

## IMPLANTAÇÃO DOS TESTES DE SANIDADE COMO ROTINA EM LABORATÓRIOS DE ANÁLISE DE SEMENTES

JOSÉ DE B. FRANÇA NETO<sup>1</sup>, ADEMIR A. HENNING<sup>1</sup> e  
MIRIAN THEREZINHA S. DA EIRA<sup>2</sup>

**RESUMO.** Altas temperaturas associadas às chuvas frequentes durante a fase de maturação das sementes de soja podem resultar em problemas de deterioração, que são mais acentuados principalmente nas regiões situadas ao norte do paralelo 24°Sul. Nestas regiões é bastante comum a ocorrência de lotes com elevados índices de sementes infectadas por *Phomopsis* sp. e/ou *Fusarium semitectum*, que podem inviabilizar o teste padrão de germinação (rolo de papel a 25°C) em laboratório. Este fato tem ocasionado a reprovação de grande número de lotes de boa qualidade fisiológica, uma vez que em condições normais tais fungos não afetam a germinação em areia ou a emergência a campo. Trabalhos desenvolvidos no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (EMBRAPA-CNPSo) demonstraram que nestas circunstâncias o teste de germinação em rolo de papel a 25°C deve ser substituído com fungicida antes da execução do teste padrão de germinação, ou ainda pela adoção do "DIACOM" (Diagnóstico Completo), o qual consiste da execução conjunta do teste de tetrazólio e da análise sanitária. As vantagens e limitações destas alternativas foram amplamente discutidas por técnicos de diversas entidades oficiais, o que resultou na adoção de novos procedimentos para análise de soja. A utilização desta nova metodologia, recomendada pelo LANARV (Laboratório Nacional de Referência Vegetal) em caráter experimental, consiste na execução do teste de germinação em areia ou do "DIACOM".

Palavras chave: soja, sementes, patologia, análise, germinação, qualidade, *Phomopsis* sp., *Fusarium semitectum*, teste de tetrazólio.

---

<sup>1</sup> Eng.º Agr.º, Pesquisador da EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Caixa Postal 1061, 86.100, Londrina, PR.

<sup>2</sup> Eng.º Agr.º, Laboratório Nacional de Referência Vegetal – SNDA–MA. Anexo Ministério da Agricultura – 4.º andar – sala 401, 70.043 – Brasília, DF.

SEED HEALTH TEST AS ROUTINE PRACTICE  
IN SEED TESTING LABORATORIES  
IN BRAZIL

**ABSTRACT.** High temperatures associated with frequent rainfalls during soybean seed maturation may result in serious problems of seed deterioration. In Brazil, such conditions occur quite frequently at regions to the North of 24°S. In these areas, the production of seed lots highly infected with *Phomopsis* sp. and *Fusarium semitectum* is very common. Such pathogens drastically affect the results of the standard germination test (rolled paper towel - 25°C), but under normal conditions they do not affect seedling emergence. This fact made the standard germination test inadequate for seed quality evaluation, and it also has caused the discard of a great number of seed lots with good physiological quality. Experiments conducted at the National Center for Soybean Research (EMBRAPA-CNPSO) demonstrated that instead of running the rolled paper towel test the soybean seed quality should be estimated by one of the following alternatives: (a) germination test in sand substrata; (b) treating the seed sample with an adequate fungicide before conducting the test (rolled paper towel - 25°C); (c) adopting the Complete Diagnosis Method (DIACOM). The DIACOM consists of the performance of the tetrazolium test for seed viability in conjunction with the fungi bio-assay test (blotter test). The advantages and limitations of these three possible alternatives were thoroughly discussed by seed analysts from several official laboratories, resulting in the adoption of new procedures for soybean seed analysis in Brazil. The new method consists of the performance of either the sand emergence test or the "DIACOM", which has been experimentally recommended by the National Laboratory of the Ministry of Agriculture (MA-LANARV).

Key words: soybean, seed, seed pathology, analysis, germination, quality, *Phomopsis* sp., *Fusarium semitectum*, Tetrazolium test.

### INTRODUÇÃO

A crescente expansão das fronteiras agrícolas nas regiões Centro, Norte e Nordeste do Brasil, e a exigência pelo produtor rural de uma semente de melhor qualidade, tem demandado da indústria de sementes o emprego de um sistema de controle de qualidade mais dinâmico e versátil.

No caso da soja, condições climáticas desfavoráveis, tais como, a ocorrência de altas temperaturas associadas às chuvas frequentes durante a fase de pós-maturação/pré-colheita das sementes, podem resultar em problemas de deterioração, que

são mais acentuados principalmente nas regiões localizadas ao norte do paralelo 24°Sul.

A deterioração das sementes de soja resulta da interrupção de processos de alterações física, fisiológica e sanitária. Desta forma, a perfeita avaliação de sua qualidade só é possível através da atuação conjunta das áreas de Tecnologia e Patologia de Sementes.

### IDENTIFICAÇÃO DO PROBLEMA

Na safra de 1979/80, a ocorrência de condições climáticas adversas em algumas regiões do Brasil, principalmente nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, resultou em severo ataque de *Phomopsis* sp, e *Fusarium semitectum* nas sementes. Em consequência, foi detectado que grande número de lotes de sementes apresentavam baixa viabilidade determinada pelo teste padrão de germinação (rolo de papel a 25°C).

Amostras de sementes de diversas cultivares produzidas em diferentes locais foram analisadas no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSO-EMBRAPA). As sementes foram submetidas ao teste de germinação a temperaturas constantes de 25 e 30°C, análise sanitária, teste de tetrazólio e emergência em casa-de-vegetação. Todos os testes foram realizados comparando as sementes tratadas com fungicida e esterilizadas superficialmente (NaOCl) com sementes não tratadas. A principal causa da baixa germinação foi *Phomopsis* sp, ainda que em alguns lotes observou-se a ocorrência de *Fusarium semitectum* e *Cercospora kikuchii*. No laboratório, a porcentagem de germinação das sementes infectadas, tratadas com fungicidas, foi similar à emergência em casa-de-vegetação das sementes não tratadas. Tal fato pode ser explicado por um mecanismo de escape, onde a plântula ao emergir deixa o tegumento infectado no solo, ao passo que no teste padrão de germinação o mesmo permanece em contato com os cotilédones, causando sua deterioração.

Nos lotes onde a germinação não foi elevada pelo tratamento de sementes, o teste de tetrazólio demonstrou que o problema era devido a um ou mais dos seguintes fatores: danos mecânicos, deterioração por umidade e danos de percevejos. Estes resultados demonstraram que o teste padrão de germinação (rolo de papel 25°C) é inadequado para avaliar a qualidade de sementes com alta incidência de *Phomopsis* sp, e/ou *Fusarium semitectum*.

Além disso, foi demonstrado que os referidos patógenos perdem a viabilidade rapidamente durante a armazenagem em condição ambiente, ocorrendo, ao mesmo tempo, um aumento gradual na porcentagem de germinação em laboratório. Este aumento na germinação depende também da qualidade fisiológica da semente. Danos mecânicos, deterioração por umidade e danos por percevejo são frequentemente

responsáveis pela baixa qualidade das sementes, e algumas vezes estão associados com *Phomopsis* sp. Nestes casos, mesmo que o fungo tenha perdido sua viabilidade durante a armazenagem, a germinação poderá não alcançar o padrão mínimo necessário para a sua comercialização.

### POSSÍVEIS ALTERNATIVAS

Após inúmeros ensaios conduzidos no CNPSo, chegou-se a três possíveis alternativas para a execução do teste de germinação em lotes de sementes que apresentem altos índices dos patógenos em questão.

- a. Germinação em areia: tal alternativa apresenta-se como a mais simples, uma vez que é contemplada pelas Regras para Análise de Sementes (RAS), e não requer o treinamento dos analistas em técnicas especiais. Entretanto, apresenta limitações de espaço físico (câmara com temperatura adequada) e a possível necessidade do aumento do número de analistas.
- b. Tratamento da amostra de trabalho com fungicida: não é permitido pelas RAS, apresentando riscos à saúde dos analistas (há a necessidade de máscaras, luvas e aventais, e também de uma capelinha com exaustor para o tratamento das amostras). Além disso, pode levar à aprovação de lotes com outros patógenos, como *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, do qual não se conhece o comportamento durante a armazenagem.
- c. DIACOM: consiste da execução conjunta dos testes de tetrazólio e sanidade (método do papel filtro), que podem fornecer o diagnóstico completo da(s) causa(s) do(s) problema(s) de qualidade. Tal alternativa é a mais completa, uma vez que fornece, além da germinação potencial, o índice de vigor, o percentual de ocorrência de danos mecânicos, danos causados por percevejos, danos resultantes da deterioração por intempéries e qualidade sanitária da amostra. Todavia, requer o treinamento dos analistas em técnicas especiais.

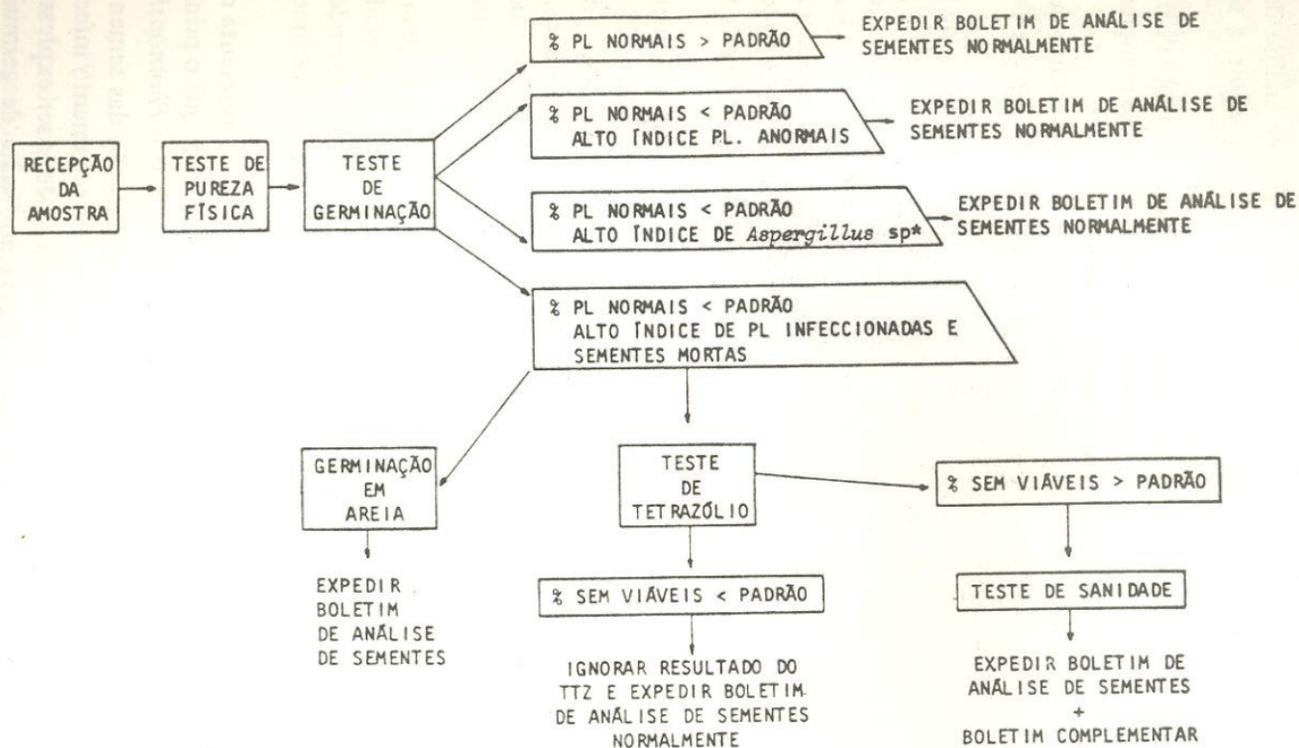
### PROCEDIMENTOS SUGERIDOS PELO LANARV

Visando reestudar os procedimentos analíticos em laboratório, reuniram-se em Londrina, PR, durante o I Curso de Patologia de Sementes para Responsáveis Técnicos dos Laboratórios Oficiais de Análise de Sementes, no período de 21/05 a 01/06/84, quinze técnicos da área, que propuseram novos procedimentos a serem adotados na análise da semente de soja.

Assim, o Laboratório Nacional de Referência Vegetal (LANARV), acatando as conclusões desse grupo de estudo, e baseando-se nas técnicas de análise desenvolvidas no CNPSO, passou a sugerir os procedimentos, descritos a seguir, a serem adotados na análise de sementes de soja (Figura 1).

A partir da análise do resultado do teste padrão de germinação (rolo de papel, 25°C), deve-se decidir se a amostra de sementes será submetida a testes complementares. Pode-se então ter quatro alternativas, descritas a seguir.

- a. Porcentagem de plântulas normais superior ao padrão estabelecido: a amostra não necessita de testes complementares. O Boletim de Análise de Sementes é então expedido normalmente.
- b. Porcentagem de plântulas normais inferior ao padrão e alto índice de plântulas anormais: neste caso deve-se verificar se a alta porcentagem de plântulas anormais é a principal causa da baixa germinação. Considerando-se que, de modo geral, esta anormalidade é causada por danos mecânicos na semente, deterioração por umidade e ataque de percevejos, não são recomendados testes complementares, uma vez que a semente já se encontra em fase de perda de viabilidade. O Boletim de Análise de Sementes é expedido normalmente.
- c. Porcentagem de plântulas normais inferior ao padrão e grande número de sementes contaminadas pelo fungo *Aspergillus* sp. (principalmente *A. flavus*): uma vez que este fungo está relacionado com a deterioração da semente, torna-se desnecessária a realização de testes complementares, pois eles não resultarão em incremento da porcentagem de germinação, com relação àquela obtida no teste normal prescrito pelas RAS. O Boletim de Análise de Sementes é expedido normalmente.
- d. Porcentagem de germinação inferior ao padrão e alto índice de plântulas infeccionadas e sementes mortas: esse resultado pode estar relacionado diretamente à presença de fungos na semente, que estariam reduzindo seu poder germinativo. A partir desta constatação um dos dois procedimentos podem ser adotados:
  - d.1. germinação em substrato de areia: em geral esse teste apresenta resultado bastante similar ao obtido em campo, uma vez que o principal fungo que causa problemas na semente de soja é o *Phomopsis* sp. O fungo está normalmente confinado ao tegumento das sementes e durante a germinação, os cotilédones deixam o tegumento infectado no solo, escapando do patógeno. O resultado deve ser expresso no Boletim de Análise, constando a observação "teste de germinação realizado em substrato de areia";



\**Aspergillus flavus* principalmente

FIG. 1. Procedimento sugerido pelo LANARV para análise de viabilidade de sementes de soja. LANARV-SNDA-MA. Brasília, DF. 1984.

- d.2. diagnóstico completo da qualidade das sementes (DIACOM): primeiramente deve-se realizar o teste de tetrazólio, comparando-se o resultado da germinação potencial com o obtido no teste padrão de germinação, tendo-se, então, duas situações:
- d.2.1. quando a porcentagem de sementes viáveis da amostra for igual ou pouco superior à porcentagem de plântulas normais obtidas no teste de germinação, o resultado do teste de tetrazólio deve ser ignorado e o Boletim de Análise de Sementes é expedido contendo apenas o resultado do teste padrão de germinação;
- d.2.2. se a porcentagem de sementes viáveis da amostra for superior ao resultado do teste de germinação, atingindo o padrão mínimo estabelecido, é possível que a presença de fungos esteja interferindo com os resultados do teste padrão de germinação. Deve-se, então, passar à identificação desses patógenos, através do teste de sanidade (método do papel de filtro). O lote só poderá ser aprovado se for constatada alta incidência de *Phomopsis* sp. e/ou *Fusarium semitectum*. Os resultados dos testes de sanidade e tetrazólio devem ser informados em Boletim Complementar.

Finalmente, ressalta-se que a adoção deste procedimento encontra-se em caráter experimental, podendo ser implantado definitivamente após o treinamento do pessoal e adequação dos LAS.

#### REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1976. 179p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Nacional. **Procedimentos na análise de sementes de soja**. Brasília, s.d. 5p.
- FRANÇA NETO, J.B. **Princípios do teste de tetrazólio para a semente de soja**. Curitiba, TECPAR, 1981. 14p. (Boletim LASP).

- HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Effect of *Phomopsis* sp. on soybean seed quality in Brazil. In: CONFERENCE ON THE *Diaphorte/Phomopsis* DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN, 1. Fort Walton Beach, 1984. Abstracts. U.S. Department of Agriculture, Beltsville, 1984. p.9.
- HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Revista Brasileira de Sementes**, 2(5):9-22, 1980.
- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B. & COSTA, N.P. Efeito da época do tratamento químico e/ou período de armazenamento sobre a qualidade fisiológica e sanitária de soja, cv. Bossier e Paraná, com altos índices de *Phomopsis* sp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2, Recife, 1981. Resumos... Brasília, ABRATES, 1981. p.24.