



EFICIÊNCIA DO TESTE DE SANIDADE COM QUANTIDADE REDUZIDA DE SEMENTES DA COLEÇÃO DE BASE DE GERMOPLASMA

CHEILA CRISTINA SBALCHEIRO; SOLANGE CARVALHO BARRIOS ROVERI JOSE; JOSEANE PADILHA SILVA;
EMBRAPA CENARGEN, BRASILIA, DF, BRASIL;
cheila.sbalcheiro@embrapa.br

Resumo: Objetivou-se nesse trabalho determinar a quantidade de sementes a ser utilizada no teste de sanidade da coleção de base de germoplasma semente armazenada a longo prazo a -20°C . As sementes de arroz foram testadas nas quantidades: 400, 200, 100, 50 e 24; nas combinações de repetição: 8x50, 16x25, 4x50, 8x25, 2x50, 4x25, 5x10, 2x25, 2x12 e nos métodos de detecção: Papel de Filtro, meio de cultura BDA e Rolo de Papel. Observou-se a incidência de 16 espécies de fungos nas sementes de arroz avaliadas, ocorrendo fungos de campo, patogênicos, armazenamento e contaminantes. A quantidade de sementes não interferiu na incidência total dos fungos, apenas apresentaram variação na detecção de algumas espécies de fungos. A quantidade de 100 sementes representa com confiabilidade o teste de sanidade e não prejudica o tamanho de amostra a ser armazenada a longo prazo.

Palavras-chave: Colbase, conservação, fungos, patologia

Introdução

A conservação de germoplasma semente a longo prazo é realizada pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, por meio da Coleção de Base de Germoplasma Semente – Colbase, que se destina ao armazenamento a -20°C de sementes, visando garantir a sobrevivência de espécies de interesse socioeconômico e assegurar a manutenção das fontes básicas para alimentação e agricultura (Wetzel et al., 2011). A quantidade de sementes de cada acesso enviado a Colbase deve estar entre 1500 a 2000 e ser suficiente para compor subamostras para as análises da qualidade fisiológica e sanitária das sementes antes e após o armazenamento e durante a etapa de monitoração. No entanto, nem sempre esse padrão de quantidade é atendido, devendo-se utilizar o menor número possível de sementes nos testes, sem comprometer a confiabilidade dos resultados e prejudicar o armazenamento a longo prazo. Objetivou-se determinar a quantidade mínima de sementes para o teste de sanidade de coleções de base de germoplasma, capaz de detectar uma maior variabilidade de fungos.

Material e Métodos

Sementes de arroz (*Oryza sativa*) proveniente da Colbase foram testadas quanto à quantidade de sementes: 400 - recomendado pelas Regras de Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009), 200, 100, 50



e 24 sementes; combinações de repetição: 8x50, 16x25, 4x50, 8x25, 2x50, 4x25, 5x10, 2x25, 2x12 e método de detecção de patógenos: Papel de Filtro (Blotter test em ‘gerbox’), meio de cultura BDA em ‘gerbox’ e Rolo de Papel (Germitest). No método do Papel de Filtro as sementes foram dispostas sobre papel mata borrão umedecido com água destilada estéril. No método de incubação em BDA (Potato Dextrose Agar 39g/1L) as sementes foram desinfestadas superficialmente (hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos e água destilada estéril 3 vezes por 2 minutos) e dispostas sobre camada de BDA. Nos dois métodos as sementes permaneceram em câmara de crescimento a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 horas luz, durante sete dias. Para o método de Rolo de Papel as sementes foram desinfestadas superficialmente e distribuídas uniformemente sobre duas folhas de papel umedecido e cobertas com uma terceira folha de papel, procedendo-se a confecção dos rolos e acondicionamento na posição vertical em germinador ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) por sete dias. As sementes foram avaliadas individualmente quanto à ocorrência de frutificações típicas do crescimento de fungos e identificação em estereomicroscópio e microscópio óptico. Os resultados foram expressos em percentagem de ocorrência dos fungos em relação ao número de sementes e presença e ausência. Para a análise da incidência os dados foram submetidos à ANAVA e comparação das médias por Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Sisvar.

Resultados e Discussão

Na análise fitossanitária de sementes de arroz observou-se a incidência de 16 fungos, separados em três grupos: Fungos de Campo e Patogênicos: *Alternaria padwickii*, *Bipolaris sorokiniana*, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Phoma* sp.; Fungos de Armazenamento: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium* sp. e Fungos Contaminantes: *Botrytis* sp., *Cladosporium* sp., *Pithomyces* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma* sp. e um fungo ainda não identificado. As avaliações das sementes de arroz quanto à percentagem de fungos incidentes apresentaram diferenças quando houve variação do método de detecção (Tabelas 1). Os métodos Papel de Filtro e BDA não apresentaram diferenças significativas quanto à incidência total de fungos com valores superiores ao observado em Rolo de Papel. Quando se analisou o número de sementes e a combinação das repetições não foi observada diferença estatística em relação à incidência total dentro do mesmo método. Constatou-se que a incidência total de fungos não sofre variações significativas quando alterada a quantidade de sementes da amostra e a combinação das repetições.

Tabela 1 Incidência total de fungos em sementes de arroz em três métodos de detecção e diferentes quantidades de sementes



Quantidade e de sementes	Combinação de repetição	Incidência Total de Fungos (%)		
		Método		
		Papel de Filtro	Rolo de Papel	BDA
400	8x50	63 aA	26 aB	63 abA
400	16x25	62 aA	27 aB	62 abA
200	4x50	68 aA	31 aB	61 abAB
200	8x25	67 aA	32 aB	54 bAB
100	2x50	72 aA	25 aB	81 abA
100	4x25	74 aA	26 aB	58 abAB
50	5x10	73 aA	30 aB	86 abA
50	2x25	71 aA	27 aB	61 abAB
24	2x12	78 aA	42 aB	101 aA

Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A presença de fungos apresentou variação quando comparados métodos de detecção e a quantidade de sementes empregadas na análise sanitária, sendo que em quantidades pequenas de sementes não é possível detectar todos os fungos incidentes na amostra (Tabela 2). O método de Papel de Filtro destacou-se por apresentar a maior detecção de fungos de armazenamento, contaminantes, fungos de campo e patogênicos em todas as quantidades testadas. Desta forma, o Papel de Filtro foi escolhido como o método que detecta mais espécies de fungos em sementes de arroz destinadas a Colbase.

Tabela 2 Presença de diferentes espécies de fungos em três métodos de detecção em relação ao número de sementes e diferentes combinações de repetições em sementes de arroz da Coleção de Base

Quantidade de sementes	Combinação de repetição	Presença de fungos											
		Papel de Filtro				Rolo de Papel				BDA			
		A*	F	C	Total	A	F	C	Total	A	F	C	Total
400	8x50	3	6	6	15	4	5	5	14	3	6	4	13
400	16x25	3	6	5	14	3	6	5	14	3	6	5	14
200	4x50	3	6	4	13	2	6	5	13	3	6	5	14
200	8x25	3	6	4	13	3	5	5	13	3	6	4	13
100	2x50	3	6	4	13	2	4	4	10	2	6	4	12
100	4x25	3	6	4	13	3	5	2	10	3	6	4	13
50	5x10	3	6	5	14	2	4	3	9	3	6	3	12
50	2x25	2	6	4	12	1	4	2	7	2	6	3	11
24	2x12	2	6	5	13	2	4	1	7	3	6	2	11

* Presença de fungos: A= Fungos de armazenamento, F= Fungos de campo e patogênicos, C= Fungos contaminantes.

As seis espécies de fungos de campo e patogênico incidentes nas sementes de arroz foram detectadas em todas as quantidades de semente e nas diferentes combinações de repetições tanto no método de Papel de Filtro quanto em BDA. Segundo Faiad et al. (2001), a conservação de germoplasma sadio é fundamental para salvaguardar as coleções durante o armazenamento a longo



prazo e assegurar a distribuição e uso de germoplasma de alta qualidade.

As quantidades de 100 e 200 sementes no método de Papel de Filtro, não apresentaram diferenças em relação à presença de fungos no número de sementes e combinação de repetições. Desta forma, a quantidade de 100 sementes distribuídas em 4 repetições de 25 foi recomendada por não diferenciar das amostras de 200 sementes e representar a detecção mais próxima recomendada pela RAS (400 sementes), sem interferir na confiabilidade do teste de sanidade e apresentar distância uniforme entre as sementes. Além disso, com um tamanho pequeno e representativo da amostra, o teste fitossanitário torna-se viável em coleções de sementes destinadas ao armazenamento a -20°C a longo prazo, uma vez que o tamanho da amostra para conservação é limitante para determinados acessos.

Conclusões

A quantidade de sementes não interfere na incidência total de fungos no mesmo método de detecção. A quantidade de 100 sementes distribuídas em 4 repetições de 25 sementes representa com confiabilidade a detecção de fungos em sementes de arroz destinadas as coleções de conservação a longo prazo.

Referências Bibliográficas

- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS. 399p. 2009.
- FAIAD, M.G.R.; GOEDERT, C.O.; WETZEL, M.M.V.S.; SILVA, D.B.; PEREIRA NETO, L.G. Banco de Germoplasma de Sementes da Embrapa. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 31p. **Documentos**, 71.
- WETZEL, M.M.V.S.; GIMENES, M.A.; PÁDUA, J.G.; JOSÉ, S.C.B.R.; PEREIRA NETO, L.G. Conservação de espécies silvestres com potencial de utilização em programas de pré-melhoramento na Coleção de Base da Embrapa. In: LOPES, M.A. (et al.), editores técnicos. Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p.101-122.