

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA COM *FUSARIUM GRAMINEARUM* EM MEIO BDA COM RESTRIÇÃO HÍDRICA VISANDO A ANÁLISE DE EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E PATOGENICIDADE

Paula Cristina dos Santos Rodrigues (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Priscila Angelotti-Zampar (Doutoranda/PGA), Dauri José Tessmann (Orientador), e-mail: ra100932@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

5.00.00.00-4 – Ciências Agrárias/ 5.01.00.00-9 – Agronomia/ 5.01.02.00-1– Fitossanidade/ 5.01.02.01-0 Fitopatologia.

Palavras-chave: Manitol, patologia de sementes, *Fusarium graminearum*.

Resumo:

O estudo teve como objetivo a avaliação do método de inoculação de sementes de soja com o fungo *Fusarium graminearum* em meio de cultura agarizado e osmoticamente alterado pela adição de manitol, visando análise de emergência de plântulas e patogenicidade. A alteração hídrica proporciona o crescimento do fungo evitando a germinação das sementes. A análise do crescimento micelial do fungo foi realizada aos 4, 6 e 8 dias de crescimento, em placas de Petri com potenciais osmóticos diferentes (-0,3; -0,6; -0,9 MPa). Posteriormente avaliou-se a diferença do período de inoculação das sementes (24, 48, 72 e 96 horas) por *F. graminearum* e sua influência na patogenicidade, emergência e altura de plântulas. O tempo de inoculação do fungo em sementes de soja apresentou-se inversamente proporcional à germinação, e afeta negativamente à altura das plantas.

Introdução

A soja (*Glycine max*) é uma cultura de grande importância mundial, seu potencial produtivo e valor nutritivo são características que possibilitam a utilização desse grão na alimentação humana e animal. No cultivo, a qualidade e quantidade de grãos são essenciais à obtenção de altas produtividades, contudo, existem alguns fatores limitantes para a obtenção desses resultados, como o ataque de patógenos. Uma das causas de falhas de estande das lavouras pode ser a presença de patógenos de solo, tal como o fungo *Fusarium graminearum* (HENNING, 2015). Há relatos da ação desse fungo causando lesões necróticas na parte superior das raízes e em plântulas. Martinelli et al (2004) e Barros et al (2014) citam a capacidade desse fungo de causar tombamento na pré-emergência, aumentar a incidência de plantas anormais, além de reduzir o peso seco das raízes e tamanho de parte aérea. Análises de patologia de sementes possibilitam a detecção de alguns patógenos capazes de devastar a cultura os quais podem ser transmitidos via sementes. No entanto, em testes de sanidade por meio agarizado, a germinação das sementes durante o período de incubação é um dos principais problemas. Como solução pode-se utilizar os restritores hídricos em meios de cultura, tal como o manitol, muito utilizado em meio de batata-dextrose-ágar (BDA). Quando utilizado em

concentrações adequadas, o manitol não interfere no crescimento e/ou sobrevivência do fungo e na inoculação deste em sementes. A realização de ensaios desse patógeno associado à semente é essencial para observação de seus danos a cultura, além de possibilitar testes visando o tratamento de sementes para o seu controle. Para tal é necessário à inoculação das sementes com o fungo. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o método de inoculação de sementes de soja com o fungo *F. graminearum* em meio de cultura agarizado e osmoticamente alterado pela adição de manitol, visando análise de emergência de plântulas e patogenicidade.

Materiais e métodos

O experimento foi realizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM). As sementes de soja utilizadas foram da cultivar NA5909, com germinação previamente analisada. O isolado do fungo utilizado compõe a coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da UEM.

Crescimento micelial em meio de cultura osmoticamente modificado.

O fungo foi cultivado em placas de Petri de 8,5cm contendo meio de cultura BDA (200g de batata, 20g de ágar, 20g de dextrose) osmoticamente modificado com a adição de manitol nas concentrações de 0; -0,3; -0,6 e -0,9 MPa, e posteriormente esterilizado em autoclave. Depositou-se um disco de micélio de 5 mm no centro de cada placa. As placas osmoticamente modificadas foram incubadas em BOD a $24\pm 2^\circ\text{C}$ durante 8 dias. A avaliação do crescimento micelial foi realizada aos 4, 6 e 8 dias, quando foi realizada a medida do diâmetro das colônias. O experimento foi composto por seis repetições em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Emergência em caixa de areia e patogenicidade.

Primeiramente, foi realizada a inoculação das sementes em placas de Petri contendo uma colônia de sete dias do patógeno incubada em meio de cultura BDA+manitol (-0,9 MPa). Em seguida, as placas foram mantidas em BOD. Após sete dias foram depositadas as sementes nas placas, nas quais foram mantidas por diferentes períodos (T1-0; T2-24; T3-48, T3-72; T4-96 horas). Posteriormente as sementes foram distribuídas em bandejas plásticas de 50x30x8cm, contendo areia estéril. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com cinco repetições composto por 100 sementes. A contagem de plantas germinadas foi realizada 14 dias após a semeadura. E a avaliação da patogenicidade aos 28 dias, mediu-se a altura da parte aérea de cada planta. Para severidade, cada planta recebeu uma nota de 0 a 4 de acordo com o grau de necrose nas raízes, sendo a nota zero para a ausência de necrose, e notas de 1 a 4 de acordo com a evolução do sintoma. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e posteriormente gerou-se os gráficos de regressão.

Resultados e Discussão

No primeiro experimento (Figura 1) pode-se observar que nenhuma das concentrações de manitol (-0,3; -0,6 e -0,9 MPa) contribuiu para a redução ou inibição do crescimento micelial do fungo. Ao contrário, proporcionou um estímulo ao crescimento. Ao sexto dia o micélio já havia ocupado toda a superfície da placa, enquanto só foi possível observar isso na testemunha na última avaliação. Esse maior crescimento micelial em meio osmoticamente alterado pela adição de manitol foi observado anteriormente. Coutinho (2000) relaciona esse estímulo do crescimento micelial à utilização do manitol como uma fonte de energia ou a uma melhoria no ajuste osmótico da célula do fungo pela absorção de solutos contribuindo com a extensão celular, possibilitando maior turgor. O resultado obtido comprova que o restritor hídrico manitol pode ser uma opção para testes de sanidade de semente de soja, inibindo a germinação e permitindo que o fungo se desenvolva. Nas concentrações utilizadas não houve interferência do restritor no crescimento micelial do fungo, contudo estudos apontam que concentrações elevadas de manitol, proporcionam um potencial osmótico excessivamente baixo o qual pode inibir o crescimento de determinados fungos (MACHADO, 2007).

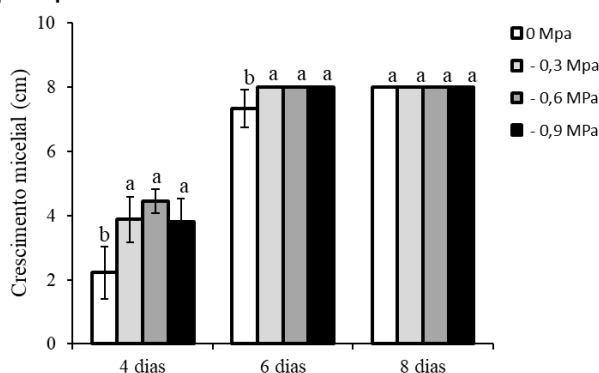


Figura 1: Crescimento micelial (cm) aos 4, 6 e 8 dias de *Fusarium graminearum* em meio osmoticamente modificado com diferentes concentrações de manitol.

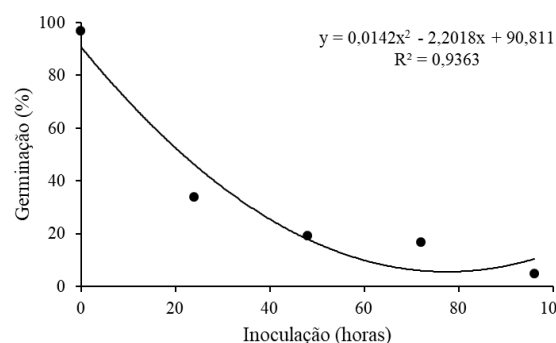


Figura 2: Germinação de sementes de soja submetidas a diferentes tempos de incubação com *Fusarium graminearum*.

No teste de emergência em caixa de areia foi avaliado a germinação, altura e severidade da doença nas plantas. O tratamento cinco apresentou menor número de plantas germinadas, sendo a germinação inversamente proporcional ao tempo de inoculação, de modo que, a testemunha apresentou mais de 95% das plantas germinadas (Figura 2). Já para a altura das plantas, observou-se uma redução do tamanho em relação à testemunha (Figura 3).

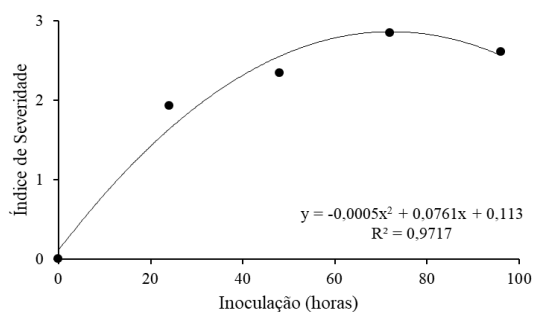
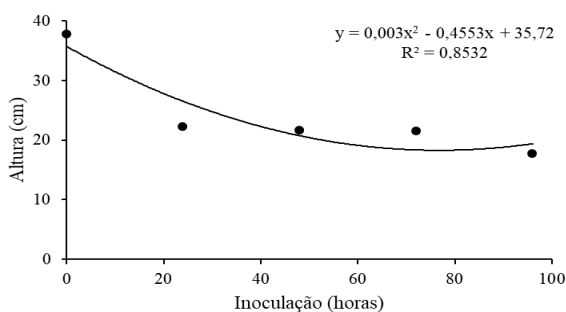


Figura 3: Altura de plantas de soja com sementes submetidas a diferentes tempos de inoculação com *F. graminearum*.

Figura 4: Severidade de *F. graminearum* em plântulas de soja com sementes submetidas a diferentes tempos de incubação.

O maior o tempo de exposição das sementes ao fungo apresentou a menor altura de plantas quando comparado as demais. Ao avaliar a severidade de necrose nas raízes das plantas (Figura 4), obteve-se como resultado um aumento na severidade da doença nas plantas proporcional ao aumento de horas de inoculação até 72 horas.

Conclusões

O manitol é um restritor hídrico eficiente na inibição temporária de germinação de sementes e permite a inoculação de fungos não impedindo o seu crescimento micelial. O tempo de inoculação do fungo *Fusarium graminearum* em sementes de soja é inversamente proporcional à germinação, e afeta negativamente à altura das plantas.

Agradecimentos

A Universidade Estadual de Maringá e ao CNPq.

Referências

BARROS, G.G., ZANON, M.S.A., CHIOTTA, M.L., REYNOSO, M.M., SCANDIANI, M.M., CHULZE, S.N. Pathogenicity of phylogenetic species in the *Fusarium graminearum* complex on soybean seedlings in Argentina. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, p. 215-222, 2014.

COUTINHO, W.M. Uso da restrição hídrica no controle da germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em testes de sanidade. **Dissertação de Mestrado**. Lavras MG. Universidade Federal de Lavras. 2000.

HENNING, A.A. Guia Prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja. Brasília: **Embrapa**. 33p. 2015.

MACHADO, A.Q., MACHADO, J.C., VIEIRA, M.D.G.G.C., CASSETARI NETO, D. & SOUZA, M.V. Potencial do uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira** 32:408-414. 2007.

MARTINELLI, J.A., BOCCHESI, C.A.C., XIE, W., O'DONNELL, K. E KISTLER, H.C. (2004). A podridão da podridão-da-soja e a podridão radicular causada por linhagens de *Fusarium graminearum* e a produção de micotoxinas. **Fitopatologia Brasileira**, 29, 492-498.