condutividade Elétrica**

O sistema de teste de condutividade elétrica utilizado foi o de copo ou condutividade em massa (“bulk conductivity”) segundo o descrito por VIEIRA (1994), onde foram utilizadas cinco repetições de 50 sementes, previamente pesadas com precisão de quatro casas decimais e, em seguida, colocadas para embeber em recipiente contendo 75 mL de água deionizada, e então mantidas em BOD regulada à temperatura de 25°C durante 24 horas.

Após esse período, foi realizada a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição usando-se condutímetro Digimed DM 31, com eletrodo constante de 1,0. A leitura obtida no aparelho ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) foi dividida pelo peso da amostra (g), para que o valor final da condutividade elétrica fosse expresso com base no peso seco da amostra, ou seja,  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

#### **3.4.9. Análise química da água de embebição das sementes**

Após a leitura da condutividade elétrica, a água de embebição das sementes foi filtrada em papel de filtro “Whatman”, número 1 com o auxílio de um funil, acondicionada em recipiente específico para análise química, e

imediatamente após a filtragem submetida à análise química, onde foram determinados os teores de potássio pelo método de fotometria de chama, e, de cálcio e magnésio, pelo método de espectrofotometria de absorção atômica (BATAGLIA et al.,1983). Os valores foram expresso em mg do íon por Kg de sementes.

#### **3.4.10. Análise química do meio de cultura**

Após as sementes serem retiradas do meio de cultura sem a presença do fungo, esses meios (com e sem sobreposição das sementes) foram levados para o Laboratório de Fertilidade do Solo onde foram imediatamente analisados quimicamente.

Os meios de cultura foram aquecidos em forno de microondas onde retornaram à sua forma líquida inicial. Após sofrerem digestão nítrica-perclórica, foram determinados os teores de potássio pelo método de fotometria de chama, e, de cálcio e magnésio pelo método de espectrofotometria de absorção atômica (BATAGLIA et al.,1983), e os valores foram expresso em mg do nutriente por Kg de meio de cultura.

#### **3.5. Teste de Condutividade Elétrica em lotes com diferentes níveis de infestação por *Colletotrichum lindemuthianum***

O experimento constou de cinco tratamentos com quatro repetições de 50 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento. Os tratamentos constaram de mistura de sementes sadias com sementes inoculadas com *C. lindemuthianum* em meio de cultura BDA com restrição hídrica (acrescido de manitol) a -1,0 MPa, por 48 horas conforme o descrito no item 3.2; resultando em amostras com 0%, 25%, 50%, 75% e 100% de sementes infestadas, sendo o 0%, sementes provenientes

da sobreposição sobre o meio de cultura com restrição hídrica sem a presença do fungo.

### **3.6. Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado para analisar os resultados obtidos no teste de sanidade foi o inteiramente casualizado com 10 repetições e os dados foram previamente transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ . Para a análise dos demais resultados obtidos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para o teste de condutividade elétrica e na determinação da composição química da solução de embebição, e para as demais avaliações, quatro repetições. Os dados referentes às porcentagens de germinação (Germinação em areia, Teste de Frio e Envelhecimento Acelerado) foram previamente transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ . As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (BANZATTO & KRONKA, 1995), realizadas pelo programa estatístico ESTAT.

## IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Determinação do período de inoculação das sementes para *Colletotrichum dematium* f. *truncata*

Analisando-se os dados da Tabela 3 verificou-se que o período de 48 horas de inoculação de contato das sementes com *C. dematium* f. *truncata* foi o mais adequado, pois permitiu que o fungo atingisse o interior de uma maior quantidade de sementes para as cultivares testadas.

Patógenos associados às sementes são transportados de duas maneiras: dentro ou fora das sementes. Quando um patógeno é transportado internamente às sementes, isto é, incrustado nos seus tecidos ocorre a infecção das sementes. Quando é transportado fora das sementes, ele é considerado um contaminante ou infestante (AGARWAL & SINCLAIR, 1987).

**Tabela 3.** Período de inoculação das sementes de feijoeiro com *Colletotrichum dematium* f. *truncata*, para que o fungo atinja o interior das mesmas. Jaboticabal – SP, 2007.

Período de incubação (horas)	Carioca				FT Nobre			
	BDA		BDA + M		BDA		BDA + M	
	s/d	c/d	s/d	c/d	s/d	c/d	s/d	c/d
16	20*	0	6	0	28	2	4	0
32	44	26	50	20	40	24	36	18
48	76	36	70	34	82	40	80	38

BDA - Sementes sobrepostas ao fungo cultivado em meio de cultura sem restrição hídrica;

BDA + M - Sementes sobrepostas ao fungo cultivado em meio de cultura com restrição hídrica (-1 MPa);

s/d – sem desinfestação superficial das sementes; c/d – com desinfestação superficial das sementes;

\*Dados expressos em porcentagem

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por MACHADO et al. (2001), que verificaram, em sementes de soja, que a inoculação com *C. dematium* f. *truncata* no período de 48 horas foi eficiente para infecção das sementes, não havendo necessidade de prolongamento desse tempo, visto que esse período foi o menor período testado por eles.

Também TANAKA et al. (1989), inoculando sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, observaram que o contato das sementes com o inóculo, a partir de 12 até 48 horas, resultou em associação tipo infecção, decorrente da penetração do fungo no tegumento das sementes. Esses autores elegeram como ideal o período de 24 horas de exposição ao patógeno, ressaltando que em períodos menores corre-se o risco de não haver penetração em nível satisfatório e, em quantidade suficiente para levar a um comprometimento da germinação.

Na Tabela 4 encontram-se os dados de incidência de *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum* nas sementes artificialmente inoculadas. Quanto à eficiência de inoculação, pôde-se verificar que de maneira geral, o tratamento que proporcionou maior infecção das sementes foi aquele em que essas foram incubadas em meio de cultura BDA sem restrição hídrica, embora não tenha diferido estatisticamente. No teste de sanidade (“blotter teste”) feito para caracterização da qualidade sanitária inicial das sementes, nenhum dos patógenos em estudo foi constatado (Tabela 2).

Segundo TANAKA et al. (1989) a vantagem do método de inoculação das sementes por contato é proporcionar a obtenção de sementes infectadas em níveis desejados e pré-estabelecidos.

Quanto ao potencial osmótico dos meios de cultura a -1,0 MPa, verificou-se ser eficiente na obtenção de sementes de feijoeiro contaminadas artificialmente, proporcionando infestação com valores em torno de 70% para os fungos *M. phaseolina* e *C. dematium* f. *truncata* e em torno de 30% para o fungo *C. lindemuthianum* para as duas cultivares estudadas. Para infecção das sementes conseguiu-se em torno de 40% para *M. phaseolina* e *C. dematium* f. *truncata* e

**Tabela 4.** Incidência de *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro, cultivares Carioca e FT Nobre, detectados pelo método do papel de filtro, após 15 dias da inoculação artificial das sementes. Jaboticabal – SP, 2007.

Carioca												
Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>				<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>				<i>C. lindemuthianum</i>			
	s/d	s/d	c/d	c/d	s/d	s/d	c/d	c/d	s/d	s/d	c/d	c/d
BDA	63,7 <sup>1</sup>	76 <sup>2</sup>	38,4	39	63,9	80	47,9	55	34,3	32	31,1	27
BDA+M	63,2	77	36,0	35	50,0	69	43,2	47	40,3	42	29,6	25
Teste F	2,38 <sup>NS</sup>		0,54 <sup>NS</sup>		1,47 <sup>NS</sup>		2,35 <sup>NS</sup>		3,82 <sup>NS</sup>		0,31 <sup>NS</sup>	
CV (%)	21,8		19,9		17,9		15,0		18,4		19,5	

  

FT Nobre												
Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>				<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>				<i>C. lindemuthianum</i>			
	s/d	s/d	c/d	c/d	s/d	s/d	c/d	c/d	s/d	s/d	c/d	c/d
BDA	70,4	84	43,2	47	71,3	84	50,9	60	43,9	43	35,6	34
BDA+M	60,5	73	37,2	37	61,9	77	47,3	54	41,0	48	33,0	30
Teste F	0,01 <sup>NS</sup>		3,81 <sup>NS</sup>		2,76 <sup>NS</sup>		1,59 <sup>NS</sup>		0,51 <sup>NS</sup>		1,40 <sup>NS</sup>	
CV (%)	22,0		17,2		19,1		12,7		21,5		13,9	

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo (-1MPa);

s/d: sem desinfestação superficial das sementes;

c/d: com desinfestação superficial das sementes;

<sup>1</sup> – Dados transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ ;

<sup>2</sup> – Dados originais em porcentagem;

<sup>NS</sup> – Não Significativo;

CV (%) – Coeficiente de Variação.

25% para *C. lindemuthianum* para cultivar Carioca; resultado semelhante foi encontrado para cultivar FT Nobre (Tabela 4). Segundo resultados obtidos por outros pesquisadores, meios de cultura com potenciais osmóticos entre -0,3 e -2,0 MPa estimularam o crescimento micelial dos fungos *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Cryphonectria parasítica*, *Fusarium moliniforme*, e *C. lindemuthianum*, enquanto meios de cultura com potenciais osmóticos mais negativos que -2,0 MPa reduziram o crescimento micelial desses fungos (ADEBAYO & HARRIS, 1971; SUBBARAO & MICHAILIDES, 1993; GAO & SHAIN, 1995; CARVALHO, 1999).

Segundo CARVALHO (1999) o uso de restrições hídricas do BDA + manitol inferiores a -1,0 MPa pode resultar na germinação das sementes, e inviabilizar a secagem para posterior aproveitamento das mesmas.

#### **4.2. Teor de água das sementes**

Os resultados referentes ao teor de água das sementes tanto antes de infectá-las com os fungos, como depois da infecção, da secagem, e após o teste de envelhecimento acelerado, estão relacionados na Tabela 5.

As sementes após o processo de infecção pelos fungos *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*, através do contato direto com o meio de cultura por períodos relativamente longos (16 e 48 horas), absorveram água aumentando seu grau de umidade como pode ser observado na Tabela 5. Dessa maneira para uniformização desse fator, fez-se necessária a secagem, para que as sementes retornassem ao teor de água inicial.

Grandes variações no teor de água das sementes podem interferir nos resultados do teste de envelhecimento acelerado, pois segundo MARCOS FILHO (1994), sementes mais úmidas, em geral são mais sensíveis às condições do teste, e, portanto sujeitas a deterioração mais intensa além de promover diferenças na velocidade de umedecimento. Essa interferência também ocorre no teste de condutividade elétrica.



**Tabela 5.** Teor de água (%) de sementes de feijoeiro infectadas com fungos e sadias, em meios de cultura com e sem restrição hídrica, cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Cultivares	Tratamentos			
	BDA+F	BDA+M+F	BDA	BDA+M
-----Após a inoculação-----				
<i>Macrophomina phaseolina</i> (16 h)				
Carioca	22,9*	19,5	23,2	19,8
FT Nobre	23,5	20,0	23,4	20,2
<i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i> (48 h)				
Carioca	37,5	32,1	37,6	32,7
FT Nobre	38,9	32,8	39,5	33,2
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (48 h)				
Carioca	36,6	32,5	36,8	32,8
FT Nobre	37,7	32,9	38,1	33,3
-----Após a secagem-----				
<i>Macrophomina phaseolina</i>				
Carioca	10,9	10,6	10,9	10,8
FT Nobre	11,0	11,2	11,2	11,0
<i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i>				
Carioca	10,8	11,0	10,9	10,7
FT Nobre	11,3	11,2	10,9	11,7
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>				
Carioca	11,1	11,1	10,8	10,9
FT Nobre	11,8	11,6	11,4	11,7
-----Após envelhecimento acelerado-----				
<i>Macrophomina phaseolina</i>				
Carioca	31,1	31,3	31,0	31,2
FT Nobre	32,3	32,4	32,2	32,3
<i>Colletotrichum dematium</i> f. <i>truncata</i>				
Carioca	32,3	31,1	31,3	31,8
FT Nobre	33,1	32,7	33,0	32,4
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>				
Carioca	31,9	31,3	31,6	31,2
FT Nobre	33,6	33,8	34,9	32,7

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e sem o fungo;

\*Dados expressos em porcentagem;

Segundo VIEIRA (1994), o teor de água das sementes, por ocasião da instalação do teste de condutividade elétrica pode interferir nos seus resultados, sendo muito importante a padronização de sua metodologia, pois sementes que apresentam inicialmente uma quantidade similar, mas diferentes níveis de umidade interna, costumam proporcionar intensidade de corrente elétrica diferente

nos exsudatos, procedentes de sua embebição. Aquelas que, inicialmente, apresentam umidade alta, a velocidade de entrada de água é tão baixa que apenas ocorre pequena saída passiva de eletrólitos. Já o caso das sementes que apresentam pouca umidade, mostram valores de condutividade elétrica mais elevados (SAMPAIO et al. 1995). Segundo QUEIROGA (1988) esse processo pode entender-se como resposta a uma rápida entrada de água em sementes de baixo conteúdo de umidade, o que ocasiona o rompimento das membranas celulares. Desta maneira recomenda-se que as sementes apresentem de 11 a 13% de água ao serem submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. Já para o teste de condutividade elétrica, em geral, tem-se observado que o teor de água de sementes de soja, no início do teste, deve se situar entre 11 e 17%. Observações feitas por HAMPTON et al. (1992) mostram aumentos significativos na condutividade elétrica de sementes de feijão-mungo e soja quando o teor de água das sementes era inferior a 10%.

Observando-se os dados da Tabela 5, verificou-se que o teor de água das sementes após a secagem apresentou resultados dentro dos padrões indicado pelos autores acima mencionados, mostrando, além disso, uniformidade entre os tratamentos. A menor variação foi de 0,2 pontos percentuais, ocorrendo entre os tratamentos da inoculação com *M. phaseolina*, na cultivar FT Nobre, e a maior variação de 0,8 pontos percentuais, que ocorreu entre os tratamentos da inoculação com *C. dematium* f. *truncata*, também na cultivar FT Nobre, todos dentro dos padrões aceitos (1-2 pontos percentuais), segundo MARCOS FILHO (1999).

#### **4.3. Efeito dos fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum* na qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro**

Os resultados da germinação das sementes em areia nos diferentes tratamentos estão expressos na Tabela 6. Para a cultivar Carioca, observa-se que

**Tabela 6.** Porcentagem de germinação em areia de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>				<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>				<i>C. lindemuthianum</i>			
	Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre	
BDA+F	75,4 bc <sup>1</sup>	93,5 <sup>2</sup>	67,4 b	84,7	73,9 a	92,0	67,8 a	85,5	73,1 a	91,5	66,1 a	83,5
BDA+M+F	72,1 c	90,5	67,8 b	85,7	78,1 a	94,5	70,7 a	88,5	74,0 a	91,5	66,1 a	83,5
BDA	85,7 a	99,0	76,2 a	94,0	79,4 a	95,5	71,3 a	89,5	74,8 a	93,0	67,4 a	85,0
BDA+M	78,7 b	96,0	76,1 a	94,2	79,5 a	95,5	71,4 a	89,5	80,9 a	96,5	69,4 a	87,0
Teste F	14,41**		8,4*		0,61 <sup>NS</sup>		0,69 <sup>NS</sup>		1,79 <sup>NS</sup>		0,55 <sup>NS</sup>	
CV(%)	3,93		4,74		8,66		5,82		6,92		6,23	

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e sem o fungo;

<sup>1</sup> – Dados transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ ;

<sup>2</sup> – Dados originais em porcentagem;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup> – Não Significativo;

\* - Significativo a 5% de probabilidade;

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade;

CV (%) – Coeficiente de Variação.

nas sementes infectadas com o fungo *M. phaseolina*, a germinação foi estatisticamente menor quando comparada com as sementes não infectadas (meio de cultura BDA sem e com restrição hídrica), verificando-se desse modo, o efeito deletério do patógeno.

Segundo a literatura, apesar dos testes de germinação em rolo de papel e areia não diferirem entre si em condições normais de realização, BIZETTO & HOMECHIN (1997), avaliando a germinação de sementes de soja com altos índices de *Phomopsis sojae*, verificaram que para emergência em areia, o número de plântulas normais foi superior ao teste padrão de germinação no laboratório. Segundo FRANÇA NETO & HENNING (1984), esse fato, provavelmente, é devido ao mecanismo de escape, no qual a plântula ao emergir, libera o tegumento infectado no solo, enquanto que no teste de germinação (rolo de papel), o tegumento e o patógeno aderidos aos cotilédones, causam a deterioração das sementes. Em razão do exposto, deu-se preferência à realização do teste de emergência em areia em substituição ao realizado em rolo de papel, uma vez as sementes estavam infectadas com fungos.

Para a cultivar FT Nobre também foi verificado o mesmo efeito deletério do fungo sobre a germinação das sementes. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por MENTEN (1978), o qual verificou uma relação inversa entre a incidência de *M. phaseolina*, em sementes de feijoeiro, e os resultados do teste de germinação. Também DIAS & TOLEDO (1993) constataram que a incidência de fungos, em sementes de *Brachiaria*, reduziu sua germinação; assim como YORINORI (1982), em sementes de soja, e MUNIZ & PORTO (1999) em sementes de cenoura com o fungo *Alternaria* sp.. Alguns autores verificaram que certos fungos, ao infectarem as sementes, danificam suas estruturas celulares de modo a prejudicar sua viabilidade, podendo até ocasionar a morte da mesma (WETZEL, 1987; MACHADO, 1988; MENTEN, 1995).

Com relação à *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*, a germinação das sementes não foi afetada pela infecção dos fungos, não sendo observadas diferenças significativas entre as sementes inoculadas e não inoculadas e entre os

meios de cultura utilizados para as cultivares Carioca e FT Nobre (Tabela 6). Esses resultados corroboram os encontrados por KRONKA (2000), que verificou que a presença de *C. lindemuthianum* e *C. dematium* f. *truncata* em sementes de feijoeiro, não interferiu em sua germinação. Também MENEZES & MOHAN (1982) verificaram que alta incidência de *C. lindemuthianum* (83%) em sementes de feijoeiro, não interferiu na porcentagem de germinação das sementes. Resultados semelhantes também foram obtidos por PINHO et al. (1995) com sementes de milho infectadas com *Fusarium moliniforme* e por LASCA et al. (1983) com *Helminthosporium sativum*, em sementes de trigo. De um modo geral, o teste padrão de germinação realizado em areia mostra que nem sempre sementes com altas porcentagens de germinação se apresentam isentas de patógenos, e que, muitas vezes o fungo *C. lindemuthianum* não afeta a germinação das sementes (MENEZES et al., 1981; PATRÍCIO et al. 1991; VECHIATO et al. 1997). Segundo PATRÍCIO et al. (1991) a baixa interferência de *C. lindemuthianum* na germinação das sementes, confere a esta um eficiente meio de sobrevivência e de transmissão deste patógeno à progênie em condições de campo.

Com relação aos testes de vigor, os resultados do índice de velocidade de emergência das sementes inoculadas com *M. phaseolina*, *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum* foram estatisticamente iguais às sementes não inoculadas, independente do meio de cultura onde o fungo foi cultivado (com e sem restrição hídrica), tanto para a cultivar Carioca, quanto para a cultivar FT Nobre (Tabela 7).

Para o parâmetro peso da matéria seca das plântulas nas sementes da cultivar Carioca inoculadas *M. phaseolina*, os menores valores foram obtidos em plântulas originadas de sementes infectadas pelo fungo com restrição hídrica, seguido dos valores de plântulas originadas de sementes infectadas em meio de cultura sem restrição hídrica e de sementes sem restrição hídrica e sem infecção do patógeno; seguindo a mesma tendência verificada no teste de germinação, para esses mesmos tratamentos (Tabela 8). Também para a cultivar FT Nobre, plântulas originadas de sementes inoculadas com o fungo apresentaram valores de peso médio de matéria seca inferiores aos das plântulas originadas de

**Tabela 7.** Índice de Velocidade de Emergência (IVE) de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>		<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>		<i>C. lindemuthianum</i>	
	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre
BDA+F	13,90	13,72	19,17	18,35	14,66	13,41
BDA+M+F	13,91	13,44	18,51	18,70	14,60	13,94
BDA	14,33	14,30	19,53	16,14	14,83	12,46
BDA+M	14,32	13,14	18,59	18,22	15,56	13,94
Teste F	0,30 <sup>NS</sup>	1,96 <sup>NS</sup>	0,67 <sup>NS</sup>	3,35 <sup>NS</sup>	1,56 <sup>NS</sup>	2,30 <sup>NS</sup>
CV(%)	5,96	5,16	6,29	7,47	4,75	6,70

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica com o fungo;  
 BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica com o fungo;  
 BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica sem o fungo;  
 BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica sem o fungo;  
 CV (%) – Coeficiente de Variação;

**Tabela 8.** Peso de Matéria Seca das plântulas (mg plântula<sup>-1</sup>) originadas de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>		<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>		<i>C. lindemuthianum</i>	
	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre
BDA+F	106,95 b	90,17 c	89,76 a	87,59 a	81,58 a	73,00 a
BDA+M+F	89,59 c	96,23 bc	88,51 a	76,64 a	81,97 a	68,02 a
BDA	125,60 a	104,01 ab	89,72 a	81,98 a	82,29 a	67,07 a
BDA+M	111,58 b	112,47 a	85,82 a	77,44 a	82,94 a	66,77 a
Teste F	72,75**	15,55**	0,08 <sup>NS</sup>	0,83 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	1,55 <sup>NS</sup>
CV(%)	3,21	4,87	14,62	13,64	3,06	6,79

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica com o fungo;  
 BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica com o fungo;  
 BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica sem o fungo;  
 BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica sem o fungo;  
 Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade;  
 CV (%) – Coeficiente de Variação;  
<sup>NS</sup> – Não Significativo; \* - Significativo a 5% de probabilidade; \*\* - Significativo a 1% de probabilidade.

sementes não infectadas. Também foi possível verificar que os resultados entre plântulas originadas de sementes inoculadas com o fungo em meio sem e com restrição hídrica foram iguais estatisticamente.

Quanto à inoculação com o fungo *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*, não foi verificada diferença estatística entre as plântulas originadas de sementes inoculadas com o fungo e as originadas das sementes não inoculadas, e apesar de se observar uma tendência de maiores valores em meio sem restrição hídrica do que em meio com restrição hídrica, também não foi verificada diferença estatística entre eles (com e sem restrição hídrica), para ambas cultivares.

No teste de frio (Tabela 9), não houve diferença estatística entre a porcentagem de germinação das sementes inoculadas com *M. phaseolina* e das não inoculadas, assim como entre os meios de cultura utilizados, para ambos os meios (com e sem restrição hídrica), em ambos cultivares. VON PINHO et al. (1995) não encontraram redução no vigor, pelo teste de frio, quando *Fusarium* sp. encontrava-se presente em sementes de milho. CASAROLI et al. (2006) verificaram que os fungos transmissíveis pelas sementes de abóbora e os fungos de armazenamento encontrados nelas não interferiram na sua qualidade fisiológica; assim como BEVILAQUA & PIEROBOM (1995) em sementes de aveia preta com fungos do gênero *Fusarium*, *Alternaria* e *Phoma*.

Também no caso de *C. dematium* f. *truncata*, não foi verificada diferença estatística na germinação de sementes inoculadas com o patógeno em meio de cultura com e sem restrição hídrica, para a cultivar Carioca. Entretanto, em relação a cultivar FT Nobre, sementes inoculadas com o fungo em meio de cultura com restrição hídrica, apresentaram porcentagem de germinação menor que as sobrepostas no seu respectivo meio de cultura sem a presença do fungo, significando que o patógeno interferiu negativamente no vigor das sementes, com ação deletéria sobre a germinação dessas nesses testes.

Em relação ao fungo *C. lindemuthianum*, a menor germinação obtida foi verificada em sementes infectadas com o fungo em meio de cultura sem restrição

**Tabela 9.** Porcentagem de germinação de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, obtida no Teste de Frio, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>				<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>				<i>C. lindemuthianum</i>			
	Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre	
BDA+F	71,4 a <sup>1</sup>	89,5 <sup>2</sup>	69,9 a	88,0	75,5 a	93,5	69,8 b	88,0	69,4 b	87,5	64,9 b	81,5
BDA+M+F	72,7 a	91,0	70,3 a	88,0	73,2 a	91,5	70,7 b	89,0	72,2 ab	90,5	71,5 ab	89,5
BDA	73,7 a	92,0	76,3 a	93,5	78,9 a	95,0	72,1 b	90,5	77,4 ab	95,0	73,6 ab	92,0
BDA+M	76,0 a	94,0	67,6 a	85,5	77,1 a	95,0	77,4 a	95,0	79,9 a	96,0	74,8 a	93,0
Teste F	1,44 <sup>NS</sup>		2,45 <sup>NS</sup>		1,17 <sup>NS</sup>		7,82 <sup>**</sup>		4,79 <sup>*</sup>		4,17 <sup>*</sup>	
CV(%)	4,43		6,62		5,88		3,37		5,84		6,08	

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e sem o fungo;

<sup>1</sup> – Dados transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ ;

<sup>2</sup> – Dados originais em porcentagem;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup> – Não Significativo;

\* - Significativo a 5% de probabilidade;

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade;

CV (%) – Coeficiente de Variação.



hídrica, no entanto, não diferiu da germinação obtida em sementes infectadas em meio de cultura com restrição hídrica e também dos valores de germinação em sementes não infectadas pelo fungo em meio de cultura sem restrição hídrica. Entretanto, não foi verificada diferença estatística entre a porcentagem de germinação de sementes infectadas e não infectadas em meio de cultura (com e sem restrição) e também quanto ao efeito do meio de cultura utilizado (com ou sem restrição hídrica), tanto para a cultivar Carioca, quanto para a cultivar FT Nobre. Com relação ao teste de envelhecimento acelerado, este foi o teste mais sensível à ação dos fungos, pois seus resultados foram os mais afetados pela presença dos patógenos nas sementes. Esse teste de vigor foi capaz de detectar o efeito deletério dos fungos estudados sobre ambas cultivares como pode ser observado na Tabela 10.

Para *M. phaseolina* e *C. dematium* f. *truncata* observou-se que esses afetaram a germinação das sementes envelhecidas artificialmente nas duas cultivares, pois a germinação das sementes inoculadas foi estatisticamente menor que das sementes não inoculadas. Quanto ao meio utilizado para a incubação das sementes, pôde-se verificar que, para a cultivar Carioca não houve diferença estatística entre os meios de cultura utilizados (com ou sem restrição hídrica) em sementes inoculadas assim como para as não inoculadas. Para a cultivar FT Nobre, a porcentagem de germinação das sementes inoculadas com o fungo em meio de cultura sem restrição hídrica foi menor que as em meio com restrição hídrica. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por NADALETO (2004), que verificou que a presença do fungo *M. phaseolina* interferiu negativamente nos resultados de desempenho fisiológico das sementes de feijão envelhecidas artificialmente, assim como nos resultados obtidos por FURLAN (1986) e SILVA & SILVA (2000) com o fungo do gênero *Fusarium* spp., na mesma cultura. Resultados semelhantes foram obtidos com a cultivar Carioca nas sementes provenientes da inoculação com *C. lindemuthianum*, sem diferença estatística entre a germinação das sementes infectadas em meio de cultura com e sem restrição hídrica. Para a cultivar FT Nobre, o menor valor observado

**Tabela 10.** Porcentagem de germinação de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, obtida no Teste de Envelhecimento Acelerado, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>				<i>C. dematium</i> f. <i>Truncata</i>				<i>C. lindemuthianum</i>			
	Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre		Carioca		FT Nobre	
BDA+F	60,7 b <sup>1</sup>	76,0 <sup>2</sup>	54,0 c	65,5	61,0 b	76,5	49,3 c	57,5	50,8 c	60,0	42,1 c	45,0
BDA+M+F	61,5 b	77,0	60,0 b	75,0	64,2 b	82,5	61,0 b	76,5	56,5 bc	69,5	50,8 b	60,0
BDA	68,9 a	87,0	64,2 ab	81,0	70,0 a	88,0	64,3 ab	81,0	60,5 ab	75,5	49,3 b	57,5
BDA+M	72,1 a	90,6	68,1 a	86,0	70,7 a	89,0	66,5 a	84,0	67,8 a	85,5	55,9 a	68,5
Teste F	15,56**		34,70**		6,23**		37,31**		12,50**		14,43**	
CV(%)	4,30		3,33		5,25		4,15		6,85		6,04	

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e sem o fungo;

<sup>1</sup> – Dados transformados em arco seno  $(x/100)^{1/2}$ ;

<sup>2</sup> – Dados originais em porcentagem;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade;

CV (%) – Coeficiente de Variação.

foi em sementes infectadas pelo fungo em meio de cultura sem restrição hídrica, diferindo estatisticamente das sementes infectadas em meio com restrição hídrica. Esses dados concordam com a opinião de KIKUTI et al. (2005) que afirmam que o desempenho das sementes envelhecidas artificialmente pode ser influenciado, de modo negativo, pela presença de fungos. Também ROSSETTO et al. (2001) verificaram que alta incidência de *Aspergillus* spp. e de *Rhizopus* spp. em sementes de amendoim limitou a avaliação do vigor através do teste de envelhecimento acelerado. SILVA & SILVA (2000) verificaram que as condições de envelhecimento acelerado favorecem o desenvolvimento de alguns microrganismos. Assim, as condições impostas pelo envelhecimento acelerado podem não agir apenas no comportamento da semente, mas também influenciar a ação de microrganismos presentes nelas.

Tais interferências se devem ao fato de que certos fungos ao infectarem as sementes, danificam suas estruturas celulares de modo a prejudicar sua viabilidade, podendo até ocasionar a morte da mesma (WETZEL, 1987; MENTEN, 1995). Segundo BERJAK (1987) características do processo deteriorativo aparecem mais cedo em sementes infectadas do que nas sadias.

As diferenças de resultados verificadas, em alguns casos, entre as cultivares Carioca e FT Nobre, para a ação de um mesmo patógeno, tanto no caso do teste de frio quanto no caso do teste de envelhecimento acelerado, podem ser explicadas em razão desses testes avaliarem o vigor das sementes em diferentes situações de estresse. Conseqüentemente, dependendo do genótipo e de sua resposta à infecção com o patógeno as sementes podem mostrar reações variáveis diante da exposição à alta ou baixa temperatura. Além do mais, inicialmente (Tabela 1) a cultivar FT Nobre já apresentava menores valores de germinação e vigor quando comparada à cultivar Carioca. Por esses motivos, HALL & WIESNER (1990) e MARCOS FILHO et al. (1990) destacam a importância da utilização de vários testes para avaliação do vigor das sementes.

Em relação à condutividade elétrica (Tabela 11), para *M. phaseolina* não foi verificada diferença significativa entre sementes inoculadas e não inoculadas

**Tabela 11.** Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>		<i>C. dematium</i> f. <i>Truncata</i>		<i>C. lindemuthianum</i>	
	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre
BDA+F	71,9 a	73,2 b	61,1 a	60,6 a	68,9 a	57,9 b
BDA+M+F	70,9 a	74,0 b	60,4 a	56,4 a	68,4 a	69,6 a
BDA	70,9 a	70,8 b	59,3 a	53,8 a	67,7 a	69,2 a
BDA+M	71,5 a	88,9 a	61,3 a	62,1 a	74,0 a	70,5 a
Teste F	0,04 <sup>NS</sup>	15,73 <sup>**</sup>	0,44 <sup>NS</sup>	1,99 <sup>NS</sup>	0,97 <sup>NS</sup>	8,27 <sup>**</sup>
CV(%)	7,85	6,04	4,85	10,31	9,36	6,90

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica sem o fungo;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup> – Não Significativo;

<sup>\*\*</sup> - Significativo a 1% de probabilidade;

CV (%) – Coeficiente de Variação.

independente do meio de cultura ser ou não com restrição hídrica. No entanto, para a cultivar FT Nobre verificou-se que sementes inoculadas com o fungo apresentou valores menores que os das não inoculadas, não diferindo estatisticamente das sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica.

O princípio do teste de condutividade elétrica baseia-se no fato de que a desestruturação e perda de integridade do sistema de membranas celulares promovem descontrole do metabolismo, refletindo diretamente sobre a qualidade fisiológica das sementes (DIAS & MARCOS FILHO, 1995b). Sendo assim, o estado de degradação das sementes pode ser avaliado quantitativamente e qualitativamente pelos lixiviados das células durante a embebição. Deste modo, pode-se pensar que uma forte concentração iônica nos exsudatos representa a presença de membranas deterioradas, e, por conseguinte, de sementes de baixa qualidade. No sentido inverso, a detecção de baixo nível de eletrólitos nos exsudatos, automaticamente, leva a supor uma boa integridade dessas membranas, como indicativo de boa conservação de vigor e capacidade germinativa das sementes (SAMPAIO et al. 1995). No entanto, não foi o que ocorreu nesse caso para a cultivar FT Nobre. As sementes infectadas com *M. phaseolina* apresentaram os menores valores de condutividade elétrica, e também as menores porcentagens de germinação em areia, no envelhecimento acelerado e os menores pesos de matéria seca de plântulas, divergindo desta teoria. Tal fato também foi verificado por LOEFFLER et al. (1988), que observou que sementes de soja infectadas pelos fungos *Cercospora kikuchii* e *Phomopsis* sp., contendo de moderados a severos danos mecânicos mostraram excessiva perda de eletrólitos e altos níveis de condutividade elétrica, enquanto sementes com altos níveis de infecção por esses fungos mostraram baixos níveis de condutividade elétrica. Também NADALETO (2004) verificou o mesmo efeito de *M. phaseolina* quando infectando sementes de três cultivares de feijoeiro. Essas sementes apresentaram valores mais baixos de condutividade elétrica, quando comparadas às sementes saudas. Fato comprovado por PINTO (2005) também em sementes de feijoeiro

associadas com *Rhizoctonia solani* e RAMOS (2005), em sementes de milho contaminadas pelo fungo *Fusarium graminearum*.

Dados obtidos por WOODSTOCK (1973), McDONALD JR. & WILSON (1979), POWELL (1986), MARCOS FILHO (1990) com sementes de soja, e SÁ (1999) com sementes de tomate, demonstraram que a queda nos níveis de germinação e de vigor correspondeu a aumentos nos valores de condutividade elétrica das sementes. Isso provavelmente na ausência de fungos em sementes. A presença dos fungos nas sementes indicou uma interferência desses microrganismos nos resultados da condutividade elétrica (Tabela 11), superestimando a qualidade fisiológica da semente, que já teve sua qualidade fisiológica afetada pela ação do patógeno, como verificado no teste de germinação, matéria seca e envelhecimento acelerado (Tabelas 6, 8 e 10). No caso de *M. phaseolina*, o mesmo ocorreu nos testes de frio e envelhecimento acelerado (Tabelas 9 e 10) em *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*.

Quanto aos fungos *C. dematium* f. *truncata* e *C. lindemuthianum*, os valores da condutividade elétrica das sementes inoculadas foram estatisticamente iguais às sementes não inoculadas, independente do meio de cultura, em ambas cultivares.

Uma porção significativa dos eletrólitos liberados pelas sementes durante a embebição é representada por vários íons inorgânicos, dentre esses destacam-se o potássio, cálcio e o magnésio. Em virtude desse fato, analisou-se a concentração desses íons na solução de embebição das sementes do teste de condutividade elétrica.

Através dos resultados dessa análise, pode-se verificar que o íon que foi mais lixiviado pelas sementes de feijoeiro foi o potássio, seguido do magnésio e por último do cálcio (Tabela 12). Também LEE & KARUNANITHY (1990) verificaram que em sementes de feijão e soja, as perdas de potássio foram muito altas; enquanto que as perdas de íons bivalentes, tais como: cálcio, ferro e magnésio foram apenas moderadas. Segundo eles, provavelmente devido à habilidade de formarem complexos com proteínas e ácido fítico.

**Tabela 12.** Lixiviação de potássio, cálcio e magnésio (mg Kg<sup>-1</sup> de sementes) na água de embebição de sementes de feijoeiro infectadas e não infectadas com os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, obtida no Teste de Condutividade Elétrica, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Potássio						
Tratamentos	<i>M. phaseolina</i>		<i>C. dematium</i> f. <i>truncata</i>		<i>C. lindemuthianum</i>	
	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre	Carioca	FT Nobre
BDA+F	2172,38 bc	2067,43 ab	1615,24 ab	1584,0 a	1643,51 a	1319,67 a
BDA+M+F	2486,50 a	2070,83 ab	1548,12 b	1416,0 a	1602,03 a	1364,43 a
BDA	1971,89 c	2007,50 b	1531,44 b	1354,5 a	1602,86 a	1374,08 a
BDA+M	2426,03 ab	2223,27 a	1643,57 a	1542,0 a	1651,45 a	1423,54 a
Teste F	11,48**	3,80*	5,78**	3,18 <sup>NS</sup>	0,32 <sup>NS</sup>	1,78 <sup>NS</sup>
CV(%)	6,93	5,05	3,14	9,11	6,41	5,22
Cálcio						
BDA+F	63,29 a	55,32 b	40,24 a	38,8 b	33,89 b	29,04 b
BDA+M+F	66,52 a	61,89 a	43,22 a	35,3 b	38,56 a	39,27 a
BDA	65,62 a	54,24 b	29,81 b	20,2 c	30,51 b	29,53 b
BDA+M	63,92 a	64,28 a	39,53 a	54,2 a	40,47 a	38,55 a
Teste F	0,69 <sup>NS</sup>	15,99**	15,73**	92,69**	16,31**	20,99**
CV(%)	6,21	4,67	8,59	8,70	6,97	7,97
Magnésio						
BDA+F	144,34 a	118,72 c	97,82 b	119,4 a	89,12 b	89,10 c
BDA+M+F	151,06 a	132,25 b	108,57 a	125,4 a	101,07 a	117,16 a
BDA	142,31 a	107,83 d	75,87 c	72,2 c	77,45 c	74,13 d
BDA+M	147,92 a	145,63 a	103,43 ab	88,5 b	102,74 a	104,98 b
Teste F	2,41 <sup>NS</sup>	49,56**	73,74**	110,59**	29,39**	93,41**
CV(%)	3,81	4,13	3,89	5,29	5,25	4,50

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica sem o fungo;

CV (%) – Coeficiente de Variação;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>NS</sup> – Não Significativo;

\* - Significativo a 5% de probabilidade;

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade.

Observando-se os resultados apresentados na Tabela 12, não foi possível concluir quais as possíveis mudanças que os fungos causaram na composição química das sementes por eles parasitadas, que resultaram em alteração nos resultados da condutividade elétrica.

Segundo GRIFFIN (1994) os fungos degradam compostos, reciclando carbonos, nitrogênio e enxofre como nutrientes para o crescimento, causando deterioração dos materiais. Sendo assim, o requerimento nutricional dos fungos por elementos pode ser dividido em duas classes: macronutrientes, carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, potássio, nitrogênio, enxofre, magnésio, cálcio, e micronutrientes, além de vitaminas e outros compostos químicos. No entanto, em estudos sobre a exigência mineral nutritiva desses organismos é difícil identificar precisamente a necessidade de cada organismo individual GRIFFIN (1994).

De acordo com alguns autores, íons inorgânicos representam os principais eletrólitos que são liberados pelas sementes em embebição (ABDEL SAMAD & PEARCE, 1978; MOSS & MULLET, 1982). Segundo WOODSTOCK et al. (1985), a ligação entre lixiviação de minerais e danos à membrana é estreita, pois, após terem confirmado a deterioração às membranas em sementes de algodão, através de microscopia eletrônica, verificaram que a lixiviação de minerais como potássio e cálcio, foi o melhor indicador de qualidade das sementes que índices gerais como a condutividade. Outros pesquisadores têm relacionado os resultados do teste de lixiviação de potássio ao de condutividade elétrica (SIMON & RAJA HARUN, 1972; DIAS 1994; CUSTODIO & MARCOS FILHO, 1997). No entanto, nesse trabalho, os resultados obtidos pela lixiviação dos íons potássio, cálcio e magnésio, não foi possível correlacioná-los com os resultados do teste de condutividade elétrica e nem mesmo explicar se os fungos utilizados nesse estudo não influenciam ou mesmo diminuem os valores dos resultados de condutividade elétrica das sementes de feijão. O ocorrido para sementes inoculadas com *M. phaseolina* na cultivar FT Nobre (Tabela 11), se deu devido aos patógenos consumirem esses minerais nas sementes. Talvez a obtenção de valores idênticos ou mesmo menores de condutividade elétrica de sementes infectadas por esses



fungos possa ser explicada por outros minerais presentes na constituição das sementes, pois segundo MATTHEWS & BRADNOCK (1967) e WOODSTOCK (1988), a natureza dos constituintes observados por ocasião da embebição das sementes é muito diversa, tais como íons inorgânicos, açúcares, aminoácidos, enzimas, nucleosídeos e ácidos graxos; ou mesmo por outros fatores não estudados nesta pesquisa. Segundo MACHADO (1988), o efeito dos microrganismos em sementes, nos aspectos bioquímicos e moleculares, ainda é pouco elucidado.

Os resultados obtidos demonstraram que as sementes que absorvem uma menor quantidade de água enquanto expostas aos tratamentos com BDA, ou seja, aqueles aos quais se acrescentaram o manitol foram as que resultaram em menor quantidade de potássio lixiviado, inclusive com diferenças estatísticas significativas nos casos das cultivares Carioca e FT Nobre quando expostas a *M. phaseolina* e na cultivar Carioca quando expostas a *C. dematium* f. *truncata*. Embora o resultado da Condutividade elétrica em sementes com e sem patógeno não tenha diferido estatisticamente, em alguns casos, observa-se que a exigência em nutrientes para patógenos é diferente entre eles, segundo a literatura.

Durante a infecção e colonização, os microrganismos podem utilizar uma variedade de enzimas que atuam na degradação dos componentes da parede celular, de membranas e do tecido de reserva da semente. Podem ainda produzir hormônios e toxinas visando a penetração da hifa infectiva no hospedeiro (AMORIM, 1995; PASCHOLATI, 1995). Esses patógenos obtêm nutrientes do protoplasto, entre eles açúcares e aminoácidos, que são moléculas pequenas, absorvidas diretamente pelo microrganismo.

Resultados diferentes foram obtidos pelas cultivares Carioca e FT Nobre e segundo JONES & CLIFFORD (1993), citados por MYCOCK & BERJAK (1995), cultivares podem reagir de forma diferente à contaminação fúngica nas sementes por várias razões, as quais, segundo AGARWAL & SINCLAIR (1987), estão sob controle genético. Isso explica o fato de terem sido obtidos resultados diferentes

entre as cultivares Carioca e FT Nobre desde o início da realização dos testes (Tabela 1).

Quanto à análise do meio de cultura, para o íon potássio, não foi possível relacionar a lixiviação desse íon pela semente na água de embebição no teste de condutividade elétrica, pois não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos em que as sementes foram sobrepostas ao meio de cultura e a análise do respectivo meio de cultura sem a sobreposição das sementes (Tabela 13). Além disso, os resultados de lixiviação desse íon da água de embebição do teste de condutividade elétrica foram muito variáveis para os diferentes patógenos inoculados e entre as duas cultivares. No entanto, pode-se verificar que o meio de cultura tanto com, quanto sem restrição hídrica foi capaz de absorver cálcio das sementes, verificado para ambas cultivares.

Quanto ao íon cálcio, observou-se que em ambas cultivares, os menores valores foram obtidos nos tratamentos onde foram apenas analisados os meios de cultura, sem a presença das sementes (Tabela 13). Verifica-se que, os meios de cultura, tanto sem como com restrição hídrica são capazes de absorver esse íon das sementes incubadas.

Para o íon magnésio, verificou-se novamente que os resultados obtidos foram iguais entre as cultivares, e que o menor valor, diferindo estatisticamente do demais, foi obtido no meio de cultura sem restrição hídrica e sem a presença de semente (Tabela 13). Observou-se ainda que, no caso desse íon, apenas o meio com restrição hídrica foi capaz de absorver este elemento das sementes nele sobrepostas.

Apesar de não se ter observado diferença estatística entre os valores de condutividade elétrica de sementes infectadas com *C. lindemuthianum* e sementes não infectadas pelo fungo nas cultivares Carioca e FT Nobre, os resultados ficaram mais evidentes no experimento onde foi avaliado o efeito de diferentes porcentagens de infestação das sementes com *C. lindemuthianum* (Tabela 14), onde observou-se claramente na cultivar FT Nobre, que a partir de 25% de sementes infestadas com o fungo, houve uma redução nos valores da

condutividade elétrica das sementes. Já para a cultivar Carioca essa tendência também foi verificada, no entanto, a partir do lote com 75% de sementes infestadas que diferiu estatisticamente da testemunha.

**Tabela 13.** Concentração dos íons potássio, cálcio e magnésio ( $\text{mg Kg}^{-1}$  de meio de cultura) em meio de cultura BDA com e sem restrição hídrica, com e sem sobreposição de sementes de feijoeiro, para as cultivares Carioca e FT Nobre. Jaboticabal – SP, 2007.

Tratamentos	Carioca		
	Íons		
	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{++}$	$\text{Mg}^{++}$
BDA+ semente	233,2 ab	53,7 a	55,9 a
BDA+Manitol+ semente	256,9 a	49,5 a	53,3 a
BDA	200,6 b	38,0 b	55,9 a
BDA+Manitol	251,0 ab	33,8 b	25,8 b
Teste F	3,67*	24,73**	35,91**
CV (%)	11,21	8,25	10,25
Tratamentos	FT Nobre		
	Íons		
	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{++}$	$\text{Mg}^{++}$
BDA+ semente	258,3 ab	51,2 a	49,3 a
BDA+Manitol+ semente	287,0 a	49,3 a	51,8 a
BDA	200,6 b	38,0 b	55,9 a
BDA+Manitol	251,0 ab	33,8 b	25,8 b
Teste F	6,33**	41,32**	23,64**
CV (%)	11,46	6,15	12,18

BDA+F – Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e com o fungo;

BDA+M+F - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e com o fungo;

BDA - Sementes sobrepostas em meio de cultura sem restrição hídrica e sem o fungo;

BDA+M - Sementes sobrepostas em meio de cultura com restrição hídrica e sem o fungo;

CV (%) – Coeficiente de Variação;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\* - Significativo a 5% de probabilidade;

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade.

Os resultados obtidos nesse experimento, novamente corroboram os observados por NADALETO (2004) e PINTO (2005) em sementes de feijoeiro e RAMOS (2005) em sementes de milho.

NADALETO (2004) estudando o efeito de *M. phaseolina* em sementes de feijoeiro, não verificou diferença nos valores da condutividade elétrica entre lotes 0, 10, 30, 50, 70 e 100% de sementes infestadas por esse fungo. No entanto,

observou para os testes de germinação, índice de velocidade de emergência e envelhecimento acelerado, que lotes a partir de 10% de sementes infestadas com o fungo, apresentaram resultados estatisticamente inferiores aos da testemunha (sementes sadias).

**Tabela 14.** Efeito de diferentes níveis de infestação de sementes de feijoeiro com *Colletotrichum lindemuthianum* sobre os resultados da Condutividade Elétrica. Jaboticabal – SP, 2007.

% Sementes infestadas	-----CE ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )-----	
	Carioca	FT Nobre
0	74,25 a	75,64 a
25	64,74 ab	70,83 b
50	64,82 ab	61,86 c
75	60,70 b	60,12 c
100	61,33 b	55,14 d
Teste F	3,83*	74,99**
CV (%)	8,50	2,97

CE – Condutividade Elétrica;

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

\* - Significativo a 5% de probabilidade;

\*\* - Significativo a 1% de probabilidade;

CV (%) – Coeficiente de Variação;

Esses resultados sugerem que tanto o teste de condutividade elétrica, quanto outros testes de vigor e germinação, devem ser acompanhados do teste de sanidade das sementes, pois pode ter seus resultados influenciados pela presença de fungos nas sementes, superestimando o lote, no caso do teste de condutividade elétrica.

## V. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nessa pesquisa permitem concluir que:

- Manitol para restrição hídrica (-1 MPa) em meio de cultura pode ser recomendado em inoculação artificial de sementes com fungos, por não alterar a eficiência do processo de infecção e evitar excesso de absorção de água do meio de cultura, pelas sementes.
- O período de 16 horas de inoculação das sementes de feijoeiro com *Macrophomina phaseolina* e de 48 horas para *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum* são suficientes para estudar a interferência desses organismos na qualidade fisiológica das sementes.
- *Macrophomina phaseolina* afeta a germinação de sementes de feijoeiro cultivar Carioca e FT Nobre.
- O desempenho das sementes contaminadas com *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Colletotrichum lindemuthianum*, nos testes de vigor (Envelhecimento Acelerado, Teste de Frio e Condutividade Elétrica) da cultivar FT Nobre é mais afetado pelos fungos do que a cultivar Carioca, provavelmente devido sua constituição genética.

- A interferência de *Colletotrichum lindemuthianum* do ponto de vista estatístico nos resultados do teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes é detectada em lotes a partir de 75% de sementes contaminadas na cultivar Carioca e a partir de 25% para a cultivar FT Nobre.
- Sementes infectadas com *Macrophomina phaseolina* e *Colletotrichum lindemuthianum* apresentam valores de condutividade elétrica menores que sementes sadias.

## VI. REFERÊNCIAS

ABDEL SAMAD, I. M.; PEARCE, R.S. Leaching of ions, organic molecules, and enzymes from seeds of peanut (*Arachis hypogea* L.) imbibing without testa or with intact testa. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 29, n. 112, p. 1471-1478, 1978.

ADEBAYO, A. A.; HARRIS, R. F. Fungal growth responses to osmotic as compared to matric water potencial. **Soil Science Society of America Proceedings**, Madison, v. 85, n. 3, p. 465–469, 1971.

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton: CRC Press, 1987. v. 1, 175 p.

ALBUQUERQUE, M. C. F.; MORO, F. V.; FAGIOLI, M.; RIBEIRO, M. Testes de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 1–18, 2001.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**, 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 647-671.

ANSELME, C. Importance en culture des organismes pathogènes transmis par les semences. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, n. 3, p. 689-695, 1981.

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

BALARDIN, R. S.; DAL PIVA, C. A.; OGLIARI, P. J. Sanidade de sementes de feijão, no Estado de Santa Catarina – Resultados preliminares. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 151-155, 1992.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 249-259, 1998.

BARTON, L.V. Methods of testing for viability. In: BARTON, L. V. **Seed preservation and longevity**. New Dehli; IBS, 1985. p. 121-137.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas, Instituto Agrônômico, 1983. 48p. (Boletim técnico, 78).

BANZATTO; D. A.; KRONKA, S. N.; **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 147p.

BERJAK, P. Stored seeds: The problems caused by microorganisms (With particular reference to the fungi) In: NASSER, L. C.; WETEZ, M. M.; FERNADES, J. M. **Seed pathology**: International advance course, proceedings. Brasília: **Abrates**, 1987. p. 38-50.

BEVILAQUA, G. A. P.; PIEROBOM, C. R. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) da zona sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 19–22, 1995;



BEWLEY, J. D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in seed storage. In: McDONALD JR, M. B.; NELSON, C. J. **Physiology of the seed deterioration**. Madison: CSSA, 1986. p. 22–40.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**, New York: Plenum Press, 1985. 367 p.

BIZETTO, A.; HOMECHIN, M. Efeito do período e da temperatura de armazenamento na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja com altos índices de *Phomopsis sojae* (Leh.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 196–303, 1997.

BRADNOCK, W. T.; MATTHEWS, S. Assessing field emergence potential of wrinkle-seeded peas. **Horticultural Research**, Edinburgh, v.10, p.50-58, 1970.

BRASIL. Ministério da Agricultura. SNDA/DNFV/CLV. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365p.

BROWNELL, K. H.; SCHNEIDER, R. W. Roles of matric and osmotic components of water potencial and their interaction with temperature in the growth of *Fusarium oxysporum* in synthetic media and soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, n. 1, p. 53-57, 1985.

BRUGGING, H.; KRAAK, H. L. DIJKEMA, M. H. G. E.; BEKENDAM, J. Some factors influencing electrolyte leakage from maize (*Zea Mays* L.) kernels. **Seed Science Research**, London, v. 1, n. 1, p. 15–20, 1991.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. **Efeito da infecção conjunta de *Phaeoisariopsis griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum* nos componentes de produção e nas variáveis da área foliar do feijoeiro.** 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

CARVALHO, H. P. **Aspectos patológicos e fisiológicos de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizadas na Região Sul do Estado de Minas Gerais.** 1989. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agronomia de Lavras, Lavras, 1989.

CARVALHO, M. V. **Ocorrência, contágio e associação em sementes de milho (*Zea mays* L.).** 1997. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

CARVALHO, N. M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: Funep, 1994. p. 1-30.

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

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

CASA, R. T.; REIS, E. M.; MEDEIROS, C. A.; MOURA, B. Efeito do tratamento de sementes de milho com fungicida, na proteção de fungos do solo no Rio Grande do sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 633–638, 1995.

CASAROLI, D.; GARCIA, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; MENEZES N. L. de. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de abóbora variedade menina brasileira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 158-163, 2006.

CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H. F., GALVEZ, G. E. **Problemas de production del frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris***. Cali: CIAT, 1980. p. 37–53.

CÍCERO, S. M.; VIEIRA, R. D. Teste de frio. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 151-164.

COUTINHO, W. M. **Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade**. 2000. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

COOK, R. J.; PAPENDICK, R. I. Role of water potencial in microbial growth and development of plant disease, with special reference to postharvest pathology. **Hort Science**, Alexandria, v. 13, n. 5, p. 559-564, 1978.

CUSTÓDIO, C.C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.

DHAR; V.; SARBHOY, A. K. Studies on the germination and longevity of picnospores of *Macrophomina phaseolina*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 42, n. 1, p. 123–127, 1989.

DHINGRA; O. D.; SINCLAIR, J. B. Effect of soil moisture and carbon nitrogen ratio on survival of *Macrophomina phaseolina* in soybean steams in soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 58, p. 1034–1037, 1974.

DHINGRA; O. D.; SINCLAIR, J. B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina***. Viçosa: Imprensa Universitária, 1978. 166 p.

DIAS, D. C. F.S. **Teste de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. 1994. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de vigor baseados na permeabilidade de membranas celulares: I Condutividade elétrica. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 26–36, 1995b.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Teste de vigor baseados na permeabilidade de membranas celulares: II Lixiviação de potássio. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 37-41, 1995a.

DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, p. 31–42, 1996.

DIAS; D. C. F. S.; TOLETO, F. F. de. Germinação e incidência de fungos em testes com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 81–86, 1993.

DIAS, D. C. F. S.; VIEIRA, A. N.; TILLMANN, M. A.; VILLELA, F. A.; NORTON, V. S. Teste de condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação de vigor em sementes de hortaliças: feijão-de-vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 408-413, 1998.

EDMUNDS, L.K. Combined relation of plant maturity, temperature and soil to charcoal stalk rot development in grain sorghum. **Phytopathology**, St. Paul, v. 54, n. 5, p. 514-517, 1964.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. **Recomendações Técnicas para cultivo do feijoeiro**. 2. ed. Goiânia: Embrapa CNPAF, 1985. 40 p. (Circular Técnica, 13).

FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: Embrapa CNPSo, 1984. 39 p.

FURLAN, S. H. **Efeito de regiões e épocas de produção na qualidade de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de São Paulo**. 1986. 130 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

GAO, S.; SHAIN, L. Effect of osmotic potencial on virulent and hypovirulent strains of the Chestnut blight fungus. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 25, n. 6, p.1024 -1029, 1995.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 70–76, 2002.

GHAFFAR, A. & ZENTMYER, G.A. *Macrophomina phaseolina* on some new weed hosts in California. **Plant Disease Report**, St. Paul, v. 48, p. 52-223, 1968.

GRIFFIN, H. D. **Fungal physiology**. 2. ed. New York: Wiley, 1994. 458 p. (Science Paperback Series).

HALL, R. D.; WIESNER, L. E. Relationships between seed tests and field performance of reagr meadow brome grass. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 5, p. 967–970, 1990.

HAMPTON, J. G.; JOHNSTONE, K. A.; EUA-UMPON, V. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and French bean seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 677–686, 1992.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. Conductivity test. In: **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zurich: ISTA, 1995. p. 22–34.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zürich: ISTA, 1995. 117p.

JOANNOU, N.; SCHNEIDER, R. G.; GROGAN, R. G.; DUNIWAY, J. M. Effect of water potential on growth, sporulation and production of microsclerotia by *Verticillium dahliae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 5, p. 637-644, 1977.

KIKUTI, A. L. P.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D.; OLIVEIRA, S. R. S. Interferência da assepsia em sementes de pimentão submetidas ao teste de

envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 27, n. 2, p. 44–49, 2005.

KIMATI, H. Doenças de feijoeiro – *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. **Manual de Fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 297-318.

KRONKA, A. Z. **Efeito dos fungos *Colletotrichum lindemuthianum* e *Colletotrichum dematium* f. *truncata* na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijoeiro**. 2000. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

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

KUO, W. H. J. Delayed – permeability of soybean seeds: characteristics and screening methodology. **Seed Science & Technology**, Zürich, v. 17, p. 131–142. 1989.

LASCA, C. C.; VALARINI, P. J.; BARROS B. C. CHIBA, S. Danos ocasionados por *Helminthosporium sativum* em sementes de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., 1983, Campinas. **Anais...** Brasília: ABRATES, 1983. p. 79.

LEE, C. K.; KARUNANITHY, R. Effects of germination on the chemical composition of *Glycine* and *Phaseolus* beans. **Journal Science of Food Agriculture**, Washington, v. 51, n. 4, p. 437-445, 1990.

LIMONARD, T. A modified blotter test for seed health. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 72, p. 319–321, 1966.

LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Zürich, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.

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

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. 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.

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

MARCHI, J. L.; CICERO, S. M. Procedimentos para a condução do teste de condutividade elétrica em sementes. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 12, n. 1,2,3, p. 20–26, 2002.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: Vieira, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-24.



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

MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R.; NOVENBRE, A. D. C. L.; CHAMMA, H. M. C. P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 12, p. 1805-1815, 1990.

MARQUES, M. A.; PAULA, R. C.; RODRIGUES, T. J. D. Efeito do número de sementes e do volume de água na condutividade elétrica de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex. Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 254–262, 2002.

MANTOVANELI, M. C. H.; **Interferência de alguns fungos no teste de tetrazólio e de danos mecânicos, tratamento fungicida e do armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 2001, 171 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

MATTHEWS, S.; BRADNOCK, W. T. The detection of seed samples of wrinkle-seeded peas (*Pisum sativum* L.) of potentially low planting value. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Vollebakk, n. 32, p. 553-563, 1967.

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**, Lansing, v. 4, n. 1, p. 1-11, 1979.

MENEZES, J. R. Diagnóstico da patologia de sementes de feijão no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 49–53, 1985.

MENEZES, J. R. Testes de sanidade de sementes de feijão. In: SOAVE, J. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 395-405.

MENEZES; J. R.; MOHAN, S. K.; BIANCHINI, A.; SOUZA, G. L. Qualidade sanitária de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, p. 497–508, 1981.

MENEZES, J. R.; MOHAN, S. K. Efeito da seleção visual da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre a qualidade sanitária. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., 1982, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa-CNPAP, 1982. p. 343-344.

MENTEN, J. O. M. Sanidade, germinação e vigor de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 4, n. 2/4, p. 105-110, 1978.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: \_\_\_\_\_. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991a. p. 203–217.

MENTEN, J. O. M. Prejuízos causados por patógenos às sementes. In: \_\_\_\_\_. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: FEALQ, 1991b. p. 115–136.

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

MOSS, G. I.; MULLET, J. H. Potassium release and seed vigour in germination bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed as influenced by temperature over the previous five generations. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 33, n. 33, p.1174-1160, 1982.

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**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 187-193, 1999.

MYCOCK, D. J.; BERJAK, P. The implications of seed associated mycoflora during storage. In: JAIME, K.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Basel, 1995. 853p.

NADALETO, C. E. S. **Efeito de *Macrophomina phaseolina* sobre a qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro**. 2004. 41 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

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

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2-24.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; GUISTEM, J. M. Efeito da adubação potássica no teste de condutividade elétrica de sementes de aveia-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 302–308, 2001.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: McMillan, 1977. v. 1, 862 p.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. 2. ed. London: McMillan, 1979. 1190 p.

NOVEMBRE, A. D. L. C. **Avaliação da qualidade de sementes**, Londrina. 2001. Disponível em: <<http://www.seednews.inf.br>>. Acesso em: 2 jul. 2006.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D. Electrical conductivity soybean soaked seeds. I – effect of genotype. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 9, p. 621–627, 1996.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKY, F. C. Variação na condutividade elétrica de sementes de diferentes genótipos de soja e sua relação com o conteúdo de lignina no tegumento... In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 7., 1997, Foz do Iguaçu. **Informativo ABRATES**: Campinas, ABRATES, 1997. p. 173.

PARADELA FILHO, O.; POMPEU, A. S. Antracnose do feijoeiro causada por *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) v. Arx. **Bragantia**, Campinas, v. 33, n. 15, p. 1– 4, 1974.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: fitotoxinas e hormônios. In. BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. v. 1, p. 365-392.

PATRÍCIO; F. R. A.; BORIN, R. B. R. G.; ORTOLANI, D. B. Patógenos associados a sementes que reduzem a germinação e vigor. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle. Piracicaba: FEALQ, 1991. p. 137–167.

PILL, W. G. Low water potencial and pressing germination treatments to improve seed quality. In: BARSA, A. S. **Seed quality**: basic mechanisms and agricultural implications. New York: Food Products Press, 1994. p. 319-359.

PINHO, E. V. R. V.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23-28, 1995.

PINTO, G. S. **Rhizoctonia solani sobre a qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro**. 2005. 32 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

POLLOCK, B. M. Imbibition temperature sensitivity of lima be seeds controlled by initial seed moisture. **Plant Physiology**, Rockville, v. 44, p. 907–911, 1969.

POMPEU, A. S. Produtividade de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) dos grupos Rosinha e Roxinho resistentes ao fungo da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). **Bragantia**, Campinas, v. 39, p. 89–97, 1980.

POMPEU, A. S. Avaliação da produtividade de linhagens resistentes ao fungo da antracnose. **Bragantia**, Campinas, v. 41, p. 67–79, 1982.

POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed sowing. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

QUEIROGA, V. **Prediccion del porcentaje de germinacion de aquenios de girassol (*Helianthus annus* L.) mediante test de conductividad electrica.** 1988. 259 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidad Politécnica, Madrid, 1988.

RAMOS, D. P., **Efeito de *Fusarium graminearum* sobre o desempenho de sementes de milho.** 2005. 55 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlia de Mesquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

RODO, A. B.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F. A.; SAMPAIO, N. V. Teste de condutividade elétrica em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 29–38, 1998.

ROSA, S. D. V. F.; VON PINHO, E. V. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; VEIGA, R. D. Eficácia do teste de condutividade elétrica para o uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 54–63, 2000.

ROSSETO, C. A. V.; BASSIN, C. A.; CARMO, M. G. F.; NAKAGAWA, J. Tratamento fungicida, incidência de fungos e momento de avaliação da germinação no teste de envelhecimento acelerado em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 78–87, 2001.

SÁ, M. E. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicum lycopersicum* L.). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p.13-20, 1999.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4<sup>th</sup> ed. Belmont: Wadsworth, 1991. 682 p.

SAMPAIO, N. V.; SAMPAIO, G. T.; DURÁN, J. M. Avaliação da qualidade de sementes através da condutividade elétrica dos exsudatos de embebição. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 39-52, 1995.

SARTORATO, A. Doenças e pragas: antracnose. In: ZIMMERMANN, M. J. O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. **Cultura do feijoeiro**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1988. p. 457–478.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 669–700.

SCHWARTZ, H. F. Fungal diseases of aerial parts – anthracnose. In: HALL, R. **Compendium of Bean Diseases**. 2<sup>nd</sup> ed. Saint Paul: APS, 1994. p. 16–17.

SHIOGA, P. S. **Controle da hidratação e desempenho das sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1990. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Fitotecnia) - Escola Superior de Agronomia “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

SILVA, M. A. D.; SILVA, W. R. Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n.3, p. 599-608, 2000.

SIMON, E. W.; RAJA HARUN, R. M. Leakage during seed imbibition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 23, n. 77, p.1076-1085, 1972

SGARBIERI, V. C.; GARRUTI, R. S. A review of some factors affecting the availability, and the nutritional and the technological quality of common dry beans, a dietary staple in Brazil. **Canadian Institute Food Science and Technology Journal**, Ottawa, v. 19, n. 5, p. 202-209, 1986.

SUBBARAO, K. V.; MICHAILIDES, T. J.; MORGAN, D. P. Effects of osmotic potencial and temperature on growth of two pathogens of figs and a biocontrol agent. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 12, p. 1454–1459, 1993.

TANAKA, M. A. S. Doenças em sementes de soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 7, n. 2, p. 36–48, 1982.

TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M.; MARIANNO, M. I. A.; Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 15, n. 2, p. 232–237, 1989.

TAO, J. K. Factors causing variation in the conductivity test for soybean seeds. **Journal of Seed Technology**, Zürich, v. 3, n. 1, p. 10-18, 1978.

TEIXEIRA, H.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C. Influência de *Colletotrichum gossypii* South. no desenvolvimento inicial do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) em função da localização do inóculo e desinfestação das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 9-13, 1997.



THOMAS, J. C.; SEPAHI, M.; ARENDALL, B.; BOHNERT, H. T. Enhancement of seed germination in high salinity by engineering mannitol expression in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 18, n. 7, p. 801-806, 1995.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes**: tecnologia da produção. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TROMBETA, N. V. Sementes melhoradas: fator de redução de riscos na agricultura. **Anuário ABRASEM**, [s.l.], p.12-16, 1994.

TU, J. C. Antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) on white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Southern Ontario: spread of the disease from an infectious focus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 65, n. 6, p. 477–480, 1981.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em genótipos de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 178–183, 1998.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim: efeitos de temperatura e de período de embebição. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 41–45, 1999.

VECHIATO, M. H.; KOHARA, E. Y.; MENTEN, J. O. M. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 3/4, p. 265–268, 1997.

VECHIATO, M. H.; LASCA, C. C.; KOHARA, E. Y.; CHIBA, S. Efeito do tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com fungicidas no controle de

*Macrophomina phaseolina* e na emergência de plântulas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 1, p. 83–88, 2000.

VIEIRA, C. **Doenças e Pragas do Feijoeiro**. Viçosa, UFV, 1983. 231p.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 103–139.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-26.

VIEIRA, R. D.; PANOBIANCO, M.; LEMOS, L. B.; FORNASIERI FILHO, D. Efeito de genótipos de feijão e de soja sobre os resultados da condutividade elétrica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 220-224, 1996.

VIEIRA, R. D.; SCAPPA NETO, A.; BITTENCOURT, S. R. M. de; PANOBIANCO, M. Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence, **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 2, p. 164–168, 2004.

VON PINHO, E. V. R.; CAVARIANI, C. ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23–28, 1995.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. p. 260–275.

WOODSTOCK, L.M. Physiological and biochemical of seed vigor. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.1, p.127-157, 1973.

WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 12, n. 1, p. 1-15, 1988.

WOODSTOCK, L. W.; FURMAN, K.; LEFFLER, H. R. Relationship between weathering deterioration and germination, respiratory metabolism, and mineral leaching from cottonseeds. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 3, p. 249-266, 1985.

YOKOYAMA, L. P. BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 1–22.

YORINORI, J. T. Doenças da soja causadas por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 94, p. 40–46, 1982.

ZAMBOLIM; L.; CHAVES, G. M. Doenças do feijoeiro e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 4, n. 46, p. 50–63, 1978.