

RESPOSTA DA QUALIDADE FISIOLÓGICA SOBRE A INCIDÊNCIA DE FUNGOS EM SEMENTES DE SOJA

JORGE RODRIGO ARNDT¹; JÚLIO CÉSAR ALTIZANI JÚNIOR²; GUILHERME AUGUSTO SHINOZAKI³; JOÃO TAVARES BUENO⁴; CRISTINA BATISTA DE LIMA^{5*}

¹Mestrando em Agronomia, CCA, UENP-CLM, Bandeirantes-PR, jorgerodrigoarndt@gmail.com;

^{2e3}Graduandos em Agronomia, CCA, UENP-CLM, jr.altizani@hotmail.com;

guilherme_shinozaki@hotmail.com; ^{4e5}Docentes CCA, UENP-CLM, tavares@uenp.edu.br;

crislima@uenp.edu.br;

Apresentado no

Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2018

21 a 24 de agosto de 2018 – Maceió-AL, Brasil

RESUMO: O presente estudo teve por objetivo identificar os patógenos e verificar sua influência sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja. Foram avaliadas duas cultivares precoces de soja M6210 IPRO e M6410 IPRO, cada uma com 4 lotes de sementes, isentas de tratamento sanitário. A análise da qualidade fisiológica foi realizada pela determinação do teor de água, teste de germinação, primeira leitura do teste de germinação, condutividade elétrica e teste de emergência de plântulas em substrato comercial e areia. A análise sanitária pelo teste do papel de filtro com congelamento, com e sem assepsia pela imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por três minutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados dos testes de análise da qualidade fisiológica foram submetidos a análise de variância e, as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott, a 5%. Os elevados percentuais de incidência das espécies *Fusarium semitectum*, *Aspergillus flavus* e dos gêneros *Phomopsis* sp. e *Penicillium* spp., nas sementes de soja das cultivares avaliadas, mantiveram sua qualidade fisiológica, demonstrando que os prejuízos atribuídos a tais fungos, estão diretamente condicionados pelo nível de deterioração das sementes expostas à sua contaminação.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max* (L.) Merr., germinação, vigor, análise sanitária, fitopatógenos.

PHYSIOLOGICAL QUALITY RESPONSE ON THE IMPACT OF FUNGI IN SOYBEAN SEEDS

ABSTRACT: The present study aimed to identify the pathogens and verify their influence on the physiological quality of soybean seeds. Two early soybean cultivars M6210 IPRO and M6410 IPRO evaluated each with four seed lots, free of sanitary treatment. The analysis of physiological quality carried out by determining the water content, germination test, first reading of the germination test, electrical conductivity and seedling emergence test in commercial and sand substrate. The sanitary analysis by the filter paper test with freezing, with and without asepsis by immersion in 1% sodium hypochlorite solution, for three minutes. The experimental design completely randomized. Data from the physiological quality analysis tests submitted to analysis of variance and the means grouped by the Scott Knott test at 5%. The high incidence rates of the species *Fusarium semitectum*, *Aspergillus flavus* and the genus *Phomopsis* sp. and *Penicillium* spp., in the soybean seeds of the cultivars evaluated, maintained their physiological quality, demonstrating that the losses attributed to these fungi directly conditioned by the level of deterioration of the seeds exposed to their contamination.

KEYWORDS: *Glycine max* (L.) Merr.; germination, vigor, sanitary analysis, phytopathogen.

INTRODUÇÃO

A análise conjunta dos atributos físicos, genéticos, fisiológicos e sanitários de um lote de sementes é obrigatória para caracterizar a sua real qualidade (Goulart, 1997). A semente fornece um meio de sobrevivência para o patógeno numa relação direta com seu hospedeiro, ao mesmo tempo que, se torna um eficiente veículo de disseminação em grandes distâncias, de introdução em novas áreas de

cultivo e, do aumento da incidência de doenças já existentes. O nível de danos que os patógenos podem causar às sementes de acordo com Zambolim (2005), depende da intensidade da infecção ou infestação, danos mecânicos durante colheita, secagem, beneficiamento e das condições de armazenamento. Conforme Carvalho e Nakagawa (2012), o baixo vigor de sementes decorrente de fatores não infecciosos, pode intensificar a ação de patógenos.

A maioria das doenças de importância econômica que ocorre na soja, segundo Goulart (1997) é causada por patógenos que são transmitidos pelas sementes como *Phomopsis* spp. (cancro da haste, da vagem e deterioração das sementes de soja), *Fusarium semitectum* (deterioração de sementes) e *Aspergillus flavus* (reduz germinação de sementes e emergência de plântulas). Durante o armazenamento, especialmente em regiões quentes e úmidas, o grau de umidade da semente deve ser monitorado, para reduzir o desenvolvimento de *Aspergillus* e *Penicillium*. Os efeitos dos patógenos na qualidade fisiológica das sementes são observados pelo decréscimo na porcentagem de germinação, no aumento de plântulas anormais e por uma redução de vigor de plântulas (Smiderle e Cícero, 1998). Entretanto, conforme Carvalho e Nakagawa (2012) estudos epidemiológicos em proteção vegetal têm revelado, que nenhum tipo de associação de patógeno com semente, assegura o desenvolvimento de doenças por ocasião da sementeira, embora todos os patógenos presentes sejam potencialmente capazes de desencadeá-las. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo identificar os patógenos e verificar sua influência sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes/PR. Foram avaliadas duas cultivares precoces de soja M6210 IPRO e M6410 IPRO, cada uma com 4 lotes de sementes, isentas de tratamento sanitário, cedidas pela empresa Sementes Boa Nova, em embalagens plásticas transparentes, com percentuais de germinação informados no rótulo de 80%. As sementes foram inicialmente submetidas às avaliações de: Teor de água, pelo método da estufa a 130 ± 3 °C por 1 hora, com duas amostras de 10 g de sementes de cada lote/cultivar (BRASIL, 2009a). Teste de germinação, com 4 repetições de 50 sementes de cada lote/cultivar, em rolos de papel filtro, previamente umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, sob temperatura de 20-30 °C. As avaliações foram realizadas no 5º e 8º dia após a instalação, contando-se o número de plântulas normais conforme as RAS (BRASIL, 2009a). Primeira leitura do teste de germinação, através do registro do número de plântulas normais obtidos no 5º dia após a instalação do teste de germinação. Teste de emergência de plântulas em substrato comercial, com 4 repetições de 18 células de cada lote/cultivar, semeadas em bandejas plásticas (72 células), preenchidas com substrato Mecplant®, sendo semeada 1 semente por célula, mantidas sob estufa plástica modelo arco. A avaliação de plântulas normais emersas (folhas cotiledonares expandidas) ocorreu no 6º dia após a sementeira. Teste de emergência de plântulas em areia, repetiu-se o procedimento anterior substituindo o substrato comercial por areia pura comercialmente conhecida como 'areia de textura média'. Condutividade elétrica (CE), com 4 repetições de 50 sementes cada por lote/cultivar, colocadas em copos plásticos com 75 mL de água deionizada, mantidos sob 25 °C por 24 horas. A seguir, a CE da solução foi medida com condutivímetro, sendo os valores médios calculados e expressos em $\mu\text{mhos/cm/g}$ de semente. A análise sanitária foi realizada através do Teste do papel de filtro com congelamento (BRASIL, 2009b), com e sem assepsia prévia das sementes. No tratamento sem assepsia: amostras de 200 sementes de cada lote/cultivar foram distribuídas em 5 repetições de 10 sementes em placas de Petri plásticas (15 cm de diâmetro), contendo três folhas de papel de filtro umedecidas com água esterilizada. A incubação foi realizada em temperatura de $22 \pm$ °C e período luz/escuro de 12/12 horas. Após 24 horas as sementes foram transferidas, por 24 horas, para freezer, à temperatura de -4 °C e, colocadas na câmara incubadora, nas condições acima descritas, por sete dias, para completar a incubação. A identificação dos fungos foi feita sob microscópio estereoscópico. No procedimento com assepsia, repetiu-se o descrito acima, com o diferencial de que as sementes foram previamente imersas em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por três minutos. Todo o material utilizado nos dois procedimentos foi previamente limpo e esterilizado. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. A incidência dos fungos identificados foi expressa em médias percentuais. Os dados obtidos em cada teste de análise da qualidade fisiológica foram submetidos à análise de variância e, as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott, a 5%. As análises foram realizadas com o software estatístico Sisvar® (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água das sementes de soja das cultivares M6210 IPRO e M6410 IPRO variou entre 8,3 e 9,8% (Tabela 1), tais valores atendem recomendações tanto do ponto de vista sanitário, quanto, fisiológico. Segundo Goulart (1997), o grau de umidade das sementes de soja especialmente em regiões quentes e úmidas, deve ficar abaixo de 13,5%, para evitar o desenvolvimento de fungos de armazenamento como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. que podem causar rápida deterioração das sementes. Conforme Carvalho e Nakagawa (2012), a umidade de sementes deve manter-se entre 12-14%, para evitar elevados níveis de respiração, com decorrente diminuição nos percentuais de germinação.

O teste de germinação em laboratório apresentou percentuais menores do que os descritos nos rótulos das embalagens, enquanto, as médias obtidas no teste de emergência de plântulas com substrato comercial superaram, tanto os percentuais do teste de germinação, quanto os das embalagens, entretanto, na emergência em areia apenas dois lotes (um de cada cv) obtiveram esse mesmo resultado (Tabela 1). A diferença entre os resultados obtidos nos testes de emergência de plântulas pode estar relacionado com o ambiente adequado proporcionado pelo substrato comercial. Segundo Moreira et al. (2015), as plântulas desenvolvidas em substrato comercial podem se tornar menos vulneráveis às condições adversas do meio, por emergirem com maior rapidez e permanecerem menor tempo nos estádios iniciais de desenvolvimento.

Os resultados obtidos no teste de condutividade elétrica, foram condizentes com os do teste de emergência de plântulas em areia (Tabela 1), evidenciando diferenças significativas entre lotes da cv 6210, que não foram observadas pelo teste de GL, e ao mesmo tempo, igualando os lotes 3 e 4 da cv 6410 que apresentaram médias significativamente menores nos testes de PLG e GL. Nesse caso, o teste de PLG, não foi um parâmetro confiável para a estimativa de vigor, pois os resultados de emergência demonstraram que as condições de ambiente ocorridas durante a condução desse teste, para estes lotes, foram mais favoráveis. Segundo Vieira e Carvalho (1994) ao mesmo tempo em que, o teste de primeira leitura pode ser considerado um teste de vigor, porque mede a energia germinativa da semente, ele é realizado sob condições tidas como ideais, o que em tese propicia o ambiente adequado favorecendo a germinação das sementes de determinada espécie.

Foram identificados oito tipos de fungos, sendo quatro espécies e quatro gêneros, desse total as espécies com maior incidência foram *Fusarium semitectum*; *Aspergillus flavus* e os gêneros *Phomopsis* sp.; *Penicillium* spp. (Figura 1), considerados por Goulart (1997) como de ocorrência frequente em sementes de soja. Os resultados foram descritos em função das referidas espécies e gêneros. De acordo com Zambolim (2005), a espécie *A. flavus* tem sido encontrado em sementes colhidas com elevados percentuais de umidade e, o gênero *Penicillium* spp. associado a sementes de menor qualidade. Na maioria dos lotes a assepsia reduziu a diversidade de fungos, sendo identificados até cinco tipos de fungos em um mesmo lote, antes da assepsia e, quatro tipos após a assepsia. Os gêneros *Penicillium* spp. e *Phomopsis* sp. foram eliminados pela assepsia (Figura 1).

A incidência de *F. semitectum* nas amostras, mesmo antes da assepsia chamou a atenção visto que, em alguns lotes atingiu percentuais superiores a 90% do total de fungos identificados. A incidência de *F. semitectum* na cv. 6410 (Tabela 1) após a assepsia, se manteve ou aumentou (exceto no lote 3). Conforme Zambolim (2005), *F. semitectum* é a espécie de maior ocorrência em sementes de soja atingindo percentuais acima de 98%, sendo considerado um fungo patogênico, por afetar a germinação em laboratório, reconhecido pela presença de micélio branco com aspecto cotonoso denso. De maneira semelhante a *Phomopsis* spp., *F. semitectum* está frequentemente associado a sementes que sofreram pelo atraso na colheita ou deterioração no campo.

Os valores verificados no teste de CE (Tabela 1), demonstraram que ambas as cvs. possuem um bom nível de vigor, pois conforme Vieira e Carvalho (1994), valores de até 60-70 $\mu\text{mhos/cm/g}$ indicam alto vigor, enquanto 70-80 $\mu\text{mhos/cm/g}$ médio vigor e superior a 150 $\mu\text{mhos/cm/g}$ baixo vigor. Nesse caso, os fungos não obtiveram um ambiente favorável para seu desenvolvimento. Caso os fungos estivessem causando alterações químicas e/ou físicas nas sementes, esse efeito teria sido observado no aumento dos valores da CE, pois de acordo com Vieira e Carvalho (1994), sementes danificadas pela proliferação de fungos causam aumentos significativos na condutividade elétrica de um determinado lote.

Tabela 1- Análise fisiológica: percentuais médios da germinação dos rótulos (GR), teor de água (TA), primeira leitura do teste de germinação (PLG), germinação em laboratório (GL), emergência de plântulas (EP), e teste de condutividade elétrica (CE). Análise sanitária: diversidade de fungos, as somas dos percentuais de incidência do total de fungos em cada lote e as médias da incidência de *Fusarium semitectum* em relação ao total de fungos, nos tratamentos sem e com assepsia, em oito lotes de sementes de soja, sendo quatro da cv. M6210 IPRO e quatro da cv. M6410 IPRO. Bandeirantes - PR, 2018.

Cultivar	Lote	Emergência (EP)							Diversidade		Incidência (%)		<i>F. semitectum</i> (%)	
		GR	TA	PLG	GL	Substrato	Areia	CE	Sem	*Com	Sem	Com	Sem	Com
6210	1	80	8,9	22,0 a	74,0 a	97,0 a	82,0 a	68,2 b	5	3	52,0	40,0	30,8	85,0
	2	80	8,4	29,0 a	75,5 a	89,0 a	65,3 b	83,4 a	5	2	43,0	32,0	27,9	56,3
	3	80	8,7	24,5 a	81,0 a	95,8 a	54,2 b	88,0 a	1	3	58,0	76,0	100,0	60,5
	4	80	9,3	25,0 a	78,0 a	93,0 a	59,7 b	86,7 a	3	2	78,0	54,0	92,3	96,3
6410	1	80	8,3	24,0 a	76,5 a	93,0 a	84,7 a	72,0 a	4	4	118,0	164,0	27,1	95,1
	2	80	8,5	23,0 a	75,0 a	94,3 a	73,6 a	56,1 a	5	2	38,0	124,0	42,1	98,4
	3	80	9,3	8,0 b	47,0 b	95,8 a	76,4 a	68,1 a	4	2	80,0	120,0	42,5	88,3
	4	80	9,8	13,5 b	54,0 b	97,0 a	77,8 a	64,3 a	3	2	46,0	54,0	91,3	96,3
CV%		---	26,7	10,9	6,3	14,8	10,57			---	---	---	---	

Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada cultivar, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott a 5%; CV=coeficiente de variação; *Assepsia: imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por três minutos.

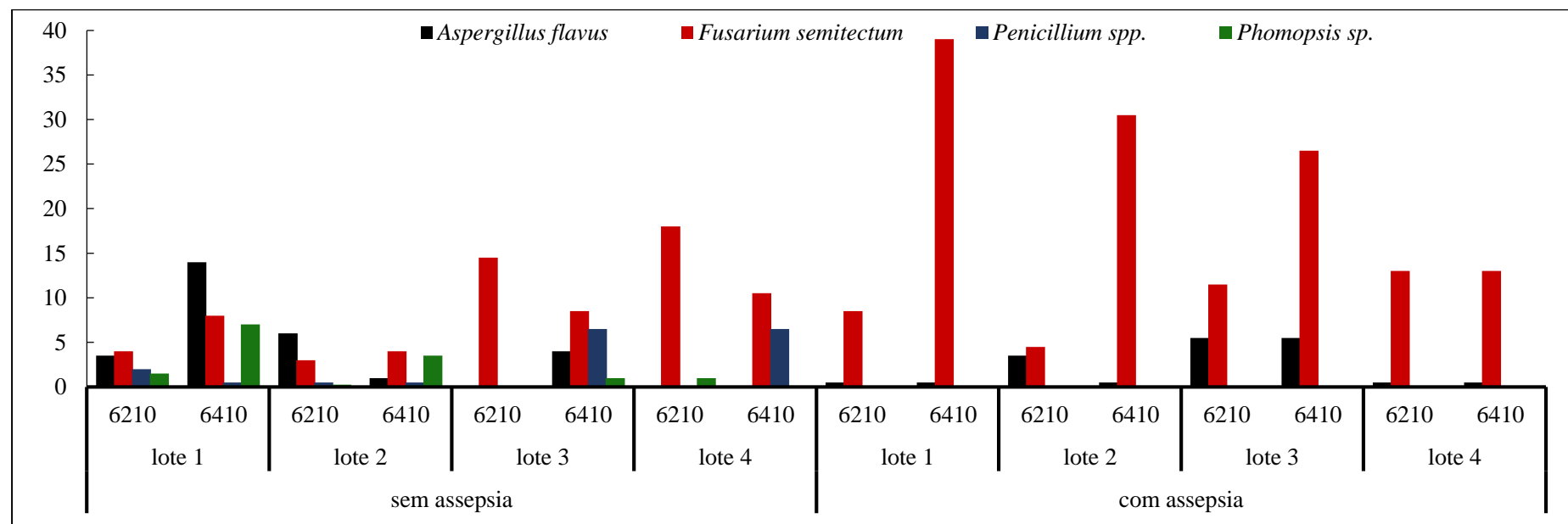


Figura 1- Percentuais de incidência das espécies *Fusarium semitectum*; *Aspergillus flavus* e os gêneros *Phomopsis sp.* e *Penicillium spp.*, nos tratamentos sem e com assepsia, de oito lotes de sementes de soja, sendo quatro da cv. M6210 IPRO e quatro da cv. M6410 IPRO. Bandeirantes - PR, 2018. *Assepsia com imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, por três minutos.

O baixo vigor de sementes decorrente de fatores não infecciosos, pode intensificar a ação de patógenos. Nas sementes de menor vigor ocorre uma desorganização das membranas celulares e liberação de exsudados como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, enzimas e íons inorgânicos, propícios ao crescimento de fungos, portanto sementes com maior vigor, ainda que estejam com elevados índices de contaminação por fungos apresentarão, melhor desempenho nos testes de análise da qualidade fisiológica. Desse modo, não foi possível estabelecer uma relação de causa e efeito sobre a viabilidade e o vigor destas sementes, em função da presença dos patógenos identificados. Segundo Zambolim (2005), o contato direto entre o patógeno e o hospedeiro susceptível não garante a transmissão do patógeno para a plântula oriunda da semente da semente contaminada, pois, para que isso corra é necessário considerar também a quantidade e localização do inóculo e, o ambiente de cultivo.

CONCLUSÃO

Os elevados percentuais de incidência das espécies *Fusarium semitectum*, *Aspergillus flavus* e dos gêneros *Phomopsis* sp. e *Penicillium* spp., nas sementes de soja das cultivares avaliadas, mantiveram sua qualidade fisiológica, demonstrando que os prejuízos atribuídos a tais fungos, estão diretamente condicionados pelo nível de deterioração das sementes expostas à sua contaminação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e, a Fundação Araucária pela concessão das bolsas de iniciação científica aos graduandos.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/SDA /ACS, 2009a. 399p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de análise sanitária de sementes. Brasília, MAPA/SDA. 2009b. 200p.
- Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. (Eds.). Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciência e Agrotecnologia, v. 38, n. 2, p. 109-112. 2014.
- Goulart, A.C.P. Fungos em sementes de soja: detecção e importância. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. 58p. (EMBRAPA-CPAO. Documentos, 11).
- Moreira, E. R.; Boliani, A. C.; Corrêa, L. S.; Pagliarini, M. K.; Santos, D. M. D.; Junior, E. F.; Pereira, G. A. Tratamentos pré-germinativos e substratos na emergência de sementes e qualidade de mudas de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Semina: Ciências Agrárias, v. 36, n. 2, p. 657-668, 2015.
- Smiderle, O.J.; Cícero, S.M. Tratamento inseticida e qualidade de sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes, v. 20, n. 2, p. 462-469, 1998.
- Vieira, R. D.; Carvalho, N. M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP. 1994. 164p.
- Zambolim, L. (Ed.). Sementes: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV, DFP, 2005. 502 p.