

Boletim de Pesquisa 63 e Desenvolvimento

ISSN 1676 - 1340

Outubro, 2004

**Longevidade de *Phomopsis sojae* Lehman durante o
armazenamento de germoplasma de soja**



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Dietrich Gerhard Quast
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca
Herbert Cavalcante de Lima
Mariza Marilena T. Luz Barbosa
Diretores-Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

José Manuel Cabral de Souza Dias
Chefe -Geral

Maurício Antonio Lopes
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Isabel de Oliveira Penteado
Chefe-adjunto de Comunicação e Negócios

Maria do Rosário de Moraes
Chefe-Adjunto de Administração

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 63

Longevidade de *Phomopsis sojae* Lehman durante o armazenamento de germoplasma de soja

Maria Magaly Velozo da S. Wetzel

Arailde Fontes Urben

Marta Gomes Rodrigues Faiad

Valéria Rocha Ramos

Brasília, DF

2004

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –

Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Maria Isabel de Oliveira Penteado*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: *Arthur da Silva Mariante*

Maria Alice Bianchi

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Alice Bianchi e Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Maria da Graça S. P. Negrão*

1ª edição

1ª impressão (2004): 150 unidades

- L 852 Longevidade de *Phomopsis sojae* Lehman durante o armazenamento de germoplasma de soja / Maria Magaly Velozo da S. Wetzel ... [et al.]. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.
16 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676-1340; 63)

1. Fungo. 2. Longevidade. 3. Soja. 4. Semente. I. Wetzel, Maria Magaly Velozo da S. II. Série.

579.5 – CDD 21

Longevidade de *Phomopsis sojae* Lehman durante o armazenamento de germoplasma de soja

Maria Magaly Velozo da S. Wetzel¹

Arailde Fontes Urban¹

Marta Gomes Rodrigues Faiad¹

Valéria Rocha Ramos²

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, Final W5 Norte, Brasília, DF, CEP70770-900. E-mail: magaly@cenargen.embrapa.br, arailde@cenargen.embrapa.br, mgfaiad@yahoo.com.br

² Unesp - Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Rubião Júnior, Botucatu, SP, CEP 18600-000. Bolsista CNPq. E-mail: valeria@cenargen.embrapa.br

SUMÁRIO

Resumo.....	7
Abstract	8
Introdução	9
Referências bibliográficas	12

Longevidade de *Phomopsis sojae* Lehman durante o armazenamento de germoplasma de soja

Resumo

A “Seca da haste e da vagem”, doença causada pelo fungo *Phomopsis sojae* Lehman pode ser transmitida por semente, afetando a qualidade da soja. O presente trabalho teve por objetivo estudar a longevidade do patógeno em sementes de soja armazenadas, em diferentes condições. No primeiro experimento, sementes das cultivares ‘Bragg’, ‘Paraná’ e ‘Davis’ foram armazenadas por um período de 18 meses em condições de laboratório (18-28°C e 30-90% UR), em câmara seca e fria (12°C e 30% UR), e em congelador (-18°C e sem controle de UR), embaladas em sacos de papel tipo Kraft. No segundo experimento foram armazenadas 8 amostras da cultivar ‘Davis’ em condições de laboratório e câmara seca e fria, por 40 meses. Periodicamente foram realizados testes de germinação, sanidade e determinação de umidade do material. Os resultados obtidos demonstraram que a incidência de *Phomopsis sojae*, tende a desaparecer da semente armazenada em condições de laboratório, após 12 meses, entretanto, em condições de câmara fria e congelador, observou-se decréscimo da incidência do patógeno, em torno de 60%, nesse mesmo período. As amostras da cultivar ‘Davis’ conservadas em câmara seca e fria, após 40 meses, apresentaram baixíssima incidência do patógeno.

Termos para indexação: longevidade, *Phomopsis sojae*, soja.

Longevity of *Phomopsis sojae* Lehman. during soybean germplasm storage

Abstract

“Pod and stem blight”, caused by the fungus *Phomopsis sojae* Lehman is a disease transmitted by seeds, affecting soybean quality. This work aimed to study the pathogen longevity in soybean seeds stored in different conditions. In the first experiment, seeds of ‘Bragg’, ‘Paraná’ and ‘Davis’ cultivars were stored for 18 months in laboratory conditions (18-28°C e 30-90% UR), in cool and dry room (12°C and 30% UR) and in freezer (-18°C and no UR control), with seeds packed in Kraft paper bags. In the second experiment, 8 samples of ‘Davis’ cultivar were stored in laboratory conditions and cool and dry room, with seeds packed in Kraft paper bags, for 40 months. Periodically, germination, health and moist content tests were done. The results showed that *Phomopsis sojae* tends to disappear in laboratory conditions after 12 months. However, it was observed that in cool, dry room and freezer conditions, the pathogen incidence decreased about 60%, in the same period. The samples of ‘Davis’ cultivar stored in cool and dry room, after 40 months, indicated very low pathogen incidence.

Index terms: longevity, *Phomopsis sojae*, soybean.

INTRODUÇÃO

A longevidade de patógenos em sementes armazenadas tem sido estudada com o objetivo de controlar doenças. Wilson et al., (1945), verificaram que sementes de *Lolium multiflorum* Lam. infectadas por *Gloeotnia temulenta* (Prill & Delacr.) ficaram livres do patógeno depois de 2 anos de armazenamento. Schimdt (1938), observou que *Cercospora beticola* Sacc., em sementes de beterraba (*Beta vulgaris* L.), desaparecem após um ano de armazenamento. Neergaard (1950), estabeleceu que *Botrytis cinerea* Pers. sobrevive aproximadamente por dois anos em sementes de *Calendula*, *Callistephus*, *Centaurea* e *Godetia*, e concluiu que após este período, a maioria das espécies também ficou livre de alta infecção de *Botrytis cinerea*. Harrison (1978), afirmou que a presença de *Botrytis fabae* Sardina era muito comum em lotes de sementes comerciais de *Vicia faba* L. no Reino Unido, no entanto o fungo não era detectado após nove meses de armazenamento das sementes. Já Siddiqui et al. (1983), publicou um trabalho sobre a longevidade e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em sementes de soja, feijões, pimenta e sorgo, armazenadas por períodos variados, indicando que o fungo sobrevive por longos períodos nas sementes armazenadas. Em relação ao armazenamento de sementes em baixa temperatura, Hewett (1987), estudando cerca de 80 amostras de cereais, verificou que fungos patogênicos encontrados nestas sementes mantinham pelo menos 75% de sua viabilidade, por períodos de até 14 anos, quando armazenadas em baixa umidade e à -20°C .

A conservação de recursos genéticos vegetais é definida como o armazenamento e a guarda do germoplasma em condições ideais, permitindo a manutenção de sua integridade (Valois et. al.,1996). Na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia a conservação de germoplasma semente a longo prazo é realizada na Colbase (Coleção de Base), onde as sementes são mantidas à -20°C e baixa umidade, visando reunir e preservar o máximo possível de genes para uso futuro em programas de melhoramento e processos biotecnológicos, os quais, estrategicamente, asseguram a alimentação e a agricultura nacional (Faiad et al., 2001). Sendo a semente considerada de grande importância na disseminação de patógenos, sejam eles vírus, nematóides, bactérias ou fungos, e em vista do pouco conhecimento existente sobre a sobrevivência desses patógenos em condições de armazenamento a longo prazo. Este trabalho teve por objetivo estudar a sobrevivência de *Phomopsis sojae* em germoplasma semente de soja armazenada.

As sementes de soja das cultivares 'Bragg', 'Paraná' e 'Davis', da safra 79/80, utilizadas neste trabalho, pertenciam a um experimento da Embrapa Soja localizada em Londrina-PR, e estavam infectadas com o fungo *Phomopsis sojae*.

Todas as amostras de sementes de soja foram homogeneizadas, subdivididas em sub-amostras e embaladas em sacos de papel tipo Kraft.

Foram instalados dois experimentos, sendo que no primeiro, as amostras das três cultivares, foram armazenadas por um período de 18 meses em: (1) condições de laboratório (18-28°C e 30-90% UR); (2) câmara seca e fria (12°C e 30% UR) e (3) em freezer (-18° e sem controle de UR). No segundo experimento, foram armazenadas oito amostras da cultivar 'Davis', por um período de 40 meses em condições de laboratório e em câmara seca e fria.

Em ambos os experimentos, periodicamente, uma sub-amostra era retirada para determinação de umidade, testes de germinação e sanidade.

Para o teste de sanidade foi utilizado o método de papel de filtro, com quatro repetições de 25 sementes de cada amostra, distribuídas em caixas plásticas transparentes de dimensões 12 x 12 x 4cm, contendo duas folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e embebidas em água destilada, e depois colocadas em câmaras de incubação em turnos de 12 horas sob luz negra (320 – 400nm), e 12 horas no escuro, à temperatura de 25°C, durante 7 dias. Para a detecção do patógeno as sementes foram cuidadosamente examinadas sob microscópio estereoscópico e microscópio óptico de luz. Os resultados foram dados em percentagem de sementes infectadas. O teste de germinação e a determinação da umidade das sementes foram feitos segundo as Regras de Análise de Sementes do Ministério da Agricultura (Brasil, 1992).

O teor de umidade das sementes variou de acordo com a condição do armazenamento. Em condições de laboratório a umidade das sementes variou de 8,4 a 11,7%; em câmara seca e fria de 3,4 a 8,0% e em congelador de 10,3 a 14,2% (Tabela1).

No primeiro experimento, as percentagens iniciais de infecção de *Phomopsis sojae* foram de 34% para cultivar 'Paraná', 29% para cultivar 'Davis' e 40% para cultivar 'Bragg'. Após os 18 meses de armazenamento em condições de laboratório as incidências foram de 2%, 2% e 1%, nas cultivares 'Paraná', 'Davis' e 'Bragg', respectivamente. Enquanto que no mesmo período, as amostras de sementes de soja armazenadas em câmara seca e fria, apresentaram percentagens de infecção de 21% (cultivar 'Paraná'), 4% ('Davis') e 7% ('Bragg'), e nas condições de congelador as percentagens foram de 0 % ('Paraná'), 7% ('Davis') e 15% ('Bragg').

Os dados sugerem que a temperatura ambiental sem controle de umidade, ou seja, com grande variação da umidade relativa do ar, e conseqüentemente das sementes, são condições desfavoráveis para a manutenção do patógeno. Como as condições não eram favoráveis à conservação da viabilidade das sementes, após o período estudado a germinação foi quase nula (Tabela 2). Quando as sementes foram submetidas à condições de temperatura e umidade controladas, ou seja, câmara seca e fria, estas também foram favoráveis à manutenção do patógeno. Nestas condições, a percentagem de germinação não sofreu grandes alterações para as cultivares 'Paraná', 'Davis' e 'Bragg'. A condição de armazenamento em congelador, sem controle de umidade, preservou a germinação das cultivares 'Paraná' e 'Davis', no período de 18 meses, mas a cultivar 'Bragg' apresentou um decréscimo. As condições de umidade das sementes no congelador eram mais altas, o que deve ter prejudicado a viabilidade da cultivar 'Bragg'.

O segundo experimento foi conduzido por um período mais longo, apenas em condições de laboratório e câmara fria e seca. A germinação média das 8 amostras da cultivar 'Davis' que apresentavam a média inicial de 53%, após os 18 meses era de 46%, aos 32 meses era de 2,5% e aos 40 meses era nula, em condições de laboratório. As médias de germinação para a condição de câmara fria e seca, apresentavam inicialmente 53%, após 18 meses 35%, aos 32 meses 39% e aos 40 meses 32%. Nestas condições, houve um decréscimo inicial na porcentagem de germinação, que estabilizou-se depois de 18 meses (Tabela 3). Quanto à incidência do patógeno, nas condições de armazenamento de câmara seca e fria, os dados indicaram que a média inicial do patógeno (60%) foi mantida por 18 meses (61%) e só decresceu após 32 meses (16%) e aos 40 meses (2 %). Enquanto que em condições de laboratório, houve um decréscimo da incidência do fungo de 60% (inicial) para 8% aos 18 meses, 7% aos 32 meses e 0,3% aos 40 meses de armazenamento (Tabela 4).

Os dados de ambos experimentos sugerem que o patógeno *Phomopsis sojae*, requer condições de baixa temperatura, e se possível, baixa umidade para a sua manutenção. No entanto, estas condições são as mesmas recomendadas para a manutenção da viabilidade de sementes. Deste modo, juntamente com o germoplasma semente também podem estar sendo armazenados patógenos responsáveis por sérios problemas na cultura da soja. Conseqüentemente, o uso de sementes armazenadas à longo prazo requer meticulosa atenção de fitopatologistas e melhoristas para evitar o grande risco de intercâmbio de germoplasma infectado.

Novas pesquisas devem ser desenvolvidas nesta área, visando maior conhecimento do comportamento dos patógenos transmitidos por sementes em

germoplasma armazenado. Estudos mais detalhados sobre a penetração, colonização e principalmente, a localização do inóculo em sementes são relevantes para o manejo de germoplasma armazenado à longo prazo.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras de análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

FAIAD, M. G. R.; GOEDERT, C. O.; WETZEL, M. M. V. da S.; SILVA, D. B. da; PEREIRA NETO, L. G. **Banco de germoplasma de sementes da Embrapa**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 31 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 71).

HARRISON, J. G. Role of seed-borne infection in epidemiology of *Botrytis fabae* on field beans. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, GB, v. 70, p. 35-40, 1978.

HEWETT, P. D. Pathogen viability on seed in deep freeze storage. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 15, p. 73-77, 1987.

NEERGAARD, P. Hvor længe holder *Botrytis cinerea* sig i live paa frø. **Arsberetning J.E Ohlsens Enkes Plantepatologiske Laboratorium**, v.14, p.13-19, 1950.

SCHMIDT, W. E. Ein neuer weg zur bekämpfung der Cercospora blattflecken krankheit zuckerruben. **Angewandte Botanik**, Berlin, v. 20, p. 241-45, 1938.

SIDDIQUI, M. R.; MATHUR, S. B; NEERGAARD, P. Longevity and pathogenecity of *Colletotrichum* spp. in seed stored at 5°C. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 11, p. 353-361, 1983.

VALOIS, A. C.; SALOMÃO, A. N.; ALLEN, A. C. **Glossário de recursos genéticos vegetais**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 62 p.

WILSON, M.; NOBLE, M.; GRAY, E. G. The blind seed disease of ryegrass and its causal fungus. **Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, Edinburgh, v. 61, p. 327-340, 1945.

Tabela 1 - Percentagem de umidade das sementes de soja das cultivares 'Davis', 'Bragg' e 'Paraná', em três diferentes condições de armazenamento.

Controle de umidade (meses)	Condições de Armazenamento											
	cv. 'Davis'					cv. 'Bragg'				cv. 'Paraná'		
	1*	2**	3***			1	2	3		1	2	3
Inicial	13,2	-	-	-	12,5	-	-	-	9,0	-	-	-
5		8,4	7,2	11,4		11,3	7,9	10,3		9,5	8,0	10,8
11		11,2	5,2	12,8		11,5	3,4	13,1		10,4	5,7	11,6
18		11,0	5,6	13,5		10,0	6,3	14,23		11,7	6,8	11,7
Média		10,5	6,0	12,5		10,5	7,0	12,5		10,5	7,0	11,5

* 1. Condições de laboratório: 18-28°C e 30-90% UR

** 2. Câmara seca e fria: 12°C e 30% UR

*** 3. Congelador: -18°C e sem controle de UR

Tabela 2 – Percentagem de germinação e incidência do patógeno em sementes de soja cvs. ‘Paraná’, ‘Davis’ e ‘Bragg’, armazenadas por 18 meses, em três diferentes condições.

Cultivar	Controle periódico (meses)	Condições de armazenamento								
		Laboratório*			Câmara seca e fria**			Congelador***		
		Germ.	<i>Phomopsis</i>	Redução <i>Phomopsis</i>	Germ.	<i>Phomopsis</i>	Redução <i>Phomopsis</i>	Germ.	<i>Phomopsis</i>	Redução <i>Phomopsis</i>
		%	%	%	%	%	%	%	%	%
‘Paraná’	Inicial	63,5	34,0	-	63,5	34,0	-	63,5	34,0	-
	5	75,0	0,0	100,0	66,0	10,0	70,5	70,0	8,0	76,0
	11	49,0	0,0	100,0	59,0	8,0	76,5	68,0	7,0	79,5
	18	4,0	2,0	94,0	65,0	21,0	38,0	67,5	0,0	100,0
‘Davis’	Inicial	46,5	29,0	-	46,5	29,0	-	46,5	29,0	-
	5	68,0	1,0	96,5	75,0	12,0	58,0	66,5	9,0	69,0
	11	22,0	0,0	100,0	57,0	20,0	31,03	59,0	27,0	7,0
	18	3,0	2,0	93,0	59,0	4,0	86,0	54,0	7,0	76,0
‘Bragg’	Inicial	61,5	40,0	-	61,5	40,0	-	61,5	40,0	-
	5	62,0	0,0	100,0	62,9	10,0	75,0	72,5	11,0	72,5
	11	41,0	0,0	100,0	47,0	18,0	55,0	61,0	25,0	37,5
	18	2,0	1,6	97,5	51,0	10,6	82,5	29,0	15,0	62,5

* Condições de laboratório: 18-28°C e 30-90% UR

** Câmara seca e fria: 12°C e 30% UR

*** Congelador: -18°C e sem controle de UR

Tabela 3 – Percentagem de germinação da cv. ‘Davis’ armazenados por 40 meses, em duas diferentes condições.

Ambiente	Inicial	Condições de armazenamento					
		18 meses		32 meses		40 meses	
		Laboratório*	Câmara**	Laboratório	Câmara	Laboratório	Câmara
1	53,0	40,5	34,5	3,0	30,5	0,0	22,5
2	48,0	53,5	41,5	4,0	46,0	0,0	33,5
3	52,5	49,5	23,0	5,0	46,9	0,0	43,5
4	46,5	39,5	35,5	7,0	35,0	0,0	23,5
5	49,5	39,5	31,0	2,0	35,0	0,0	29,5
6	49,5	45,0	38,5	0,0	41,0	0,0	33,5
7	56,5	45,5	38,0	0,0	24,0	0,0	29,5
8	67,5	54,0	36,0	0,0	48,0	0,0	37,5
Média	53,0	46,0	35,0	2,5	39,0	0,0	32,0

* Condições de Laboratório: 18-28°C e 30-90% UR

** Câmara seca e fria: 12°C e 30% UR

Tabela 4 - Percentagem do patógeno em sementes de soja, cultivar “Davis”, em duas diferentes condições de armazenamento.

Amostras	Inicial	Condições de armazenamento					
		18 meses		32 meses		40 meses	
		Laboratório*		Laboratório	Câmara	Laboratório	Câmara
		Câmara**					
1	59,5	4,0	42,0	15,0	26,0	-	3,0
2	62,0	8,0	58,0	8,0	5,0	-	1,0
3	61,0	11,0	83,0	1,0	16,0	1,0	4,0
4	60,0	7,0	55,0	1,0	21,0	1,0	2,0
5	57,5	8,0	56,0	15,0	19,0	-	4,0
6	62,0	5,0	73,0	2,0	21,0	1,0	3,0
7	62,0	11,0	60,0	20,0	16,0	-	2,0
8	60,0	11,0	61,0	0,0	16,0	-	2,0
Média	60,5	8,00	61,0	7,75	16,87	0,39	2,62

* Condições de laboratório: 18-28°C e 30-90% UR

** Câmara seca e fria: 12°C e 30% UR