

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE SOJA SUBMETIDAS A
DIFERENTES FUNGICIDAS E ÉPOCAS**

MARCELO FERREIRA DE GODOI CARDOSO

FERNANDO CÉSAR JULIATTI
(Orientador)

Monografia apresentada ao Curso de
Agronomia, da Universidade Federal de
Uberlândia, para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Uberlândia – MG
Julho - 2004

**IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE SOJA SUBMETIDAS A
DIFERENTES FUNGICIDAS E ÉPOCAS**

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA EM 21/ 06 /2004

Prof. Dr. Fernando César Juliatti
(Orientador)

Prof. Dr. Osvaldo Toshyuki Hamawaki
(Membro da Banca)

Mestre Analy Castilho Polizel
(Membro da Banca)

Uberlândia – MG
Julho - 2004

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por este momento especial em minha vida. Ao meu orientador Prof. Dr Fernando César Juliatti pessoa a qual devo muito por tudo que fez por mim. Aos colaboradores do meu trabalho Fernanda, Eudes, Tutida, Roberto e Analy. Aos meus pais Antonio Carlos e Marila que sempre acreditaram em mim e nunca exitaram em me apoiar em nenhum momento nessa caminhada até esse momento. Ao meu irmão Toninho, a minha namorada e companheira Daniela a quem eu recorria nos piores momento e que sempre me ajudou fazendo com que eu fosse sempre em frente. Aos amigos da 28° turma de Agronomia e aos moradores da república “Seupocemia” Calaca, Marquinho, Tutina, Xingu e Leo.

ÍNDICE

RESUMO	4
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 A cultura da soja no cerrado.....	7
2.2 O controle de doenças na cultura.....	8
2.3 A patologia de sementes.....	9
2.4 Principais patógenos.....	12
2.4.1 <i>Phomopsis</i>	12
2.4.2 <i>Fusarium</i>	13
2.4.3 <i>Cercospora kikuchii</i>	14
2.4.4 <i>Cercospora sojina</i>	15
2.4.5 <i>Macrophomina</i>	16
2.4.6 <i>Colletotrichum</i>	16
2.4.7 <i>Rhizoctonia</i>	17
2.4.8 <i>Sclerotinia</i>	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Ensaio de campo.....	20
3.2 Ensaio de laboratório.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONCLUSÕES	27
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os patógenos presentes em sementes de soja (*Glycine max* (L) Merrill) submetidas a diferentes tratamentos com fungicidas no campo aplicados em diferentes estádios fenológicos R₄ e R₅. O delineamento foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 12 x 2. Os tratamentos foram: testemunha, Difeconazole + Propiconazole 150ml.ha⁻¹, Azoxystrobin + Difeconazole 200 + 125ml.ha⁻¹, Cyproconazole + Azoxystrobin 200 + 200ml.ha⁻¹ + óleo nimbus 0,02%, Azoxystrobin 200ml.ha⁻¹ + uréia 0,5%, Difeconazole 200ml.ha⁻¹, Azoxystrobin 200ml.ha⁻¹ + óleo nimbus 0,02%, Difeconazole 200ml.ha⁻¹ + uréia 0,5%, Difeconazole 200ml.ha⁻¹ + Silício 0,1%, Azoxystrobin 200ml.ha⁻¹ + Silício 0,1%, Difeconazole 200ml.ha⁻¹ + Silício 0,2% e Epoxiconazole + Pyraclostrobin 500 ml.ha⁻¹. A sanidade das sementes foi avaliada através do blotter test. Os resultados obtidos permitiram concluir que: 1) a aplicação de fungicidas em R₄ reduziu a percentagem de incidência de fungos nas sementes em relação a R₅; 2) a taxa de infecção das sementes pelos fungos foi: *Fusarium* com 89,84%, seguido por *Phomopsis* (62,56%), *C. kikuchii* (6,76%), *C. sojina* (2,6%) e *Macrophomina* (0,04%) respectivamente, sendo que, os dois últimos fungos não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill), é um dos principais produtos agrícolas nacionais, ocupa lugar de destaque no país, gerando importante fonte de divisas (ITO, 1993).

O Triângulo Mineiro praticamente concentra o cultivo da oleaginosa no Estado, com mais de 95% da produção. Nessa região, Uberaba desponta como maior produtor, com mais de 74 mil hectares semeados na última safra, resultando em colheita de 224,6 mil toneladas (CONAB, 2003).

As doenças causadas por fungos são consideradas muito importantes, não somente devido ao maior número, mas pelos prejuízos causados, tanto no rendimento quanto na qualidade das sementes (ITO 1993).

Tendo em vista o grande número de doenças que podem afetar a cultura da soja, a maioria favorecida pelas condições climáticas durante todo o ciclo da planta, o emprego de medidas de controle que minimizem as perdas são fundamentais. A escolha dos métodos mais adequados de controle deve ser baseada no conhecimento da natureza das doenças e do complexo das interações planta-patógeno-ambiente.

Dentre esses métodos, o controle químico pode garantir culturas mais saudáveis e com maior produtividade, porém deve ser sempre observado o aspecto econômico, uma vez que a aplicação de fungicidas implica em dispêndios financeiros para o produtor. As perdas anuais de produção por doenças são estimadas em cerca de 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de quase 100%.

No Brasil, com a expansão da cultura da soja para as regiões, Central e Norte, os problemas para a produção de sementes de alta qualidade têm aumentado. A ocorrência de condições climáticas desfavoráveis, como chuvas e altas temperaturas durante as fases de maturação e colheita, afeta, além da qualidade fisiológica, a sanidade das sementes (ITO, 1993).

A maioria dos patógenos são transmitidos através das sementes e, portanto, o uso de sementes saudáveis ou o tratamento das sementes é essencial para a prevenção ou a redução das perdas. Os exemplos mais evidentes de doenças que são disseminadas através das sementes são a antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*), a seca da haste e vagem (*phomopsis* spp.), a mancha púrpura da semente e o crestamento foliar de *Cercospora* (*Cercospora kikuchii*), a mancha “olho-de-rã” (*Cercospora sojina*), a mancha parda (*Septoria glycines*) e o cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis*) (ITO, 1993).

O presente trabalho tem como objetivo identificar e quantificar os principais patógenos presentes nas sementes, em parcelas colhidas a campo, submetidas a diferentes fungicidas foliares nos estádios R4 e R5.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura da soja nos cerrados

A expansão da cultura no Brasil tem sido crescente. Novas fronteiras têm sido abertas, aumentando a cada ano a área cultivada e colocando o país em destaque entre os principais produtores mundiais. Minas Gerais plantou 862 mil hectares na safra 2002/2003, com colheita superior a 2,3 milhões de toneladas, segundo a Companhia nacional de abastecimento (CONAB, 2003).

Em 1970, menos de 2% da produção nacional de soja era colhida no Centro-Oeste. Em 1980 esse percentual passou para 20%, em 1990 já era superior a 40% e 58% em 2002, com tendências a ocupar maior espaço a cada nova safra. Essa formação promoveu o Estado do Mato Grosso a líder nacional de produção e produtividade de soja, com boas perspectivas de consolidar-se nessa posição (EMBRAPA, 2002).

A rápida expansão da cultura da soja, nas últimas três décadas, quase sempre feita sem o mínimo cuidado fitossanitário, permitiu que a maioria dos patógenos fossem disseminados a todas as regiões produtoras, através da semente, seu principal veículo de disseminação e introdução em novas áreas de cultivo (ITO, 1993).

2.2 O controle de doenças na cultura

A proteção das plantas via tratamento de sementes é uma prática muito interessante do ponto de vista agrônomo. Com pequenas quantidades de ingredientes ativos aplicados sobre as sementes, estas ficam protegidas das doenças causadas pelos fungos na germinação, que é o momento de maior fragilidade do ciclo da planta e da instalação da lavoura. Durante essa fase, os cotilédones ricos em reservas alimentares como proteínas e óleos ficam mais tenros e os nutrientes passam a se encontrar mais prontamente disponíveis ao desenvolvimento da plântula. Nesse momento, os fungos encontram nas sementes em germinação um substrato ideal para se alimentar (ANUÁRIO BRASILEIRO DE SOJA, 2003).

Fatores ambientais adversos como excesso de água no solo, temperaturas baixas, grandes variações térmicas entre noite e dia, estresse hídrico, impedimentos físicos do solo, dentre outros, dificultam e atrasam o processo da germinação, favorecendo a ação dos patógenos (ITO, 1993).

É nestas situações que o tratamento de sementes com fungicidas ajuda a planta a se estabelecer, passando a ser uma ferramenta muito útil para o agricultor que, com esta prática, minimiza os seus riscos de perda da lavoura ou má formação do estande de plantas. Mesmo em casos em que o valor cultural e a sanidade da semente são muito bons e estão de acordo com os padrões legalmente estabelecidos, o tratamento de sementes amplia essas qualidades, promovendo uma proteção adequada quando os fatores ambientais não forem favoráveis ao desenvolvimento da germinação (EMBRAPA, 2002).

Além de todas as vantagens agrônomicas, o tratamento de sementes é também uma medida de proteção das plantas com excelente relação custo/benefício.

Numa agricultura moderna, em que o valor genético das sementes é cada vez mais elevado, a quantidade destas por área é reduzida e o uso do solo é intenso, o tratamento adequado das sementes adquire mais importância, sendo praticamente indispensável.

As indicações atuais para a cultura de soja levam a se colocar, na semente, produtos diversos e que podem ter incompatibilidade entre si, não só em razão dos princípios ativos como também das substâncias usadas nas formulações e/ou dos níveis de acidez. Tem sido relatada, em diversas condições, a diminuição da sobrevivência de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* inoculado na semente, devido à ação de alguns fungicidas (ITO, 1993).

2.3 A patologia de sementes

A associação de patógenos com sementes, segundo Baker e Smith (1966), data de mais de oito séculos. Para Baker (1979) que o início provável do desenvolvimento de mecanismos de transmissão de patógenos por sementes aconteceu a partir da época em que as angiospermas tornaram-se a flora dominante na Terra e as sementes passaram a constituir-se na forma usual de multiplicação de plantas. Em termos históricos, muitos dos eventos que levaram ao surgimento da patologia de sementes foram, ao longo de muitas décadas, tratados pela fitopatologia, fazendo com que tais fatos se tornassem parte integrante da própria história dessa Ciência. Isto faz com que a abordagem histórica da Patologia de Sementes seja baseada em trabalhos clássicos de fitopatologia, conforme publicações de Baker (1972, 1979), Neergaard (1977) e Noble (1979). Desta forma, o primeiro relato concreto sobre a associação de um patógeno com semente foi feito por Hellwig em 1699, conforme narra Baker (1972). Nessa publicação foi feita referência sobre o transporte de escleródios de *Clavipes purpúrea* junto a sementes de centeio.

De grande repercussão histórica para a evolução da Patologia de Sementes foi a constatação acidental do controle de *Tilletia* sp em sementes de trigo, em 1670. Segundo narrativas de Neegaard (1977), sementes deste cereal, recolhidas de um barco cargueiro naufragado na costa inglesa próximo a Bristol, ao serem semeadas originaram plantas livres de *Tilletia* sp, ao contrário de outras produzidas na própria região e que não receberam o “tratamento salino”.

Para Noble (1979), o provável marco inicial da Patologia de Sementes data de 1919, tendo como pioneira a patologista Dr^a Lucie Doyer, na Holanda. O trabalho desta profissional voltado para a patologia de sementes de cereais constitui uma das mais expressivas etapas para a evolução do conhecimento sobre a associação de patógenos com sementes.

Além da publicação clássica de Doyer (1938), inúmeros outros trabalhos que se sucederam devem ser lembrados como obras importantes na evolução da Patologia de Sementes em todo o mundo. Dentre inúmeros trabalhos podem ser destacados: Noble et alii (1958), De Tempe (1961), Neergaard (1962), Manole e Muskett (1964), Baker e Smith (1966), Noble et alii (1966), Leach (1967), Limonard (1968), De Tempe (1970), Neergaard (1970), Baker (1972), Naumova (1972), Neergaard (1972), Neergaard (1977), Baker (1979), Richardson (1979), Ista (1981) conforme Henning 1987.

No Brasil, o início da história da patologia de sementes é relativamente recente, embora publicações de trabalhos sobre tratamento de sementes e ocorrência de patógenos em lotes de sementes tenham sido registrados a partir da década de 40 (Wetzel et alii, 1981). O reconhecimento da patologia de sementes, como um segmento importante em apoio ao sistema produtivo agrícola no país, ocorreu somente a partir de meados da década de 70.

O destaque principal, no início, foi a realização de 1º “Workshop” Latino Americano de Patologia de Sementes, em Londrina, PR, em 1977. Desse encontro, surgiu a elaboração do Programa Brasileiro de Patologia de Sementes tendo como objetivos coordenar o desenvolvimento de pesquisas, organizar treinamento de pessoal e difundir a tecnologia desenvolvida pelo referido programa Wetzel (1981).

Uma compilação bibliográfica, preparada por Wetzel et al. (1981), revelou que a associação de patógenos com sementes tem sido uma preocupação relativamente antiga no Brasil.

No presente estágio, apesar das dificuldades, o Programa Brasileiro de Patologia de Sementes cumpre os seus objetivos de forma satisfatória. É preciso que se reconheça o enorme apoio que o Programa tem recebido da parte da Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes (ABRATES). A criação do comitê de Patologia de Sementes (COPASEM) evidencia a seriedade com que aquela Associação passa a tratar o aspecto de sanidade de sementes no país.

Apesar do avanço considerável que a patologia de Sementes tem experimentado nos últimos anos, percebe-se, no entanto, uma certa dificuldade na comunicação por parte dos técnicos ligados a essa área. Certamente que essas dificuldades existem considerando-se o caráter interdisciplinar na composição da Patologia de Sementes. Grande parte dos conceitos seguidos atualmente é baseada em trabalhos clássicos de Baker e Smith (1966) e Baker (1972).

A realização de dois Simpósios Nacionais (1984 e 1986), a criação de um comitê de Patologia de Sementes pela Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, a oferta de alguns cursos específicos em diversos níveis e a tentativa de implantação de testes de

sanidade de sementes são alguns fatos que, nesses 10 últimos anos, revelam a preocupação e a evolução eventual da Patologia de Sementes em nosso país (WETZEL 1981).

2.4 Principais patógenos

Até o presente, foram identificados inúmeros microrganismos em sementes de soja, porém, poucos são os que merecem destaque por serem economicamente importantes.

2.4.1 *Phomopsis* sp. – Queima da haste e da vagem

Esta doença ocorre naturalmente na maioria das lavouras de soja, sem causar sérios prejuízos ao rendimento. Porém, pode reduzir a qualidade das sementes, especialmente quando ocorrem períodos chuvosos associados com altas temperaturas durante a fase de maturação. Os sintomas da doença na planta aparecem durante a fase final do ciclo, sendo caracterizados por pontuações pretas (picnídios), que são formados linearmente na haste e pecíolos e, ao acaso, sobre as vagens. As sementes infectadas, após o período de incubação apresentam normalmente o micélio branco, compacto, sob o qual aparecem os picnídios. Não raramente, *Phomopsis* sp, apresenta apenas picnídios sobre a semente. Nesses casos, a identificação segura deve ser feita com o auxílio de microscópios biológico, usando-se aumentos de até 400 vezes, para observar a presença dos esporos alfa e beta. Muitas vezes, ambos os tipos de esporos são produzidos no mesmo picnídio (característica da espécie). Porém, algumas vezes, são produzidos apenas alfa ou beta num picnídio. O fungo torna o teste padrão de germinação (rolo papel, 25°C) inviável em lotes de sementes com altos índices de infecção. Todavia, não afeta a germinação em areia ou a emergência de plântulas no solo. Por essa razão, deve-se, em tais circunstâncias, substituir o teste padrão de germinação pelo de germinação em areia ou pelo teste de tetrazólio, que em conjunto com o

teste de sanidade, fornece um diagnóstico completo da qualidade da semente (HENNING, FRANÇA NETO, 1984).

Durante a armazenagem em condição ambiente, *Phomopsis* sp. perde viabilidade rapidamente, 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, freqüentemente, responsáveis pela baixa qualidade da semente e, não raramente, estão associados com *Phomopsis* sp. Nesses casos, mesmo que o fungo tenha perdido sua viabilidade durante a armazenagem, a germinação poderá não alcançar o padrão mínimo necessário para sua comercialização, razão pela qual o tratamento da semente com fungicida antes ou durante o período de armazenagem não é recomendado. O tratamento pode ser realizado, se necessário, imediatamente antes da semeadura, quando esta for efetuada: 1) em solo seco; 2) em solo com umidade excessiva e/ou baixas temperaturas; 3) quando se utiliza semente de vigor inferior ou; 4) com a finalidade de controlar patógenos específicos (HENNING et al., 1984).

Finalmente, ressalta-se a ocorrência de isolados de *Phomopsis* sp. que diferem em patogenicidade quando inoculados artificialmente em sementes de soja. Aparentemente, a ocorrência dos isolados mais patogênicos é insignificante sob nossas condições, já que não têm sido observados problemas de emergência em lotes com alta porcentagem de *Phomopsis* sp (HENNING et al., 1984).

2.4.2 *Fusarium semitectum* Berk. E Rav.

Diversas espécies de *Fusarium* têm sido relatadas, porém, em nossas condições, *Fusarium semitectum* é o mais comum em sementes de soja. Este fungo, considerado por

alguns autores como parasita fraco ou saprófita, foi propositadamente incluído entre os fungos fitopatogênicos, por causar problemas de germinação em laboratório, de maneira semelhante ao *Phomopsis* sp.. O fungo está comumente associado às sementes que sofreram atraso de colheita ou deterioração por umidade no campo (Henning, França Neto, 1980). *Fusarium semitectum*, apesar de isolado de cotilédones de plântulas anormais, oriundas de sementes naturalmente infectadas, não produziu nenhum sintoma de doença, quando inoculado em plantas de soja e girassol, em casa de vegetação.

O sintoma típico de *Fusarium semitectum* em sementes de soja, após o período de incubação, é a presença de micélio normalmente branco, porém variando do amarelado-pêssego até o marrom (dependendo da idade da cultura) e com aspecto cotonoso e denso. Sob o microscópio estereoscópico (50 aumentos) é possível observar as frutificações típicas do fungo, os conídios são produzidos livremente sobre as hifas.

2.4.3 *Cercospora kikuchii* (Matsu. e Tomoy.) Gardner – Mancha-púrpura

Embora o sintoma característico causado por *C. kikuchii* na semente seja a mancha-púrpura, nem todas as sementes infectadas apresentam esta coloração do tegumento. O fungo pode também atacar as vagens, hastes e pecíolos, causando manchas castanho-avermelhadas, e as folhas, causando crestamento foliar (Walters, 1980). A fase de crestamento foliar, que provoca a desfolha prematura e ocorre simultaneamente com *Septoria glycines*, pode causar redução da produtividade pela diminuição do peso das sementes (Walters, 1984, Yorinori, 1983). Quando a infecção nas sementes ocorrer na fase de enchimento das vagens, poderá ocorrer necrose nos cotilédones, afetando a germinação (Walters, 1984). Por outro lado, Henning et al. (1981) não observaram nenhum efeito negativo do fungo sobre a qualidade da semente, em ensaios conduzidos no Estado do

Paraná. Sementes das cultivares Paraná, Davis e Bossier com 0, 5, 10, 20 e 40% de mancha-púrpura não diferiram entre si com relação à germinação (25°C rolo de papel), emergência a campo e rendimento. O maior índice de infecção por *C. kikuchii* observado na semente colhida foi de 2.12%, indicando que, nas condições em que o estudo foi realizado, a taxa de transmissão semente-planta-semente foi bastante baixa.

No teste de sanidade, a presença da coloração púrpura no tegumento facilita, sobremaneira, a identificação do fungo, bastando observar o crescimento do mesmo e/ou esporulação. Os conídios longos, hialinos e septados são produzidos em fascículos e distinguem-se dos conidióforos que são de cor marrom-escuro. O tratamento das sementes com os fungicidas thiram 1.4 g i.a./ha ou thiabendazol 0,2 g i.a./kg poderá ser adotado como medida preventiva na disseminação do patógeno para novas áreas, onde sob condições adequadas de temperatura e umidade, poderá causar severos danos à soja e permanecer viável nos restos da cultura.

2.4.4 *Cercospora sojina* Hara – mancha “olho-de-rã”

Nas folhas, o sintoma mais característico da doença é a presença de lesões castanho-cinza claro com bordas avermelhadas, as quais aparecem próximo à fase de floração. O fungo pode atacar também as hastes, vagens e as sementes. Nas hastes, as lesões são alongadas, com bordas pardas, as quais são mais evidentes no final do ciclo. As sementes infectadas podem possuir coloração cinza esverdeada no tegumento que, freqüentemente, apresenta rachaduras. A utilização de cultivares resistentes à doença tornou esporádica a presença do patógeno em amostras de semente. Hoje, com o aumento no cultivo de variedades suscetíveis, a tendência será aumentar a incidência de *C. sojina* nas sementes. Para reduzir a possibilidade da transmissão e introdução do patógeno em novas áreas de

cultivo, Yorinori (1984) recomenda o tratamento da semente antes do plantio, com thiram ou thiabendazol.

Após o período de incubação, no teste de sanidade, a presença dos fascículos com conidióforos escuros e conídios hialinos, septados, são as características utilizadas para diferenciar *C. kikuchii* de *C. sojina* cujos esporos são bem menores.

2.4.5 *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid – Podridão preta das raízes

A doença ocorre com bastante frequência e pode causar prejuízos, em condição de clima seco. Este problema pode ser agravado em lavouras, onde o preparo do solo não é adequado, permitindo a formação do pé-de-grade e, conseqüentemente, as plantas desenvolvem sistema radicular mais superficial, não suportando veranicos. A transmissão por semente, embora ocorra, parece não ser importante, uma vez que o inóculo existe na maioria dos solos.

As plantas atacadas no campo apresentam deterioração do sistema radicular, com formação intensa de microescleródios sob a epiderme, os quais matam as plantas prematuramente. Na semente, após o período de incubação em gerbox, o fungo normalmente apresenta formação de micélio escuro com abundante produção de microesclerócios pretos sobre a semente, mas, que podem espalhar-se sobre o papel de filtro. Esta característica permite a identificação do patógeno com bastante segurança, mesmo a olho nu.

2.4.6 *Colletotrichum dematum* (Pers. ex.fr.) Grove var. *truncata* (Schw.) Von Arx. – Antracnose

Esta doença pode ser detectada visualmente, desde as fases iniciais de desenvolvimento da planta, ocasionando lesões na haste e nos ramos, os quais, após

secarem, ficam tomados por pontuações escuras, os acérvulos, onde são observadas inúmeras setas escuras.

Com a expansão da cultura para a região do Brasil Central, em algumas safras, tem sido observado um aumento considerável na ocorrência de *C. dematium* var. *truncata* em sementes de soja. Walters (1984) relatou porcentagens de infecção superiores a 50%. Índice elevado de infecção de sementes como este só havia sido relatado na Índia (Agarwal, 1981).

O fungo pode causar deterioração da semente, morte de plântulas (Tiffany, 1951) e infecção sistêmica em plantas adultas (Neergaard, 1979). Devido à sua baixa ocorrência em sementes, pouco se sabe, até o presente, sobre as implicações que um lote com alta incidência de *C. dematium* var. *truncata* poderia trazer se fosse aprovado em teste de germinação com tratamento da amostra de sementes. Por essa razão, ao invés de recomendar tal prática, por medida de precaução, até que haja resultados completos da pesquisa, é preferível a utilização do teste de sanidade nos laboratórios de análise de sementes. Os sintomas em plântulas são tipicamente lesões escuras nos cotilédones e hipocótilos onde, com o auxílio de uma lente de bolso (10 ou 20 aumentos), pode-se observar os acérvulos típicos da espécie que é também a característica utilizada para a identificação do patógeno nas sementes, após o período de incubação.

2.4.7 *Rhizoctonia solani* Kuhn – Tombamento e morte em reboleira

Este fungo pode causar doença tanto na fase de plântula (tombamento) quanto na fase adulta (morte em reboleira), durante o período de floração. Os sintomas nas plântulas são caracterizados por lesões marrom-avermelhadas, na região do colo. Nas plantas adultas, as reboleiras começam a aparecer aproximadamente durante a fase de floração com o

amarelecimento das folhas, clorose ao longo das nervuras, murchamento das folhas jovens e broto apical. Finalmente, ocorre murcha e morte das plantas, que retém os pecíolos voltados para baixo (Baker, 1979). O microrganismo é um habitante do solo, permanecendo viável em restos de cultura. Em algumas regiões do sul, em áreas novas de cultivo, têm sido relatadas severas perdas em lavouras, porém, de modo geral, após dois ou três anos de cultivo, a incidência da doença diminui tendendo a desaparecer na maioria dos casos. A taxa de transmissão do fungo por semente é baixa e sua importância é questionável, já que o mesmo ocorre naturalmente nos solos. A identificação do fungo no teste de sanidade de semente é feita com base na característica do micélio marrom, onde as hifas septadas possuem ramificação em 90°, já que o mesmo não produz esporos.

2.4.8 *Sclerotinia sclerotiorum* Lib (De Bary) – Podridão-branca da haste e da vagem

A doença pode causar severas perdas em anos chuvosos e com temperaturas amenas em algumas regiões do sul do Paraná e Minas Gerais. As plantas atacadas apresentam o micélio branco, algodinoso, que se desenvolve sobre a haste e ramos da soja, onde, posteriormente, são formados os esclerócios. Tais estruturas de resistência podem igualmente ser produzidas no interior da haste, adquirindo a forma cilíndrica. Durante a colheita, os esclerócios são espalhados no solo, onde podem permanecer viáveis por vários anos.

A transmissão por semente pode ocorrer tanto através de micélio dormente (interno) quanto por esclerócios misturados às sementes. Todavia, a transmissão por esclerócios pode ser reduzida, uma vez que, durante o beneficiamento, podem ser eliminados no separador espiral. Porém, mesmo que a taxa de transmissão por micélio dormente seja bastante baixa num lote de semente, a sua importância reside na possibilidade de introdução do inóculo

em novas áreas de cultivo. O fungo, devido à formação de estruturas de resistência (esclerócios), é de difícil erradicação após introduzido numa área. O tratamento de sementes com os fungicidas thiabendazol ou thiram poderá ser adotado como medida de segurança para reduzir tal risco.

No teste de sanidade de sementes, rotineiramente empregado (papel de filtro, 25°C/7 dias), dificilmente o fungo é detectado. Melhores resultados foram obtidos quando a temperatura foi reduzida para 7-10°C e o período de incubação aumentando para 28 dias (Henning, França Neto, 1985). A identificação é feita com base na presença do micélio branco típico e formação de esclerócios.

3. MATERIAI E MÉTODOS

O trabalho compreendeu uma fase de campo com a instalação e condução de um experimento até a colheita das sementes, e outra, de laboratório, para a avaliação da sanidade da semente.

3.1 Ensaio de campo

O experimento de campo foi instalado na fazenda Experimental do Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia no período de novembro de 2002 a abril de 2003. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 12 x 2. Foi utilizado a variedade Engopa 316 (ciclo precoce). Os fungicidas utilizados foram apresentados na Tabela 1.

tabela 1: Fungicida, nome técnico, comercial, grupo químico, Classe toxicológica e dose. UFU, Uberlândia, 2004.

Produto	Grupo Químico	Nome Técnico	Nome Comercial	C. Toxicol.	Dose
1	Testemunha	-	-	-	-
2	Triazol	Difeconazole+Propiconazole	Taspa	III	150ml
3	Triazol+Estrubirulina	Azoxystrobin+Difeconazole	-	-	200+125
4	Triazol+Estrubirulina ¹	Cyproconazole+Azoxystrobin	-	-	200+200
5	Estrubirulina	Azoxystrobin ²	Priori	IV	200
6	Triazol	Difeconazole	Score	I	200
7	Triazol	Difeconazole ²	Score	I	200
8	Estrubirulina	Azoxystrobin ¹	Priori	IV	200
9	Triazol	Difeconazole ³	Score	I	200
10	Estrubirulina	Azoxystrobin ³	Priori	IV	200
11	Triazol	Difeconazole ⁴	Score	I	200
12	Triazol+Estrubirulina	Epoxiconazole+Pyraclostrobin	Ópera	II	500

1) Acrescido do óleo Nimbus - 0,02% (4mL.100L⁻¹).

2) Acrescido de uréia – 22g.L⁻¹ (0,5%).

3) Acrescido do produto Rosburg Sililo (30 % de Silício solúvel) - 100mL.100L⁻¹.

4) Acrescido do produto Rosburg Sililo 200ml.100L⁻¹.

Os fungicidas foram aplicados em calda de 200l.ha⁻¹ em pulverizador CO₂ a 40 Lbs/pol² em barra com pontas cônicas de jato vazio da série Spray Sistem. As parcelas experimentais eram compostas de 4 linhas de 5m de comprimento, espaçadas de 0,45m. A adubação na área experimental foi baseada no uso da fórmula 0-28-18, na dose de 330 Kg / ha NPK. As sementes utilizadas foram inoculadas com *Bradrhizobium japonicum* na fórmula líquida (Nitral), conforme recomendações do fabricante. As sementes não foram tratadas quimicamente com fungicidas. Os tratos culturais de capina foram realizados manualmente a cada 30 dias. O controle de insetos pragas foi realizado com o inseticida

Decis, na dose de 180 mL.ha⁻¹, em duas aplicações, visando o controle de percevejos da soja (*Euchistus heros*, *Nezara viridula* e *Piezodorus guildini*), na fase reprodutiva da soja.

Os fungicidas foram aplicados em duas épocas diferentes conforme o estágio de desenvolvimento da cultura (R4 e R5).

As plantas foram colhidas manualmente no estágio R8, isto é, quando apresentavam cerca de 95% das vagens com coloração amarelo-palha ou marrom (maturidade fisiológica). A trilha foi realizada mecanicamente em trilhadeira estacionária, e foram, posteriormente, retiradas amostras de cada parcela, embaladas em sacos de papel e transportadas para o laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (U.F.U.).

3.2 Ensaio de laboratório

A sanidade das sementes foi avaliada pelo teste do papel filtro ou blotter test., sendo que, as sementes não receberam nenhum tipo de tratamento.

O teste foi delineado em DBC e a montagem foi realizada em 72 gerbox com quatro repetições de cada parcela (totalizando 288 gerbox), com um total de 100 sementes/parcela. Em cada dia foi montado uma repetição das 72 parcelas. Os gerbox foram autoclavados por uma hora a 120°C para eliminar qualquer contaminante de usos passados. Cada gerbox foi forrado com papel mata borrão e germiteste ambos com dimensões iguais aos gerbox. Depois foi adicionado água destilada e esterelizada, para evitar contaminantes presentes na água, de forma a saturar os papéis fornecendo umidade para a germinação dos patógenos.

Em cada gerbox foi colocado 25 sementes de soja com disposição simétrica em cinco linhas contendo cinco sementes cada linha, que permaneceram na câmara incubadora por

oito dias a uma temperatura de 22°C com variação de $\pm 2^\circ\text{C}$ propiciando assim, as melhores condições para que os patógenos presentes nas sementes germinassem. Após os oito dias foram feitas as identificações dos patógenos encontrados e sua contagem.

As identificações e quantificações foram feitas com auxílio de estereomicroscópio, onde foi avaliado a quantidade de sementes infectadas pelos patógenos em cada gerbox, sendo avaliado os diferentes tratamentos com fungicidas além do efeito da interação entre as diferentes épocas de aplicação.

Realizou-se a análise de variância e o teste de médias para os percentuais de infecção fúngica, fungicidas aplicados e patógenos (Tukey a 5% e 1% de probabilidade) pelo software Sanest, conforme orientação de Gomes (1990).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância está apresentada na tabela 2.

tabela 2: Análise de variância dos dados obtidos no experimento. UFU, Uberlândia, 2004.

Causas da variação	G.L.	Q.M.
Fungicida	11	4.68
Época	1	13.70*
Fungo	4	7653.07 **
Func*Épo	11	4.60
Func*Fun	44	3.71
Func*Épo*Fun	44	3.53
Epo*fun	4	4.75
Resíduo	240	2.80
C.V.		20,66

Média geral = 8.09 Coeficiente de variação = 20.66%

*, ** Significativo a 5 e 1%, de probabilidade, respectivamente

Na análise de variância, não observou-se efeito de fungicidas, e interações entre fungicida x época, fungicida x fungo, época x fungo e fungicida x época x fungo, porém, notou-se influência significativa de época e fungo.

Conforme a Tabela 3 podemos perceber que as parcelas que receberam tratamento com fungicidas foliares em estágio R4 apresentaram menor número de sementes infectadas

pelos patógenos em relação a aplicação feita em R5, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

tabela 3: Média dos dados de porcentagem de sementes infectadas nas duas épocas estudadas. UFU, Uberlândia, 2004.

Estádio	Médias
R5	33.16 a
R4	31.6 b

D.M.S. 5% = 0.34 D.M.S. 1% = 0.45

1) Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não deferem entre si pelo teste de tukey, a 5% de probabilidade.

Conforme pode ser visto na Tabela 4, os percentuais de infecção fúngica foram variáveis, sendo que, a maior taxa de infecção foi pelo fungo *Fusarium* com 89,84% das sementes infectadas, seguida por *Phomopsis* com 62,56% das sementes infectadas, *C. kikuchii* com 6,76% das sementes infectadas, *C. sojina* com 2,6% das sementes infectadas e *Macrophomina* com 0,04% respectivamente, sendo que, não houve diferença estatística entre *C. sojina* e *Macrophomina*, a 5% e 1% de probabilidade.

Tabela 4: Médias de % de sementes infectadas por diferentes patógenos. UFU, Uberlândia, 2004.

Fungo	Médias
<i>Fusarium</i>	89,84 a
<i>Phomopsis</i>	62,56 b
<i>Kikuchii</i>	6,76 c
<i>Sojina</i>	2,6 d
<i>Macrophomina</i>	0.04d

D.M.S. 5% = 0.75 D.M.S. 1% = 0.90

Pereira et. (2000), observou maior porcentagem de sementes infectadas por *Phomopsis sojae*, quando a semeadura é antecipada para outubro. Nessa época de semeadura, a cultivar Rainha produziu sementes com menor incidência pelo fungo (6%), enquanto as demais cultivares apresentaram valores muito altos de porcentagem de sementes infectadas (de 12% a 20%). Na semeadura convencional em novembro, as cultivares Emgopa 316 e Emgopa 309 ainda apresentaram cerca de 15% das sementes contaminadas pelo fungo, porém, com nível de vigor mais elevado, pela menor incidência de danos mecânicos e de danos causados por condições adversas de umidade (Pereira et. al. 2000).

Passos (1994), trabalhando em Minas Gerais, com duas variedades e 14 linhagens de soja, constatou que as altas temperaturas e umidade elevada favoreceram a incidência de fungos, especialmente *Phomopsis* spp., prejudicando a qualidade das sementes. Quando a incidência de *Phomopsis* spp. e o total de fungos atingiram 25% e 47%, respectivamente, a germinação caiu para 62%.

Maior incidência de *Phomopsis* spp. e menores valores de germinação e vigor foram também encontrados por Paolinelli et al. (1984), em Uberaba, MG, em sementes provenientes de cultivo em outubro. Segundo os autores, sementes de boa qualidade e sanidade satisfatória foram obtidas nas semeaduras de novembro e dezembro. Diferente do encontrado no trabalho onde as sementes apresentaram 62,56% de infecção com o fungo mesmo sendo semeada em novembro.

5. CONCLUSÕES

1) Não houve efeito da aplicação foliar de fungicidas na redução de fungos em sementes de soja;

2) A aplicação de fungicidas em R4 reduziu a percentagem de incidência de fungos nas sementes de soja;

3) O fungo que apresentou o maior percentual de sementes infectadas foi o *Fusarium* com 89,84%, seguido por *Phomopsis* 62,56%, *C. kikuchii* 6,76%, *C. sojina* 2,6% e *Macrophomina* 0,04%.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, V.K. Seed-borne fungi and viruses of some importance crops. **Pantnagar, Govind Ballabh Pant University of Agriculture and Technology**, 1981. n.p. (Research Bulletin, 108).

[et al.] **Anuário brasileiro de soja**, Santa Cruz do Sul, Editora Gazeta Santa Cruz, 2003. 144p.

DOYER. L.C. **Manual for the determination of seed-borne diseases**. Wageningen, International Seed Testing Association, 1938. 59p.

ELAINY BOTELHO CARVALHO PEREIRA, AILTO VITOR PEREIRA E ANTÔNIO CARLOS FRAGA, qualidade de sementes de cultivares precoces de soja produzidas em três épocas. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v35, n.8, p. 1653-1662, agosto 2000.

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A.A. DIACOM: diagnóstico completo da qualidade da semente de soja. Londrina : Embrapa-CNPSO, 1992. 21p. (**Embrapa-CNPSO. Circular Técnica, 10**).

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba, SP: Nobel, 465 p., 1990.

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(3):9-22, 1980**.

HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B. & COSTA, N.P. Avaliação dos efeitos de diferentes níveis de sementes com mancha púrpura, sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes. In: **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Centro nacional de Pesquisa de Soja. Londrina, PR. Resultados de pesquisa de soja 1980/81. Londrina, 1981.

HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Effect of *Phomopsis* sp. On soybean seed quality in Brazil. In: **CONFERENCE ON THE DIAPORTHE/DIAPORTHE DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN**. Fort Walton Beach, 1984. Proceedings. Springfield, 1984. p. 66-7.

HENNING, A.A. Testes de sanidade de sementes de soja. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas : Fundação Cargill, 1987. p.441-454.

ITO, M. F. Soja: principais doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides, **Im: M.F. Ito e Maria Aparecida de Souza Tanaka**. Campinas, Fundação Cargill, 1993. v, 48p.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology**. London, Mac Millan Press Ltd. 2V., 1977.1187p.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2ed. London, MacMillan Press, 1979. 2v.

NOBLE, M. Outline of the History of Seed Pathology. In: YORINORI, J.T. et al. ed. **Seed Pathology – problems and Progress**, Londrina, IAPAR, 1979. p. 13-17.

NUNES JÚNIOR, J. **Efeito do genótipo e da época de semeadura na sanidade de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no Estado de Goiás**. Viçosa : UFV, 1984. 144p. Dissertação de Mestrado.

PAOLINELLI, G.P.; TANAKA, M.A.S.; REZENDE, A.M. Influência da época de semeadura sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.1, p.39-50, 1984.

PASSOS, G.A. **Avaliação de caracteres agronômicos e de qualidades fisiológica e sanitárias das sementes de genótipos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivados em diferentes regiões de Minas Gerais**. Viçosa : UFV, 1994. 91p. Dissertação de Mestrado.

PATRÍCIO, F.R.A.; BORIN, R.B.R.G.; ORTOLANI, D.B. Patógenos associados a sementes que reduzem a germinação e vigor. In: MENTEN, J.O. (Ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo : Ciba Agro, 1995. p.137-160.

Tecnologias de produção de soja – **região central do Brasil** – Londrina Embrapa Soja, 2002. 199p.

TIFFANY, L.H. Delayed sporulation of *Colletotrichum* on soybean. **Phytopathology**, St. Paul, 41:975-85, 1951.

WETZEL, M.M.V.S.; BETTIOL, E.M. & FAIAD, M.G.R. **Bibliografia Brasileira de Patologia de Sementes**. Brasília, EMBRAPA/CENARGEM, 1981.

WALTERS, H.J. **Soybean leaf blight caused by *Cercospora kikuchii***. Plant Dis., St. Paul, 64: 961-2, 1980.

WALTERS, H.J. Purple seed stain and *Cercospora* leaf blight caused by *Cercospora kikuchii*. In: **WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 3.**, Iowa, 1984. Program and abstract. Ames, Iowa State University, 1984. p.5.

YORINORI, J.T. Avaliação de danos causados por *Septoria glycines* em cultivares de soja. In: **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA**. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR. Resultados de pesquisa de soja 1982/83. Londrina, 1983.

YORINORI, J.T. **Tratamento de sementes de soja para controle da disseminação de *Cercospora sojina* Hara (mancha olho-de-rã)**. In: **SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3**, Campinas, SP, 1984. Resumos. Londrina, EMBRAPA – CNPSo, 1984. p.33.