



LAYZA EMANUELLE FURTADO ANDRADE

**VARIAÇÃO E EFEITOS DE POTENCIAL DE INÓCULO
NATURAL DE *Drechslera oryzae* E *Phomopsis sojae* EM LOTES
DE SEMENTES DE ARROZ E SOJA**

**LAVRAS - MG
2019**

LAYZA EMANUELLE FURTADO ANDRADE

VARIAÇÃO E EFEITOS DE POTENCIAL DE INÓCULO NATURAL DE *Drechslera oryzae* E *Phomopsis sojae* EM LOTES DE SEMENTES DE ARROZ E SOJA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título Mestre.

Prof. PhD. José da Cruz Machado
Orientador

Dra. Iara Eleutéria Dias
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Andrade, Layza Emanuelle Furtado.

Varição e efeitos de potencial de inóculo natural de
Drechslera oryzae e *Phomopsis sojae* em lotes de sementes de arroz
e soja / Layza Emanuelle Furtado Andrade. - 2019.

41 p.

Orientador(a): José da Cruz Machado.

Coorientador(a): Iara Eleutéria Dias.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Intensidade de colonização. 2. Patógeno. 3. Blotter test. I.
Machado, José da Cruz. II. Dias, Iara Eleutéria. III. Título.

LAYZA EMANUELLE FURTADO ANDRADE

VARIAÇÃO E EFEITOS DE POTENCIAL DE INÓCULO NATURAL DE *Drechslera oryzae* E *Phomopsis sojae* EM LOTES DE SEMENTES DE ARROZ E SOJA

VARIATION AND EFFECTS OF NATURAL INOCULUS POTENTIAL OF *Drechslera oryzae* AND *Phomopsis sojae* IN LOTS OF RICE AND SOY SEEDS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de mestre.

APROVADA em 30 de outubro de 2019

Dra. Maria Luiza Nunes Costa
Dr. Renato Mendes Guimarães

UFMS
UFLA

Prof. Dr. José da Cruz Machado
Orientador

Dr. Iara Eleutéria Dias
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2019**

Aos meus pais, Maria de Fátima e José Henrique, meu irmão Leandro, por toda confiança e apoio em mim depositados. A minha avó Alda in memoriam.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades concedidas e por iluminar e dar forças durante essa jornada.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela estrutura disponível e pela oportunidade de crescimento profissional.

Ao professor e orientador Dr José da Cruz Machado, pela orientação, ensinamentos e oportunidade.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia pelo conhecimento compartilhado e por estarem sempre disponíveis.

À Dr^a Carolina da Silva Siqueira, pela atenção, pelos ensinamentos, colaboração e momentos de descontração.

À Dr^a Iara Eleutéria Dias, por acreditar que eu era capaz, mesmo quando já tinha desistido, pela amizade, companheirismo, ensinamentos, incentivo, prontidão e até mesmo pelos puxões de orelha, sem ela este trabalho não existiria.

À Marina, pela paciência e prontidão.

À Dr^a Maria Luiza Nunes Costa, pela atenção, conselhos e pela participação na banca examinadora deste trabalho.

Ao Dr Renato Mendes Guimarães pela presteza desde a minha graduação e pela participação da banca examinadora.

Aos amigos do Laboratório de Patologia de Sementes: Ângela, Manoel, Guilherme e aos estagiários Anny e Allan, pela amizade e colaboração nos trabalhos.

À minha amiga Fabiana pelo apoio durante as disciplinas e execução do trabalho, pelo incentivo e compreensão.

À minha mãe, Maria de Fátima, meu pai José Henrique e meu irmão Leandro, por não medirem esforços para que esse curso fosse possível, por toda compreensão nos momentos ausentes.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Sendo considerada um dos principais insumos agrícolas é de fundamental importância que a semente apresente alta qualidade fisiológica e sanitária além de garantia de pureza genética. No âmbito da sanidade, o nível de potencial de inóculo de agentes fitopatogênicos nas sementes é um fator da maior relevância por diversas razões. Neste estudo o objetivo foi avaliar o grau de variação do potencial de inóculo natural de *Drechslera oryzae* e *Phomopsis sojae* de arroz e soja e seus efeitos no desempenho das sementes de diferentes lotes. Os lotes de sementes foram selecionados baseados na porcentagem de ocorrência dos fungos de interesse, verificados por meio de Blotter test modificado. A intensidade de colonização dos fungos na superfície das sementes foi realizada utilizando Blotter test com a adição de Manitol a -1,2 MPa para arroz e -1,0 MPa para soja, dando origem a uma escala de notas onde se estabeleceu: 0 sem a presença do patógeno, 1 até 10% de cobertura fúngica, 2 para sementes com cobertura superficial entre 10% e 50% e nota 3, para sementes com cobertura fúngica acima de 50%. Após o período de avaliação as sementes foram selecionadas e colocadas para secar em ambiente natural por 48 horas. Decorrido esse tempo as sementes, agrupadas por potencial de inóculo, foram submetidas a análises de germinação padrão, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência em substrato de solo e avaliação da transmissão dos patógenos. Ambas as culturas apresentaram diferenças de potenciais de inóculo dentro e entre lotes de sementes, tendo os maiores danos sido causados pelos potenciais mais elevados. Foi observado uma queda na germinação padrão e no vigor das sementes na proporção do aumento dos potenciais de inóculo. Estes resultados permitem concluir que há uma relação entre os potenciais de inóculo natural dos patógenos em estudo e o desempenho das sementes portadoras dos mesmos.

Palavras chave: Blotter test, intensidade de colonização, patógeno.

ABSTRACT

Being considered one of the most important inputs in Agriculture quality of seeds is of extreme relevance for the success of all crops which are propagated by that mean. The qualification of seed lot is based on information about genetics, physiology, physics and sanitary aspects. Health condition of a seed lot may be a serious problem to obtain high yields in addition to other damages related to sustainability of the agricultural activity. for the farmers. productivity o qualify a seed lot. The detection and quantification of inoculum of phytopathogenic agents in seeds can support farmers with basic information which may help them in preventing the introduction and establishment of infectious diseases in the field. The disease development in field depends on several factors of which level of inoculum potential is extremely important. Objective of this study was to evaluate the variation in health quality, represented by the inoculum potential of *Drechslera oryzae* and *Phomopsis sojae* in rice and soybean seeds. The seed lots were selected based on the percentage of occurrence of the fungi of interest, verified by modified Blotter test. The intensity of fungal colonization on the seed surface was performed using Blotter test with the addition of Mannitol at -1.2 MPa for rice and -1.0 MPa for soybean, giving rise to a scale of grades where established: 0 without the presence of the pathogen, 1 to 10% fungal coverage, 2 for seeds with coverage between 10% and 50% and grade 3, for seeds with fungal coverage above 50%. After the evaluation period the seeds were selected and placed to dry in a natural environment for 48 hours. After this time, they were submitted to standard germination analysis, accelerated aging, electrical conductivity, substrate emergence and transmission evaluation. Both cultures showed differences in inoculum potentials within and between seed lots, where the greatest damage was caused by the highest potentials. A drop in standard germination and an increase in electrical conductivity were observed as inoculum potentials increased. Thus, it is concluded that there is a relationship between inoculum potentials and seed performance and further studies on this subject are needed.

Keywords: Blotter test, colonization intensity, pathogen.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Aspectos gerais da interação biológica de patógenos com sementes.....	10
2.2 Aspectos gerais dos patossistemas: <i>Drechslera oryzae</i> em arroz e <i>Phomopsis sojae</i> em soja.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Origem e perfil das sementes utilizadas	14
3.2 Avaliação do potencial de inóculo dos fungos em sementes de seus hospedeiros.....	15
3.3 Efeitos dos diferentes potenciais na qualidade e vigor das sementes de arroz e soja	16
3.3.1 Teste de germinação	16
3.3.2 Envelhecimento acelerado das sementes de arroz e soja.....	16
3.3.3 Avaliação da condutividade elétrica.....	Erro! Indicador não definido.
3.3.4 Emergência em substrato de solo	Erro! Indicador não definido.
3.4 Delineamento e análises estatísticas	Erro! Indicador não definido.
4 RESULTADOS	18
5 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	36
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Por ser um país com forte aptidão agrícola, com engajamento significativo de sua população neste setor, entende-se que insumos como semente assumem relevância muito significativa no Brasil. O agronegócio brasileiro de sementes movimenta anualmente montantes da ordem de R\$ 10 bilhões com perspectivas de valorização cada mais progressiva diante dos desafios de se aumentar a oferta de commodities que atendam a demanda da população mundial por alimentos e outras necessidades. Atualmente a produção de grãos no Brasil considerando-se as espécies mais cultivadas é da ordem de 242,1 milhões de toneladas/ano correspondendo a uma área de cultivo de 63.933,9 mil hectares (CONAB, 2019). A demanda de sementes para atender a produção de grãos atinge patamares de 4 milhões de toneladas (ABRATES, 2017).

O potencial produtivo de espécies vegetais depende em grande parte da qualidade das sementes tendo-se em mente que este insumo é responsável por veicular as características genéticas do material a ser estabelecido no campo de cultivo, além de possibilitar a agregação de outros insumos de interesse dos produtores rurais. Por tratar-se de um insumo de natureza biológica, subentende-se que a semente requer cuidados especiais em todas as etapas de sua produção e comercialização que abrangem desde sua formação no campo de cultivo até as fases de beneficiamento, armazenamento e distribuição aos seus usuários.

Uma das maiores preocupações dos produtores de sementes é conhecer a condição de sanidade destes insumos, representada pela ocorrência de patógenos. Estes agentes associados a sementes têm a sua atividade prolongada, mantendo sua viabilidade, e constituindo um mecanismo eficiente de dispersão. (DE FARIAS et al., 2007).

A sanidade de sementes é de fundamental importância para a agricultura, e pode ser considerada um dos componentes mais decisivos quando se trata de controle preventivo de doenças. Fungos e outros agentes causadores de doenças associados a sementes podem acarretar efeitos como a redução da germinação, vigor, estande de plantas e com isso uma queda no rendimento. (BOTELHO et al., 2013).

Com base na avaliação do potencial de inóculo presente nas sementes é possível estimar o padrão de desenvolvimento de doenças no campo de cultivo, e assim buscar uma ação preventiva para seu controle. A quantidade de informações disponíveis em relação a quantificação do potencial de inóculo em sementes é ainda bem restrita, certamente em decorrência da falta de estudos específicos nesta área. As sementes são consideradas fontes importantes de inóculo primário de inúmeras doenças (CIA; SALGADO, 1997). Quantificar o

potencial de inóculo de agentes fitopatogênicos presentes nas sementes é de grande importância, e esta informação não é normalmente fornecida nas análises de rotina em laboratório, havendo apenas menção a incidência do patógeno em uma amostra de sementes que representa um lote comercial.

Informações sobre o nível de potencial de inóculo natural de patógenos associados às sementes de maneira individual dentro de um mesmo lote não são encontrados na literatura. Por outro lado, encontra-se na literatura apenas informações sobre variações da qualidade fisiológica individuais das sementes de um mesmo lote comercial, como no caso da soja em estudos conduzidos por Illipronti, 1997.

Para este estudo foram escolhidos dois patossistemas: *Drechslera oryzae* em arroz, e *Phomopsis sojae* em soja, tendo como base a importância econômica, frequência e incidência desses agentes em lotes comercializados no Brasil, além do fato de que ambos já têm sido alvos de estudos com a técnica do condicionamento hídrico, que tem propiciado a utilização de uma escala de notas para quantificar o nível de potencial de inóculo em função do crescimento dos fungos sobre as sementes inoculadas. Este tipo de estudo já tem sido realizado com outros patossistemas como é o caso de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho (MACHADO,2013).

Neste estudo o objetivo foi avaliar o grau de variação do potencial de inóculo natural de *Drechslera oryzae* e *Phomopsis sojae* associados às sementes de seus respectivos hospedeiros, arroz e soja, em lotes comerciais de sementes e dimensionar os efeitos destes potenciais no desempenho das sementes em condições controladas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da interação de patógenos com sementes

A interação de patógenos com sementes é um tema de grande preocupação no contexto da fitopatologia em todo o mundo, em razão de seu significado prático e principalmente do ponto de vista epidemiológico e de perdas diretas que as sementes podem estar sujeitas em todas as etapas da sua cadeia de produção. (MACHADO, 2012).

Historicamente, as relações entre as sementes e os agentes fitopatogênicos são abordadas de maneira genérica, com pouco detalhamento que o assunto merece. Em geral, presume-se que a ocorrência de patógenos nos tecidos das sementes apresenta risco de danos diretos às sementes, em termos de germinação e vigor em condições de cultivo (BARROCAS et al., 2014B; SIQUEIRA et al., 2014; ZANCAN et al., 2015;). Os testes de sanidade de sementes atualmente disponíveis apenas indicam o nível de incidência dos patógenos em lotes de sementes comerciais, não levando se em conta o potencial de inóculo do patógeno nas amostras analisadas (GUIMARÃES, 2017).

As consequências dessa omissão nos boletins de resultados da análise sanitária de sementes podem ser extremamente danosas, principalmente em recomendações do tratamento de sementes e em previsões de modelo epidemiológico de doenças (GUIMARÃES, 2017). Dependendo da condição sanitária de um lote de sementes, os resultados de previsão de doença e da eficácia do tratamento de sementes podem gerar conflitos de interpretação. Além do fato que, diferentes lotes de sementes, mesmo apresentando incidências semelhantes de um mesmo patógeno, podem gerar diferentes consequências para o produtor (ILLIPRONTI, 1997).

Apesar de poucos estudos sobre o potencial de inóculo de fungos, nos diversos patossistemas existentes, na literatura ainda se encontra algumas pesquisas importantes, como por exemplo: *Sclerotinia sclerotiorum* em soja, feijão e algodão, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e *Fusarium oxysporum* em algodão, *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* e *Fusarium verticillioides* em milho, *Colletotrichum truncatum* e *Phomopsis sojae* em soja, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Rhizoctonia solani* em feijão, dentre outros (KAWASAKI, 2010; BARROCAS, 2008; GUIMARÃES, 2017), SIQUEIRA, 2013; GADAGA, 2017). Os resultados destes estudos demonstraram que há variações entre os patossistemas, além de uma relação direta entre nível de potencial de inóculo e os efeitos na germinação e vigor das sementes. (SIQUEIRA et.al, 2014). De acordo com estes estudos potenciais de inóculo mais baixos produzem efeitos menos acentuados no desempenho das sementes do que os mais elevados.

Machado e Pozza (2005) apresentam várias consequências provenientes da interação de patógenos com sementes, como a perda do poder germinativo e vigor das sementes, introdução aleatória e precoce de inóculo nas áreas de plantio, acúmulo de inóculo no solo, morte de plântulas originadas de sementes contaminadas, contaminação de equipamentos de beneficiamento de sementes, disseminação do patógeno a longas distâncias, queda de produção e de qualidade das sementes, entre outros.

Além da utilização de sementes tratadas com fungicidas recomendados, umas das medidas importantes de controle de fungos fitopatogênicos é a utilização de sementes livres da presença de estruturas do patógeno. Com essa prática é possível evitar a introdução de patógenos em áreas onde sua ocorrência não foi ainda relatada ou, ainda reintrodução de isolados em áreas tradicionais. (MACHADO, 2000; MEYER; CAMPOS, 2009; NEERGAARD, 2017).

2.2 Aspectos gerais das relações entre *Drechslera oryzae* e *Phomopsis sojae* e sementes de arroz e soja

2.2.1 *Drechslera oryzae* em arroz

Tradicionalmente o arroz é um dos produtos mais consumidos e produzidos no Brasil e no mundo, estando a sua frente apenas trigo (*Triticum spp.*) e milho (*Zea mays l.*) (PARAGINSKI et al., 2014; KATSURAYAMA E TANIWAKI, 2017). Sua exportação nos últimos cinco anos atingiu cerca de 1,2 milhões de toneladas e o potencial de ampliação de produção é bastante alto, levando em consideração a tecnologia e recursos disponíveis, atualmente os maiores produtores estão concentrados no estado do Rio Grande do Sul (CONAB, 2018). Estima-se que o consumo do cereal no país seja em torno de 12 milhões de toneladas e safra 2018/19, com aproximadamente 1.694 mil hectares cultivados e uma produção de 10.428,1 mil toneladas (CONAB, 2019).

Vários são os fatores que podem limitar a produção de arroz, nos diversos países produtores, dentre eles destaca-se a incidência de diversos patógenos na cultura, como fungos, vírus, nematoides, além de insetos pragas (GROTH, 1991).

Doenças causadas por fungos na cultura podem reduzir qualidade e causar manchas-nos-grãos, ou comprometer o enchimento e maturação. (CASTRO et al, 1999). Dentre as principais pode-se enfatizar Brusone (*Pyricularia oryzae*) Mancha Parda (*Drechslera oryzae*) Podridão do Colmo (*Sclerotium oryzae*), e Mancha de Grãos (*Drechslera oryzae*, *Bipolaris spp.*, *Pyricularia grizea*, *Alternaria padwickii*, *Phoma sp.*, *Nigrospora spp*, *Epicocum spp.*, *Curvularia lunata* e *Fusarium sp*) (HABIB et al., 2012). Segundo Dallagnol et.al, (2006), esses patógenos podem comprometer a qualidade fisiológica e sanitária da semente, ocasionando perdas no rendimento de até 42,10%. Phat et al. (2005), afirmaram que altos índices de doença podem levar a queda de 27,3% na germinação das sementes.

Dentre as principais doenças do arroz encontra-se a mancha-parda, causada pelo fungo *Drechslera oryzae*, é considerada uma das doenças mais importantes da cultura do arroz

irrigado no Brasil (PRABHU & FILIPPI, 1997). O fungo apresenta hifa septada e o micélio aveludado, com coloração variando de cinza a cinza escuro, os conídios retos ou raramente curvos, cilíndricos ou largos no centro e castanhos claros a dourados, células de 1-14 núcleos e germinando com mais frequência nas extremidades basal e apical; conidióforos septados, isolados ou em pequenos grupos, reto ou flexível e septados (QUINTANA et al., 2017).

O patógeno tem como inóculo inicial da doença as sementes infectadas podendo sobreviver nelas por um período de até quatro anos. Os sintomas são mais frequentes em folhas e grãos, começam inicialmente com manchas algumas arredondadas de coloração marrom e avermelhadas no centro, onde estão presentes as estruturas reprodutivas do fungo, podendo coalescer e ocupar uma considerável área da folha. (KUMARI et al., 2015).

Em condições de ataque severo podem abranger por inteiro a superfície de todos os grãos, resultando em redução da germinação e espiguetas vazias, ocasionando a redução de peso e gessamento, levando a quebra dos grãos durante o beneficiamento, interferindo na qualidade do produto. Sementes severamente infectadas podem ter o seu potencial de germinação reduzido e os coleótilos produzidos originário das mesmas podem morrer (SILVA- LOBO e FILLIPI, 2017).

2.2.2 *Phomopsis sojae* em soja

Considerada a principal cultura do agronegócio brasileiro, segundo dados da CONAB (2019) a produção total de soja no país é de 35,87 milhões de hectares, totalizando uma produção de 115,07 milhões de toneladas. O Brasil é o segundo maior produtor da cultura, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. O aumento da produção da cultura no Brasil se deu devido ao aumento da mecanização no campo bem como a expansão da fronteira agrícola.

A maior parte das doenças que afetam a cultura da soja são causadas por patógenos que são transmitidos pelas sementes, resultando na introdução de doenças em áreas onde essas não existiam ou levando à reintrodução das doenças em áreas cultivadas nas quais as doenças ocorreram anteriormente (GOULART, 2018b).

Dentre as principais doenças encontra-se a podridão seca causada por *Phomopsis sojae*. Esta doença foi identificada pela primeira vez na safra de 1988/ 1989 no Paraná e Mato Grosso, na safra seguinte houve relatos em todas as áreas do país. O patógeno é introduzido nas lavouras por sementes contaminadas e maquinário com resíduos. Os sintomas aparecem nas plantas no final do ciclo, e estes são caracterizados por pontuações de coloração preta, os quais são chamados de Picnídios. Estes ficam dispostos linearmente nas hastes, pecíolos e vagens (HENNING et al., 2005). A infecção será maior à medida que a colheita seja realizada

mais tardiamente, ou quando em regiões quente e úmidas antes da colheita (SINCLAIR,1989).

Phomopsis sojae sobrevive na forma de micélio dormente nas sementes ou como picnídio em restos de cultura. Sua colônia apresenta coloração branca a marrom pálido, flocoso aéreo, de crescimento rápido, levemente denso. Os picnídios se formam abundantemente em grupos de estromas negros, imersos nas sementes ou haste com conídio alfa unicelulares, hialinos, retos e fusiformes, comumente arredondados nas extremidades, já os beta-conídios são longos, filiformes, curvados (BRASIL, 2009a; GOULART, 2018b).

O patógeno pode causar perdas de 80% até 100%, principalmente quando está associado a períodos chuvosos e altas temperaturas durante o início de formação de vagem e durante a maturação quando a colheita dos grãos é tardia. (HENNING et al., 2005; KIMATI, et al.,1997; GOULART, 2018b). Sementes com altos índices de *Phomopsis sojae* quando submetidas ao teste padrão de germinação apresentam baixas porcentagens de germinação, sendo o patógeno o principal responsável por tal resultado (GOULART, 2018b).

Sementes com alta taxa de infecção no campo apresentam baixa germinação e emergência, produzindo plântulas fracas e atrofiadas, além de apresentarem lesões nos cotilédones. Quando a semente apresenta infecções superficiais, conhecidas também como contaminação, conseguem emergir se estiverem em solo úmido, porém a abertura dos cotilédones é dificultada pela presença do patógeno no tegumento, criando um obstáculo ou até mesmo impede a expansão das folhas primárias (TORMEN, 2014; HENNING et al.,2005a; KIMATI et al.,1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Origem e perfil das sementes utilizadas

Foram selecionadas amostras de sementes provenientes de algumas regiões do país fornecidas pelo Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Tabela 1).

Tabela 1- Procedência geográfica e características dos lotes de sementes utilizadas neste estudo.

Cultura	Lotes	Região	Cultivar	Germinação sementes %	Incidência de fungos %
Arroz	A	Rio Grande do Sul	Caravera	95	5% <i>Penicillium</i> sp 7% <i>Aspergillus</i> sp
	B	Tocantins	Caravera	94	4% <i>Penicillium</i> sp 5% <i>Aspergillus</i> sp
	C	Minas Gerais	Caravera	96	6% <i>Penicillium</i> sp 8% <i>Aspergillus</i> sp
Soja	A	Minas Gerais	NS5445 IPRO	98	5% <i>Penicillium</i> sp 8% <i>Aspergillus</i> sp
	B	Mato Grosso	NS5445 IPRO	97	9% <i>Penicillium</i> sp 6% <i>Aspergillus</i> sp

Fonte: Do autor (2019).

A escolha dos lotes se deu com base nos percentuais de ocorrência dos fungos *Drechslera oryzae* e *Phomopsis sojae* verificados por meio de Blotter test, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil 2009a).

3.2 Avaliação do potencial de inóculo dos fungos em sementes das amostras selecionadas

A avaliação do potencial de inóculo foi realizada conforme descrito em Machado et al (2011), utilizando-se 4.000 sementes para cada cultura e lote, por meio da técnica de Blotter test modificado pela adição de manitol em potencial osmótico de -1,2 MPa para arroz e -1,0 MPa para soja. As placas contendo as sementes foram dispostas em câmaras incubadoras com temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12 horas luz / escuro por um período de 7 dias. Ao final do período de incubação, as sementes foram examinadas individualmente com o auxílio do microscópio estereoscópio. Com base na observação visual foi medido a intensidade de colonização dos fungos na superfície externa das sementes, utilizando-se uma escala de notas, que variou da seguinte maneira: 1- Para sementes contendo até 10% de cobertura dos fungos em estudo; 2- Para sementes com cobertura entre 11 e 50% e 3- Cobertura superior a 50%. A nota zero foi representada pela ausência de estrutura fungica na superfície das sementes.

Após a avaliação as sementes foram retiradas e agrupadas por nota da escala sendo colocadas para secar em placas contendo papel filtro esterilizado e disposta em ambiente natural por um período de 48 horas. Após esse período as sementes com diferentes potenciais de inóculo foram submetidas as análises de germinação padrão, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência em substrato e avaliação da transmissão dos fungos.

3.3 Avaliação de efeitos dos diferentes potenciais no desempenho das sementes de arroz e soja

3.3.1 Teste de germinação

Para o teste de germinação utilizou-se o método do rolo de papel para as sementes de soja e caixas do tipo “Gerbox” para as sementes de arroz. O teste foi conduzido com 200 sementes distribuídas em 4 repetições de 50 sementes, as sementes foram incubadas em germinador sob temperatura de 25 ° C. As avaliações foram feitas no quinto e décimo quarto dia após a incubação para as sementes de arroz e quinto e oitavo dias para soja, seguindo critérios estabelecidos pela RAS (Regras para Análise de Sementes) (BRASIL, 2009a).

3.3.2 Envelhecimento acelerado das sementes de arroz e soja

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado baseado na metodologia de Marcos Filho et al.(1987). As sementes foram colocadas em uma tela de alumínio em caixas do tipo Gerbox contendo 40 mL de água, as caixas contendo as sementes foram mantidas em câmara do tipo BOD, em uma temperatura de 41°C por um período de 48 horas. Após este período as sementes foram submetidas ao teste de germinação padrão e a avaliação foi feita conforme descrito na RAS (BRASIL, 2009).

3.3.3 Avaliação da condutividade elétrica

Para avaliação da Condutividade Elétrica das sementes de arroz e soja foram utilizadas 200 sementes (4 repetições de 50 sementes) por tratamento, para cada espécie. As amostras foram pesadas em balança de precisão e colocada para embeber em copo plástico contendo 75 mL de água deionizada por 24 horas em câmara do tipo BOD a temperatura de 25°C no escuro. Após esse período foi feita a medição da condutividade elétrica dos exsudatos das sementes, utilizando o condutivímetro MS TECNOPON®, modelo mCA 150, previamente calibrado com solução de KCL. Os valores da leitura foram subtraídos da leitura do controle

(água) e divididos pelo peso amostra, sendo os resultados expressos em $\mu\text{mhos.cm}^{-1}\text{.g}^{-1}$, conforme Krzyzanowski, Vieira e França Neto (1999).

3.3.4 Emergência em substrato de solo

Sementes de arroz e soja foram submetidas ao teste de emergência em substrato constituído por composto comercial (Topstrato) e areia na proporção de 1:1 esterilizadas e colocadas em bandejas plásticas com 50 células. A semeadura foi realizada utilizando as sementes subdivididas em quatro repetições para cada nota da escala. As bandejas foram mantidas em câmaras de crescimento vegetal com temperaturas de 20°C e 25 °C com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, por 28 dias para ambas as culturas.

Durante o período de 28 dias as plantas foram avaliadas diariamente, com vista a observação dos sintomas (plantas sintomáticas e plantas assintomáticas) dos patógenos *Drechslera oryzae* e *Phomopsis sojae* em seus respectivos hospedeiros.

Após 28 dias todas as plantas foram cortadas na altura da inserção da raiz com o colo para a determinação do peso de parte aérea de planta fresca. Após a pesagem em balança de precisão, foram cortadas em fragmentos de 2 a 3 centímetros de extensão na inserção da raiz com o colo, colo e última inserção de folha. Os fragmentos foram desinfestados em álcool 70%, hipoclorito de sódio 1% seguido de tríplice lavagem em água destilada autoclavada e secos em papel esterilizado. Todos os fragmentos foram distribuídos uniformemente em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA (Batata – Dextrose – Ágar) e incubados em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e Fotoperíodo de 12 horas. Após 7 e 15 dias foi feita a avaliação individual desses fragmentos no microscópio estereoscópio para a observação das estruturas de cada patógeno. A detecção do patógeno em pelo menos um dos fragmentos examinados por planta foi suficiente para a confirmação da transmissão do patógeno da semente para a planta (MARIO; REIS, 2001).

3.4 Delineamento e análise estatística

Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância, e quando significativos, procedeu-se o ajuste de modelos de regressão, utilizando o software Sisvar® (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS

Pelo teste de sanidade das sementes observou-se, além ocorrência de *Phomopsis sojae*, nas sementes de soja NS5445 IPRO a incidência de 9% de *Penicillium* sp e algumas espécies de *Aspergillus* totalizando 6%. Nas sementes de arroz foram observadas as presenças de algumas espécies de *Aspergillus* em torno de 8% e *Penicillium* em níveis abaixo de 5%. Sementes contendo os organismos citados foram separadas no momento da classificação quanto a escala de notas e não foram utilizadas nos testes. Os percentuais de germinação das sementes de soja foram de 98% e 95% para as sementes de arroz.

O exame e o registro da presença dos dois fungos em estudo foram feitos somente em sementes contendo exclusivamente estes agentes, não considerando-se as presenças de outros fungos fitopatogênicos nas mesmas sementes.

4.1 Variação do potencial de inóculo de *Drechslera oryzae* e efeitos desses potenciais no desempenho das sementes dos diferentes lotes de sementes de arroz

A análise de variância para o percentual de intensidade de inóculo (potencial de inóculo) de *Drechslera oryzae* nas sementes de arroz demonstrou uma interação dupla significativa ($P \leq 0,05$). Na Figura 1 é possível observar uma variação do potencial de inóculo do fungo em estudo dentro e entre os lotes da mesma cultivar de arroz. No lote A, sementes provenientes do Rio Grande do Sul, eram portadoras de *Drechslera oryzae* em incidências de 29,00% e 27,02%, das sementes avaliadas, nas faixas de 0 < - 10% (nota 1) e 10 < -50% (nota 2), respectivamente. Em relação ao lote B, proveniente de Tocantins, 29,86% das sementes examinadas apresentaram o patógeno em potencial de inóculo com nota 3, ou seja, sementes com crescimento fungico em mais de 50% da sua área superficial após o período de incubação pelo blotter teste modificado. Por sua vez no Lote C, sementes oriundas de Minas Gerais, 30,50% e 26,36% das sementes analisadas estavam com o patógeno nas faixas de 11 a 50% (nota 2) e maior que 50% (nota 3).

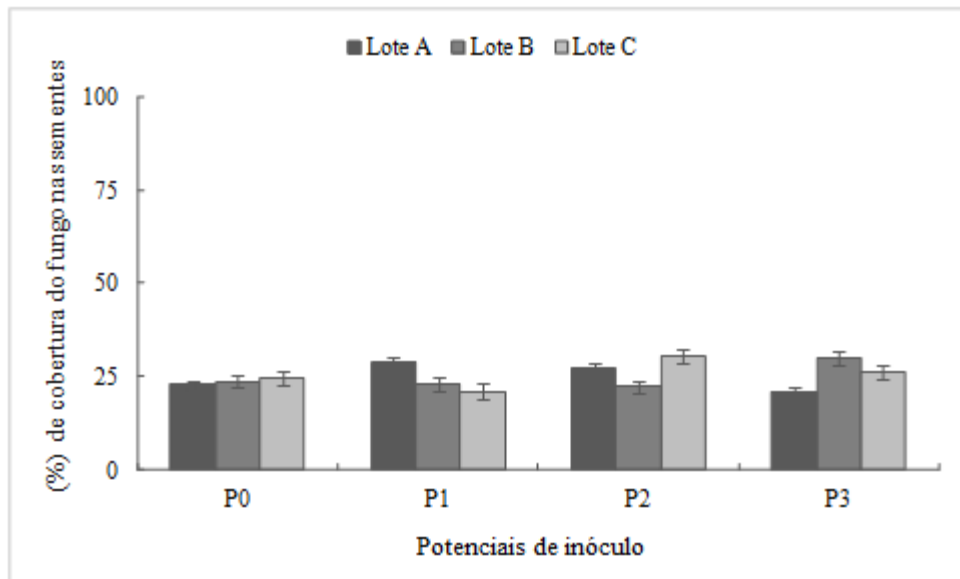


Figura 1- Percentual de potencial de inóculo natural de *Drechslera oryzae* encontrados nos diferentes lotes de sementes de arroz da cultivar Caravera. Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo sementes), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo).

Na prática, umas das consequências da variação de potencial de inóculo natural de patógenos em sementes, como no caso de *Drechslera oryzae* nas sementes de arroz é o efeito variável na germinação das sementes, com decréscimos variáveis em função dos níveis iniciais dos potenciais de inóculo do patógeno. Com o aumento dos potenciais de inóculo, Figura 2, foi possível observar uma redução proporcional na porcentagem de germinação das sementes dos 3 lotes utilizados. A queda foi mais acentuada no lote A. Nota-se que os elevados valores dos coeficientes de correlação calculados neste trabalho para os 3 lotes utilizados revelam que os valores estabelecidos para níveis de potencial de inóculo de *D. oryzae* em sementes de arroz, representados por notas de uma escala arbitrária são indicadores seguros para previsões de danos na germinação das sementes causados pelo patógeno neste patossistema.

Importante ressaltar que em trabalhos anteriores conduzidos com este patossistema, foi demonstrado este mesmo tipo e nível de efeitos do patógeno em condições controladas, tendo os autores lançado mão do uso de sementes inoculadas por meio de técnica de condicionamento hídrico (COUTINHO et.al, 2001).

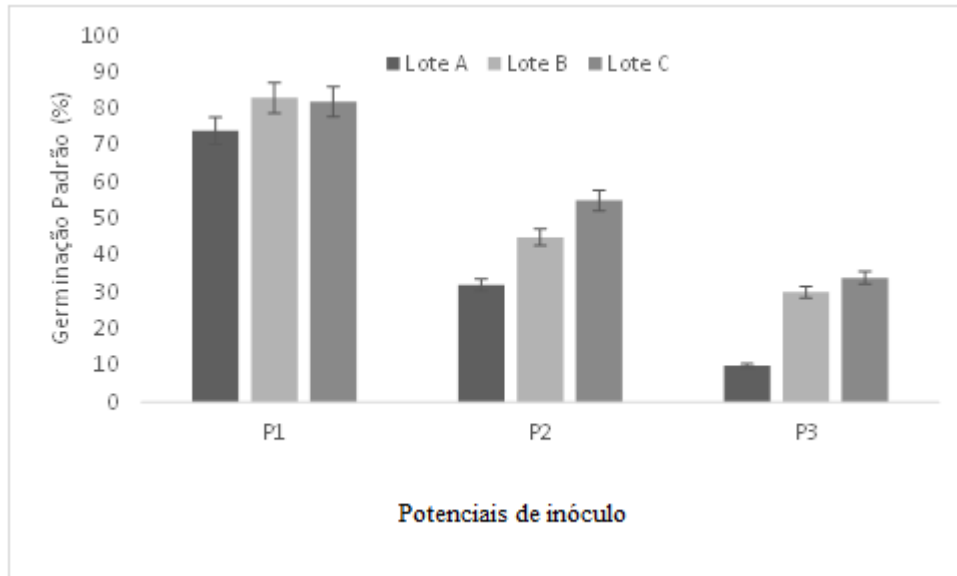


Figura 2- Percentual de germinação de sementes de arroz em relação aos diferentes potenciais de inóculo natural de *Drechslera oryzae* em diferentes lotes de sementes de arroz, cultivar Caravera. Escalas de notas: P1 (1% a 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes com mais de 50% da superfície das sementes com estrutura fungica).

Em relação à condutividade elétrica (Figura 3) observa-se que quanto maior o potencial de inóculo maiores os valores de exsudatos liberados pelas sementes durante o teste. O aumento do potencial de inóculo natural de *Drechslera oryzae* observado nas sementes se correlacionou com os resultados da germinação padrão e com a condutividade elétrica. Os maiores valores de condutividade elétrica provavelmente podem ser atribuídos como causa da desestabilização das membranas, ocasionando um aumento de concentração dos exsudatos na solução examinada. (KRZYZANOWKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999; SIQUEIRA et al., 2014). O aumento nos valores de condutividade elétrica neste trabalho pode ser atribuído a presença de *Drechslera oryzae* nas sementes, uma vez que ele foi a única fonte de variação no trabalho e sabe-se que se trata de um organismo que exerce parasitismo comprovado em tecidos colonizados de cultivares do arroz susceptíveis ao mesmo (PRABHU, 1989).

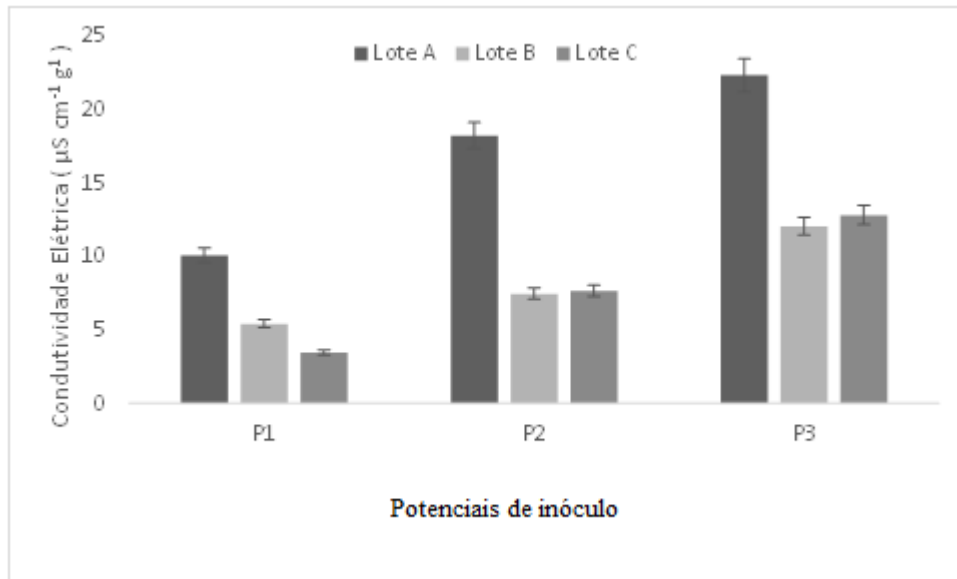


Figura 3- Valores médios de condutividade elétrica de soluções provenientes de sementes de arroz em diferentes potenciais de inóculo natural *Drechslera oryzae* encontrados nos diferentes lotes de sementes de arroz da cultivar Caravera. Escalas de notas: P1 (1% - 10% superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes maior que 50% superfície com estrutura fungica).

Pela avaliação de vigor das sementes por meio do método de envelhecimento acelerado (Figura 4), verifica-se que as variações nos potenciais de inóculo de *D. oryzae* detectadas dentro e entre lotes do arroz corresponderam a variações proporcionais no desempenho das sementes nestas circunstâncias. Por este teste a maior porcentagem de sementes não germinadas foi observada no lote C, o que pode ser explicado pelo fato de que o patógeno se encontrava neste lote em sementes com maiores valores de potencial de inóculo, comparado aos demais lotes utilizados neste trabalho.

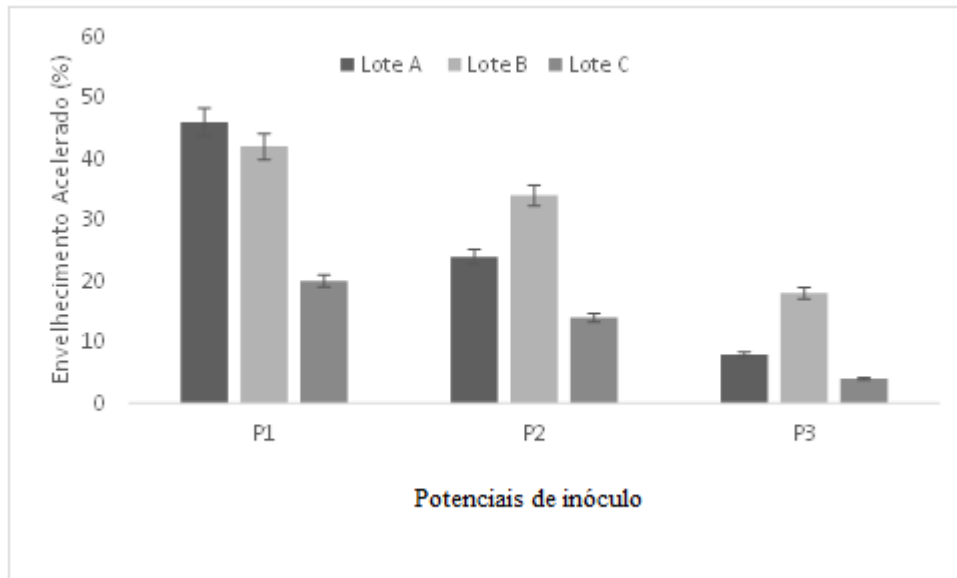


Figura 4- Envelhecimento acelerado de sementes de arroz com diferentes potenciais inóculo natural *Drechslera oryzae*, encontrados nos diferentes lotes de sementes de arroz da cultivar Caravera. Escalas de notas: P1 (1% - 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes maior que 50% % superfície com estrutura fungica).

4.2 Efeitos de *Drechslera oryzae* no desenvolvimento inicial do arroz em substrato de solo

Os efeitos de *D. oryzae* no desenvolvimento inicial das plantas do arroz a partir de sementes, têm sido demonstrados e estimados em diversas circunstâncias, porém as metodologias empregadas nesta linha de estudo são baseadas em inoculações artificiais ou por observações de certa forma empíricas, conforme tem sido o caso da maioria destes estudos no contexto da Fitopatologia. A avaliação dos referidos efeitos partindo se da interação natural do patógeno com as sementes de arroz, tendo se como base diferentes potenciais de inóculo presentes nos diferentes lotes de sementes comerciais evidencia que o patógeno provoca danos variáveis ao desenvolvimento inicial do arroz, representado pelos indicadores: estandes, vigor (IVE), altura de plantas e índice de doença/dano, conforme representação nas Figuras 5 e 6. Nota-se que houve uma correlação direta de danos avaliados e os potenciais de inóculo detectados nas sementes para todos os lotes analisados. Foi possível observar que o estande final das plantas apresentou um padrão semelhante das plantas do estande inicial. Os resultados deste ensaio apresentaram tendência semelhante aos resultados registrados em laboratório pelo teste de germinação.

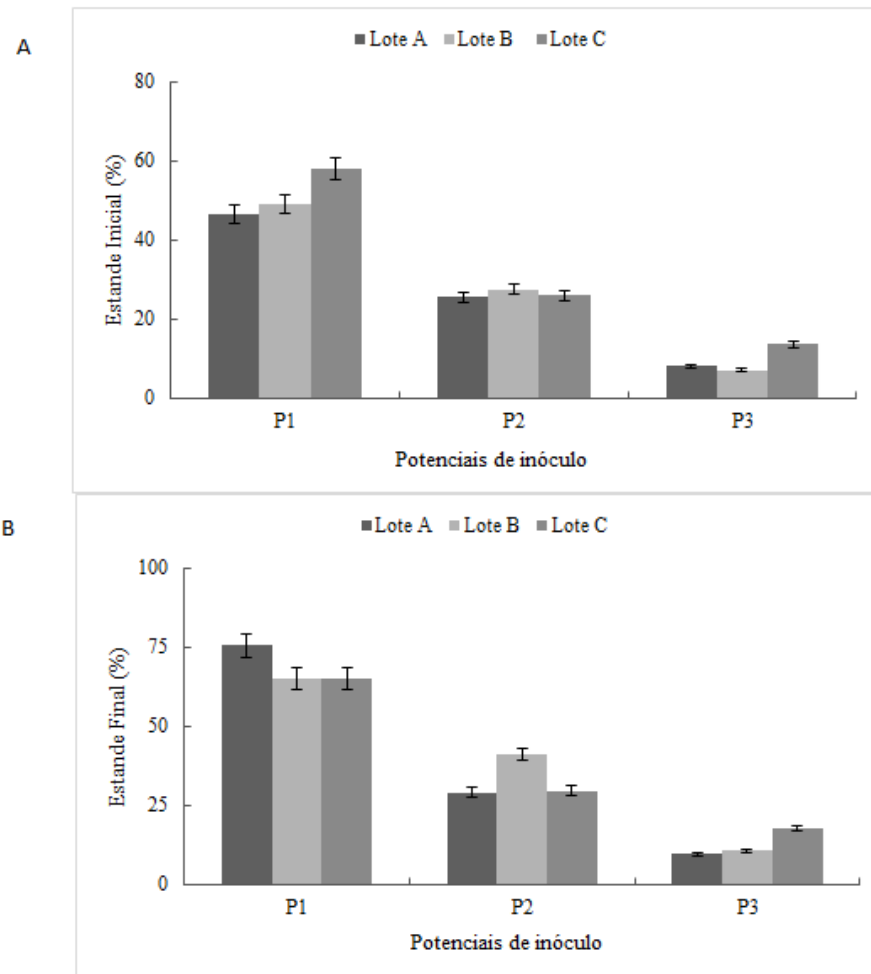


Figura 5- Efeitos dos diferentes potenciais de inóculo natural de *Drechslera oryzae* no percentual de Estande Inicial de plântulas arroz da cultivar Caravera. Escalas de notas: P1 (1% - 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes maior que 50% de cobertura da superfície com o fungo). Gráfico A: Estande inicial (%) e Gráfico B: Estande Final (%).

Em comparação com resultados de outros estudos realizados com este patossistema, verifica-se que houve uma clara similaridade dos resultados das variáveis utilizadas em comum nestes trabalhos, o que comprova a elevada eficácia da metodologia de condicionamento hídrico utilizada para estudos sobre a interação de *D. oryzae* e sementes de arroz, que visa obter sementes infectadas de maneira artificial com diferentes níveis de potencial de inóculo de patógenos em sementes de espécies susceptíveis.

Em relação ao Índice de velocidade de emergência (IVE), percebe se também que a nos níveis mais elevados de potencial de inóculo do patógeno nas sementes houve uma

redução da velocidade de emergência das plantas proporcional aos aumentos dos potenciais de inóculo (Figura 6). Os maiores índices de velocidade de emergência foram de 2,84 e 2,43 no lote C nos menores potenciais, seguido pelo Lote A com índice de 2,32 e 2,19. Em relação a altura de plantas avaliadas aos 28 dias após semeadura, as maiores reduções foram registradas em plantas oriundas de sementes categorizadas com a nota 3 (maior nível de potencial de inóculo). Em relação da análise de variância do peso da parte aérea das plantas não houve diferença significativa dos fatores (dados não demonstrados).

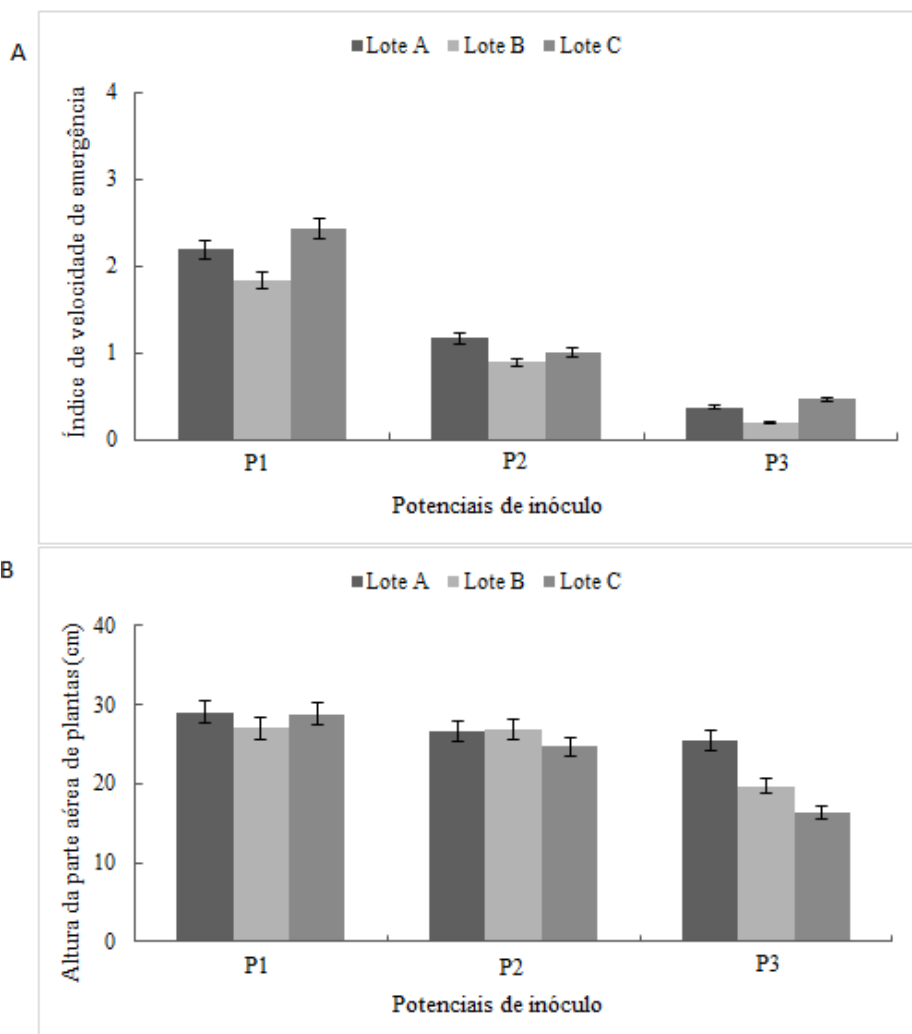


Figura 6- Valores médios de Índice de Velocidade de Emergência (gráfico A) e altura (gráfico B) de plantas provenientes de sementes de arroz, da cultivar Caravera, nos diferentes potenciais de inóculo natural. Escalas de notas: P1 (1% - 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes maior que 50% da superfície com estrutura fungica).

Referente ao índice de doença/dano avaliado neste ensaio, observa-se que os danos foram mais elevados nas sementes portadoras de *D. oryzae* em níveis de potencial de inóculo correspondente a nota 3, que representa semente com cobertura do fungo acima de 50%, sendo este o nível de potencial de inóculo mais elevado neste trabalho (Figura 7).

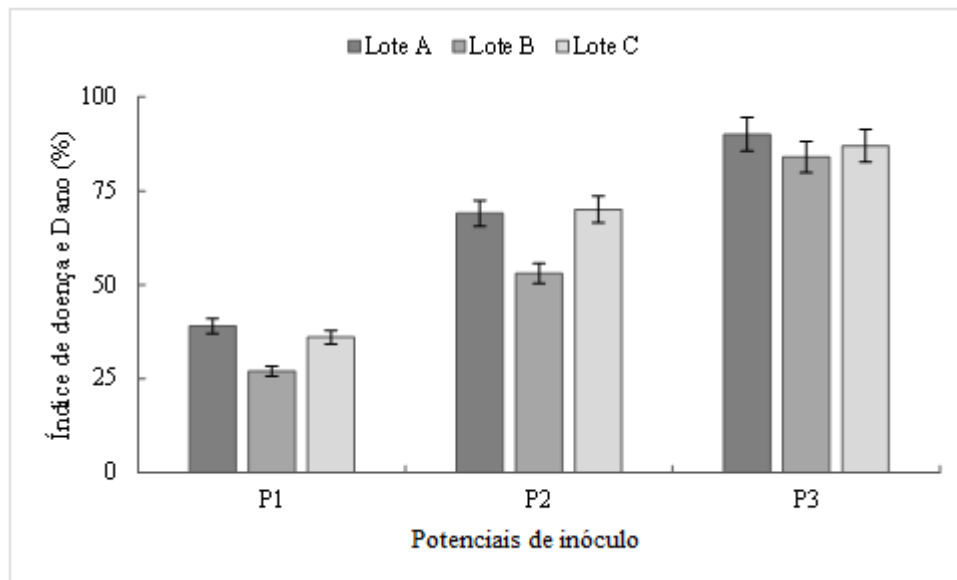


Figura 7- Índice de doença/dano de plantas provenientes de sementes de arroz, da cultivar Caravera, com diferentes potenciais de inóculo natural de *Drechslera oryzae* cultivadas em temperaturas de 20°C e 25°C. Escalas de notas: P1 (1% - 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (50% da superfície das sementes com estrutura fungica).

4.3 Taxa de transmissão de *Drechslera oryzae* de sementes oriundas dos diferentes lotes de arroz com diferentes potenciais de inóculo natural

As análises estatísticas dos resultados registrados nas avaliações de morte de sementes/ plântulas de arroz em pré emergência, plantas infectadas assintomáticas e taxa de transmissão total de *D. oryzae* demonstram diferenças significativas ($P \leq 0,05$) entre sementes e entre lotes de sementes de arroz, cultivar Caravera. Nos potenciais de inóculo mais elevados houve um correspondente aumento de morte de sementes/ plântulas na fase de pré emergência. Pela literatura, sabe-se que inúmeros fatores podem afetar a taxa de transmissão de patógenos em associação com sementes de espécies hospedeiras. O potencial de inóculo inicial de patógenos nas sementes é considerado, em geral, o fator que mais afeta o processo

de germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas antes da emergência TANAKA e MACHADO (1985). Nas plantas que foram classificadas como assintomáticas, observou-se que houve a detecção e ocorrência de *Drechslera oryzae*. Os maiores números ocorreram nos lotes A e B, sendo a porcentagem média de aproximadamente 10%.

A transmissão total de *Drechslera oryzae*, que é o somatório do percentual de sementes mortas em pré-emergência atribuída a ação direta do patógeno, percentual de plantas emergidas com sintomas típicos da doença e percentual de plantas assintomáticas portadoras do patógeno, a partir de sementes representantes de cada potencial de inóculo (Figura 8), foi crescente e proporcional aos valores de potencial de inóculo do patógeno. As taxas variaram em uma faixa de 60 a 90 %.

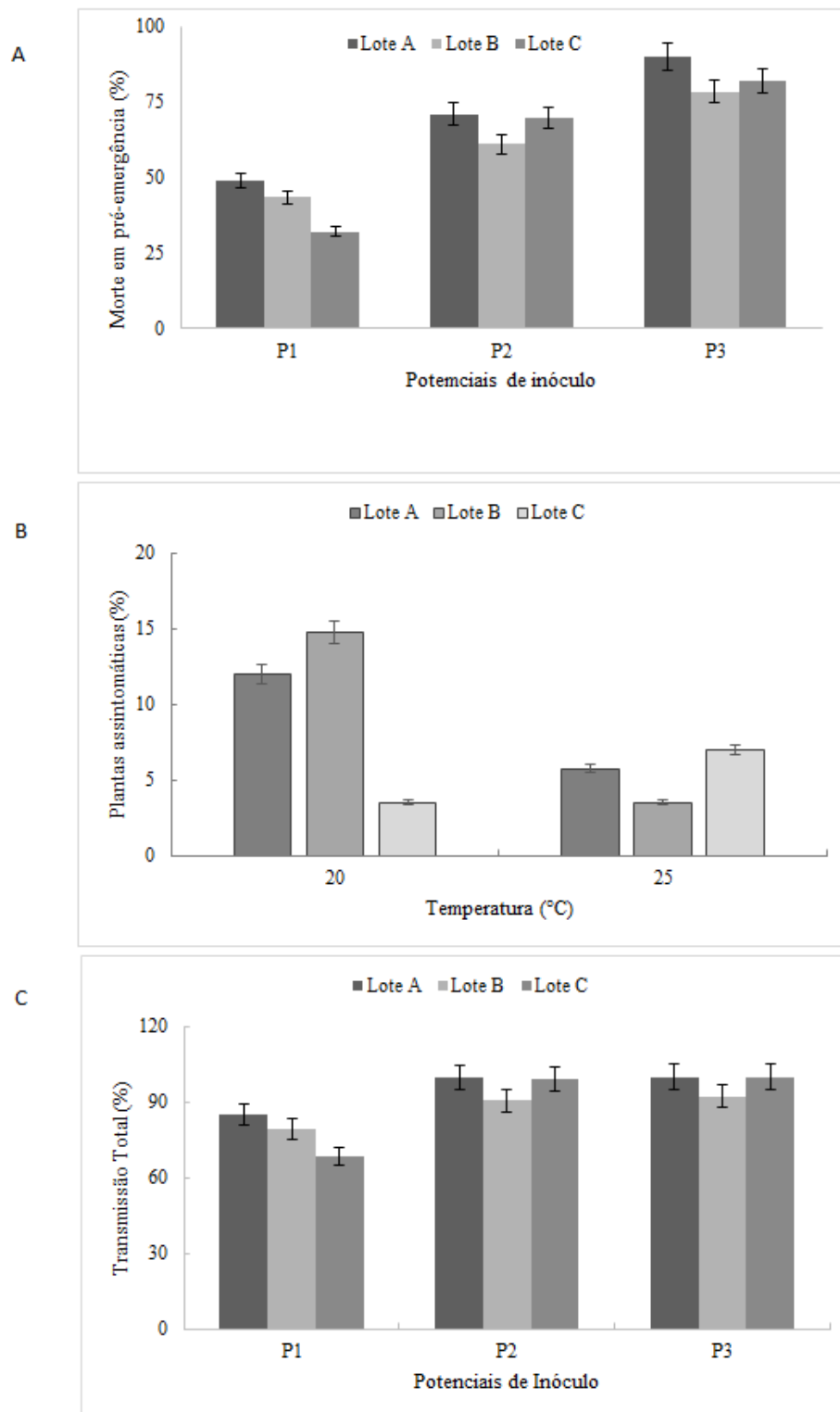


Figura 8- Avaliação de morte em pré-emergência (Gráfico A), plantas assintomáticas (Gráfico B) e taxa de transmissão total (Gráfico C), de plântulas dos diferentes lotes arroz, oriundas de sementes com diferentes potenciais de inóculo natural de *Drechslera oryzae*. Escalas de notas: P1 (1% - 10% da superfície das sementes com estrutura fungica), P2 (10% - 50% da superfície das sementes com estrutura fungica) e P3 (Sementes maior que 50% da superfície com fungo). Mantidas em temperaturas de 20°C e 25°C.

4.4 Variação de potencial de inóculo natural de *Phomopsis sojae* e efeitos dessa variação na qualidade dos diferentes lotes de sementes de soja

Na análise de variância dos níveis de potencial de inóculo de *Phomopsis sojae* nas sementes de soja observou-se diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre estes níveis dentro e entre lotes utilizados em estudo. Na Figura 9 é possível observar uma variação da presença do fungo em estudo entre os dois diferentes lotes da mesma cultivar de soja. No lote A, sementes provenientes de Minas Gerais, a presença do fungo nas sementes de soja foi de 12,37%; 11,87% e 12,37 para os potenciais P1 (nota 1), P2 (nota 2) e P3 (nota 3). No lote B (sementes oriundas do Mato grosso) a presença do patógeno foi 12,27%, 12,00% e 11,62% para os potenciais considerados neste estudo. É importante ressaltar que em trabalhos conduzidos por ALMEIDA et. al (1978); WETZEL e DIDONET (1984); e YORINORI e HOMECHIN (1977); sementes de soja que apresentaram elevados níveis de *Phomopsis sp.* causaram maiores danos a cultura.

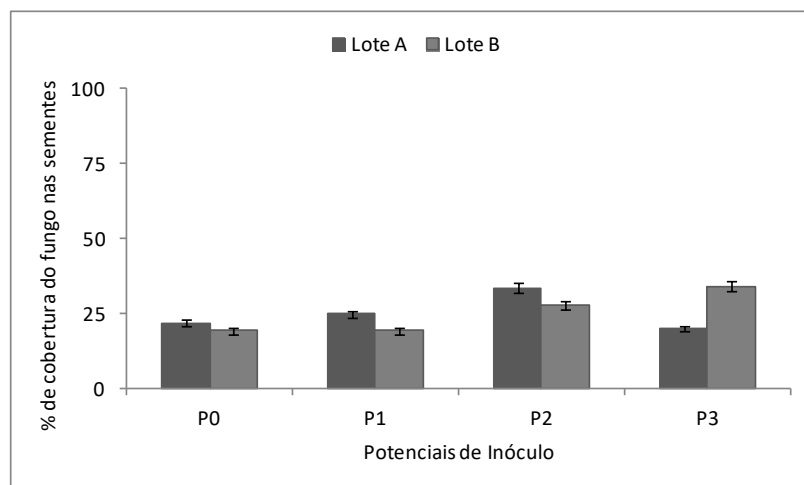


Figura 9- Percentual de cobertura natural de *Phomopsis sojae* encontrados nos diferentes lotes de sementes de soja da NS5445 IPRO Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo) e P3 (maior que 50% de intensidade de inóculo).

Com base nos resultados da porcentagem de germinação das sementes de soja foi possível observar uma redução na porcentagem desta variável proporcional aos níveis de potencial de inóculo de *P. sojae* (Figura 10). Neste caso observou-se que houve uma queda maior no lote A. Embora as metodologias de avaliação tenham sido diferentes, estes resultados confirmam estudos anteriores conduzidos por GOULART (1984); ATHOW & LAVIOLLETE, (1973); ELLIS SINCLAIR (1976); KEMETZ et al(1978); SINCLAIR

(1975); TENNE et al (1974); WALLEN & SEAMAN (1962); YORINORI (1982), que ressaltam a ocorrência de *Phomopsis sp* nas sementes de soja como um fator determinante de redução de qualidade das mesmas.

Na análise de condutividade elétrica (Figura 11) foi possível observar o aumento dos valores de exsudados liberados pelas sementes durante o teste, principalmente nos maiores potenciais. O Lote A apresentou um aumento na concentração dos exsudados na solução, este aumento pode ser atribuído a presença de *Phomopsis sojae* nas sementes, que desencadeou a desestruturação e perda da integridade do sistema de membranas celulares. No teste de envelhecimento acelerado, (dados não apresentados), observou-se um efeito drástico na germinação, devido às condições impostas pelo teste e aos potenciais encontrados; o percentual de germinação dos lotes foi igual a zero.

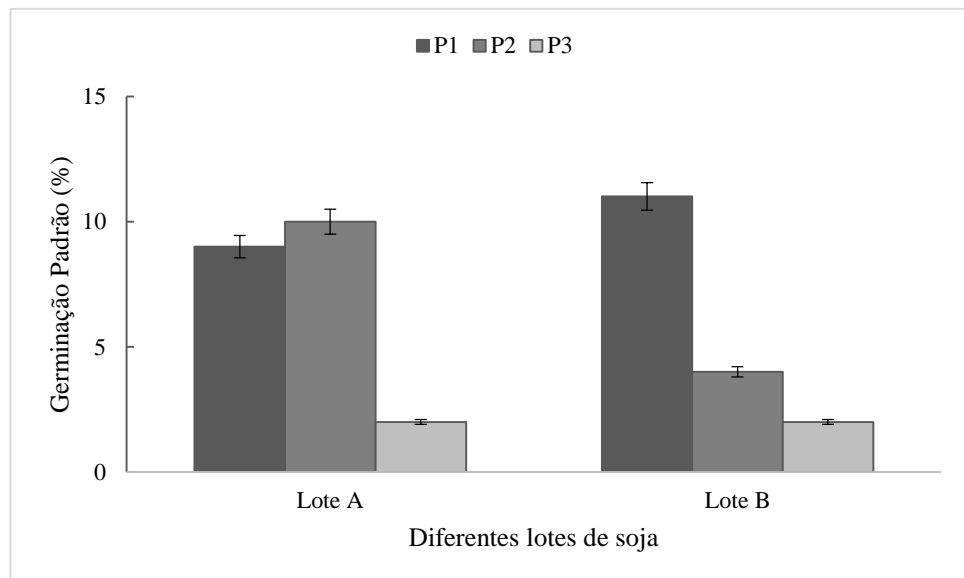


Figura 10- Percentual de sementes germinadas de soja em relação aos diferentes potenciais de inóculo natural *Phomopsis sojae* encontrados nos diferentes lotes da NS5445 IPRO Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo nas sementes) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo).

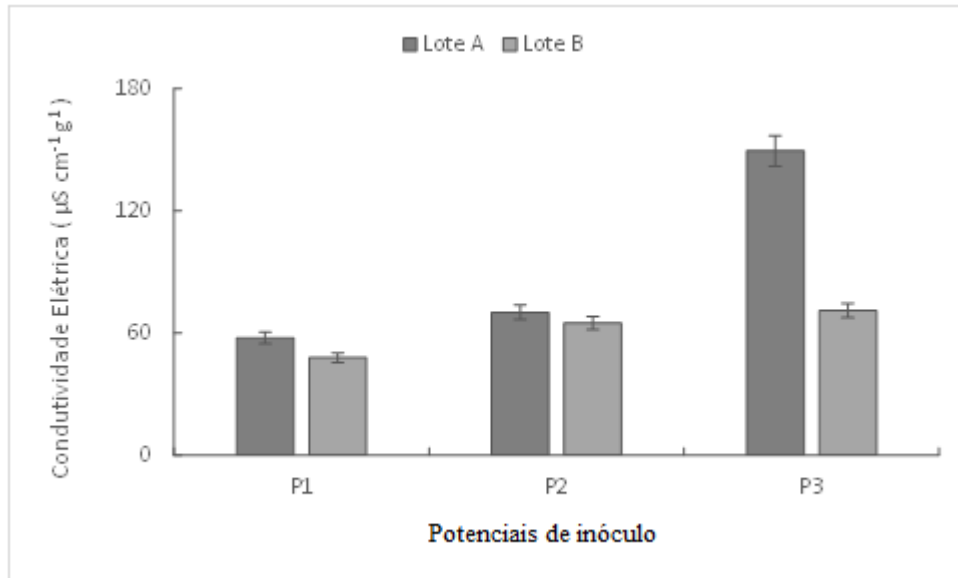


Figura 11- Valores médios de condutividade elétrica de soluções provenientes de sementes de soja em diferentes potenciais de inóculo natural *Phomopsis sojae* encontrados nos diferentes lotes de sementes da NS5445 IPRO Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo nas sementes), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo nas sementes) e P3 (Sementes maior que 50% intensidade de inóculo).

4.5 Efeitos dos diferentes níveis de potencial de inóculo natural de *Phomopsis sojae* no desempenho de sementes dos diferentes lotes de soja

Na avaliação do desempenho das plantas avaliadas pelo estande inicial e final, e altura, Figura 12 e 13, foi possível observar uma correlação, significativa ($P \leq 0,05$) dos potenciais de inóculo encontrados nas sementes para todos os lotes analisados. O estande final apresentou o mesmo padrão das plantas do estande inicial. Nota-se que com o aumento do potencial de inóculo do patógeno, houve uma queda no número de plantas de ambas variáveis analisadas. Em relação à altura, o valor médio no maior potencial, P3, foi aproximadamente 19 cm menor do que nas plantas oriundas de sementes sem a presença de *Phomopsis sojae* em ambos os lotes. Esse resultado corrobora com o trabalho de Goulart (1984), que estudando os efeitos de *Phomopsis sp.* constatou que a germinação e o desenvolvimento das plantas é mais afetado pela presença do patógeno em questão. O autor observou que o efeito de *Phomopsis sp.* sobre os estandes e a altura de planta por cultivar foi mais pronunciado nos lotes mais altamente contaminados com *Phomopsis sp.* De maneira geral a maioria das características analisadas mostrou uma redução nos parâmetros avaliados em função do aumento dos níveis de infecção de *Phomopsis sp.*

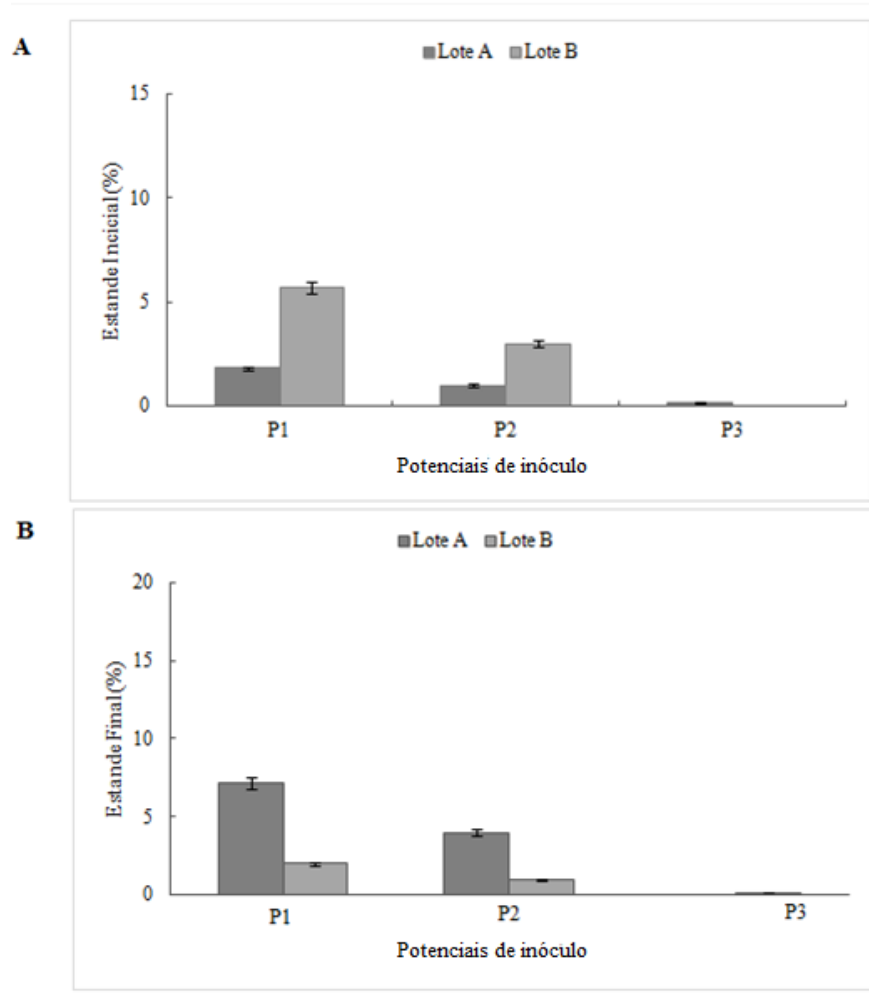


Figura 12- Efeitos dos diferentes potenciais de inóculo natural de *Phomopsis* no percentual de estande inicial de plântulas soja da NS5445 IPRO Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo sementes), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo nas sementes) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo). Gráfico A: Estande inicial (%) e Gráfico B: Estande Final (%).

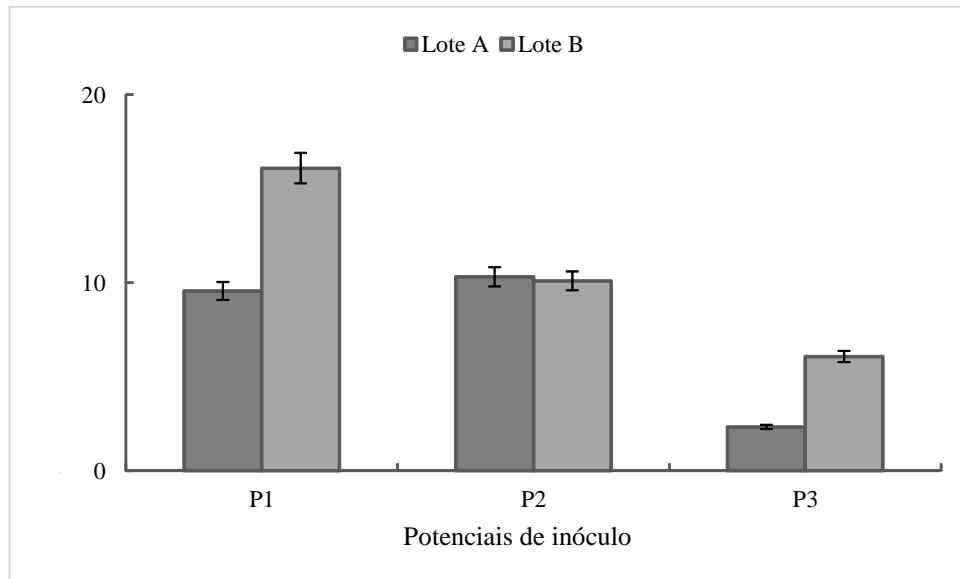


Figura 13- Altura da parte aérea de plantas provenientes de sementes de soja, da NS5445 IPRO nos diferentes potenciais de inóculo natural Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inóculo nas sementes), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo nas sementes) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo).

Pela análise do índice de doença/dano verificou-se diferença significativa ($P \leq 0,05$) nos potenciais de inóculo e nos lotes utilizados neste estudo. Tal índice foi maior nas plantas oriundas de sementes com potenciais de inoculo mais elevados, P2 e P3. Ainda de acordo com a Figura 14 observa-se que o maior índice de doença e dano foi detectado no lote A. Corroborando com estes resultados ATHOW e LAVIOLLETE (1973); SINCLAIR (1931) estudando a incidência de *Phomopsis sp.* afirmaram que a ocorrência do patógeno nas sementes é um fator que prejudica a qualidade das mesmas.

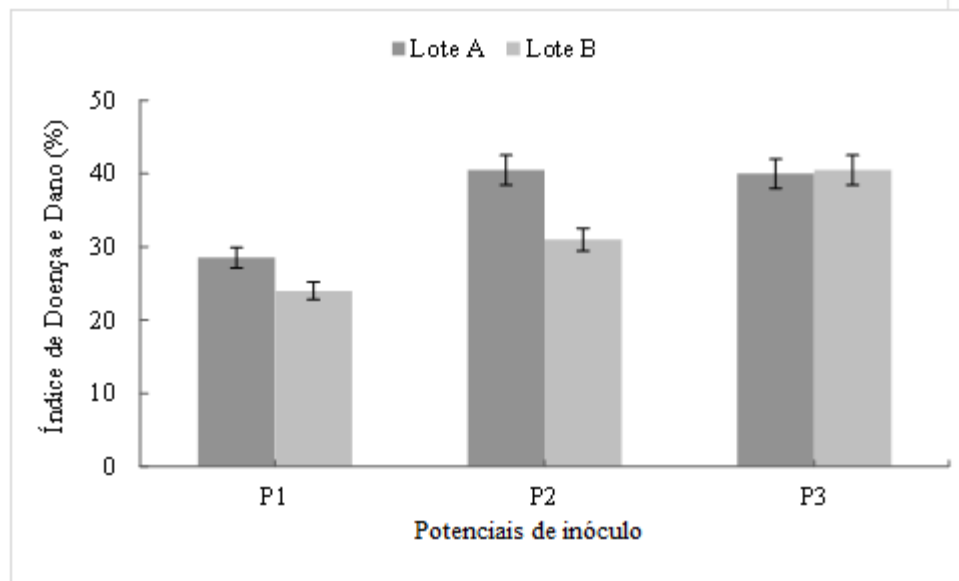


Figura 14- Índice de doença e dano de plantas provenientes de sementes de soja, da cultivar NS5445 IPRO com diferentes potenciais de inóculo natural de *Phomopsis sojae*. Escalas de notas: P1 (1% - 10% de intensidade de inoculo nas sementes), P2 (10% - 50% de intensidade de inóculo nas sementes) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo).

4.6 Taxa de transmissão de *Phomopsis sojae* de sementes oriundas dos diferentes lotes de soja com diferentes potenciais de inóculo natural

Pela análise das variáveis utilizadas neste ensaio, nota-se que foram detectadas diferenças estatísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre e dentro dos lotes de sementes de soja (Figura 15). Com o aumento do potencial de inóculo de *Phomopsis sojae* houve um aumento da morte de sementes/ plântulas em pré emergência. Segundo Tanaka e Machado (1985), a quantidade de inóculo na semente influencia a germinação e a transmissão de patógenos. A associação desses patógenos com as sementes pode causar morte em pré e pós – emergência de plântulas, e com isso reduzir o estande.

Nas plantas assintomáticas, *Phomopsis sojae* foi detectado em tecidos de algumas plantas oriundas de sementes que estavam portando o patógeno. O maior número de plantas assintomáticas ocorreu no lote A no potencial de inóculo P1, que representa entre 1 e 10% de presença do patógeno na superfície das sementes, seguido pelo P2 onde as sementes estão com cobertura fungica entre 11 e 50% e P3 (>50%).

A transmissão total de *Phomopsis sojae* a partir de sementes às plantas emergidas foi observada e confirmada com a presença do fungo nos tecidos das plantas isolado em laboratórios. De acordo com estas observações verificou que a taxa de transmissão foi maior

nas plantas oriundas de sementes com elevada cobertura do fungo na superfície das sementes em todos os lotes avaliados (Figura 15).

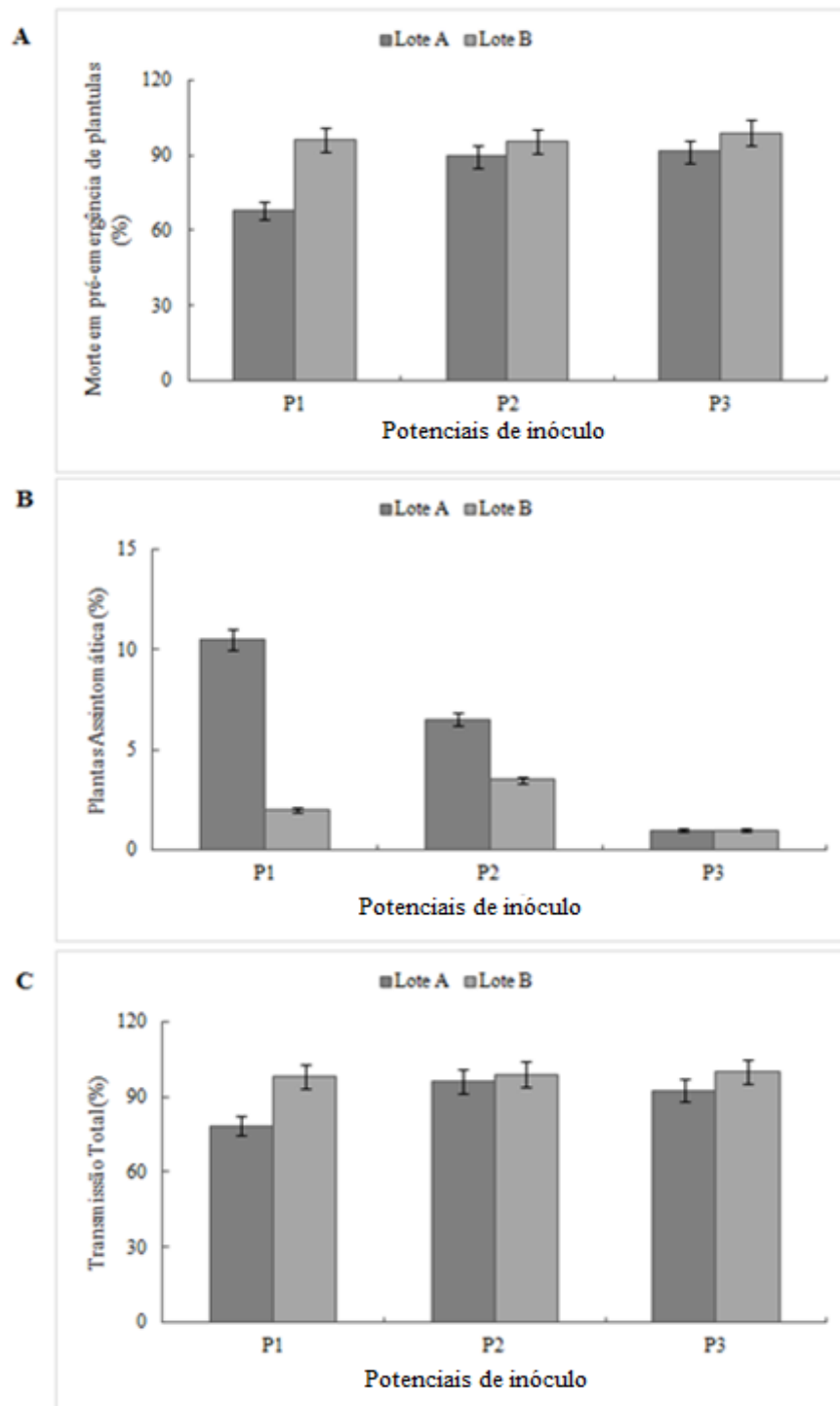


Figura 15- Avaliação de morte em pré-emergência (Gráfico A), plantas assintomáticas (Gráfico B) e taxa de transmissão total (Gráfico C), de plântulas dos diferentes lotes soja, oriundas de sementes com diferentes potenciais de inóculo natural de *Phomopsis sojae*. Escalas de notas: P1 (1% - 10% de fungo nas sementes), P2 (10% - 50% de fungo das sementes) e P3 (Sementes maior que 50% de intensidade de inóculo). Mantidas em temperaturas de 20°C e 25°C.

Ficou evidente que a medida em que o potencial de inóculo aumenta os valores de germinação diminuem, como resultados obtidos em estudos com outros patossistemas como *Stenocarpella maydis* (GUIMARÃES et al., 2017), *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em sementes de milho, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodão e *Corynespora cassiicola* em soja (GUIMARÃES et al., 2017), *Sclerotinia sclerotiorum* e *Colletotrichum truncatum*, em soja (BOTELHO et al., 2013; MACHADO et al., 2001a) e em sementes de feijão com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (COSTA et al., 2003).

Em relação a condutividade elétrica foi possível observar que os maiores potenciais de inóculo proporcionaram maiores resultados de condutividade elétrica. Menores valores correspondem a menor liberação de exsudatos, conseqüentemente há uma maior organização do sistema de membrana das células e vigor das sementes (GUIMARÃES et al., 2017). Pesquisas realizadas com sementes de várias espécies têm demonstrado que o decréscimo na germinação e no vigor é diretamente proporcional ao aumento da lixiviação de solutos (MENEZES et al., 2011; BOTELHO, 2011; SIQUEIRA, 2014).

Em estudos com *Sclerotinia sclerotiorum* em feijão, *Stenocarpella maydis* em milho, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodão e *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de girassol, foi possível observar reduções do IVE, estande inicial, estande final. (BOTELHO, 2013; SIQUEIRA, 2013; ARAÚJO, 2006; ZANCAN, 2013). Os resultados obtidos por esses pesquisadores foram inversamente proporcionais aos potenciais de inóculo obtidos por diferentes tempos de contato com as sementes, ficou evidente que o potencial inóculo do patógeno quando está em associação com as sementes, por meio do micélio dormente, pode ocasionar danos afetando o desempenho destas em campo.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Em Patologia de Sementes diversos fatores podem interferir no grau de interação entre patógenos e sementes. Os resultados dos testes de sanidade usualmente utilizados não indicam a intensidade ou potencial de inóculo dos patógenos de maneira individual dentro de um mesmo lote, mas sim a incidência desses patógenos nos lotes analisados. Os resultados obtidos neste trabalho demonstram claramente que o potencial de inóculo de patógenos nas sementes é um assunto extremamente relevante e que requer estudos mais detalhados devido aos efeitos negativos que este fator pode provocar na prática.

É importante destacar que embora a incidência dos patógenos estudados tenham sido semelhantes numericamente em alguns lotes observou-se que os níveis de potencial de inóculo destes organismos variaram intensamente abrangendo todos valores estabelecidos em uma escala de 3 níveis ou notas de intensidade de inóculo. O grau de variação dos potenciais de inóculo foi variável entre os lotes de uma mesma cultivar.

Os níveis de potencial de inóculo neste trabalho variaram em diferentes graus dentro e entre os lotes estudados. Havendo diferença de predominância de potencial, ocorrendo por exemplo, diferenças de porcentagem entre potencial mais baixo e mais alto em todos os lotes utilizados.

Em todas avaliações de desempenho de sementes infectadas naturalmente pelos patógenos em estudo os efeitos desses agentes foram mais drásticos nos maiores potenciais de inóculo, e nesses potenciais as taxas de transmissão foram também mais elevadas e proporcionais aos valores dessas variáveis

Com esses resultados fica claro que há diferença de potencial de inóculo natural dentro e entre lotes de sementes e esses podem afetar o desempenho das plantas emergidas. Quanto maior o potencial de inóculo do patógeno nas sementes, maiores são os efeitos negativos causados nas plantas. Baseado nisso, faz-se necessário o estudo mais detalhado sobre a diferença de potencial de inóculo nas sementes, dentro e em lotes distintos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. M. R.; MACHADO, C. C.; ANTONIO, H.; YAMASHITA, J.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; HOMECHIM, M. Levantamento de Patógenos transmissíveis pela semente de soja. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa da Soja. Londrina – PR. **Resultado de Pesquisa Soja 1977/1978**. Londrina, 1978. p.220-4.
- ATHOW, K. L.; LAVIOLLETTE, F.A. Prod Protection effects on soybean seed germination and infection with *Dhiaporthe phaseolorum* var. *sojae* and other microorganisms. *Phytopathology*, St. Paul, 63 (8): 021-23, Aug. 1973.
- BARROCAS, E. N. et al. Desempenho de sementes de algodão submetidas à deficiência hídrica e presença de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 2, p. 421-428, mar./abr. 2014.
- BARROCAS, E.N. Efeitos de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes e plantas de algodoeiro e detecção, por meio de pcr, de *Stenocarpella sp* em sementes de milho inoculadas. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, 2008.
- BOTELHO, L.S.; ZANCAN, W. L.A.; MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N. Performance of common bean seeds infected by the fungus *sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, Londrina, v.35, n. 2. P. 153 -160, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009a. 399p.
- CASTRO, E.M.; Vieira, N.R.A.; Rabelo, R.R.; Silva, S.A. Qualidade de grãos em arroz. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 1999, 30p. (Circular Técnica, 34)
- CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**: volume 2. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 33- 48.
- COMPANHIA Nacional de Abastecimento CONAB- **Acomp. safra bras. grãos**, v. 6 - Safra 2018/19 - Décimo primeiro levantamento, Brasília, p. 1-104 agosto 2019
- COMPANHIA Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. – v. 1, n.1 (2013-) – Brasília: Conab, 2013- v. Mensal. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 30 agosto 2018.
- COUTINHO, WIRTON MACEDO et al. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio agar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 127-135, 2001.
- DALLAGNOLI LJ, Navarini L, Balardin RS, Gosenheimer A, Maffini A (2006) Dano das doenças foliares na cultura do arroz irrigado e eficiência de controle dos fungicidas. **Revista Brasileira de Agrociência** 12, 313-318.

DE FARIAS, C.R. J; AFONSO, A.P.S; BRANÇÃO, M.F; PLEROBOM, C.R. Incidência de fungos associados a semente de arroz em seis regiões produtoras do Rio Grande do Sul. **R. Bras. Agrocência**, Pelotas, v.13, n.4, p.487-490, out-dez, 2007).

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GADAGA, S.J.C. Nível de interação de *Colletotrichum lindemuthianum* (raça 65) em de sementes de feijão e sua detecção pela técnica de PCR. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, 2017.

GOULART, A. C. Fungos em Sementes de Soja: Detecção e Importância. **Embrapa-cpao. Documentos**, 11. Dourados. 2ed. MS. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/> Acesso: 28 de Abril de 2018. P. 12. 2018b.

GOULART, A. C. P. Avaliação do nível de ocorrência e efeitos de *Phomopsis sp.* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)[fungo]. 1984

GROTH, D. E.; RUSH, M. C.; HOLLIER, C. A. Rice diseases and disorders in Louisiana. Baton rouge: **Louisiana Agricultural Experiment station**, 1991. 37p. (Bulletin, 828).

GUIMARÃES, M.R.F. Avaliação do potencial de inoculo de patógenos em sementes: sua relação com qualidade fisiológica e quantificação do DNA fúngico por qPCR. **Journal of Seed Science**, v.39, n.3, p.224-233, 2017.

HABIB, A.; JAVED, N.; SAHI, S. T.; WAHEED, M. Detection of seed borne mycoflora of different coarse and fine rice varieties and their management through seed treatments. **Pakistan Journal of Phytopathology**, v.24, n.2, p.133-136, 2012

HENNING, ADEMIR ASSIS. Patologia e tratamento de semente: Noções gerais. **Embrapa Soja Documentos**, 264. Londrina, PR, 2a Ed. 2005. Pp.17-18.

ILLIPRONTI JR, R. A.1997. Variation in quality of individual seeds within a seed lot of soybean [*Glycine max* (L) Merrill]. Doctoral thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands, X + 157 pp.

KATSURAYAMA, A.M; TANIWAKI, M.H. **Braz. J. Food Technol.** vol 20. Campinas 2017 Epub May 22, 2017.

KAWASAKI, V.H. Uso de restritores hídricos na detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão, soja e algodão pelo método de incubação em meio Ágar – Azul de Bromofenol (NEON). Tese Mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2010.

KIMATI, H; AMORIM, L; BERGAMIN, A et al. Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas Cultivadas.v.2.ed. **Agronômica ceres Lda**. São Paulo. 4 edições. Pp. 516, 596. 1997.

KRZYŻANOWKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 218 p. 1999

KUMARI, S.; KUMAR, A.; RANI, S. Morphological characterization of *Bipolaris oryzae* causing brown spot of paddy in bihar. **International Education & Research Journal**, v. 1, n. 5, p. 84-87, 2015.

MACHADO, J. C., BARROCAS, E. N., COSTA, M. L. N., GUIMARÃES, R. M., MACHADO, C. F. **Uso da técnica de restrição hídrica ou “Condicionamento Osmótico” em patologia de sementes.** RAPP., v. 20, 2011.

MACHADO, J. C.; POZZA, E. A. **Razões e procedimentos para o estabelecimento de padrões de tolerância a patógenos em sementes.** In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Sementes: qualidade fito sanitária.** Viçosa: Editora da UFV, 2005. p. 375-398.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças.** Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000.138 p.

MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N.; COSTA, M.L.N.; GUIMARÃES, R.M; MACHADO, C. **Uso da técnica de restrição hídrica ou condicionamento osmótico em patologia de sementes.** **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.20, p.37-63, 2012.

MACHADO, José da Cruz et al. Inoculum potential of *Fusarium verticillioides* and performance of maize seeds. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 213 – 217, 2013.

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

MARIO, J. L.; REIS, E. M. Método simples para diferenciar *Diplodia macrospora* de *D. maydis* em testes de patologia de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 670-672, jun. 2001.

MEYER, M.; CAMPOS, H.D. Guerra ao mofo. **Revista Cultivar**, Pelotas, n.120, p.16-18, 2009.

NEERGAARD, Paul. **Seed Pathology: Volumes 1 and 2.** Macmillan International Higher Education, 2017.

PARAGINSKI, R. T.; ZIEGLER, V.; TALHAMENTO, A.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M. Propriedades tecnológicas e de cocção em grãos de arroz condicionados em diferentes temperaturas antes da parboilização. **Brasilian Journal of Food Technology**, v.17, n.2 p. 146–153, 2014

PHAT CT, DUONG NT, Du LT (2005) **Influence of grain discoloration to seed quality.** Omonrice 13, 139-144. Short Communication.

PRABHU, A. S.; VIEIRA, NR de A. Sementes de arroz infectadas por *Drechslera oryzae*: germinação, transmissão e controle. **EMBRAPA-CNPAF. Boletim de pesquisa**, 1989.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Arroz (*Oryza sativa* L.) Controle de doenças. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas: grandes culturas.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p.51-79.

QUINTANA, L.; GUTIÉRREZ, S.; ARRIOLA, M.; MORINIGO, K.; ORTIZ, A. Rice brown spot *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker in Paraguay. **Tropical Plant Research**, v.4, n.3, p.419–420, 2017.

SILVA-LOBO, VALACIA LEMES. **Manual de identificação de doenças da cultura do arroz** / VALACIA LEMES SILVA-LOBO, MARTA CRISTINA CORSI DE FILIPPI. BRASÍLIA, DF : Embrapa, 2017.

SINCLAIR, J.B. e.d. **Compendium of Soybean Diseases**, Minnesota, Amer. Phytopathol. Soc. 1975. 69p.

SINCLAIR, J.B.; Backman, P.A. **Compendium of soybean diseases**. 3^a. ed. St. Paul: APS Press, 1989. 106p.

SIQUEIRA, C.S. Transmissão e desempenho de sementes de milho portadoras do complexo *Stenocarpella* sob condições controladas. Tese Doutorado. Universidade Federal de Lavras, 2013.

SIQUEIRA, C.S.; MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N.; ALMEIDA, M.F. Potencial de transmissão de *Stenocarpella macrospora* de sementes inoculadas para plantas de milho cultivadas em condições controladas. **Journal of Seed Science**, v.36, n.2, p.154-161, 2014.

TANAKA, M. A. S.; MACHADO, J. da C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, v. 11, n. 122, p. 40-46, 1985.

TORMEN, NÉDIO RODRIGO. Incidência da seca da haste da soja (*Diaporthe phaseolorum var. sojae*) em função do espaçamento entre linhas, cultivar e aplicação de fungicida. 2004. 12p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitopatologia). Universidade de Brasília. Brasília. 2014.

WETZEL, M. M. V. da. S. e DIDONET, H. R. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja em Barra do Garça, M. T.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, 9 (2): 379, jun. 1984. (Resumo).

YORINORI, J. T. e HOMECHIN, M. **Doenças da soja identificadas no Estado do Paraná no período de 1971 a 1976.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, 2(1): 08 jan. 1977. (Resumo).

ZANCAN, W. L. A. et al. Relationship between mycelial inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* and performance of sunflower seeds under controlled conditions." **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 3, p. 775-784, maio/jun. 2015.