



EFEITO DO TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DE SEMENTES DE CANOLA

Patricia Migliorini¹, Stela Maris Kulczynki², Tuane Araldi da Silva³, Cristiano Bellé⁴, Felipe Koch³

¹ Engenheira Agrônoma, Pós-Graduanda, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: pati.migliorini@gmail.com

² Engenheira Agrônoma, Professora, UFSM, Frederico Westphalen, Brasil. E-mail: stelamk@terra.com.br

³ Graduandos, UFSM, Frederico Westphalen, RS, Brasil. E-mail: (tuaneardali@hotmail.com, felipe.koch@hotmail.com)

⁴ Engenheiro Agrônomo, Pós-Graduando, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Frederico Westphalen, RS, Brasil. E-mail: (crbelle@hotmail.com)

Recebido em: 06/10/2012 – Aprovado em: 15/11/2012 – Publicado em: 30/11/2012

RESUMO

Avaliou-se o efeito do tratamento químico e biológico sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de canola Hyola 61. Foram testados os produtos carbendazim+tiram, fludioxonil+metalaxil-m, piraclostrobina+tiofanato metílico+fipronil, carboxina+tiram+etileno glicol, metalaxil-m+fludioxonil, e um a base de *Trichoderma*. As sementes de canola foram avaliadas quanto a germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, teste frio, comprimento de hipocótilo, comprimento do sistema radicular, massa verde e seca de plântulas, condutividade elétrica, lixiviação de potássio e sanidade, através do teste de papel filtro. O tratamento químico resultou em aumento da percentagem de germinação, bem como foi eficiente na diminuição da incidência dos principais fungos associados às sementes de canola. O bioprotetor *Trichoderma* spp. apresentou efeito antagônico aos fungos associados a sementes de canola, exceto ao gênero *Penicillium* spp. (39%) e *Aspergillus* spp. (2%). Apenas alguns testes de vigor demonstraram efeito dos fungicidas e *Trichoderma* spp. sobre o vigor de sementes de canola.

PALAVRAS-CHAVE: *Brassica napus* L., fungicidas, potencial fisiológico, *Trichoderma*.

EFFECT OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL TREATMENT IN PHYSIOLOGICAL AND SANITARY QUALITY OF CANOLA SEED

ABSTRACT

We evaluated the effect of chemical and biological treatment on the physiological and sanitary quality of canola seeds Hyola 61. Products were tested carbendazim+tiram, fludioxonil+metalaxil-m, piraclostrobina+tiofanato metílico+fipronil, carboxina+tiram+etileno glicol, metalaxil-m+fludioxonil, and a base of *Trichoderma*.

The canola seeds were tested for germination, first count, accelerated aging, tested cold, root hypocotyls, length, fresh and dry mass of seedlings, electrical conductivity, potassium leaching and sanity through the test filter paper. The chemical treatment resulted in higher germination percentage and was effective in reducing the incidence of some fungi associated with seeds of canola. The bioprotector *Trichoderma* spp. showed antagonistic effect on fungi associated with seeds of canola, except the genus *Penicillium* spp. (39%) and *Aspergillus* spp. (2%). Just some vigor tests demonstrated effect of fungicides and *Trichoderma* spp. on the vigor of canola seeds.

KEYWORDS: *Brassica napus* L., fungicides, physiological, *Trichoderma*.

INTRODUÇÃO

A cultura da canola é uma alternativa atraente para os sistemas de cultivo no Brasil, sendo uma opção econômica principalmente no período de inverno para os produtores do sul e, para entressafra no centro oeste, pois representa a ocupação de áreas ociosas e na geração de renda para o agricultor (CARDOSO *et al.*, 2005), assim como a diversificação agrícola e cobertura vegetal do solo (BAIER & ROMAN, 1992). Além disso, seu uso principalmente está relacionado com o potencial que a cultura apresenta em relação à produção de biodiesel, por possuir elevado teor de óleo, com características interessantes para o mercado de biocombustíveis.

No entanto, para a instalação definitiva dessa cultura no sistema de produção agrícola nacional é fundamental que sementes de elevada qualidade sejam produzidas pelo setor sementeiro. A qualidade de um lote de sementes compreende uma série de características ou de atributos que determinam o seu valor para semeadura, tais como os de natureza genética, fisiológica e sanitária (MARCOS FILHO, 2005).

Os principais patógenos encontrados na cultura da canola, segundo levantamento da EMBRAPA – Trigo (CARDOSO *et al.*, 2005), foram a mancha de alternaria (*Alternaria brassicae*, *Alternaria raphani* e *Alternaria alternata*), a podridão negra das crucíferas (*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*), a podridão branca da haste (*Sclerotinia sclerotiorum*) e a canela preta (*Phoma lingam*), patógenos estes que podem estar associados a semente.

As sementes são eficientes veículos de disseminação da maioria dos patógenos, e através delas, as doenças podem ser transportadas para pequenas e grandes distâncias, sendo introduzidas em novas áreas (NEERGAARD, 1979), daí a importância do conhecimento dos patógenos associados às sementes, pois estes podem servir de fonte de inóculo, causando uma epidemia da doença na safra do ano seguinte (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

O tratamento de sementes com produtos químicos é uma tecnologia recomendada pela pesquisa, comprovadamente eficiente no controle de patógenos de sementes e conseqüentemente diminuindo as falhas na germinação. Entretanto, os fungicidas atualmente disponíveis para o tratamento de sementes tem apresentado eficiência variável e também devido aos grandes problemas de contaminação ambiental e humana, aliados a conscientização ecológica globalizada, tem se destacado as pesquisas com alternativas de controle natural relacionadas a preservação da fauna benéfica e dos inimigos naturais.

Uma alternativa é o uso de bioprotetores através da microbiolização das sementes. Entre estes destaca-se o *Trichoderma* spp., o qual apresenta amplitude

de ação no antagonismo de fungos e bactérias e também certas linhagens podem ter efeito estimulatório direto no crescimento de plantas (SOFO *et al.*, 2010), florescimento de hortícolas (BACKER, 1989), além de promover melhoria na germinação, emergência e vigor em algodão (FARIA *et al.*, 2003). A microbiolização com *Trichoderma* spp., oferece resultados promissores na manutenção da qualidade, como redução da utilização de insumos químicos, que podem causar malefícios para o ambiente e/ou para organismos não alvos.

Neste contexto, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de canola (*Brassica napus* L.) tratadas com diferente produto químico e biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), *Campus* de Frederico Westphalen – RS, em fevereiro de 2011. Foram utilizadas sementes de canola Hyola 61, submetidas a diferentes tratamentos e suas respectivas doses que se encontram no Quadro 1.

QUADRO 1 – Tratamentos químicos e biológico utilizados nos testes com suas respectivas doses

Tratamentos	Dose/100Kg de sementes
1 - Carbendazim + tiram	200g
2 - Fludioxonil + metalaxil-M	200g
3 - Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil	100g
4 - Carboxina + tiram + etileno glicol	200g
5 - Metalaxil-M + fludioxonil	200g
6 - <i>Trichoderma</i> spp.*	100 mL
7 - Testemunha	água destilada

*Concentração de 10^9 conídios/mL.

O tratamento químico das sementes de canola foi realizado manualmente, colocando-se os fungicidas e posteriormente, as sementes dentro de um saco plástico e agitando-se até a distribuição homogênea da formulação sobre as sementes. O produto biológico a base de *Trichoderma* spp. foi obtido a partir de isolados da própria semente, sendo cultivado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Para inoculação das sementes com o agente de biocontrole, foi preparada uma suspensão com conídios de *Trichoderma* spp. em água destilada e esterilizada, sendo aplicado 1mL do produto biológico para 100 sementes. A concentração da solução, determinada em câmara de Neubauer, foi de aproximadamente 10^9 conídios por mililitro. Como testemunha foram consideradas as sementes que não receberam nenhum tratamento, somente foram umedecidas com água destilada. Após o tratamento as sementes foram depositadas sobre papel absorvente para a secagem e posterior realização dos testes.

As sementes foram avaliadas pelos seguintes testes:

Primeira contagem de germinação: realizado juntamente com o teste de germinação de acordo com as recomendações de BRASIL (2009), com quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram colocadas para germinar em caixas plásticas do tipo “gerbox” sobre três folhas de papel “germitest” previamente

umedecido com água destilada, utilizando-se 2,5 vezes a massa do papel seco embebida em água. Posteriormente, as sementes foram levadas para um germinador tipo B.O.D., com fotoperíodo de 12 horas sob temperatura de 20°C. O registro de percentagens de plântulas normais foi realizado no quinto dia após a semeadura.

Germinação: avaliado no sétimo dia após a semeadura, considerando-se germinadas as sementes que emitiram plântulas normais. Os resultados expressos em porcentagens médias com base no número de plântulas normais de acordo com BRASIL (2009).

Comprimento de hipocótilo: realizado no último dia de contagem de germinação, mediu-se comprimento do hipocótilo de dez plântulas por repetição, mensurados com auxílio de um paquímetro digital, e os resultados expressos em mm/plântula.

Comprimento da raiz primária: determinado na última contagem de germinação, em dez plântulas normais escolhidas ao acaso por repetições, e medidas com auxílio de um paquímetro digital, sendo os resultados expressos em mm/plântula.

Massa verde de plântula: obtida gravimetricamente nas mesmas plântulas utilizadas para aferir os comprimentos do hipocótilo e das raízes.

Massa seca de plântula: depois de medida a massa verde das plântulas o material vegetal foi levado à estufa e seco a 65°C por 24 horas, aproximadamente até atingir a massa constante, sendo determinada gravimetricamente. O valor da massa verde e seca das plântulas foi dividido pelo número de plântulas normais e os resultados expressos em gr/plântulas.

Envelhecimento acelerado: realizado, com 200 sementes por tratamento (50 sementes por repetição), distribuída em camada única sobre tela, e colocadas no interior de caixas plásticas do tipo “gerbox” contendo 40 mL de água destilada, com distância do nível de água e as sementes de aproximadamente 2 cm. Em seguida as caixas foram fechadas e levadas a uma estufa regulada a 42°C, por 24 horas (MARCOS FILHO, 1999). Após o período de envelhecimento as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente. A avaliação foi realizada no quinto dia após a transferência para o germinador, expressando-se os resultados em porcentagem de plântulas normais.

Teste frio modificado: conduzido conforme as recomendações de BARROS *et al.*, (1999), em que quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, foram acondicionadas no interior de caixas plásticas tipo “gerbox” com três folhas de papel-toalha (“germitest”) umedecidas em quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. Em seguida, as caixas foram mantidas durante sete dias em câmara de germinação tipo B.O.D. regulada a 10°C. Após esse período, as caixas foram transferidas para um germinador à temperatura de 20°C, onde permaneceram por cinco dias, sendo a seguir avaliada a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Condutividade elétrica: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, para cada tratamento, sendo pesadas e colocadas em copos, contendo 25 mL de água destilada, permanecendo em uma estufa incubadora tipo B.O.D., regulada a uma temperatura de 25°C, por um período de 24 horas. A avaliação foi realizada após o conteúdo dos copos ser agitado suavemente e a condutividade medida sem filtrar a solução. A condutividade elétrica foi determinada em condutivímetro digital, modelo CD-4303, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de semente (KRZYZANOWSKI et al., 1991).

Lixiviação de potássio: esta determinação segue a mesma metodologia descrita no teste de condutividade elétrica, entretanto as sementes foram descartadas e a água de embebição foi filtrada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2001). A leitura foi realizada por meio do espectrofotômetro de chama. O cálculo da lixiviação de potássio foi feito pela multiplicação da leitura obtida no fotômetro de chama (potássio/mL) pelo volume de água destilada (mL) e dividido pela massa da amostra (g), sendo os resultados expressos em mg de potássio por grama de sementes (KIKITI *et al.*, 2008).

Qualidade sanitária: realizada através do método do papel-filtro, utilizando-se 200 sementes de cada tratamento, distribuídas em quatro caixas plásticas do tipo gerbox, esterilizadas com hipoclorito de sódio, com 50 sementes cada, contendo quatro folhas de papel-filtro previamente esterilizadas a seco e umedecidas com água destilada e autoclavada. A identificação dos patógenos foi feita após sete dias de incubação a 25°C, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro, com o auxílio de microscópio estereoscópio, utilizando-se como critério a metodologia adotada por BARNETT & HUNTER (1972).

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos e quatro repetições, totalizando 28 unidades experimentais. Os dados em percentagem foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância. A comparação de médias entre os diferentes tratamentos foi realizada através do teste de Scott-Knott a 5 % de significância. Para a análise estatística utilizou-se o programa estatístico *Assistat* (SILVA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos promoveram diferença significativas nas variáveis referentes a germinação e vigor de sementes, correspondendo a primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado, não diferindo a variável teste frio modificado, observado na Figura 1.

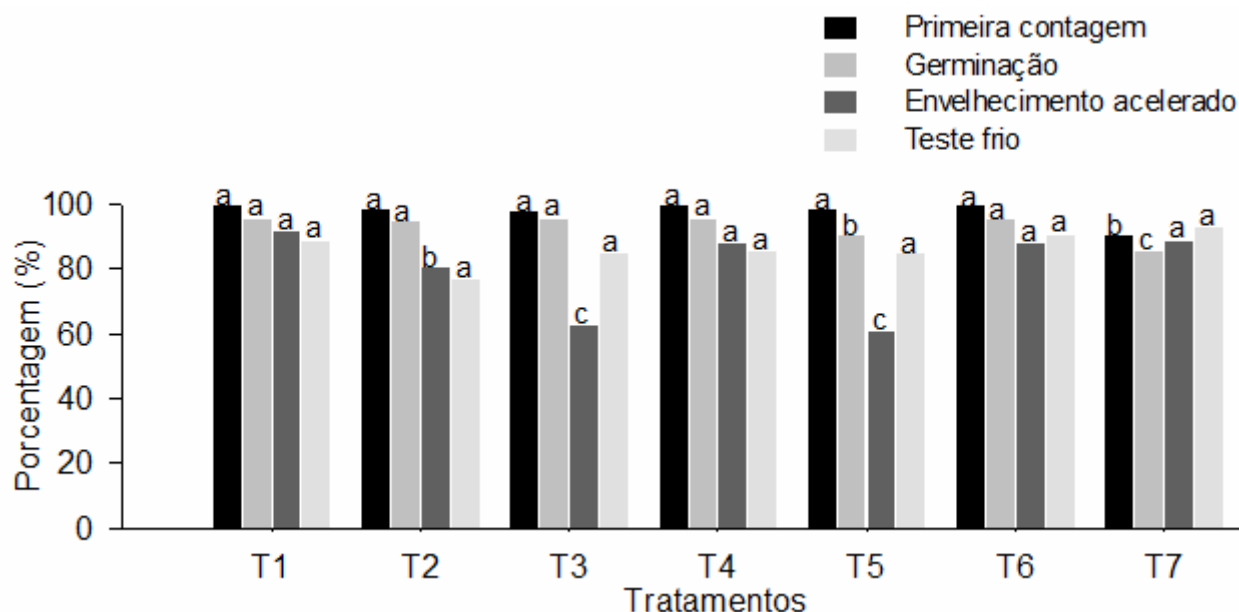


FIGURA 1 - Porcentagem de primeira contagem de germinação, germinação, envelhecimento acelerado e teste frio de sementes de canola (*Brassica napus* L.) Hyola 61 submetidas a diferentes tratamentos. * Médias seguidas de letras iguais, de mesmas variáveis, comparam os tratamentos e não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

*Tratamentos: T1 - Carbendazim + tiram; T2 - Fludioxonil + metalaxil-M; T3 - Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil; T4 - Carboxina + tiram + etileno glicol; T5 - Metalaxil-M + fludioxonil; T6 - *Trichoderma* spp.; T7 – Testemunha.

Os tratamentos utilizados foram eficientes para promover maior germinação em relação a testemunha e ao T5 (Figura 1). Segundo MORRONI *et al.*, (2007), a germinação pode ser influenciada pelo tratamento químico e pela qualidade inicial dos lotes. MENTEN (1995) salienta que os efeitos do tratamento de sementes na germinação ocorrem a médio e longo prazo, como acontece, por exemplo, com a diminuição no avanço de desenvolvimento de doenças e/ou introdução de patógenos na área.

Sementes de algodão tratadas com *Trichoderma harzianum*, carboxin + thiram, e carbendazim + thiram apresentaram porcentagem de germinação e emergência mais elevadas e os dois primeiros proporcionaram também plântulas mais vigorosas (FARIAS *et al.*, 2003). Outros autores também relatam o efeito positivo de isolados de *Trichoderma* spp. sobre a germinação de sementes, emergência e vigor de plântulas de berinjela (MARTIM CORDER & MELO, 1997) e alface (CASSIOLATO *et al.*, 1998). Entretanto, MARRIONI *et al.*, (2012), recomenda o tratamento químico carbendazim + thiram e carboxin + thiram, por apresentarem plantas mais vigorosas em relação ao tratamento biológico em sementes de mamona. O mesmo foi encontrado por MERTZ *et al.*, (2009) em sementes de soja, tratadas com carbendazin + thiram, observou-se que este tratamento proporcionou maior germinação e emergência de plântulas quando comparadas com agentes biológicos, sugerindo mais estudos a respeito de novas formulações e concentrações.

Apesar da diferença existente entre os tratamentos, nota-se que as sementes apresentaram bom potencial germinativo, acima de 86%, uma vez que a germinação

mínima exigida para a comercialização, através do MAPA tem como padrão para produção e comercialização de sementes de canola a Instrução Normativa nº 60 de 10 de dezembro de 2009, que determina germinação mínima de 80%.

O vigor representa atributos de qualidade fisiológica, não revelados no teste de germinação, sendo determinado sob condições de estresse ou medindo o declínio de uma função bioquímica ou fisiológica (NAKAGAWA, 1999). Portanto através dos testes fisiológicos de vigor foram observadas diferenças significativas somente na avaliação da primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado (Figura 1), comprimento de hipocótilo e comprimento da raiz primária não havendo diferença entre massa verde e massa seca de plântulas (Tabela 1).

Através da primeira contagem de germinação verificou-se que as sementes tratadas são mais vigorosas que as não tratadas, ou seja, apresentaram maior velocidade de germinação, resultados estes coincidentes com FARIAS *et al.*, (2003), MARTIM CORDER & MELO (1997) e CASSIOLATO *et al.*, (1998), os quais constataram efeito positivo do tratamento químico e biológico de sementes.

Através do teste de envelhecimento acelerado (Figura 1), observou-se que os tratamentos T3 (63%), T5 (61%) e T2 (81%) interferiram negativamente no vigor das sementes de canola e os demais proporcionaram plântulas mais vigorosas, embora não tenham diferido estatisticamente da testemunha (89%).

Os resultados do teste frio modificado não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos testados, embora pode ser observado que sementes tratadas com *Trichoderma* spp., e a testemunha apresentaram numericamente maiores valores do potencial fisiológico das sementes. Segundo GRABE (1976), a qualidade adequada das sementes deve apresentar no mínimo valores entre 70 a 80% no teste frio, valores estes observados em todos os tratamentos testados.

Para comprimento de hipocótilo e comprimento da raiz primária (Tabela 1), houve uma variação muito grande entre os tratamentos, onde observou-se que o tratamento T3 (fungicida + inseticida), proporcionou plântulas maiores, embora não tenha diferido significativamente da testemunha (semente não tratada) e o tratamento T1 foi o que apresentou maior efeito de fitotoxicidade (plântulas menores). Os demais produtos químicos e o *Trichoderma* spp., proporcionaram plântulas menores se comparadas a testemunha, apesar de não haver diferença significativa, demonstrando interferência no desenvolvimento da planta.

Tabela 1 - Valores médios de comprimento de hipocótilo (CH), comprimento da raiz primária (CR), massa verde (MV), massa seca de plântulas (MS), lixiviação de potássio (Lix K) e condutividade elétrica (CE) de sementes de canola submetidas a diferentes tratamentos químico e biológico.

Tratamento	CH (mm)	CR (mm)	MV (g)	MS (g)	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	Lix K (mg g^{-1})
T1*	14,50 c	18,25 b	0,25 ^{ns}	0,03 ^{ns}	233,52 b	1.379,1 b
T2	17,75 c	26,18 b	0,32	0,02	205,56 c	1.159,5 c
T3	21,35 a	34,19 a	0,30	0,03	346,98 a	2.500,2 a
T4	15,78 c	23,98 b	0,32	0,02	239,87 b	1.546,4 b
T5	16,60 c	26,61 b	0,30	0,04	199,36 c	1.261,5 c
T6	16,35 c	22,04 b	0,24	0,03	217,45 c	1.256,6 c
T7	18,63 b	31,18 a	0,28	0,03	202,77 c	1.519,64 b
CV (%)	10,45	15,03	17,09	23,52	8,63	8,25

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

*Tratamentos: T1 - Carbendazim + tiram; T2 - Fludioxonil + metalaxil-M; T3 - Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil; T4 - Carboxina + tiram + etileno glicol; T5 - Metalaxil-M + fludioxonil; T6 - *Trichoderma* spp.; T7 – Testemunha

MARRONI *et al.*, (2012) observaram que o tratamento biológico foi menos eficiente do que os tratamentos químicos, onde apresentaram valores superiores para o crescimento das plantas. Entretanto ETHUR *et al.*, (2006), observaram que *Trichoderma* spp. proporcionou plântulas produzidas a partir de sementes tratadas com o fungo, associado ou não à tratamento químico, apresentaram maior altura. MWANGI *et al.*, (2011) destacam que *T. harzianum* pode ser usado para aumentar o crescimento de mudas de tomate. Algumas espécies de *Trichoderma* causaram necrose em raízes de feijoeiro (CARVALHO *et al.*, 2011), CARVALHO *et al.*, (2006) relatam a produção de metabólitos tóxicos a coleóptilos de trigo por *Trichoderma viride*; JAVAID & ALI (2011) constataram ação herbicida de metabólitos de *T. harzianum*, *T. reesei* e *T. pseudokoningii* sobre *Avena fatua*.

Os tratamentos avaliados não apresentaram diferença estatística para as variáveis: massa verde e massa seca de plântulas (Tabela 1). Em estudo realizado por MARRONI *et al.*, (2012), verificaram o efeito positivo na produção de massa seca de plântulas de mamona em plantas cujas sementes foram tratadas com fungicidas químico carbendazim + thiram, em relação ao tratamento biológico. Já RESENDE *et al.*, (2004), observaram que sementes de milho inoculadas com *Trichoderma harzianum* originaram plantas com maior acúmulo de matéria seca nas raízes.

O teste de condutividade elétrica tem sido utilizado para avaliar vigor, potencial de armazenamento e potencial de emergência de espécies como soja e ervilha. No entanto, sabe-se que vários fatores podem afetar seus resultados, tais como: características da própria semente (danos mecânicos, injúrias por insetos, tamanho e genótipo), tratamento químico, tempo e temperatura de embebição, teor de água, qualidade e volume da água e tamanho do recipiente de embebição (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Entretanto apesar da restrição do uso do teste de condutividade elétrica (Tabela 1) se observou que não houve diferença significativa quanto ao vigor entre as sementes tratadas com a maioria dos produtos químicos (fungicidas), produto biológico (*Trichoderma* spp.) e a testemunha T7, exceto para as sementes submetidas ao tratamento T3 ($346,98 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), diferindo estatisticamente do T4 ($239,87 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) e T1 ($233,53 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), o qual apresentaram valores bastante elevados, indicando sementes menos vigorosas quando comparados a testemunha e aos demais tratamentos. O T3 apresentou maior valor, resultado provavelmente se deve ao fato de nesse tratamento existir a combinação de fungicida e inseticida, o qual difere dos demais tratamentos que são somente fungicidas ou o bioprotetor *Trichoderma* spp.

Outra observação é de que embora exista a restrição do uso do teste condutividade elétrica para sementes tratadas (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999), verificou-se que os demais tratamentos com fungicidas e o fungo *Trichoderma* spp. não diferiram significativamente da testemunha (sem tratamento) discordando de VIEIRA & KRZYZANOWSKI (1999) e ANGUIERA *et al.*, (2000), os quais relatam que as sementes tratadas quimicamente, apresentam maior condutividade elétrica visto que o tratamento químico eleva bruscamente a quantidade de solutos na solução e que a comparação entre lotes de sementes tratadas e não tratadas acaba sofrendo interferência, devido a maior liberação de solutos pelos produtos químicos, mascarando as comparações de vigor de lotes de sementes tratadas e não tratadas.

O teste de lixiviação de potássio vem se destacando na avaliação do potencial fisiológico das sementes e tem seu princípio semelhante ao teste de condutividade elétrica, baseando-se na integridade da membrana da sementes. A diferença está que na condutividade elétrica determina-se a quantidade total de íons liberados, durante a embebição e na lixiviação de potássio quantifica-se somente a quantidade de potássio lixiviado na solução, visto que este é o principal íon lixiviado na solução (POWEL,1986).

De acordo com a tabela 1, o teste de lixiviação de potássio proporcionou informações semelhantes ao teste de condutividade elétrica, confirmado o tratamento T3, com maior liberação de potássio (2.500,2 mg de K g⁻¹ de semente), diferindo estatisticamente do T4 (1.546,4 mg g⁻¹), T1 (1.379,1 mg g⁻¹) e T7 (1.519,6 mg g⁻¹) como aqueles que interferem na qualidade fisiológica das sementes, provavelmente devido a adição de inseticida na sua formulação e acarretando com isso fitotoxicidade as sementes de canola, diminuindo seu vigor.

Analisando-se os testes de vigor envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e lixiviação de potássio utilizados verificamos que estes apresentaram maior sensibilidade para detectar o efeito do tratamento químico e biológico das sementes de canola sobre a qualidade fisiológica das mesmas, contrariamente ao teste de germinação e primeira contagem de germinação, os quais apenas indicaram que sementes tratadas apresentam maior potencial fisiológico do que não tratadas. Este resultado é compreensível devido ao fato destes dois últimos testes serem realizados em condições ideais de temperatura e umidade e portanto superestimando o efeito dos produtos (químicos e biológico) utilizados no tratamento de sementes.

Contudo é importante salientar que embora os testes de vigor venham em complementação aos resultados do teste de germinação e são mais representativos de uma condição de campo, há a necessidade de mais estudos uma vez que estes não estão padronizados e principalmente para culturas novas como a canola.

A falta de padronização e os vários fatores que podem interferir na avaliação da quantidade total de eletrólitos e íons de potássio liberados pelas sementes embebidas, justificam talvez a grande variabilidade dos resultados encontrados principalmente nos testes bioquímicos, mas não os invalidam como indicadores do vigor das sementes submetidas ao tratamento químico e biológico. Portanto são necessários mais estudos sobre o uso de testes de vigor para a avaliação do efeito do tratamento químico e biológico sobre a qualidade fisiológica das sementes de canola, gerando informações mais completas sobre o efeito positivo do tratamento de sementes além do controle de patógenos.

O controle de doenças de plantas tem sido realizado de maneira eficiente e econômica através do tratamento químico de sementes (NEEGAARD, 1979) e também através da microbiolização das sementes.

Na tabela 2, encontram-se os resultados da qualidade sanitária de sementes de canola Hyola 61, submetidas aos diferentes tratamentos químicos e tratamento biológico com *Trichoderma* spp. Os principais microorganismos detectado nas sementes de canola foram *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., e *Fusarium* spp.

Tabela 2 – Incidência média de patógenos associados a sementes de canola Hyola 61, submetidas ao tratamento químico e biológico. Frederico Westphalen, 2011

Tratamento	Incidência (%)				
	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.
T1*	0 b	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0 b	0 ^{ns}
T2	1 b	0	0	0 b	0
T3	8 b	1	0	0 b	0
T4	0 b	0	0	0 b	0
T5	0 b	0	0	0 b	0
T6	39 a	2	0	0 b	1
T7	26 a	1	2	2 a	2

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

*Tratamentos: T1 - Carbendazim + tiram; T2 - Fludioxonil + metalaxil-M; T3 - Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil; T4 - Carboxina + tiram + etileno glicol; T5 - Metalaxil-M + fludioxonil; T6 - *Trichoderma* spp.; T7 – Testemunha.

O uso do tratamento químico nos tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5 foram eficientes no controle de fungos que infectam ou infestam as sementes de canola, quando comparados com a testemunha T7 e o tratamento T6 - *Trichoderma* spp. (Tabela 2). A utilização combinada de fungicidas de amplo espectro tem sido uma das estratégias mais eficazes para o controle de inúmeros patógenos presentes na semente e/ou no solo, além de evitar o surgimento de populações resistentes (GOULART,1998). MARRONI *et al.*, 2012, relatam que a utilização do produto a base de *Trichoderma* (Ecotrich) também não reduz a incidência de microrganismos sobre as sementes de mamona, neste estudo foi observado que o uso de fungicidas (carbendazim + thiram e carboxin + thiram) foi importante para reduzir ou erradicar os fungos fitopatogênicos associados nas sementes. BITTENCOURT *et al.*, (2007) salientam que a eficiência e economia de tratamentos químicos já foi demonstrada por diversos autores. Porém os produtos químicos podem ser eficazes para controlar doenças de plantas, mas também podem ter efeitos adversos, tais como o desenvolvimento de espécies resistentes a fungicida (MAKETON *et al.*, 2008).

A maior ocorrência de fungos verificada no tratamento T3, principalmente de fungos que causam apodrecimento das sementes, com *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. (Tabela 2), seja provavelmente a causa do baixo potencial fisiológico verificado nas sementes de canola (Figura 1 e Tabela 1).

Segundo GUPTAL *et al.*, (1993) o tratamento fungicida (benomil, thiram, e captan) favorecem a germinação de sementes de soja infectadas com *Aspergillus glaucus* e *A. niger* quando submetidas ao envelhecimento acelerado. Para SILVA & SILVA (2000) a presença de fungos, principalmente *Aspergillus* spp. interferem de modo negativo no desempenho de sementes de feijão envelhecidas artificialmente. ROSSETTO *et al.*, (2001) também observaram em sementes de amendoim que a alta incidência de *Aspergillus* spp., e *Rhizopus* spp., prejudicam a avaliação do teste de envelhecimento acelerado.

O bioprotetor *Trichoderma* spp., empregado na microbiolização de sementes (Tratamento 6) apresentou efeito antagônico aos fungos associados a sementes de canola, exceto ao gênero *Penicillium* spp (39%) e *Aspergillus* spp. (2%), ambos importantes fungos de armazenamento, que causam deterioração as sementes, reduzindo conseqüentemente seu potencial fisiológico. Este resultado é indicativo de que o isolado de *Trichoderma* spp. avaliado não apresenta bom desempenho para ser utilizado como medida efetiva de tratamento de sementes de canola. Resultados

colaboram com ETHUR *et al.*, (2006) onde observaram que o uso de uma formulação pó de *Trichoderma* spp. elevou a incidência de *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. em sementes de aveia preta. Já, CARVALHO *et al.*, (2011) obtiveram controle de até 51% da incidência de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro pelo tratamento com *Trichoderma harzianum*.

A associação de microrganismos em sementes pode afetar gravemente a sua qualidade, MERTZ *et al.*, (2009) relatam que em sementes de soja, o ataque de patógenos pode ser considerado como uma das causas que levam à perda da qualidade fisiológica das sementes, causando redução na germinação. Além de outros fatores negativos como perda de vigor, emergência, período de armazenamento e até mesmo o seu rendimento. Sendo assim a preocupação com a qualidade sanitária das sementes é um fator importante para reduzir os danos causados por estes agentes.

As avaliações realizadas, de maneira geral, reafirmaram a eficiência dos fungicidas e a potencialidade de utilização de *Trichoderma* spp. sugerindo que estudos posteriores nessa direção sejam continuados. Será interessante testar outros fungicidas e doses, bem como isolados e formulações de *Trichoderma* spp. e também verificar a possibilidade de se combinar tratamento químico e biológico.

CONCLUSÕES

O tratamento químico resultou em aumento da percentagem de germinação, bem como foi eficiente na diminuição da incidência dos principais fungos associados às sementes de canola.

O bioprotetor *Trichoderma* spp. apresentou efeito antagônico aos fungos associados a sementes de canola, exceto ao gênero *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp..

Apenas alguns testes de vigor demonstraram efeito dos fungicidas e *Trichoderma* spp. sobre o vigor de sementes de canola.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, L. A.; CARON, B. O.; CELLA, W. L.; LERSCH, J. I. Qualidade fisiológica de sementes de milho em função da forma e do tratamento químico das sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p.211-215, 2000.

ALBUQUERQUE, M. C. F; FABÍOLA, V.; MORO, F. V.; FAGIOLI, M.; RIBEIRO, M. C. 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.1-8, 2001.

BACKER, R. Improved Trichonomas spp.fot promoting crop productive. **Trends in Biotechnology**, v.7, n.2. p.8-34, 1989.

BAIER, A. C.; ROMAN, E. S. Informações sobre a cultura da canola para o sul do Brasil. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE PESQUISA DE CANOLA, v.1. Cascavel. **Resultados...** Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1992. p.10.

BARROS, A. S. R.; DIAS, M. C. L. L.; CICERO, S. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.5, p.1-15.

BARNETT, H. C.; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3.ed. Mineapolis: **Burgess**, 1972, p.241.

BITTENCOURT, S. R. M.; MENTEN, J. O. M.; ARAKI, C. A. S.; MORAES, M. H. D.; RUGAI, A. R.; DIEGUEZ, M. J.; VIEIRA, R. D. Eficiência do fungicida carboxin + thiram no tratamento de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.2, p.214-222, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 399p, 2009.

CARDOSO, R. M. L.; LEITE, R. M. V. B. C.; BARBOSA, C. J. Doenças de canola (*Brassica napus* e *B. campestris*). In: KIMATI, H. et al. (4^o ed.) **Manual de Fitopatologia** - Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2005. v.2, p.197-208.

CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JUNIOR, M.; SILVA, M. C. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.1, p.36-42, 2011.

CARVALHO, D. D. C.; OLIVEIRA D.F.; CAMPOS, V. P.; PASQUAL, M.; GUIMARÃES, R.M.; CORRÊA, R.S.B. Avaliação da capacidade de produzir fitotoxinas *in vitro* por parte de fungos com propriedades antagônicas a nematóides. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1230-1235, 2006.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4^o ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. p.588

CASSIOLATO, A. M. R.; BAKER, R.; MELO, I. S. Promoção de crescimento de plantas de alface por *Trichoderma harzianum*. **Revista de Agricultura**, v.71, n.1, p.55-65, 1998.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 154f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FARIA, A. Y. K.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; NETO, D. C. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químico e biológico. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.25, n.1, p.121-127, 2003.

GOULART, A. C. P. Tratamento de sementes com fungicidas. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste. **Algodão: informações técnicas**. Dourados, 1998. p.71-84. (EMBRAPA. CPAO. Circular Técnica, 7).

GRABE, D. F. Measurement of seed vigor. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.1, n.2, p.18-31, 1976.

GUPTA, I. J.; SCHMITTHENNER, A. F.; McDONALD, M. B. Effect of storage fungi on seed vigour of soybean. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, n.3, p.581-591, 1993.

KIKUTI, H.; MEDINA, P. F.; KIKUTI, A. L. P.; RAMOS, N. P. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.30, n.1, p.10-18, 2008.

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

JAVAID, A.; ALI, S. Alternative management of a problematic weed of wheat *Avena fatua* by metabolites of *Trichoderma*. **Chilean Journal Of Agricultural Research**, v.2, n.71, 2011.

MAKETON, M.; APISITSANTIKUL, J.; SIRIRAWEEKUL, C. Greenhouse evaluation of *Bacillus subtilis* ap-01 and *Trichoderma harzianum* AP-001 in controlling tobacco diseases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, p.296-300, 2008.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap.3, p.1-24.

MARRONI, I. V.; MOURA, A. B.; UENO, B. Chemical and biological treatments of castor bean seeds: effects on germination, emergence and associated microorganisms. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34, n.1, 2012.

MARRONI, I. V. et al. Efeito dos tratamentos químico e biológico de sementes de mamona sobre a germinação, emergência e produção de massa seca. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE AGROENERGIA, 1., 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 1 CD-ROM.

MARTIN-CORDER, M. P. P.; MELO, I. S. Influência de *Trichoderma viride* e *T. koningii* na emergência de plântulas e no vigor de mudas de berinjela. **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, n.1, p.39-45, 1997.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**. v.39, n.1, p.13-18, 2009.

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Agro, 1995.

MWANGI, M. W.; MONDA, E. O.; OKOTH, S. A.; JEFWA, J. M. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma Harzianum* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Brazilian Journal of Microbiology*. v.42, n.2, p.508-513, 2011.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. Cap. 2, p.1-24

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: McMillan, 1979. v.1, 839p.

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

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.793-798, 2004.

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.

SILVA, F. A. S. **Sistema de Assistência Estatística – ASSISTAT** versão 7.5 beta. Departamento de Engenharia Agrícola (DEAG) do CTRN da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande – PB, 2008. <http://www.assistat.com/>. Acesso em: 02 setembro 2012.

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

SOFO, A.; MILELLA, L.; TATARANNI, G.; Effects of *Trichoderma harzianum* strain T-22 on the growth of two *Prunus* rootstocks during the rooting phase. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.85, p.497-502, 2010.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Brasília: ABRATES, 1999. Cap.4, p.1-26.