

**Análise do efeito do rasgo no tegumento sobre a patologia e qualidade fisiológica de sementes de soja**

**BRUNA RIBEIRO MACHADO**  
Eng<sup>a</sup>. Agrônoma

**BRUNA RIBEIRO MACHADO**

**ANÁLISE DO EFEITO DO RASGO NO TEGUMENTO SOBRE A  
PATOLOGIA E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

Orientador: Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí – GO  
2017



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PROTEÇÃO DE PLANTAS

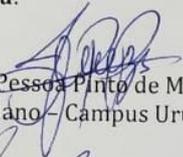
## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

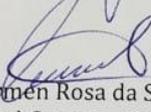
**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Análise do efeito do rasgo no tegumento sobre a patologia e qualidade fisiológica de sementes de soja.

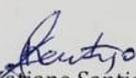
**AUTORA:** Bruna Ribeiro Machado

Dissertação defendida e aprovada como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Proteção de Plantas.

**Banca Examinadora:**

  
Prof. Dr. Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes (orientador)  
Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí

  
Prof.ª Dra. Cammen Rosa da Silva Curvêlo  
Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí

  
Prof.ª Dra. Kátiane Santiago Silva Benett  
Universidade Estadual de Goiás - Ipameri

**Urutaí, 11 de junho de 2018**

  
ppgpp.urt@ifgoiano.edu.br

  
(64) 3465-1912

RODOVIA GERALDO S. NASCIMENTO,  
KM 2,5  
CEP 75790-000, URUTAÍ - GO  
[www.ifgoiano.edu.br/urutai](http://www.ifgoiano.edu.br/urutai)

  
**INSTITUTO  
FEDERAL**  
Goiano

**DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Adriano e Idê pela persistência, pelo incentivo, pelo amor e carinho e por sempre estarem ao meu lado. A toda minha família.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por colocar essa oportunidade na minha vida, fazendo com que eu aprendesse a não desistir.

Aos meus pais pela insistência, pelo apoio para que eu nunca desistisse, pelo amor, pelo carinho, pela compreensão nos momentos difíceis.

Ao meu marido Paulo Vinicius de Sousa pela ajuda nos momentos mais complicados, pelo amor, pela dedicação, pela compreensão e pela companhia nos momentos mais felizes.

A empresa Nidera Sementes, na pessoa da coordenadora Ana Paula Campos Caixeta, pela oportunidade, pelo incentivo a pesquisa e pelo apoio.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo, principalmente a Lara Bernardes pela imensa ajuda na execução do projeto.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação do Instituto Federal Goiano campus-Urutaí.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
INTRODUÇÃO .....	1
OBJETIVOS.....	3
MATERIAL E MÉTODOS .....	4
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	7
CONCLUSÕES .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
REFERÊNCIAS .....	7
APÊNDICES .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
ANEXOS.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

## RESUMO

A frequência de rasgo no tegumento é um advento bastante frequente em sementes de algumas cultivares de soja, não se sabendo ao certo seu impacto na fisiologia e sanidade das sementes. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do rasgo no tegumento de sementes de soja (*Glycine max*) sobre a patologia e qualidade fisiológica. Utilizou-se as cultivares NS 8338 IPRO (com maior incidência de rasgo no tegumento) e NS 6906 IPRO (com menor incidência de rasgo no tegumento) de soja. O experimento em delineamento inteiramente casualizado utilizando as metodologias propostas pela RAS. Avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes através do teste de tetrazólio antes e depois do armazenamento; e a qualidade sanitária por meio do “Blotter Test”. O rasgo no tegumento da semente de soja contribuiu para que o dano por umidade afetasse a parte interna da semente. A incidência de *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp. foi relevante tanto nas sementes com presença de rasgo, quanto nas sementes sem a presença do rasgo (em torno de 9-10%), porém não interferiu na qualidade da semente. A presença do rasgo no tegumento é crucial no aumento de danos por umidade e não serviu de porta de entrada para os fungos que causem prejuízos na emergência da semente.

**Palavras-chave:** avaliação fisiológica; avaliação sanitária; fungos.

## ABSTRACT

The frequency of tegument rupture is a fairly frequent advent in the seeds of some soybean cultivars, and their impact on seed physiology and sanity is uncertain. The objective of this work was to analyze the effect of tear on soybean seed coat (*Glycine max*) on pathology and physiological quality. The cultivars NS 8338 IPRO (with higher incidence of tegument trait) and NS 6906 IPRO (with lower incidence of tegument trait) were used. The experiment in a completely randomized design using the methodologies proposed by RAS. Physiological quality was assessed by tetrazolium test before and after storage; and sanitary quality through the "Blotter Test". Tear in the seed coat of soybean contributed to the damage by moisture affecting the inner part of the seed. The incidence of *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. was relevant in seeds with presence and trait, and in seeds without presence of the trait (around 9-10%), but did not interfere in seed quality. The presence of tear in the integument is crucial in increasing moisture damage and did not serve as a gateway to the fungi that cause damage to seed emergence.

**Key words:** seed; feature; physiological evaluation; health evaluation; fungi..

## INTRODUÇÃO

A semente de soja (*Glycine max* - Fabaceae) é um produto de grande importância tecnológica no sistema produtivo, atuando no mercado agrícola como protagonista da implementação de inovações que chega ao agricultor como garantia máxima (PINTO et al., 2007). A qualidade das sementes garante uma série de características economicamente viáveis como, sanidade, maior valor nutricional, adaptação às condições adversas de clima e solo, assim como maior capacidade de germinação dos genótipos (KRZYZANOWSKI, 2004).

Garantir um sistema de produção de sementes de qualidade não é uma tarefa fácil, pois este sistema pode ser afetado por fatores genéticos, ataques de pragas e microrganismos, danos mecânicos nos processos de colheita, beneficiamento e armazenamento (SOUZA & MARCOS-FILHO, 2001). Além disso, as sementes podem servir de veículos para dispersão de agentes fitopatogênicos, provocando redução da germinação e vigor, assim como, inserção de focos primários para desenvolvimento de epidemias. Na cultura da soja algumas doenças causadas por fungos como, Antracnose (*Colletotrichum truncatum*), Mancha Púrpura (*Cercospora kikuchii*), Mancha olho de rã (*Cercospora sojina*), Míldio (*Peronospora manshurica*), Mofo Branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), Seca da haste e da vagem (*Phomopsis* spp.); as bacterioses: Crestamento bacteriano (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*), Fogo selvagem (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*), Pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*), Mancha bacteriana marrom (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens*), e o Mosaico comum da soja (Soybean Mosaic Virus – SMV), uma virose, que foi introduzido no Brasil por meio de sementes infectadas (HENNING et al., 2014), geram preocupação pois todas essas são doenças de importância econômica e são transmitidas pelas sementes (GOULART, 2005).

O tegumento da semente tem papel preventivo importante, uma vez que é um envoltório protetor associado ao vigor e longevidade para a soja. Problemas físicos e fisiológicos das sementes estão associados, contribuem em grande parte, com as características específicas do tegumento. Por exemplo, a susceptibilidade a danos mecânicos está associada ao seu teor de lignina, enquanto que a longevidade e o potencial de deterioração no campo têm sido relacionados ao grau de permeabilidade do tegumento (SOUZA; MARCUS FILHO, 2001). Segundo Mertz et al. (2009), com um tegumento semipermeável a semente torna-se menos suscetível à deterioração, menor incidência de

patógenos transmitidos por sementes, maior potencial de armazenamento, maior resistência ao dano mecânico e menor índice de ocorrência de danos causados por percevejos.

O rasgo em soja é definido como um defeito fisiológico da semente, verificado na fase reprodutiva R6, explicado pela lise do tegumento provocada pela rápida turgidez das células da semente em função do excesso de água. O rasgo sofre as consequências da deterioração por umidade, mas não é oriundo dela, podendo no início estar apenas ao nível de cotilédones, mas com o avançar da armazenagem, dependendo da umidade a que as sementes estejam submetidas em campo, poderá se alongar até a ponta do cilindro central e inviabilizar as células iniciais, importantes para a protusão de radícula (ZORATO, 2017). Ainda segundo o autor, outros danos são observados no tegumento como as estrias, que formam rachaduras menores nos tegumentos, produzidas por excesso de expansão e retração dos cotilédones, quando em presença de chuvas próximas as colheitas, e também os enrugamentos sobre cotilédones ou eixo embrionário, os quais, dependendo da profundidade do sulco formado, vão carrear reduções de vigor e viabilidade ou germinação.

Informações acerca dos efeitos do rasgo no tegumento das sementes de soja ainda são incipientes, demonstrando a necessidade de estudos complementares. Desta maneira, este trabalho foi desenvolvido para testar a hipótese que o rasgo no tegumento da semente de soja serve como porta de entrada para a deterioração por umidade e favorabilidade para desenvolvimento de fungos de armazenamento, podendo inviabilizar a germinação e prejudicar estruturas germinativas vitais.

## OBJETIVOS

### Geral

- Avaliar o efeito do rasgo no tegumento sobre a qualidade fisiológica e patologia de sementes de soja

### Específicos

- Determinar a deterioração por umidade nas sementes com rasgo após a colheita e após o armazenamento
- Determinar a incidência de fungos de armazenamento e sua influência na germinação das sementes com rasgo

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análises de Sementes da empresa Nidera Sementes, em Cristalina-GO, de Tecnologia de Sementes e de Fitopatologia, do Instituto Federal Goiano campus Urutaí – GO.

As sementes foram avaliadas logo após do processo de colheita e beneficiamento (mês de abril/2017) e após seis meses (mês de outubro/2017) período de armazenamento onde ficaram em armazéns refrigerados, com temperatura controlada entre 10°C e 12°C e a umidade relativa entre 50% e 60%, tendo desta forma o tratamento pré (PrA) e pós armazenamento (PA), respectivamente. Estes momentos foram definidos para analisar a evolução do dano por umidade que fica armazenada entre o período do beneficiamento até o momento do plantio.

O genótipo de soja selecionado para o estudo da qualidade fisiológica foi NS 8338 IPRO, devido a alta taxa de rasgo apresentado logo após a colheita, 37%. Este genótipo possui a tecnologia Intacta RR2 PROTM, que controla a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*), falsa medideira (*Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu*) e lagarta da maçã (*Heliothis virescens*) e tem supressão para a lagarta elasmó (*Elasmopalpus lignosellus*) e lagarta Helicoverpa (*Helicoverpa zea* e *Helicoverpa armigera*), além de ter tolerância ao herbicida glifosato, crescimento determinado, alta capacidade de engalhamento, para a região Centro-Oeste possui um ciclo que pode variar de 115 a 125 dias, sua população pode ser de 280 mil a 320 mil plantas/ha, dependendo da altitude. Para cada período de armazenamento avaliamos sementes com 0 % de rasgo no tegumento (testemunha); até 10 %, que é o limite tolerado pela empresa; e acima de 10 %, não tolerado. A determinação da porcentagem do rasgo no tegumento foi realizada a partir de uma amostra de 1kg de cada lote tirando duas repetições de 100 sementes. Os critérios utilizados para determinar a porcentagem foram estabelecidos pela empresa Nidera.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os procedimentos de avaliação da qualidade fisiológica de patologia das sementes de acordo com o Manual de análise de sementes Brasil (2009).

A avaliação do efeito do rasgo do tegumento no processo de deterioração por umidade nas sementes de soja foi realizada usando o teste de tetrazólio antes e depois do armazenamento das sementes com 0 %, 10 % e >10 % de rasgo. Este teste permitiu avaliar a

viabilidade e o vigor do lote de sementes, além de informar sobre possíveis danos, como danos por percevejos, danos mecânicos e danos por umidade (COSTA et al., 1998).

Para o teste de tetrazólio foi utilizado um total de 200 sementes por tratamento, sendo quatro repetições de 50 sementes para cada. As sementes testadas foram pré-condicionadas em papel germitest umedecido, com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso, durante 16 horas, em temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram colocadas em copos de Becker com uma solução de concentração de 0,1 % de 2,3,5-trifenil-cloreto-de-tetrazólio. Depois foram mantidas no escuro, em estufa à 35 °C, por três horas para o desenvolvimento da coloração e lavada em água corrente para avaliação.

As sementes foram avaliadas uma a uma, seccionando-as longitudinalmente através do centro do eixo embrionário com o auxílio de uma lâmina de barbear. Assim, as metades foram separadas, sendo o tegumento removido para que a superfície externa dos cotilédones seja exposta. Com isso os danos por umidade foram observados e classificados seguindo o padrão de coloração e notas de Costa et al. (1998) (Tabela 1).

Após a avaliação, determinou-se a porcentagem das sementes classificadas em cada nível de viabilidade, calculando o potencial de germinação (somatório dos valores classificados nas classes 1 a 5) e o vigor (somatório das classes 1 a 3). Também foram calculados os percentuais do dano por umidade anotado para as classes 1-8 e 6-8, sendo que em cada sub-amostra o número de sementes que apresentaram o dano por umidade foi multiplicado por dois para obter-se o valor percentual, calculando-se assim a média das duas repetições.

**Tabela 1.** Notas atribuídas aos níveis de danos por umidade observados nas sementes de soja através do teste de tetrazólio.

<b>Classes</b>	<b>Nível de Dano</b>	<b>Vigor</b>
1	Não observado	Mais alto vigor
2	Não severo	Vigor alto
3	Severo	Vigor médio
4 e 5	Severo, afetando eixo embrionário	Vigor baixo
6-8	Mortas	Não viável

Para a avaliação do efeito do rasgo sobre a patologia das sementes, sendo o rasgo porta de entrada para patógenos, foram utilizados dois genótipos da empresa Nidera sementes, NS 8338 IPRO (cultivar com a maior incidência de rasgo) e NS 6906 IPRO (cultivar com o menor índice de rasgo e com uma arquitetura favorável ao controle de doenças, além de possuir excelente peso de grãos, alta produtividade, com crescimento indeterminado, sua população pode variar de 300 a 420 mil plantas/ha dependendo da região

A análise das sementes foi feita em “Blotter Test” com 10 repetições por cultivares. As sementes não desinfestadas foram dispostas individualmente sobre camada de papel de filtro umedecido (duas folhas de papel mata borrão) em Gerbox, mantendo se distanciadas 1-2 cm uma da outra. As sementes foram incubadas em câmaras de crescimento com fotoperíodo de 12 horas por um período de 7-8 dias à temperatura de  $\pm 22^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio com resolução de 30-80X para ocorrência de frutificações típicas do crescimento de fungos. Preparou-se lâminas para observação ao microscópio ótico. Assim quantificou-se a porcentagem de germinação (%G) que foi o número de sementes germinadas (emissão do epicótilo/radícula) pelo número total de sementes por Gerbox (variável dependentes fisiológicas). A porcentagem de incidência de patógenos (%IP) foi calculada a partir da contagem do número de sementes que apresentavam estruturas de microrganismos na sua superfície dividida pelo número total de sementes avaliadas por Gerbox (variável depende sanitária). Identificou-se e calculou-se a porcentagem de gêneros de patógeno (%GP) foi obtida pela contagem dos gêneros dos fungos identificados nas sementes divididos pelo número total de sementes por Gerbox (variável dependentes sanitárias). Analisou-se individualmente a incidência de microrganismos.

### **Análise dos dados**

Os resíduos dos dados de foram testados quanto a normalidade e homocedasticidade. Em seguida, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando os pressupostos não foram atendidos os dados foram submetidos a uma análise não-paramétrica de pelo teste de Friedman, a 5% de probabilidade utilizando o pacote estatístico R. Realizou-se, também, a análise de componentes principais de todas as variáveis dependentes utilizadas para diferenciar as cultivares de soja.

## RESULTADOS

### Qualidade fisiológica

Estudos têm sugerido que o rasgo no tegumento pode estar relacionado ao cansaço físico dos tecidos na fase final de maturação decorrente das oscilações de umidade e temperatura proveniente de ambientes quentes, típico da região tropical do Brasil (FORTI *et al.*, 2010; PINTO *et al.*, 2007) e, em nossos estudos, através do tetrazólio verificou-se que as amostras de sementes de soja estudadas com rasgo foram progressivamente afetadas pela umidade.

Antes do armazenamento, na amostra com 0% de rasgo, 10,5 % destas sementes estavam sem dano (classe 1); 69,75 % das sementes estavam na classe 2; 17,75 % estavam na classe 3; 1,5 % estavam na classe 4-5 e 0,5 % estavam na classe 6-8. Depois do período de armazenamento houve uma redução da classe sem dano e consequente aumento das classes com dano: 2,5 % das sementes na classe 1; 51,5 % na classe 2; 36,5 % na classe 3; 6 % na classe 4-5 e 3,5% na classe 6-8. Para a amostra com 10 % de rasgo antes do armazenamento 15,75 % das sementes estavam na classe 1; 49,25 % estavam na classe 2; 32,5 % na classe 3; 1,5 % na classe 4-5 e 1 % na classe 6-8, depois do armazenamento 5 % das sementes na classe 1; 50,2 % na classe 2; 33,7 % na classe 3; 5,5 % na classe 4-5 e 5,5 % na classe 6-8. Para a amostra >10 % de rasgo antes do armazenamento, 39,5 % das sementes estavam na classe 1; 14 % na classe 2; 45 % na classe 3; 1 % na classe 4-5 e 0,5 % na classe 6-8, depois do armazenamento 11,5 % estavam na classe 1; 27,75 % na classe 2; 37,25 % na classe 3; 10 % na classe 4-5 e 13,5 % na classe 6-8.

Tal fato mostra a influência do armazenamento nos danos causados às sementes, mesmo quando elas não apresentam rasgo no tegumento, como é o caso das sementes com 0% de rasgo, em que aumentou-se em 4,5 pontos a porcentagem de sementes na classe 4-5 (representada por sementes com danos severos ao eixo embrionário) e em 2 pontos a porcentagem de sementes na classe 6-8 (sementes já consideradas mortas) com danos por umidade quando submetidas ao armazenamento. Verifica-se o mesmo padrão de aumento, e com mais intensidade para as sementes nas classes 3, 4-5 e 6-8 a partir do momento em que estas apresentam rasgo no tegumento, pelo fato de que são mais suscetíveis ao dano por apresentar o rasgo como “porta de entrada” facilitadora de dano, inviabilizando grande parte das sementes.

Essa “porta de entrada ao dano”, segundo Zorato (2017), Forti *et al.*, (2010) e Pinto

et al. (2007), ao surgimento do rasgo no tegumento nas sementes por volta do estágio R6, que em casos de muita umidade no ambiente, em torno de 80 %, a semente tornar-se permeável, proporcionando o aumento do dano por umidade já no campo. Devido a isso, supõe-se que as amostras com mais de 10 % de rasgo demonstraram que antes do armazenamento, logo após a colheita e o beneficiamento, o dano por umidade já pode estar presente, principalmente, nas classes que inviabilizam e diminuem o vigor da amostra, evoluindo com o passar dos seis meses de armazenamento, como constado neste trabalho.

No total das classes de 2-8, tanto antes quanto depois do armazenamento, verificamos também grande ocorrência de dano por umidade (Tabela 2). Observou-se que antes do armazenamento a amostra que não continha rasgo apresentava a maior quantidade de dano por umidade, entretanto mantendo o vigor e a viabilidade alta, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Mas com o passar dos 6 meses de armazenamento os danos da amostra com 0 % não aumentaram significativamente, no entanto, para os tratamentos 10 % de rasgo e  $\geq 10$  % de rasgo a quantidade de dano por umidade aumentou significativamente, contudo esse aumento do dano depois do armazenamento não apresentou diferença estatística entre os tratamentos.

**Tabela 2.** Comparação das médias da quantidade do total de umidade das classes de 2-8 antes e depois do armazenamento entre os tratamentos

Condição (A)	Análise de desdobramento de Umidade 2-8			F ( V )
	Tratamentos ( T )			
	0 % de rasgo	10 % de rasgo	$\geq 10$ % de rasgo	
Antes do Armazenamento	89,5 a A	84,25 b A	60,5 b B	32,10*
Depois do Armazenamento	97,5 a A	95 a A	88,5 a A	2,90 <sup>ns</sup>
F ( T )	0,05 <sup>ns</sup>	7,76*	52,70*	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúsculas) e linha (maiúscula) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05)

A quantidade total (classes 2-8) de dano por umidade antes do armazenamento era alta, principalmente para a amostra que não continha rasgo, mas não inviabilizava as sementes, pois o dano estava concentrado na classe 2, onde o vigor da semente ainda é considerado alto. Após o período armazenando as amostras, o dano por umidade evoluiu, como já era esperado, porém, a amostra que não continha rasgo e danos bióticos e abióticos permaneceu viável e vigorosa, pois as sementes evoluíram em sua maioria para a classe 3. Já as que continham o

rasgo, principalmente com mais de 10 %, reduziram tanto o vigor quanto a viabilidade, pois como os danos na semente estavam concentrados na classe 3, vigor médio, a evolução do dano já permitiu alcançar as classes 4-5 atingindo um nível de vigor considerado baixo. Forti et al. (2010) observaram que o lote que apresentava menor potencial fisiológico desde a avaliação inicial antes do armazenamento, durante o armazenamento foi o que apresentou maior ocorrência e evolução dos danos por umidade.

Em relação ao dano por umidade nas sementes classificadas como classe 4-5 (Tabela 3), houve diferença significativa entre a condição antes e depois do armazenamento, contudo entre os tratamentos 0 %, 10 % e  $\geq 10$  % de rasgo não houve diferença significativa, mesmo na amostra  $\geq 10$  % de rasgo apresentando maior quantidade de dano.

**Tabela 3.** Número médio da quantidade de danos por umidade na classe 4-5 antes e depois do armazenamento para os tratamentos sem e com rasgo.

<b>Fator (A) – Armazenamento</b>	Umidade 4-5
Antes do Armazenamento	1,33 b
Depois do Armazenamento	7,16 a
F (A)	44,7*
P valor (A)	0
<b>Fator (B) – Tratamento</b>	
1 - 0 % de rasgo	3,75a
2 – 10 % de rasgo	3,5a
3 - $\geq 10$ % de rasgo	5,5a
F (B)	2,08 <sup>ns</sup>
P valor (B)	0,15
F (A x B)	3,32 <sup>ns</sup>
P valor (A x B)	0,06
CV (%)	50,28

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05)

Para a classe de sementes não viáveis, classes 6-8 (Tabela 4), observou-se, que depois do armazenamento para a amostra que não continha rasgo o aumento de sementes mortas não foi significativo. Já para as amostras que apresentavam rasgo, igual a 10 % e acima de 10 %, a diferença foi significativa. Nota-se ainda que antes do armazenamento a quantidade de sementes mortas nos tratamentos eram estatisticamente iguais, porém depois do armazenamento de 6 meses a amostra  $\geq 10$  % diferiu significativamente das demais,

apresentando um número maior de sementes mortas pelo dano de umidade. Forti (2009) observou durante todo o armazenamento o aumento de dano por umidade nas classes 1-8, o que se deve ao fato de que inicialmente as sementes apresentavam apenas danos no tegumento e que ainda não acusavam sintomas nos cotilédones. Durante o período de armazenamento, esses possíveis micro danos favoreceram a deterioração das sementes nos cotilédones, tornando visíveis os sintomas dos danos por umidade nas posteriores avaliações.

**Tabela 4.** Valores da análise de desdobramento da interação das condições e das porcentagens do rasgo, referente à quantidade de dano por umidade das classes de 6-8.

Condição (A)	Análise de desdobramento de Umidade 6-8			F ( V )
	Tratamentos ( T )			
	0 % de rasgo	10 % de rasgo	≥ 10 % de rasgo	
Antes do Armazenamento	0,5 a A	1 b A	0,5 b A	0,04 <sup>ns</sup>
Depois do Armazenamento	3,5 a B	5,5 a B	13,5 a A	16,60*
F ( T )	0,12 <sup>ns</sup>	6,00*	50,11*	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula) e linha (maiúscula) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05)

Com a quantidade de danos por umidade observada nas classes 6-8, e presença de sementes mortas, podemos comparar a viabilidade das amostras, uma vez que as sementes viáveis enquadram-se nas classes 1-5 (Tabela 1). Notou-se que a viabilidade da amostra (Tabela 5) com 0 % de rasgo não alterou significativamente depois do armazenamento, porém para os tratamentos 10 % e ≥10 % de rasgo a viabilidade diminuiu significativamente depois do armazenamento. Comparando os tratamentos antes do armazenamento a viabilidade foi alta, não diferindo entre si, entretanto, depois do armazenamento as amostras com rasgo, diferiram estatisticamente da amostra que não continha rasgo.

**Tabela 5.** Valores da análise de desdobramento da interação das condições e das porcentagens do rasgo, referente à viabilidade das amostras. Cristalina, 2017.

Condição (A)	Análise de desdobramento de Viabilidade			F ( V )
	Tratamentos ( T )			
	0 % de rasgo	10 % de rasgo	≥10 % de rasgo	
Antes do Armazenamento	99,5 a A	99 a A	99,5 a A	0,04 <sup>ns</sup>
Depois do Armazenamento	96,5 a A	94,5 b A	86,5 b B	16,60*
F ( T )	0,12 <sup>ns</sup>	6,00*	50,11*	-

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula) e linha (maísculas) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05)

O parâmetro mais importante observado para a avaliação da qualidade fisiológica da amostra foi o vigor, uma vez que para determiná-lo utilizou-se as sementes da classe 1, 2 e 3, classificadas com vigor de alto a médio (Tabela 1). Observou-se que o vigor das amostras tanto dentro como entre os tratamentos com 0 %, 10 % e ≥10 % de rasgo diminuiu apenas depois do período de seis meses de armazenamento, diferindo estatisticamente (Tabela 6).

**Tabela 6.** Valores da análise de desdobramento da interação das condições e das porcentagens do rasgo, referente ao vigor das amostras.

Condição (A)	Análise de desdobramento de Vigor			F ( V )
	Tratamentos ( T )			
	0 % de rasgo	10 % de rasgo	≥10 % de rasgo	
Antes do Armazenamento	98 a A	97,5 a A	98,5 a A	0,15 <sup>ns</sup>
Depois do Armazenamento	90,5 b A	89 b A	76,5 b B	35,45*
F ( T )	16,87*	21,67*	145,2*	-

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúsculas) e linha (maíscula) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P> 0,05)

O baixo vigor e o alto número de sementes inviáveis das amostras com alta porcentagem de rasgo, deve-se a um dano mais severo na parte interna da semente, próximo ou até mesmo atravessando o eixo embrionário da semente (Figura 1). Essa maior intensidade do dano pode estar relacionada a posição do rasgo do tegumento em cima do eixo embrionário, proporcionando a entrada de umidade nos cotilédones. Zorato (2017) afirma que o rasgo não é um defeito inocente, pode, no início, estar apenas ao nível de cotilédones, mas com o avançar da

---

armazenagem, dependendo da umidade a que as sementes foram submetidas em campo, poderá se alongar até a ponta do cilindro central e inviabilizar as células iniciais, importantes para a protusão da radícula, como alertado pela constatação do dano por umidade progressivo demonstrado neste estudo para condições *in vitro*.

### **Patologia**

Das variáveis dependentes avaliadas (Tabela 7), a única que apresentou distribuição Normal foi a %ERP, as demais variáveis estudadas não apresentaram distribuição Normal, havendo necessidade do teste de hipótese não paramétrico.

A cultivar NS 8338 IPRO apresentou a maior porcentagem de rasgo, 37,8 %, comparada a cultivar NS 6906 IPRO, 17 %, não havendo diferença significativa com relação à atividade fisiológica, nem a incidência do complexo de microrganismos (IM). Os gêneros de fungos presentes na cultivar NS 8338 IPRO (37,8% de rasgo) foram *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Macrophomina* sp., *Trichoderma* sp. e *Mucor* sp, além de bactérias. Já na cultivar NS 6906 IPRO (17% de rasgo) além daqueles presentes na cultivar NS 8338 IPRO foram identificados os gêneros *Phytium* sp., *Myrothecium* sp., e *Rhizoctonia* sp. Quanto a incidência de *Aspergillus* e *Bacillus*, importantes fungos de armazenamento, constatamos diferença significativa entre a cultivares de soja sob diferentes condições de rasgo (Tabela 7). A cultivar NS 8338 IPRO foi a que apresentou a menor incidência, sendo de 27,4 % e 0,2 %, enquanto a cultivar NS 6906 IPRO apresentou maior incidência, 52,8 % e 3,2 %, respectivamente.

De acordo com Goulart (2005), o fungo de gênero *Aspergillus* é um fungo de armazenamento, que em alta incidência e somando ao dano mecânico do rasgo, pode reduzir o poder germinativo das sementes em condições elevada de umidade. Gomes et al. (2009) constataram que os danos provocados pelos patógenos, podem estar diretamente relacionados com o potencial de inóculo e com sua localização na semente (interna ou externa), gerando uma preocupação maior se essa localização for próxima ao embrião.



**Figura 1.** Rasgo no tegumento da semente de soja. **A.** Posição do rasgo na semente, em cima do eixo embrionário. **B.** Semente colorida pelo sal de tetrazólio. **C.** Dano por umidade no eixo embrionário. **D.** Eixo embrionário sem danos.

Mesmo que os fungos não causem dano imediato, existem as relações de latência, os quais são cumulativas durante o armazenamento, que quando não controlado, poderão, conseqüentemente, desencadear a deterioração das sementes, pelo fato desses danos serem a porta de entrada para diferentes espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, que se desenvolvem em condições de alta temperatura e umidade relativa do ar, mas também são capazes de sobreviver em ambientes com baixa umidade, proliferando em sucessão aos fungos de campo e causando a deterioração das sementes. O que permite reiterar a importância da presença e da localização do rasgo na semente, mesmo que a cultivar NS 6906 tenha apresentado a menor porcentagem de rasgo e a maior incidência de *Aspergillus* estes efeitos não foram determinantes para afetar a emissão de raiz primária, 98,4 % (Tabela 7).

Embora a incidência de *Fusarium*, *Penicillium* e *Cladosporium* verificada tenha sido levemente maior na cultivar NS 8338 IPRO (10,6, 2,2, e 4,8 %) do que na cultivar NS 6906 IPRO (9, 1,6 e 2 %), respectivamente, não foram significativamente diferentes (Tabela 7). Entretanto, esse leve aumento pode indicar ameaças, em condições que não seja *in vitro*, uma vez que o gênero *Fusarium* é um fungo fitopatogênico que causar danos germinativos e provoca murchas e apodrecimento em pré e pós emergência à campo (HENNING, 2005).

Já os fungos pertencentes *Pythium* sp., *Myrothecium* sp. e *Rizoctonia* sp. apresentaram uma incidência exclusiva na cultivar NS 6906 IPRO, embora em baixa

porcentagem. *Myrothecium* é um fungo de solo e saprófita; com ampla dispersão em regiões de clima temperado e tropical, que sobrevive em restos culturais e apresenta uma gama de hospedeiros, incluindo desde leguminosas, solanáceas e cucurbitáceas, que pode ser transmitido por sementes (GAZZONI E YORINORI, 1995; SILVA et al., 2006). Logo, é um fungo que não pode ser ignorado quando detectado nas sementes que darão origem ao sistema de produção. O mesmo alerta pode ser feito quanto a presença de *Rizoctonia solani* em soja, visto que pode causar tombamento na fase de plântula e adulta, além de provocar a doença denominada de mela durante o período de floração (HENNING, 2005); e quanto a presença de fungos do gênero *Phythium*, devido ser causador apodrecimento de raízes, caules e frutos; a podridão de sementes na pré-emergência; e o tombamento de plântulas na pós-emergência, conhecido como *damping off* (KIRK et al., 2008).

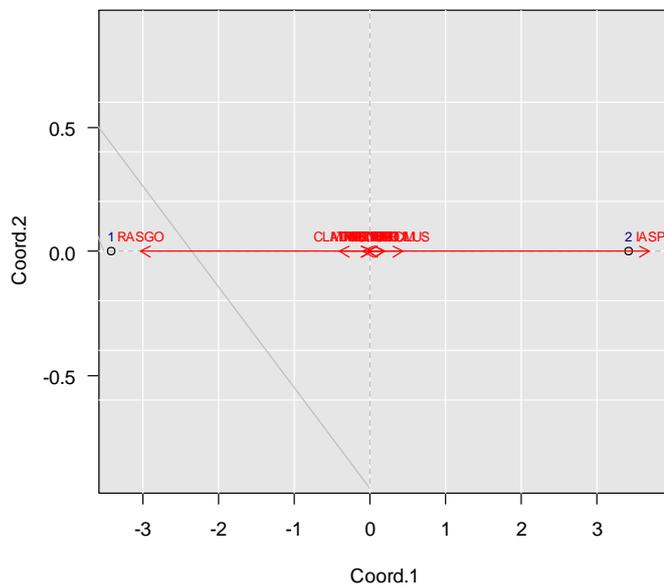
Por fim, os fungos pertencentes a *Macrophomina* sp. apresentou incidência exclusiva em NS 8338 IPRO. Este por vez não caracteriza um problema para as sementes de cultivares de soja. Segundo Henning (2005), o patógeno ocorre com bastante frequência em situações de clima seco e em plantas com sistema radicular superficial advindo de compactação do solo. Sua transmissão via semente pode ocorrer, porém não é a fonte principal, uma vez que os solos brasileiros naturalmente já possuem a presença deste patógeno.

Das 14 variáveis dependentes estudadas as que mais explicaram diferenças entre os dois tratamentos representados pelas cultivares que apresentaram no germoplasma maior % de rasgo foram a incidência de *Aspergillus* e a porcentagem de rasgo. Sendo o tratamento 1, o genótipo NS 8338 IPRO, o que apresentou a maior porcentagem de rasgo e o tratamento 2, o genótipo NS 6906 IPRO, o que apresentou a maior incidência de *Aspergillus* pelas correlações da análise de componentes principais.

A soja no campo é atacada por um grande número de doenças fúngicas, que podem causar prejuízos tanto no rendimento quanto na qualidade das sementes, e, que em sua maioria, são transmitidas pelas sementes. Com isso, do ponto de vista sanitário, a semente ideal é aquela livre de qualquer microrganismo indesejável (GOULART, 2004). Então o presente trabalho mostrou que mesmo as cultivares apresentando rasgo no tegumento, do ponto de vista da patologia, estes microrganismos não foram decisivos no impedimento da emissão de raiz primária, uma vez que a %ERP foi alta para as duas cultivares e não apresentou diferença significativa.

Avaliar a incidência de fungos nas sementes é de grande importância, visto que após a semeadura, o solo estiver seco, ou muito úmido, ou frio, a semente deteriorará no solo. Se essas condições adversas forem oferecidas às sementes, a velocidade de germinação é reduzida e a emergência de plântulas é prejudicada, uma vez que a semente é exposta à ação deletéria de fungos de solo, como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Pythium* spp. (HENNING, 2005).

Com base na análise de componentes principais, verifica-se que o rasgo foi mais responsável pelos resultados obtidos na cultivar 1 (NS 8338 IPRO) e a incidência de *Aspergillus* sp. na cultivar 2 (NS 6906 IPRO) (Figura 2).



**Figura 2.** Componentes principais empregados para todas as variáveis sanitárias utilizadas para diferenciar os tratamentos analisados pelo “Blotter test”.

**Tabela 7.** Médias das variáveis % de rasgo, % de emissão de raiz primária (%ERP), % de incidência de microrganismos (%IM), % de incidência de *Fusarium* sp. (%FUS), % de incidência de *Penicillium* sp. (%PENI), % de incidência de *Aspergillus* sp. (%ASP), % de incidência de *Cladosporium* sp. (%CLAD), % de incidência de *Bacillus* sp. (%BAC), % de incidência de *Macrophomina phaseolina* (%MACRO), % de incidência de *Trichoderma* sp. (%TRIC), % de *Mucor* sp. (%MUC), % de *Pythium* sp. (%PYT), % de *Myrothecium* sp. (%MYR), % de incidência de rhizoctonia (%RIZOC) e parâmetros de análise paramétrica e não paramétrica submetidas para duas cultivares de soja pelo Blotter test.

Tratamentos	%ERP	%IM	%FUS	%PENI	%ASP	%CLAD	%BAC	%MACRO	%TRIC	%MUC	%PYT	%MIRO	%RIZOC
CVNS 8338	99,4 A	82,0 a	10,6 a	2,2 A	27,4 b	4,8 a	0,2 a	0,2 a	0,4 a	0,2 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
CVNS6906													
IPRO	98,4 A	83,4 a	9,0 a	1,6 A	52,8 a	2,0 b	3,2 a	0,0 a	0,2 a	0,2 a	0,2 a	0,2 a	1,4 a
Valor F	F <sub>1,19</sub> = 1,202 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 0,097 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = =0,835 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 0,379 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 12,252 <sup>**</sup>	F <sub>1,19</sub> = 6,165 <sup>*</sup>	F <sub>1,19</sub> = 3,834 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = F <sub>1,19</sub> = 0,3299 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 0,191 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = F <sub>1,19</sub> = 0 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 0,329 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 0,329 <sup>ns</sup>	F <sub>1,19</sub> = 2,812 <sup>ns</sup>
CV (%)	12,71	74,66	246,25	706,91	249,43	457,16	1242,28	2756,81	2097,62	0	2756,81	2756,81	1643,79
CVNS 8338	99,4 A	82,0 a	10,6 a	2,2 A	27,4 b	4,8 a	0,2 b	0,2 a	0,4 a	0,2 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
CVNS6906													
IPRO	98,4 A	83,4 a	9,0 a	1,6 A	52,8 a	2,0 a	3,2 a	0,0 a	0,2 a	0,2 a	0,2 a	0,2 a	1,4 a
Valor de													
Friedman	1,30 <sup>**</sup>	0,791 <sup>**</sup>	0,056 <sup>**</sup>	0,106 <sup>**</sup>	8,876 <sup>**</sup>	4,170 <sup>**</sup>	6,333 <sup>**</sup>	1,00 <sup>**</sup>	0 <sup>**</sup>	ND	1,00 <sup>**</sup>	1,00 <sup>**</sup>	3,529 <sup>**</sup>
QMR	158	3812,4	582,4	180,4	10004,4	241,6	446,0	7,6	39,6	0	7,6	7,6	132,4

## CONCLUSÕES

O rasgo no tegumento da semente de soja contribui para que o dano por umidade afetasse a parte interna da semente, danificando o eixo embrionário, parte vital para a germinação da semente, tornando a semente menos vigorosa ou até mesmo inviável.

A incidência de *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp. é relevante tanto nas sementes com presença e rasgo, quanto nas sementes sem a presença do rasgo (em torno de 9-10%), porém não interfere na qualidade da semente. Os demais gêneros de fungos identificados nas sementes (*Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp., *Mucor* sp., *Macrophomina* sp., *Phytium* sp., *Myrothecium* sp. e *Rhizoctonia* sp.) apresentam baixa incidência, e mesmo com a presença do rasgo no tegumento não afetam a emissão da raiz primária.

Sendo assim, o rasgo no tegumento não serve de porta de entrada para os fungos afetarem a emergência da semente.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CARBONELL, S. A. M.; KRZYZANOWSKI, F. C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seeds resistant to mechanical damage. **Seed science and technology**. Zurich, vol. 23, n. 2, p. 331 – 339, 1995.
- COSTA, N. P.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B. O teste de tetrazólio em sementes de soja. **Londrina: EMBRAPA-CNPSO**. Documentos, 116. pag. 72, 1998.
- COSTA, N. P.; MESQUITA, C. M.; MAURINA, A. C.; FRANÇA – NETO, J. B.; PEREIRA, J. E.; BORDINGNON, J. R.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. Efeito da colheita mecânica da soja nas características físicas, fisiológicas e químicas das sementes em três estados do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**. vol. 23, p. 140 – 145, 2001.
- FORTI, V.A. Avaliação da evolução de danos por “umidade” durante o armazenamento em sementes de soja, utilizando a técnica de análise de imagens. (**Dissertação** – Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2009.
- FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios x e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**. Vol.32, nº3, p. 123-133, 2010.
- FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO. pag. 39. (EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica, 09). 1984.
- GAZZONI, D.L.; YORINORI, J.T. **Manual de identificação de pragas e doenças de soja**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 128p.
- GOMES, D.P., KRONKA, A.Z., BARROZO, L.M., SILVA, R.P. da, SOUZA, A.L., SILVA, B.M.S. E, PANIZZI, R.C. Efeito da colhedora, velocidade e ponto de coleta na contaminação de sementes de soja por fungos. **Revista Brasileira de Sementes**. Vol. 31, nº3, p.160-166, 2009.

GOULART, A.C.P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle.** EMBRAPA Agropecuária Oeste, Dourados. 72p. 2005

HENNING, A.A., ALMEIDA, A.M.R., GODOY, C.V., SEIXAS, C.D.S., YORINORI, J.T., COSTAMILAN, L.M., FERREIRA, L.P., MEYER, M.C., SOARES, R.M., DIAS, W.P. **Manual de identificação de sementes de soja.** 5ªed. Londrina. Embrapa-Soja. 2014

HENNING, A.A. Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja. Embrapa-DF, 33p., Brasília, 2015.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; MINTER, D.W.; STALPERS, J.A. **Dictionary of the Fungi.** CABI Europe, Wallingford, 2008.

KRZYZANOWSKI, F. C. Desafios tecnológicos para a produção de semente de soja na região tropical brasileira. **Anais...** Congresso Brasileiro de soja, 3. pag. 1324 – 1335, 2004.

MARCOS FILHO, J., KIKUTI, A.L.P., LIMA, L.P. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes.** Vol. 31. nº1, p. 102-122. 2009.

PINTO, T. L. F.; CICERO, S. M.; FORTI, V. A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes.** vol. 29, nº 3, p. 31-38, 2007.

**REGRA PARA ANALISE DE SEMENTES (RAS).** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária. 395p. Brasília, 2009.

SILVA, J. C.; MEYER, M. C. M.; COUTINHO, W. C.; SUASSUNA, N. D. Fungitoxicidade de grupos químicos sobre *Myrothecium roridum in vitro* e sobre a mancha-de-mirotécio. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.41, n.5, 2006.

SOUZA, F. H. D.; MARCOS-FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4. p. 365 – 375, 2001.

YAMAMOTO, E.; LEWIS, N. G. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. **Annual review plant physiology and plant molecular biology.** Palo Alto, v. 41, p. 455 – 496, 1990.

ZORATO, M. F. Evolução do laboratório de análise de semente, **SEED News**, Pelotas – RS, p. 24 – 29, n. 2, 2017.