

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Priscila Barbieri Zini

**TESTES RÁPIDOS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR E QUALIDADE SANITÁRIA DE
SEMENTES DE TRIGO MOURISCO**

Santa Maria, RS
2021

Priscila Barbieri Zini

**TESTES RÁPIDOS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR E QUALIDADE SANITÁRIA DE
SEMENTES DE TRIGO MOURISCO**

Tese apresentada ao curso de Pós- Graduação em
Agronomia da Universidade Federal de Santa
Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a
obtenção do título de **Doutora em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Ubirajara Russi Nunes

Santa Maria, RS
2021

Priscila Barbieri Zini

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Zini, Priscila Barbieri
TESTES RÁPIDOS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR E QUALIDADE
SANITÁRIA DE SEMENTES DE TRIGO MOURISCO / Priscila
Barbieri Zini.- 2021.
77 p.; 30 cm

Orientador: Ubirajara Russi Nunes
Coorientadores: Alberto Cargnelutti Filho, Carla
Medianeira Bertagnolli
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2021

1. Pseudocereal 2. Sanidade 3. Exsudatos 4. Qualidade
Fisiológica 5. Viabilidade I. Nunes, Ubirajara Russi II.
Filho, Alberto Cargnelutti III. Bertagnolli, Carla
Medianeira IV. Título.

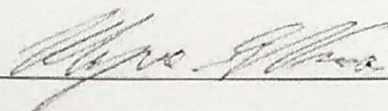
Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, PRISCILA BARBIERI ZINI, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

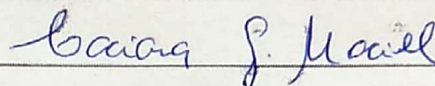
**TESTES RÁPIDOS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR E QUALIDADE SANITÁRIA DE
SEMENTES DE TRIGO MOURISCO**

Tese apresentada ao curso de Pós- Graduação em
Agronomia da Universidade Federal de Santa
Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a
obtenção do título de **Doutora em Agronomia**.

Aprovado em 10 de setembro de 2021:



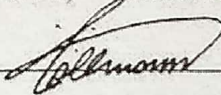
Prof. Dr. Ubirajara Russi Nunes (UFSM)
(Presidente/Orientador) – Videoconferência



Profa. Dra. Caciara Gonzatto Maciel
(UFRGS) – Videoconferência



Profa. Dra. Carla Medianeira Bertagnolli
(IFFar JC) – Videoconferência



Prof. Dr. Diego Nicolau Follmann
(UFSM) – Videoconferência



Dra. Raquel Stefanello
(UFSM) – Videoconferência

Santa Maria, RS
2021

*À minha avó Maria de Lurdes (in memoriam), por todo
amor, dedicação e esforços realizados em prol da minha
educação.
Amo você!*

AGRADECIMENTOS

Em meio a tantas dúvidas, incertezas, e desafios enfrentados, a gratidão expressa o sentimento mais humilde e sincero por mais um ciclo que se finda na minha caminhada. Sou grata por cada momento destes três anos de muito aprendizado, amizades e novas descobertas, que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a Deus por sempre guiar meus passos e iluminar meu caminho, me dando sempre forças e saúde para seguir em frente.

À meu avô Antônio (*in memoriam*), que sempre esteve ao meu lado e que certamente está muito orgulhoso dessa minha conquista.

À minha família que esteve presente em todos os momentos. Em especial a minha mãe Maristela e a minha avó Maria de Lurdes (*in memoriam*), por todo amor e carinho dedicados durante toda minha vida. Em todos os momentos difíceis, em que muitas vezes a opção mais certa era desistir, vocês estiveram a meu lado, sendo força e esperança para seguir em frente.

À meu irmão Marco Antonio, meu presente de Deus nessa vida.

À minha tia Marleia Barbieri por toda ajuda, auxílio e incentivo durante esta etapa. Por acreditar que tudo seria possível, sempre transmitindo calma e tranquilidade.

Agradeço a meu orientador, professor Ubirajara Russi Nunes, pela oportunidade de orientação e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo dos cinco anos. Obrigada pela paciência, incentivo e pelos inúmeros momentos de diálogo, sempre com conhecimentos transmitidos e palavras de motivação, que me encorajavam a seguir em frente.

À professora Carla Bertagnolli, por aceitar participar do meu projeto, sendo sempre muito atenciosa e disponível para me ajudar em qualquer dúvida que eu tivesse.

As minhas grandes amigas, Priscila Lany e Skarlet Stckeling, pela amizade sincera e por todo carinho recebido ao longo desses anos. Vocês foram minha fortaleza, ombro amigo e diria que minhas irmãs do coração. Em uma rotina tão atribulada e de muitos altos e baixos, contar com vocês foi essencial para chegar ao final de mais uma etapa da minha vida. Obrigada por todo o carinho ao longo desses dez anos de convívio.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Sementes da UFSM. A todos que tive o prazer de conviver, aprender e compartilhar tantos momentos de estudo e descontração. Em especial aos queridos amigos Eduardo Ludwig e Cassiano Vasconcelos. Com o auxílio de vocês muitos experimentos puderam ser realizados. Agradeço pelos momentos de conversas, ajuda na tomada de decisão, pela troca de experiências, conhecimentos e muitas vezes palavras de conforto que

auxiliaram na superação dos desafios encontrados. Esta conquista compartilho com todos vocês que foram fundamentais para a realização e concretização desta etapa.

Agradeço também ao Laboratório de Análises de Sementes de Rotina, por sempre se mostrarem dispostos a colaborar com meu trabalho, cedendo materiais e muitas vezes espaço físico para a realização de experimentos.

Ao Laboratório de Fitopatologia da UFSM, em especial a professora Marlove Muniz, por ceder o espaço físico para realização dos experimentos e compartilhar ensinamentos. Agradeço também a ajuda que recebi do Tales Poletto e do Vinícius Fantinel. Vocês estiveram sempre prontos a ajudar em tudo o que eu precisava, sempre me incentivando e orientando sobre a melhor forma de condução dos experimentos. Também agradeço aos inúmeros momentos de descontração que compartilhamos, e que tornaram mais alegres o período da pós graduação.

Aos amigos Skarlet Stckeling e Henrique Mezzomo, que compartilharam comigo seus conhecimentos e estiveram sempre prontos a me ajudar em qualquer dúvida que eu tivesse. Vocês embarcaram comigo nas mais diversas análises estatísticas, sempre achando uma solução para tudo.

Fica aqui minha total gratidão a todos que mesmo perto ou longe estiveram sempre torcendo pelo meu sucesso e para que eu alcançasse mais essa conquista.

Muito obrigada!

RESUMO

TESTES RÁPIDOS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR E QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES DE TRIGO MOURISCO

AUTORA: Priscila Barbieri Zini
ORIENTADOR: Ubirajara Russi Nunes

O trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) tem adquirido espaço no cenário agrícola brasileiro. Apresenta boa adaptação no sistema de rotação de culturas, é uma opção forrageira com capacidade para nutrição animal, além de servir para o consumo humano devido as propriedades nutricionais e nutracêuticas da farinha produzida a partir de seus grãos. No entanto, a verificação do potencial físico, fisiológico e sanitário de lotes de sementes é imprescindível quando busca-se por um estabelecimento inicial satisfatório de plântulas no campo. Assim, o presente estudo visa determinar a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de trigo mourisco, avaliar a patogenicidade de *Fusarium* spp. em plantas de trigo mourisco, bem como determinar um método de avaliação rápido da viabilidade de sementes por meio dos testes de condutividade elétrica massal e pH do exsudato. Foram realizados três experimentos distintos, o primeiro objetivou determinar a qualidade física, fisiológica e sanitária de lotes de sementes e avaliar a patogenicidade de *Fusarium* spp. em plantas de trigo mourisco. Para tal foram avaliados o peso de mil sementes, o teor de umidade, contagem de germinação ao 5° e 7° dia, comprimento e massa seca de plântula, teste de sanidade em papel filtro e patogenicidade em ambiente controlado. Os lotes apresentaram alta qualidade fisiológica na avaliação de germinação (5° e 7° dia). Houve alta incidência de *Fusarium* spp. em todos os lotes, a qual pode ser diminuída com a assepsia das sementes. Os isolados de *Fusarium* spp. foram patogênicos às plantas de trigo mourisco. No segundo experimento objetivou-se determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco por meio do teste de condutividade elétrica massal, bem como ajustar a metodologia do teste para obter uma avaliação rápida e precisa da viabilidade dos lotes de sementes. A condutividade elétrica avaliou diferentes quantidades de sementes (25 e 50), volumes de água (25, 50 e 75 mL) e períodos de embebição (1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas), nas temperaturas de 25 e 30 °C. Concluiu-se que a condutividade elétrica massal foi eficiente na discriminação de classes de vigor em lotes de sementes de trigo mourisco. No terceiro experimento o objetivo foi determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco com o auxílio da metodologia do teste do pH do exsudato. O teste do pH do exsudato foi avaliado nas temperaturas de 25 e 30 °C por períodos de embebição de 20, 40 e 60 minutos. Concluiu-se que o teste do pH do exsudato com a presença do tegumento das sementes não foi eficiente na discriminação de lotes de sementes de trigo mourisco. Com este estudo pode-se verificar a importância da avaliação sanitária das sementes e sua implicação no estabelecimento inicial de plântulas no campo. Também foi observada a importância do estudo de testes de vigor, bem como a resposta da espécie vegetal em função de diferentes arranjos metodológicos.

Palavras-chave: Pseudocereal. Sanidade. Exsudatos. Qualidade Fisiológica. Viabilidade.

ABSTRACT

RAPID TESTS IN THE EVALUATION OF THE STRENGTH AND HEALTH QUALITY OF BUCKWHEAT SEEDS

AUTHOR: Priscila Barbieri Zini
PhD ADVISOR: Ubirajara Russi Nunes

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) has gained space in the Brazilian agricultural scenario. It presents good adaptation in the crop rotation system, is a forage option with capacity for animal nutrition, in addition to serving for human consumption due to the nutritional and nutraceutical properties of the flour produced from its grains. However, the verification of the physical, physiological and health potential of seed lots is essential when looking for a satisfactory initial establishment of seedlings in the field. Thus, this study aims to determine the physical, physiological and health quality of buckwheat seeds, evaluate the pathogenicity of *Fusarium* spp. in buckwheat plants, as well as to determine a method of rapid evaluation of seed viability through mass electrical conductivity and exudate pH tests. Three different experiments were carried out, the first aimed to determine the physical, physiological and sanitary quality of seed lots and to evaluate the pathogenicity of *Fusarium* spp. on buckwheat plants. The weight of a thousand seeds, moisture content, germination count on the 5th and 7th day, seedling length and dry mass, filter paper health test and pathogenicity in a controlled environment were evaluated. The lots showed high physiological quality in the germination evaluation (5th and 7th day). There was a high incidence of *Fusarium* spp. in all batches, which can be reduced with seed asepsis. Isolates of *Fusarium* spp. were pathogenic to buckwheat plants. In the second experiment, the objective was to determine the viability of buckwheat seed lots through the mass electrical conductivity test, as well as to adjust the test methodology to obtain a quick and accurate evaluation of the seed lots viability. The electrical conductivity evaluated different quantities of seeds (25 and 50), water volumes (25, 50 and 75 mL) and soaking periods (1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours), at temperatures of 25 and 30 °C. It was concluded that mass electrical conductivity was efficient in discriminating vigor classes in buckwheat seed lots. In the third experiment, the objective was to determine the viability of buckwheat seed lots using the exudate pH test methodology. The exudate pH test was evaluated at temperatures of 25 and 30 °C for soaking periods of 20, 40 and 60 minutes. It was concluded that the exudate pH test with the presence of seed coat was not efficient in discriminating buckwheat seed lots. With this study, it is possible to verify the importance of seed health evaluation and its implication in the initial establishment of seedlings in the field. It was also observed the importance of studying vigor tests, as well as the response of the plant species as a function of different methodological arrangements.

Key-words: Pseudocereal. Sanity. Exudates. Physiological Quality. Viability.

ÍNDICE DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

- Figura 2.1.1 – Sementes de trigo mourisco (A), emergência a campo (B) e plantas em estágio de floração (C, D e E).....17
- Figura 2.2.1 – Viabilidade de sementes de trigo mourisco pelo teste do pH do exsudato.....20
- Figura 2.2.2 – Redução da qualidade fisiológica de sementes de trigo mourisco, de acordo com o aumento do nível de deterioração.....20
- Figura 2.2.3 – Alteração da membrana plasmática e sua relação com a condutividade elétrica das sementes.....21
- Figura 2.2.4 – Relação dos diferentes fatores envolvidos no teste de condutividade elétrica de sementes.....23
- Figura 2.3.1 – Sintomas de tombamento em plântulas de trigo mourisco.....25

Capítulo I

- Figura 3.2.1 – Plântulas de trigo mourisco infectadas oriundas do teste de germinação em rolo de papel.....32
- Figura 3.3.1 – Características morfológicas de *Fusarium* spp. associado à sementes de trigo mourisco.....40
- Figura 3.3.2 – Árvore filogenética obtida a partir das sequências do gene parcial fator de alongação 1-alfa (*tef1- α*), de três isolados de *Fusarium* spp., associados às sementes de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench), mostrando as relações filogenéticas das espécies no complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) de acordo com o método estatístico “Maximum Likelihood”. Os números sobre os ramos indicam a porcentagem de repetições da análise de *bootstrap* na qual as repetições foram observadas (1000 repetições).....41

Capítulo II

- Figura 4.3.1 – Correlação de Pearson entre o teste de condutividade elétrica e contagem de germinação ao 5º dia (G5) e 7º dia (G7), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA).....58

Capítulo III

| | |
|--|----|
| Figura 5.2.1 – Coloração rosa indicando viabilidade das sementes e ausência de coloração indicando inviabilidade da semente, pelo teste do pH do exsudato em sementes de trigo mourisco..... | 65 |
| Figura 5.3.1 – Estruturas das sementes de trigo mourisco..... | 69 |
| Figura 5.3.2 – Correlação de Pearson entre o teste do pH do exsudato e contagem de germinação ao 5° dia (G5) e 7° dia (G7), velocidade de emergência (VE) e índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (ECP)..... | 70 |

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo I

| | |
|---|----|
| Tabela 3.2.1 – Caracterização dos lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades..... | 30 |
| Tabela 3.3.1 – Grau de umidade (GU) e peso de mil sementes (PMS) de quatro lotes de sementes de trigo mourisco..... | 34 |
| Tabela 3.3.2 – Médias de germinação (5° dia), germinação (7° dia), plântulas anormais e sementes mortas de quatro lotes de trigo mourisco..... | 35 |
| Tabela 3.3.3 – Médias de comprimento radicular (CR), comprimento de parte aérea (CPA), massa fresca radicular (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca radicular (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de quatro lotes de trigo mourisco..... | 35 |
| Tabela 3.3.4 – Incidência de <i>Fusarium</i> spp. (FUS), <i>Alternaria</i> spp. (ALT), <i>Cladosporium</i> spp. (CLA), <i>Colletotrichum</i> spp. (COL), <i>Aspergillus</i> spp. (ASP) e <i>Curvularia</i> spp. (CUR), submetidos à assepsia ou não das sementes de trigo mourisco..... | 36 |
| Tabela 3.3.5 – Médias de germinação (5° dia), plântulas anormais e sementes mortas de quatro lotes submetidos à assepsia ou não das sementes..... | 38 |
| Tabela 3.3.6 – Médias da germinação (7° dia) de quatro lotes de trigo mourisco submetidas aos métodos com e sem assepsia das sementes..... | 38 |
| Tabela 3.3.7 – Características morfológicas de <i>Fusarium</i> spp. isolados de partes de plântulas de trigo mourisco após sete dias de incubação em meio BDA (batata-dextrose-ágar), com fotoperíodo de 24 horas, à 25° C..... | 39 |

Capítulo II

| | |
|--|----|
| Tabela 4.2.1 – Lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades..... | 48 |
| Tabela 4.3.1 – Grau de umidade (GU) dos sete lotes de sementes de trigo mourisco..... | 50 |
| Tabela 4.3.2 – Médias de germinação ao 5° dia (G5), germinação ao 7° dia (G7), comprimento de radícula (CR) comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de radícula | |

| | | |
|--------------|--|----|
| | (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA) de sete lotes de sementes de trigo mourisco..... | 51 |
| Tabela 4.3.3 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações entre número de sementes de 25 e 50, volumes de água de 25, 50 e 75 mL e sete lotes de sementes de trigo mourisco à 25° C..... | 52 |
| Tabela 4.3.4 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco à 25° C..... | 53 |
| Tabela 4.3.5 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco à 25° C..... | 54 |
| Tabela 4.3.6 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações entre número de sementes de 25 e 50, volumes de água de 25, 50 e 75 mL e sete lotes de sementes de trigo mourisco à 30° C..... | 55 |
| Tabela 4.3.7 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações entre tempo de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas e sete lotes de sementes de trigo mourisco à 30° C..... | 56 |
| Tabela 4.3.8 | – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$), utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco à 30° C..... | 56 |

Capítulo III

| | | |
|--------------|---|----|
| Tabela 5.3.1 | – Grau de umidade (GU), germinação ao 5° dia (G5), germinação ao 7° dia (G7), velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (ECP) de sete lotes de sementes de trigo mourisco..... | 66 |
| Tabela 5.3.2 | – Porcentagem de viabilidade de sete lotes de sementes de trigo mourisco submetidos ao teste do pH do exsudato nas temperaturas de 25° e 30° C por 20, 40 e 60 minutos de embebição..... | 67 |

APÊNDICES

| | |
|--|----|
| Apêndice A – Resumo da análise da variância do teste de condutividade elétrica massal no delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, na temperatura de 25° C..... | 75 |
| Apêndice B – Resumo da análise da variância do teste de condutividade elétrica massal no delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, na temperatura de 30° C..... | 76 |
| Apêndice C – Resumo da análise da variância do teste de pH do exsudato no delineamento inteiramente casualizado..... | 77 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 2.1 A CULTURA DO TRIGO MOURISCO E A OBTENÇÃO DE SEMENTES ... | 16 |
| 2.2 TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DO VIGOR DE LOTES DE SEMENTES | 18 |
| 2.3 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES | 24 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 25 |
| 3 CAPÍTULO I | 28 |
| 3.1 INTRODUÇÃO | 29 |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS | 30 |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 34 |
| 3.4 CONCLUSÕES | 43 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |
| 4 CAPÍTULO II | 46 |
| 4.1 INTRODUÇÃO | 47 |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS | 48 |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 50 |
| 4.4 CONCLUSÕES | 59 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 59 |
| 5 CAPÍTULO III | 62 |
| 5.1 INTRODUÇÃO | 63 |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS | 64 |
| 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 65 |
| 5.4 CONCLUSÕES | 72 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 72 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 74 |

1 INTRODUÇÃO

O trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) tem adquirido espaço no cenário agrícola brasileiro. Apresenta boa adaptação no sistema de rotação de culturas, é uma opção forrageira com capacidade para nutrição animal, além de servir para o consumo humano devido as propriedades nutricionais e nutracêuticas da farinha produzida a partir de seus grãos.

Ao buscar a obtenção de uma produtividade satisfatória, a semente é o primeiro fator a ser levado em consideração. Isto porque, em função da alta qualidade fisiológica das sementes, tem-se um adequado estabelecimento de plântulas no campo.

A verificação rápida e precisa do vigor e da viabilidade de lotes de sementes são fatores importantes para tomada de decisão no que diz respeito ao descarte de lotes inapropriados para comercialização e custos com armazenamento. Também, é necessária uma discriminação de lotes que possuem potencial germinativo semelhante, e por isto, busca-se a utilização de testes rápidos de vigor. Assim, recorre-se a testes que envolvam baixo custo, clareza na apresentação dos resultados e que não necessitem de mão-de-obra qualificada, podendo ser utilizado tanto em ambiente laboratorial como em campo, onde o próprio produtor possa ter acesso à tecnologia.

Por ser uma espécie de crescimento indeterminado, a maturação das sementes nos aquênios ocorre de baixo para cima. Tal fator torna difícil o controle da maturação, implicando no momento da colheita, em que algumas sementes ainda estarão imaturas. As Regras para Análise de Sementes (RAS) indicam o teste de tetrazólio para a avaliação do vigor e viabilidade de sementes de trigo mourisco. No entanto, o teste de tetrazólio possui um custo elevado, requer mão-de-obra qualificada para sua realização e é um teste destrutível à semente. Em virtude disso, procura-se estudar a metodologia do pH do exsudato e da condutividade elétrica massal, as quais têm sido utilizadas para diversas culturas com resposta positiva. São testes que avaliam o vigor das sementes por meio da integridade das membranas, e não são destrutivos, permitindo assim, a utilização da mesma semente em outros testes.

Além da qualidade fisiológica determinada por meio dos testes de vigor, a qualidade sanitária é outro fator importante para determinar a qualidade de um lote de sementes. A literatura internacional relata para trigo mourisco problemas em emergência de plântulas. No Brasil não há recomendações técnicas para cultura no manejo de doenças em pré emergência, uma vez que não há problemas registrados com patógenos. No entanto, observações preliminares, vieram a diagnosticar problemas na emergência de lotes de sementes de trigo mourisco, oriundas da região Sul do Brasil, causados por alguma espécie de patógeno,

provavelmente do gênero *Fusarium*. Diante disso, torna-se necessária a avaliação da qualidade sanitária dos lotes de sementes, a fim de verificar os patógenos presentes e, posteriormente, compreender as relações estabelecidas na patogenicidade e transmissão de doenças.

Assim, o presente estudo visa determinar a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de trigo mourisco, avaliar a patogenicidade de *Fusarium* spp. em plantas de trigo mourisco, bem como determinar um método de avaliação rápido da viabilidade de sementes por meio dos testes de condutividade elétrica massal e pH do exsudato.

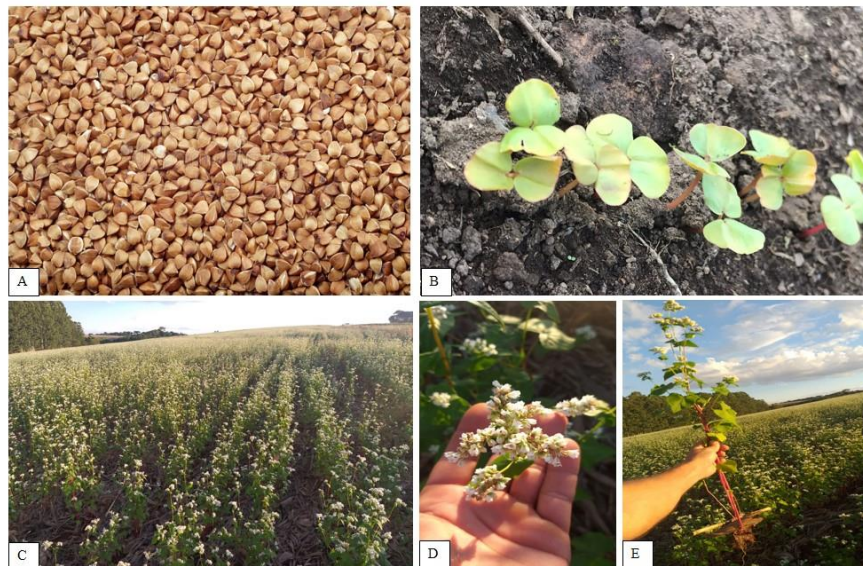
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica abordará as principais características do trigo mourisco, bem como sua produção e obtenção de sementes. Também será explanado alguns dos principais testes de avaliação do vigor, e a importância da verificação da qualidade sanitária das sementes, no que diz respeito a obtenção de lotes de sementes com alto potencial fisiológico.

2.1 A CULTURA DO TRIGO MOURISCO E A OBTENÇÃO DE SEMENTES

O trigo mourisco ou sarraceno (Figura 2.1.1) pertence à família *Polygonaceae*, ao gênero *Fagopyrum* e teve sua origem na China e na Ásia Central (ZHANG et al., 2012). É uma planta de hábito herbáceo, dicotiledônea, crescimento indeterminado e ciclo curto. O gênero apresenta 15 espécies, distribuídas em anuais e perenes, sendo que as mais cultivadas são as espécies anuais *Fagopyrum esculentum* e *Fagopyrum tataricum* (CAI et al., 2016). Considerada uma planta rústica com potencial para se desenvolver em diferentes condições de solo e de temperatura. No Rio Grande do Sul seu cultivo é recomendado de outubro a março. Entre os principais países que produzem e consomem o trigo mourisco pode-se citar China, Japão, Itália, Canadá, Índia, Ucrânia e Brasil (CAI et al., 2016).

Figura 2.1.1 – Sementes de trigo mourisco (A), emergência a campo (B) e plantas em estágio de floração (C, D e E).



Fonte: Borella, G. (2019).

Apesar da denominação, o trigo mourisco não apresenta nenhum parentesco com o trigo comum (*Triticum aestivum* L.), pertencente à família Poaceae. No entanto, é considerado como um pseudocereal, pois a partir de suas sementes é extraída a farinha utilizada em produtos alimentares, assim como nos demais cereais (CHRISTA; SORAL-ŠMIETANA, 2008). Consumido principalmente na forma de farinha, a qual é utilizada para a fabricação de macarrão, panquecas, pães e outros alimentos presentes na chamada dieta funcional, pois seus grãos apresentam propriedades anti-inflamatórias, neuroprotetoras, anticancerígenas e antioxidantes (GIMÉNEZ-BASTIDA; ZIELINSKI, 2015). O grão é rico em proteína de excelente qualidade e o amido possui propriedades especiais que são diferentes de outros cereais, onde destaca-se principalmente a ausência de glúten, muito importante para a dieta celíaca (GAO et al., 2015).

Estudos têm demonstrado o valor nutricional da utilização do trigo mourisco como matéria-prima para fabricação de rações para animais (FURLAN et al., 2006; BENVENUTI et al., 2012) e, também, como opção forrageira (GÖRGEN et al., 2016).

Na década de 70, o cultivo do trigo mourisco teve grande importância econômica para o estado do Paraná, onde chegou-se a cultivar em torno de 30 mil hectares, sendo parte da produção destinada a panificação e outra parte exportada para países como Japão e Polônia. No entanto, como as instalações para o beneficiamento dos grãos não eram capazes de suprir a demanda, a farinha de trigo mourisco perdeu espaço para a raspa de mandioca e fubá de milho,

fazendo com que o seu cultivo se concentrasse apenas em pequenas lavouras de subsistência (SILVA et al., 2002). Atualmente seu cultivo ocorre em períodos de entressafra, como alternativa de rotação de cultivos, planta de cobertura e espécie forrageira.

O Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) é o detentor das duas cultivares de trigo mourisco que são produzidas no país, a IPR-91 Baili e a IPR-92 Altar. No Rio Grande do Sul, algumas sementeiras também oferecem sementes de trigo mourisco, como as Sementes Ponteio (Cruz Alta), Comércio Relva (Ijuí) e Sementes com Vigor (Muitos Capões).

Para qualquer espécie agrícola da qual deseja-se obter sementes, devem-se seguir alguns passos, afim de permitir a expressão máxima do potencial fisiológico da espécie. Entre eles pode-se citar a escolha da região e da área, que deve atender as exigências da espécie para desenvolvimento e que também não possuam agentes contaminantes de solo (como patógenos que podem ser disseminados pela semente, assim como plantas daninhas que podem exercer competição no meio de cultivo). Deve-se usar sementes com procedência identificada e com bom percentual de germinação, assim como os tratos culturais devem seguir as recomendações técnicas para cultura, desde o momento da semeadura até a colheita (LUDWIG, 2016).

Como a produção de trigo mourisco é pouco expressiva em relação as demais culturas agrícolas produzidas no país, informações a respeito da produção de sementes ainda são escassas. Aliado a isso, é uma planta de crescimento indeterminado. Ou seja, a maturação dos aquênios ocorre de baixo para cima, sendo bem desuniforme, o que é um grande empecilho quando se busca por sementes de alta qualidade.

Antes da colheita, os produtores costumam fazer dessecação da área para tentar contornar o problema de maturação desuniforme. No entanto, como a principal utilização do trigo mourisco é como planta de cobertura na entressafra dos cultivos principais (soja, milho, trigo), a questão de obtenção de sementes fica em segundo plano e não há muitos estudos que explorem o melhor método para sua realização.

2.2 TESTES RÁPIDOS PARA A AVALIAÇÃO DO VIGOR DE LOTES DE SEMENTES

A germinação é a principal característica para determinar o potencial máximo de lotes de sementes, pois avalia o percentual de plântulas normais sob condições ótimas de desenvolvimento (BRASIL, 2009a; PEREIRA et al., 2011). Entretanto, a expressão desse potencial germinativo pode ser superestimada, e nem sempre o valor de germinação estimado irá refletir no campo, principalmente por conta de estresses climáticos e presença de pragas e patógenos.

Com isso, os testes de vigor e o conceito de plântulas vigorosas são utilizados em programas de produção de sementes como estratégia de qualidade, marketing e garantia de bom estabelecimento de plântulas no campo (SILVA; BARBOSA; VIEIRA, 2017). Por isso, é crescente a procura por testes rápidos que possam estimar a viabilidade dos lotes e permitir o descarte daqueles lotes que não atingem os padrões mínimos de qualidade fisiológica para comercialização. Informações em curto período de tempo são necessárias para garantir o destino adequado de lotes de sementes, e, também, para discriminar lotes que apresentem germinação semelhante.

Entre os testes rápidos para a avaliação do vigor em sementes pode-se citar o de condutividade elétrica massal, condutividade elétrica individual, tetrazólio e teste do pH do exsudato (DODE et al., 2013). É importante que durante a escolha de um teste rápido para avaliação do vigor e viabilidade das sementes, observe-se o custo, mão-de-obra a ser utilizada e a resposta da espécie ao teste utilizado. Buscam-se testes com baixo custo e que possam ser desenvolvidos/conduzidos facilmente em laboratórios de análises de sementes. Um teste com potencial de exploração é o do pH do exsudato, o qual avalia o vigor das sementes por meio da integridade das membranas.

Esse teste envolve a lixiviação de solutos e a integridade do tegumento/membranas das sementes. Conforme o princípio do teste, sementes de elevada qualidade fisiológica apresentam baixa lixiviação de solutos, não promovendo grandes alterações no pH da solução, enquanto sementes deterioradas liberaram mais íons para a solução diminuindo assim o pH (SANTOS et al., 2011). Desta forma, a solução com as sementes viáveis apresentará coloração rosa, enquanto com as sementes inviáveis a solução permanecerá incolor, conforme a Figura 2.2.1.

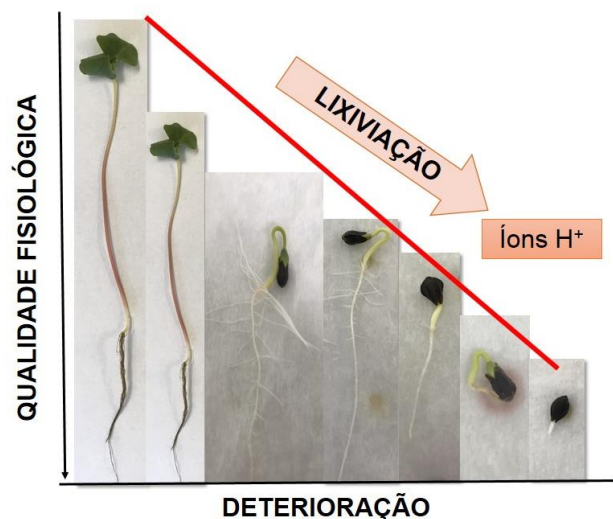
Os testes de vigor baseados na integridade das membranas são classificados como testes bioquímicos (MARCOS FILHO, 2015). Entende-se que a desestruturação das membranas celulares é o passo que desencadeia a deterioração das sementes, culminado com a diminuição da velocidade de germinação e germinação das sementes (KOOSTRA; HARRINGTON, 1973; MARCOS FILHO, 2015), conforme a Figura 2.2.2.

Figura 2.2.1 – Viabilidade de sementes de trigo mourisco pelo teste do pH do exsudato.



Fonte: Zini, P. B. (2021).

Figura 2.2.2 – Redução da qualidade fisiológica de sementes de trigo mourisco, de acordo com o aumento do nível de deterioração.



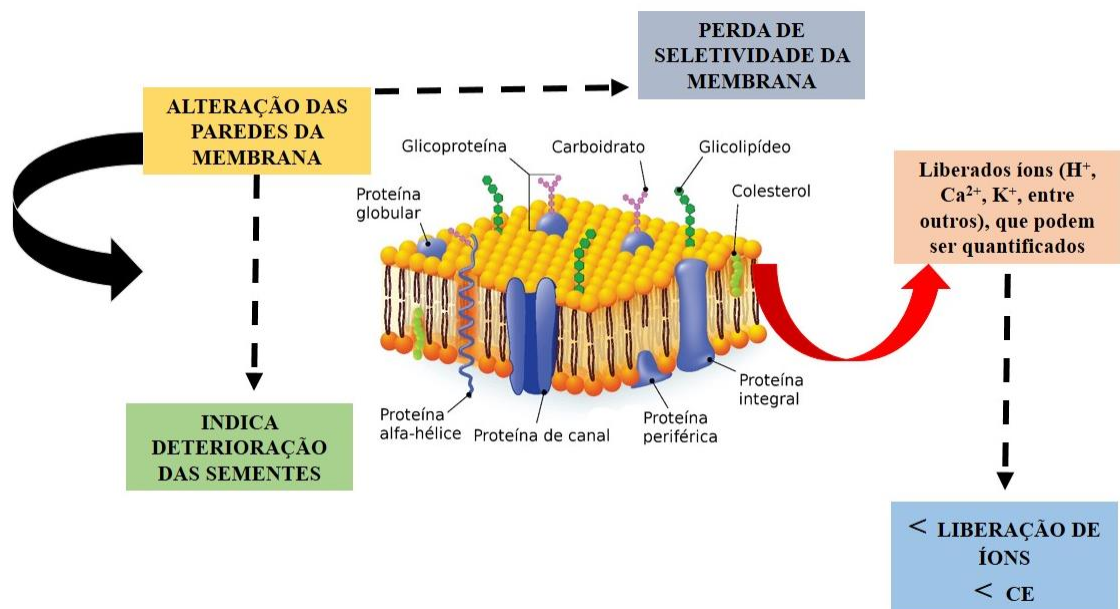
Fonte: Zini, P. B. (2020).

Alguns trabalhos já mostraram resultados positivos na verificação do vigor de lotes de sementes de milho (CABRERA; PESKE, 2002), crambe (ALVES et al., 2016), soja (THEODORO et al., 2018) e sementes florestais como araucária (ARALDI; COELHO, 2015). Em outras espécies, a eficácia do teste não foi comprovada, como em limão cravo (CARVALHO, 2018), sendo assim é necessário a utilização de outro teste que melhor se adéque à espécie. Com isso, verifica-se que há resposta variada em função da espécie e do arranjo metodológico utilizado em cada teste rápido, podendo ser ou não indicado para avaliação eficiente de lotes de sementes.

Outro teste rápido, que não é destrutivo à semente, é a condutividade elétrica massal. Esse teste baseia-se nos exsudatos liberados pelas sementes quando estas encontram-se embebidas em água a uma determinada temperatura (FESSEL et al., 2010). A liberação dos exsudatos indica um nível de integridade das membranas celulares, ou seja, sementes deterioradas apresentam maiores valores de condutividade elétrica e, conseqüentemente, menor vigor, enquanto sementes com menores valores de condutividade elétrica são sementes com baixo grau de deterioração e, conseqüentemente, maior nível de vigor.

Tal raciocínio pode ser explicado através da membrana plasmática de uma célula vegetal (Figura 2.2.3). Ela é composta basicamente por lipídios e proteínas, e essa composição permite selecionar o que entra e sai da célula, conferindo a ela a característica de seletividade. Com o decorrer do processo de maturação da semente, a conformação e organização da membrana vai sendo alterada, ocorrendo desestruturação da sua barreira seletiva. Assim, podem ser extravasados íons (H^+ , Ca^{2+} , K^+ , entre outros), que em contato com a solução do meio externo, alteram a condutividade.

Figura 2.2.3 – Alteração da membrana plasmática e sua relação com a condutividade elétrica das sementes.



Fonte: Zini, P. B. (2020).

De acordo com Marcos Filho (2015), vários fatores são responsáveis por alterar a condutividade elétrica das sementes, como o seu tamanho, a temperatura em que se conduz o teste, o período de embebição, o volume de água utilizado, o número de sementes utilizadas por repetição, a idade do lote de sementes, bem como o grau de deterioração das mesmas.

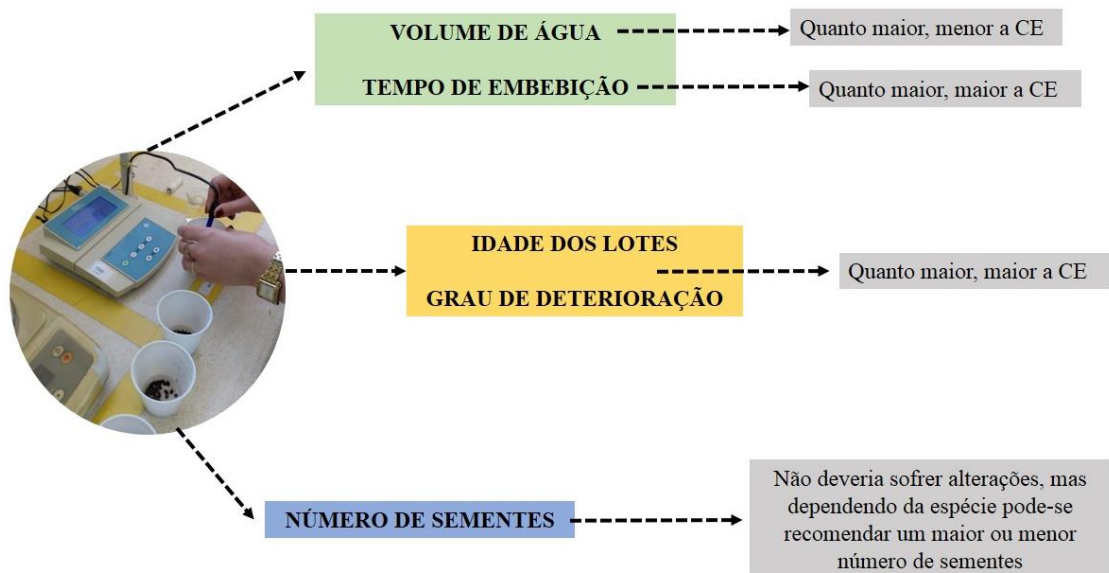
O número de sementes utilizadas no teste é um dos fatores que não deveria apresentar variação na condução do teste, pois no resultado final da condutividade, dividi-se o valor da leitura do condutímetro pela massa de sementes correspondente. No entanto, alguns estudos verificaram diferenças nos valores de condutividade elétrica utilizando diferentes quantidades de sementes, onde um menor número de sementes apresentou maior condutividade elétrica em comparação com o maior número de sementes testado. Tal fato pode ser observado no trabalho de Gaspar e Nakagawa (2002) em sementes de milho. Isso ocorre porque para sementes muito pequenas, o valor da leitura é muito baixo e assim, a condutividade elétrica da água exerce grande influência nos resultados finais. Outro ponto para ser observado é que quando usamos o método de condutividade elétrica massal, obtemos um resultado médio de um número de sementes e estabelecemos que todas as sementes da amostra apresentam o mesmo grau de deterioração. Sendo assim, uma semente que apresente um grau avançado de deterioração, tende a elevar o valor da condutividade elétrica da amostra (MATTIONI et al., 2015; MERTZ et al., 2012).

Já o volume de água e o tempo de embebição são dois fatores que podem ser analisados conjuntamente. Uma vez que expomos um determinado número de sementes em um grande volume de água, a condutividade elétrica tende a ser menor, pois os solutos lixiviados encontram-se mais diluídos na água. Da mesma maneira que, se usarmos menores volumes de água, a leitura da condutividade tende a ser maior, pois os solutos encontram-se em um meio mais concentrado. Tal raciocínio pode ser aplicado para o tempo em que as sementes ficam expostas à água, ou seja, maiores períodos de embebição refletem em maiores valores de condutividade elétrica. Esses fatores variam de acordo com a espécie estudada, pois em alguns casos para obtermos diferenciação entre os lotes podemos precisar de um grande volume de água em curto período de embebição por exemplo, ou vice-versa. Para grão de bico, por exemplo, a discriminação dos lotes foi obtida com o maior volume de água testado (100 mL) (DIAS et al., 2019).

A idade dos lotes e o grau de deterioração das sementes, também são fatores que estão diretamente relacionados, uma vez que presume-se que lotes mais velhos tendem a apresentar um maior grau de deterioração das sementes, implicando em maiores valores de condutividade elétrica. As características genéticas de cada espécie também têm grande interferência, uma vez

que, para determinadas espécies o teste é eficiente na discriminação dos níveis de vigor, enquanto para outras não é recomendado, pois não é tão sensível na discriminação das diferenças entre os lotes. A Figura 2.2.4 resume como os diferentes fatores se relacionam com os resultados de condutividade elétrica. Cabe destacar, que esses fatores vão determinar ou não o sucesso do teste de acordo com a espécie utilizada. É importante verificar esses parâmetros durante a avaliação do vigor, pois esse teste pode servir para avaliar o potencial fisiológico das sementes quando submetidas a estresses abióticos, em virtude de uma semeadura fora da época recomendada, por exemplo. Para sementes de algodão, semeadas em diferentes períodos que sofreram ação de variação das temperaturas, Wang et al. (2019) verificaram que a condutividade elétrica das sementes foi maior quando a semeadura ocorreu tardiamente. Isso reflete a perda do potencial fisiológico das sementes quando submetidas a estresses abióticos, e em virtude disso, a variação dos fatores do teste torna-se fundamental para compreender as relações existentes na perda do vigor em sementes.

Figura 2.2.4 – Relação dos diferentes fatores envolvidos no teste de condutividade elétrica de sementes.



Fonte: Zini, P. B. (2020).

No entanto, por ser um teste que avalia um número de sementes juntas, havendo uma semente que tenha alto grau de deterioração, a condutividade elétrica irá aumentar, podendo

influenciar negativamente nos resultados. Com isso, um grande empecilho desse teste é o poder de contaminação das amostras (MATTIONI et al., 2015).

Para contornar o problema de contaminação pode-se realizar a condutividade elétrica individual, a qual avalia a condutividade elétrica de cada semente separadamente. Testes em sementes de trigo (MERTZ et al., 2012) e soja (MATTIONI et al., 2015) mostraram-se eficientes na utilização do teste para indicar o vigor de cada semente, eliminado assim o problema de contaminação das amostras.

2.3 QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES

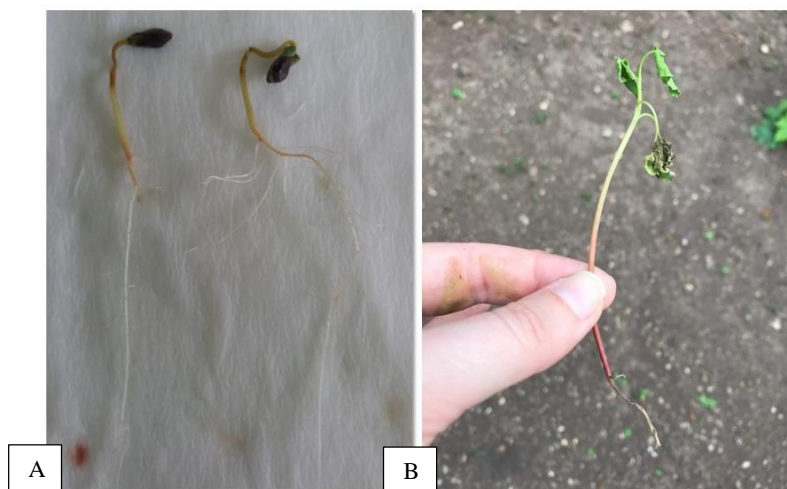
A sanidade é um dos fatores que juntamente com as características físicas e fisiológicas determinam a qualidade de um lote de sementes (PESKE, 2012). Os programas de melhoramento de sementes têm utilizado a qualidade sanitária como um dos fatores para prever o comportamento dos principais patógenos associados as diferentes espécies vegetais (HENNING, 2005).

Entre os fatores sanitários, os fungos são os principais microrganismos associados às sementes com potencial de causar danos. O teste mais comumente utilizado para a verificação da qualidade de um lote de sementes é o teste de sanidade em papel filtro, o qual consiste na semeadura em substrato de papel estéril, com posterior congelamento das sementes por 24 horas, para que se possa avaliar apenas o crescimento fúngico (BRASIL, 2009b). A identificação dos gêneros fúngicos é avaliada de acordo com a literatura especializada (BARNETT; HUNTER, 1999).

Tendo essa informação, pode-se fazer diversas relações entre o percentual de incidência de determinado gênero fúngico e a germinação das sementes, afim de concluir se de fato uma alta incidência de determinado gênero compromete a germinação e emergência das plântulas posteriormente. Havendo problemas na germinação, pode-se identificar o agente causal responsável e compreender a relação patógeno – hospedeiro existente, verificando assim, a necessidade de tratamento de sementes ou demais formas de controle que sejam necessárias.

Observações preliminares apontaram problemas sanitários com a presença de *Fusarium* spp. em lotes de sementes de trigo mourisco oriundos da região Sul do Brasil, como podem ser visualizados na Figura 2.3.1. O tombamento de plântulas causado por espécies diferentes do gênero *Fusarium*, provoca danos no estabelecimento inicial do estande de plântulas na lavoura, podendo comprometer seriamente a produtividade da cultura. Tal problema já foi relatado por Morrall e McKenzie (1975) e Nyvall et al. (1989).

Figura 2.3.1 – Sintomas de tombamento em plântulas de trigo mourisco.



A) Tombamento de plântulas em rolo de papel. B) Tombamento de plântulas a campo.

Fonte: Zini, P. B. (2019).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.Z. et al. pH of exudate test in the physiological quality of crambe seeds. **Ciência Rural**, v.46, n.6, p.1014-1018, 2016.

ARALDI, C.G.; COELHO, C.M.M. pH do Exsudato na avaliação da viabilidade de sementes de *Araucaria angustifolia*. **Floresta e Ambiente**, v.22, n.3, p.426-433, 2015.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1999. 218p.

BENVENUTI, M.N. et al. Buckwheat bran (*Fagopyrum esculentum*) as partial replacement of corn and soybean meal in the laying hen diet. **Italian Journal of Animal Science**, v.11, p.9-12, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: MAPA, 2009b. 200p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009a. 395p.

CABRERA, A.C.; PESKE, S.T. Teste do pH do exsudato para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.134-140, 2002.

CAI, Y. Z. et al. Buckwheat. **Reference Module in Food Sciences**, p.120, 2016.

CARVALHO, D.U. et al. pH exudate test as a method to estimate viability and vigor of *Citrus limonia* Osbeck seeds. **Journal of Seed Science**, v.40, n.2, p.156-163, 2018.

CHRISTA, K.; SORAL-SMIETANA, M. Buckwheat grains and buckwheat products nutritional and prophylactic value of their components a review. **Czech Journal of Food Science**, v.26, p.153-162, 2008.

DIAS, L. B. X. et al. Teste de condutividade elétrica e embebição de sementes de grão-de-bico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.14, n.2, 2019.

DODE, J.S. et al. Respiration test soybean seed as related of physiological quality. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.193-198, 2013.

FESSEL, S. A. et al. Electrical conductivity test of soybean seeds stored under different temperatures. **Bragantia**, v.69, n.1, 2010.

FURLAN, A. C. et al. Avaliação nutricional do trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*, Moench) para coelhos em crescimento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, p.22-27, 2006.

GAO, J. et al. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) starch, a side product in functional food production, as a potential source of retrograded starch. **Food Chemistry**, p. 552-558, 2015.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.70-76, 2002.

GIMÉNEZ-BASTIDA, J. A.; ZIELINSKI, H. Buckwheat as a functional food and its effects on health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.63, p.7896-7913, 2015.

GÖRGEN, A. V. et al. Produtividade e qualidade da forragem de trigo-mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) e de milho (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.). **Revista Brasileira saúde de produção animal**, v.17, n.4, p.599-607, 2016.

HENNING, A.A. **Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais**, EMBRAPA, 2005.

KOOSTRA, P.; HARRINGTON, J. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seed. **Proceedings International Seed Testing Association**, v. 34, p.329-340, 1973.

LUDWIG, M. P. **Fundamentos da produção de sementes em culturas produtoras de grãos**. 2016. 123p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES: Londrina, 2015. 650p.

MATTIONI, N. M. et al. Teste de condutividade elétrica individual para a estimativa da germinação em sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.31-38, 2015.

MERTZ, L.M. et al. Condutividade elétrica individual para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de trigo. **Informativo ABRATES**, v.22, n.1, 2012.

MORRALL, R. A. A.; MCKENZIE, D.L. Diseases of specialty crops in Saskatchewan: 1. Notes on buckwheat and sunflower 1972-73. **Canadian Plant Disease Survey**, v.55, 1975.

NYVALL, R.F. Diseases of buckwheat. In: Nyvall, R.F. (Ed.), **Field Crop Diseases Handbook**. Springer, US, p. 87–89. 1989.

PEREIRA, M.F.S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de coentro [*Coriandrum sativum* (L.)]. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v.13, n. esp, p.518-522, 2011.

PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M.D.; ROTA, G.R.M. **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª edição. Pelotas: Editora rua Pelotas, 2012. 573p.

SANTOS, J.F. et al. Avaliação do potencial fisiológico em lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.743-751, 2011.

SILVA, D. B. et al. Avaliação de genótipos de mourisco na região do cerrado. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2002. 20 p.

SILVA, C.B.; BARBOSA, R.M; VIEIRA, R.D. Accelerated aging as vigor test for sunn hemp seeds. **Ciência Rural**, v.47, n.1, p.1-6, 2017.

THEODORO, J.V.C. et al. Teste do ph do exsudato e alagamento para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Caatinga**, v.31, n.3, p.667-663, 2018.

WANG, L. et al. Cool temperature caused by late planting affects seed vigor via altering kernel biomass and antioxidant metabolism in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Field Crops Research**, v. 236, p. 145-154, 2019.

ZHANG, Z. et al. Bioactive compounds in functional buckwheat food. **Food Research International**, p. 389-394, 2012.

3 CAPÍTULO I

QUALIDADE DE SEMENTES E PATOGENICIDADE DE *FUSARIUM* SPP. EM TRIGO MOURISCO

RESUMO

O trigo mourisco é uma espécie com grande potencial econômico e de produção, a qual têm ganhado cada vez mais importância. O objetivo deste estudo foi determinar a qualidade física, fisiológica e sanitária de lotes de sementes e avaliar a patogenicidade de *Fusarium* spp. em plantas de trigo mourisco. A qualidade física e fisiológica foi avaliada pelo peso de mil sementes, grau de umidade, teste padrão de germinação (5° e 7° dia), comprimento de plântula e massa seca de plântula, enquanto que a qualidade sanitária foi determinada pelo teste de sanidade em papel filtro, com as sementes submetidas à assepsia e sem assepsia. Os isolados de *Fusarium* spp. foram obtidos de plântulas sintomáticas no teste de germinação em rolo de papel. A caracterização morfológica do fungo foi realizada em meios BDA e FCA. A patogenicidade foi realizada em plantas sadias em ambiente controlado. Os lotes apresentaram alta qualidade fisiológica na avaliação de germinação (5° e 7° dia). Houve alta incidência de *Fusarium* spp. em todos os lotes, a qual pode ser diminuída com a assepsia das sementes. Os isolados foram identificados como *Fusarium incarnatum-equiseti* espécie complex, e são patogênicos as plantas de trigo mourisco.

Palavras-chave: *Fagopyrum esculentum* Moench. Germinação. Sanidade. Tombamento.

ABSTRACT

Buckwheat is a species with great economic and production potential, which has gained increasing importance. The aim of this study was to determine the physical, physiological and health quality of seed lots and to evaluate the pathogenicity of *Fusarium* spp. on buckwheat plants. Physical and physiological quality was evaluated by the weight of a thousand seeds, moisture content, standard germination test (5th and 7th day), seedling length and seedling dry mass, while sanitary quality was determined by the health test on filter paper, with the seeds submitted to asepsis and without asepsis. Isolates of *Fusarium* spp. were obtained from symptomatic seedlings in the paper roll germination test. The morphological characterization of the fungus was carried out on PDA and FCA media. Pathogenicity was performed on healthy plants in a controlled environment. The lots showed high physiological quality in the germination evaluation (5th and 7th day). There was a high incidence of *Fusarium* spp. in all batches, which can be reduced with seed asepsis. The isolates were identified as *Fusarium incarnatum-equiseti* complex species, and buckwheat plants are pathogenic.

Key-words: *Fagopyrum esculentum* Moench. Germination. Sanity. Tipping.

3.1 INTRODUÇÃO

O trigo mourisco ou sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) pertence à família *Polygonaceae*, ao gênero *Fagopyrum* e teve sua origem na China e na Ásia Central (Zhang et al., 2012). É uma planta de hábito herbáceo, dicotiledônea, crescimento indeterminado e ciclo curto. O gênero apresenta 15 espécies, distribuídas em anuais e perenes, sendo que as mais cultivadas são as espécies anuais *Fagopyrum esculentum* e *Fagopyrum tataricum* (Cai et al., 2016). É uma planta rústica com potencial para se desenvolver em diferentes condições de solo e de temperatura. Entre os principais países que produzem e consomem o trigo mourisco destacam-se China, Japão, Itália, Canadá, Índia, Ucrânia e Brasil (CAI et al., 2016).

O grão é rico em proteína de excelente qualidade e o amido possui propriedades especiais que são diferentes de outros cereais, pois há a ausência de glúten, importante para a dieta celíaca (Gao et al., 2015). É uma espécie que vem sendo muito estudada, apresentando potencial para produção e comercialização dos seus produtos.

No que se refere a boas práticas de cultivo, observar a qualidade da semente é um dos principais fatores a serem levados em consideração para almejar um bom estabelecimento de plântulas no campo e, conseqüentemente, boa produtividade de grãos. Com isso, a germinação é a principal característica para determinar o potencial máximo de lotes de sementes, pois avalia o percentual de plântulas normais sob condições ótimas de desenvolvimento (Brasil, 2009b; Pereira et al., 2011). No entanto, quando se remete a qualidade de lotes de sementes, sabe-se que a mesma pode ser afetada por fatores genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários (Peske, 2012).

A associação de microrganismos fitopatogênicos às sementes comprometem sua qualidade em todas as etapas produtivas. Os fungos são considerados os principais microrganismos, causando vários danos desde o estabelecimento das plântulas no campo, até o armazenamento das sementes (Medeiros, et al., 2019). Em virtude disso, as sementes são consideradas um meio de sobrevivência e disseminação de diversos patógenos causadores de doenças de importância econômica (Santos et al., 2016).

Observações preliminares já apontaram a presença de *Fusarium* spp. em lotes de sementes de trigo mourisco provenientes da região sul do Brasil. Em estudos avaliando a ocorrência de doenças em trigo mourisco, Morral e McKenzie (1975) identificaram *Fusarium* spp. causando podridão de raiz em trigo mourisco no estado de Saskatoon, no Canadá. Posteriormente, Nyvall et al. (1989) relataram *Fusarium oxysporum* como causador de murcha

em plântulas de trigo mourisco, causando prejuízos de 50% no estabelecimento inicial da cultura. Com isto, o objetivo deste estudo foi determinar a qualidade física, fisiológica e sanitária de lotes de sementes e avaliar a patogenicidade de *Fusarium* spp. em plantas de trigo mourisco.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se quatro lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades (Tabela 3.2.1). A cultivar IPR 91 é de ciclo precoce (70 dias), enquanto a cultivar IPR 92 é de ciclo longo (95 dias).

Tabela 3.2.1 – Caracterização dos lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades.

| Lote | Cultivar | Origem | Ano de colheita |
|------|---------------|--------------------------------------|-----------------|
| 1 | IPR 91- Baili | IAPAR ^{®*} -PR | 2018 |
| 2 | IPR 92- Altar | IAPAR [®] - PR | 2018 |
| 3 | IPR 91- Baili | Sementes com Vigor [®] - RS | 2018 |
| 4 | IPR 92- Altar | Sementes Pozza [®] - RS | 2018 |

* IAPAR: Instituto Agronômico do Paraná

Determinação da qualidade física e fisiológica

a. **Peso de mil sementes:** a determinação do peso de 1.000 sementes seguiu a metodologia descrita no manual de Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009b);

b. **Grau de umidade:** foi determinado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ \text{C}$ por 24 horas, utilizando-se duas amostras de trabalho com $4,5 \pm 0,5 \text{ g}$ (Brasil, 2009b);

c. **Teste de germinação (TPG):** foram semeadas quatro repetições de 50 sementes de cada lote em rolo de papel de germinação umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), com luz constante e temperatura alternada de $20\text{-}30^\circ \text{C}$, correspondendo 16h a 20°C e 8h a 30°C . A avaliação de germinação foi realizada no 5º e 7º dia após a instalação do teste (Brasil, 2009b), sendo os resultados expressos em percentagem;

d. **Comprimento de plântula:** foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes de cada lote semeadas em duas linhas desencontradas no terço superior do papel de germinação e,

mantidas na mesma condição do TPG. No 5º dia após a semeadura mediu-se o comprimento da parte aérea e da raiz primária de dez plântulas normais de cada repetição (Nakagawa, 1999);

e. **Massa fresca e seca de plântula:** para essas avaliações foram selecionadas dez plântulas normais de cada repetição oriundas do teste de comprimento de plântula. A massa fresca foi obtida por meio da pesagem em balança de precisão de 0,001 g, enquanto que a massa seca, a secagem do material ocorreu em estufa de ventilação forçada a $65\pm 5^\circ$ C por 48 horas (Nakagawa, 1999).

Determinação da qualidade sanitária

Para o teste de sanidade em papel-filtro, parte das sementes de cada lote foram submetidas a assepsia por meio das seguintes etapas: imersão em álcool 70% durante 1 minuto, imersão em hipoclorito de sódio 0,5% durante 1 minuto, e três lavagens em água destilada de 1 minuto cada, enquanto a outra parte dos lotes não foi submetida a nenhum tipo de assepsia. Posteriormente, as sementes (com e sem assepsia) foram incubadas em substrato papel (Blotter Test), com quatro repetições de 25 sementes para cada lote. Para isso, utilizaram-se caixas gerbox, contendo duas folhas de papel de germinação estéril cada uma. Inibiu-se a germinação pelo método de congelamento ($-20\pm 2^\circ$ C) por 24 horas e posteriormente, as caixas permaneceram em BOD por sete dias com fotoperíodo de 24 horas de luz e temperatura de $20\pm 1^\circ$ C (Brasil, 2009a). Após esse período, avaliou-se a incidência dos gêneros fúngicos presentes nas sementes de acordo com a literatura especializada (Barnett e Hunter, 1998). Paralelamente, sementes com e sem assepsia foram submetidas ao teste de germinação supracitado com contagem ao 5º e 7º dia após a montagem do teste.

Obtenção dos isolados de *Fusarium* spp.

Para a obtenção dos isolados foram retiradas partes de plântulas sintomáticas (Figura 3.2.1) do teste de germinação em rolo de papel, as quais foram colocadas em placa de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram incubadas a $25\pm 1^\circ$ C com 12 horas de fotoperíodo por sete dias. Após o crescimento, as colônias desenvolvidas no BDA foram purificadas por meio da técnica de cultura monospórica (Fernandes, 1993). Ao total foram obtidos quatro isolados, sendo que cada um representou um lote diferente de sementes de trigo mourisco.

Figura 3.2.1 – Plântulas de trigo mourisco infectadas oriundas do teste de germinação em rolo de papel.



A) Plântulas infectadas em rolo de papel. B) Visão em lupa do colo da plântula infectado.

Fonte: Zini, P.B. (2019).

Caracterização morfológica

Discos de meio de cultura contendo estruturas do patógeno foram transferidos para o centro da placa de Petri (90 mm) contendo meio de cultura BDA. Posteriormente, as placas foram incubadas a temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 h. Para cada isolado utilizou-se quatro repetições, totalizando 16 placas.

Para o crescimento micelial mediu-se diariamente o diâmetro da colônia, com a utilização de um paquímetro digital, onde foram feitas duas medidas diametralmente opostas por sete dias, tempo no qual a colônia apresentava crescimento em toda a placa. A determinação da coloração das colônias foi realizada por meio da cartilha de Munsell Soil Color Chart (Munsell Color, Grand Rapids, MI, USA).

As estruturas reprodutivas dos quatro isolados foram caracterizadas, por meio da retirada de uma porção do micélio, a qual foi transferida para meio de cultura FCA (folha-de-cravo-ágar), onde permaneceram por sete dias. Após esse período foram avaliados o tipo de fiálides, presença ou ausência de clamidósporos, microconídios, formato e tamanho dos macroconídios, número de septos e coloração dos esporodóquios. Para isso, foram confeccionadas lâminas para visualização das estruturas em microscópio óptico. A determinação da dimensão dos conídios (comprimento e largura), foi realizada por meio da medição de 30 conídios, com o auxílio de uma ocular OSM, acoplada ao microscópio de contraste Olympus BX41® na objetiva de 40x. A identificação morfológica foi realizada de acordo com as chaves de classificação de Nelson et al. (1983) e Leslie e Summerell (2006).

Teste de Patogenicidade

Para a obtenção do inóculo utilizado no teste, os quatro isolados foram repicados em meio BDA e cultivados por sete dias em temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 h. Foram utilizadas plantas saudáveis (sete dias), produzidas em substrato areia, em câmara de germinação com temperatura e umidade controladas. A inoculação ocorreu com a incorporação de um disco de meio de cultura contendo micélio do isolado (5mm) no colo das plantas. O tratamento controle consistiu na inoculação de um disco de BDA (5mm).

Análise molecular

Para a análise molecular, foram utilizados três, dos quatro isolados acima apresentados. Após sete dias de cultivo em meio BDA, o micélio fúngico foi seccionado e o DNA genômico foi extraído com o kit Quick-DNATM Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research[®], Estados Unidos). As amostras de DNA foram amplificadas por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em termociclador (2720 Thermal Cycler, Applied Biosystems, Estados Unidos) com o par de primer EF-1 (5'ATGGGTAAGGARGACAAGAC3') e EF-2 (5'GGARGTACCAGTSATCATGTT3') (O'Donnell et al., 1998), descrito por O'Donnell et al. (1998).

Os fragmentos foram visualizados após eletroforese em cuba horizontal com tampão TBE 1X e gel de agarose a 1,0% (m/v) por 40 minutos e a 90V. As amostras amplificadas foram purificadas com kit EasyPure PCR (Transgen Biotech, Estados Unidos). O sequenciamento foi realizado pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer (Applied BiosystemsTM, Singapore) equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (Applied BiosystemsTM, Estados Unidos). Os fragmentos sequenciados foram analisados no programa Staden Package 2.0.0 (Staden et al., 2003) para obter o consenso.

Análise filogenética

As sequências consenso de DNA obtidas para os três isolados estudados foram comparadas com as sequências de referência pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) conforme Wang et al. (2019), as quais estão depositadas no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Para o alinhamento das sequências foi utilizado o algoritmo ClustalW e a análise filogenética foi conduzida adotando-se o método "Maximum Likelihood", pelo modelo Tamura 3-parâmetros com distribuição I, com 1000 replicatas. O software utilizado foi o MEGA versão 10 (Kumar et al., 2018).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade física e fisiológica

O grau de umidade dos lotes de sementes variou de 12 à 13,35% no momento da instalação dos testes (Tabela 3.3.1). Marcos Filho (2015) menciona que o limite de diferença entre os lotes deve ser de no máximo 2%, fator importante para determinação e confiabilidade dos demais testes, enquanto o peso de mil sementes ficou entre 16,75 e 13,09 g. Tais características são consideradas parâmetros tecnológicos que caracterizam a maturação das sementes (Marcos Filho, 2015). A umidade das sementes também é um fator importante, quando visa-se o controle de fungos associados as mesmas.

Em trabalho com sementes de açaí, Nascimento e Moraes (2011), verificaram alta incidência de *Fusarium* spp. quando as sementes apresentavam grau de umidade de 43 e 37% e mantidas em temperatura de 10° C. Para as sementes de trigo mourisco, por serem sementes ortodoxas, ou seja, que podem ser submetidas à secagem até atingirem baixos teores de água, sem redução da sua capacidade de germinação, esta umidade (12 à 13,35%) pode ser considerada ideal para se obter um bom armazenamento dos lotes, sem alta incidência de fungos associados as mesmas. No entanto, o mesmo não pode ser observado em sementes recalcitrantes, como é o caso de muitas espécies florestais em que há muitos problemas com fungos de armazenamento, como nas espécies do gênero *Eugenia* (Oliveira et al. 2011).

Tabela 3.3.1 – Grau de umidade (GU) e peso de mil sementes (PMS) de quatro lotes de sementes de trigo mourisco.

| Lote | GU (%) [*] | PMS (g) [*] |
|------|---------------------|----------------------|
| 1 | 13,35 | 16,75 |
| 2 | 13 | 13,09 |
| 3 | 12,99 | 13,17 |
| 4 | 12 | 13,36 |

^{*}Dados não submetidos à análise estatística.

Na germinação (5° dia) (Tabela 3.3.2) observou-se que o lote 1 foi o de mais alto vigor, diferindo dos demais lotes, enquanto para a germinação (7° dia), o lote 1 e o lote 4 diferiram dos demais lotes, apresentando maior potencial germinativo. Em trabalho com extrato aquoso de crambe na germinação de trigo mourisco, Simonetti et al. (2016), verificaram que a testemunha (semeada apenas com água destilada) apresentou uma média de germinação (7°

dia) de 85%, corroborando com os valores encontrados aqui para os lotes de trigo mourisco, os quais variaram de 81 a quase 100%, indicando assim uma alta qualidade fisiológica dos lotes utilizados.

Tabela 3.3.2 – Médias de germinação (5° dia), germinação (7° dia), plântulas anormais e sementes mortas de quatro lotes de trigo mourisco.

| | Germinação (5° dia) | Germinação (7° dia) | Anormais | Mortas |
|--------|---------------------|---------------------|----------|--------|
| |(%)..... | | | |
| Lote 1 | 96 A | 99 A | 1 A | 0 D |
| Lote 2 | 71 B | 89 B | 7 A | 4 B |
| Lote 3 | 71 B | 82 B | 8 A | 10 A |
| Lote 4 | 76 B | 95 A | 4 A | 1 C |
| cv (%) | 7,89 | 8,58 | 64,86 | 33,0 |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na coluna pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro. cv (%): coeficiente de variação.

Para o comprimento de raiz e parte aérea (Tabela 3.3.3) pode-se verificar que o lote 2 apresentou os maiores comprimentos, tanto de raiz como de parte aérea, diferindo dos demais lotes. Comportamento semelhante foi observado para a massa fresca de parte aérea (Tabela 3.3.3). Já para as variáveis massa fresca de raiz, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea (Tabela 3.3.3), não houve diferenciação entre os lotes utilizados.

Tabela 3.3.3 – Médias de comprimento radicular (CR), comprimento de parte aérea (CPA), massa fresca radicular (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa seca radicular (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de quatro lotes de trigo mourisco.

| | CR | CPA | MFR | MFPA | MSR | MSPA |
|--------|--------------|--------|----------------------------------|--------|---------|---------|
| |cm..... | |g/10 pl ⁻¹ | | | |
| Lote 1 | 9,24 B | 2,78 B | 0,16 A | 0,3 B | 0,012 A | 0,031 A |
| Lote 2 | 10,4 A | 3,36 A | 0,17 A | 0,38 A | 0,013 A | 0,038 A |
| Lote 3 | 9,69 B | 2,37 B | 0,18 A | 0,27 B | 0,017 A | 0,034 A |
| Lote 4 | 9,84 B | 2,57 B | 0,19 A | 0,28 B | 0,014 A | 0,036 A |
| cv (%) | 4,43 | 7,75 | 10,02 | 10,86 | 26,97 | 22,82 |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na coluna pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro. cv (%): coeficiente de variação.

Qualidade sanitária

Seis diferentes gêneros de fungos foram observados nos quatro lotes de sementes, nas sementes com e sem assepsia (Tabela 3.3.4). Destes seis, cinco são potencialmente patogênicos (*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum* e *Curvularia*) e um saprófito (*Aspergillus*). Neste caso, o baixo teor de água das sementes não contribuiu para a diminuição de incidência dos patógenos.

Houve diferença significativa nas sementes com e sem assepsia, sendo que para todos os gêneros, observou-se uma redução no percentual de incidência quando utilizou-se assepsia das sementes. As sementes que não receberam assepsia tiveram alta incidência do gênero *Fusarium* em todos os lotes e não houve diferenciação entre eles. Para os demais gêneros fúngicos houve diferenciação entre os lotes, onde destaca-se que para *Aspergillus*, o qual é considerado um fungo de armazenamento, o maior percentual de incidência observado foi no lote 4. Para as sementes submetidas à assepsia verificou-se uma redução na incidência dos fungos. No entanto, o gênero *Fusarium* foi o que teve maior incidência, sugerindo que o fungo não estaria associado apenas externamente a semente como um saprófita, mas sim internamente, com potencial para causar danos em pré ou pós emergência. Para as sementes com assepsia o maior percentual de *Fusarium* observado foi no lote 1, enquanto o lote 4 foi o que apresentou menor incidência.

Tabela 3.3.4 – Incidência de *Fusarium* spp. (FUS), *Alternaria* spp. (ALT), *Cladosporium* spp. (CLA), *Colletotrichum* spp. (COL), *Aspergillus* spp. (ASP) e *Curvularia* spp. (CUR), submetidos à assepsia ou não das sementes de trigo mourisco.

| | Incidência (%) | | | | | | | |
|-----|----------------|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|
| | Sem assepsia | | | | Com assepsia | | | |
| | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Lote 4 | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Lote 4 |
| FUS | 89 Aa | 92 Aa | 80 Aa | 82 Aa | 65 Ab | 37 Bb | 37 Bb | 15 Cb |
| ALT | 55 Aa | 26 Ba | 46 Aa | 12 Ba | 7 Ab | 1 Ab | 6 Ab | 2 Ab |
| CLA | 5 Ab | 3 Aa | 0 Aa | 7 Aa | 23 Aa | 0 Ba | 9 Aa | 5 Aa |
| COL | 5 Ba | 29 Aa | 0 Ba | 3 Ba | 0 Ba | 12 Ab | 0 Ba | 0 Ba |
| ASP | 3 Ba | 0 Bb | 0 Ba | 41 Aa | 3 Ba | 20 Aa | 3 Ba | 2 Bb |
| CUR | 0 Aa | 0 Ab | 0 Aa | 0 Aa | 1 Ba | 7 Aa | 0 Ba | 2 Aa |

Letras maiúsculas diferenciam lote dentro de cada método de assepsia e letras minúsculas diferenciam método de assepsia dentro de cada lote pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Em trabalho com sementes de *Nicotiana tabacum* L., Ishizuka et al. (2018), concluíram que as mesmas podem carregar diversos fungos, dentro os quais destacaram-se *Aternaria alternata*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium pallidoroseum*. Ainda evidenciaram que a espécie *A. alternata* causa prejuízos na qualidade fisiológica das sementes, pois afeta a germinação provocando a morte das sementes. Já em estudos com *Pinus taeda*, foi avaliada a transmissão de *Fusarium* sp. para as plântulas, onde constatou-se a não transmissão. No entanto, *Fusarium subglutinans* causou apodrecimento das sementes na fase de germinação (Silva et al., 2017).

Para trigo mourisco, Morral e McKenzie (1975) e Nyvall (1989) relataram tombamento em pré e pós emergência por espécies de *Fusarium* spp. Assim, pela alta incidência deste fungo e pelos danos que algumas destas espécies podem causar foi necessária a realização de testes de patogenicidade, para verificar se as espécies fúngicas associadas às sementes apresentavam habilidade de causar danos às plantas.

A Tabela 3.3.5 apresenta a germinação (5° dia), as plântulas anormais e sementes mortas dos quatro lotes submetidos à assepsia ou não das sementes. Observa-se que dentro de cada lote, nas sementes com assepsia obteve-se menor germinação (5° dia) em comparação as sementes sem assepsia. Ao mesmo tempo que diminuiu a germinação, houve um aumento do percentual de plântulas anormais e sementes mortas quando submeteu-se a assepsia. Pode-se atribuir o ocorrido provavelmente a concentração e ao tempo de exposição das sementes ao produto utilizado, o qual prejudicou a germinação, causando anormalidades e aumentando a percentagem de sementes mortas. Fantinel et al. (2013) também verificaram um aumento do número de sementes mortas utilizando a assepsia das sementes com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%.

Entre os quatro lotes de sementes utilizados, destaca-se que os lotes 3 e 4 foram os que tiveram maior redução na germinação (5° dia). No entanto, estes lotes possuíam elevadas quantidades de sementes com dano mecânico visível, provocado, provavelmente, durante a colheita, tendo assim o tegumento mais sensível e com fissuras, o que pode ter permitido a entrada do produto de assepsia no embrião, prejudicando assim a germinação.

Tabela 3.3.5 – Médias de germinação (5° dia), plântulas anormais e sementes mortas de quatro lotes submetidos à assepsia ou não das sementes.

| | Sem assepsia | | | | Com assepsia | | | |
|---------------------|---|-------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------|
| | Lote 1 Lote 2 Lote 3 Lote 4 Lote 1 Lote 2 Lote 3 Lote 4 | | | | | | | |
| | (%) | | | | | | | |
| Germinação (5° dia) | 91 Aa | 83 Ba | 64 Ca | 82 Ba | 57 Ab | 64 Ab | 38 Bb | 17 Cb |
| Anormais | 2 Bb | 5 Aa | 10 Aa | 6 Ab | 6 Ba | 7 Ba | 19 Aa | 25 Aa |
| Mortas | 2 Ba | 6 Ba | 13 Ab | 3 Bb | 2 Ca | 11 Ba | 24 Aa | 7 Ba |

Letras maiúsculas diferenciam lote dentro de cada método de assepsia e letras minúsculas diferenciam método de assepsia dentro de cada lote pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Para a variável germinação (7° dia) não houve interação com os tratamentos com e sem assepsia (Tabela 3.3.6). No entanto, observa-se que as plântulas que não se desenvolveram na avaliação ao 5° dia conseguiram atingir os parâmetros estabelecidos na consideração de plântulas normais e puderam ser contabilizadas na contagem final de germinação.

Tabela 3.3.6 – Médias da germinação (7° dia) de quatro lotes de trigo mourisco submetidas aos métodos com e sem assepsia das sementes.

| | Sem assepsia | | Com assepsia | | |
|--------|----------------|--|--------------|--|-------|
| | Germinação (%) | | | | Média |
| Lote 1 | 97 | | 93 | | 95 a |
| Lote 2 | 89 | | 82 | | 86 b |
| Lote 3 | 74 | | 56 | | 65 c |
| Lote 4 | 91 | | 68 | | 80 b |
| Média | 88 a | | 75 b | | |

Letras minúsculas diferem estatisticamente na coluna e na linha pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Sintomas da doença no teste de germinação em rolo de papel

A ocorrência de podridão do colo e das raízes em trigo mourisco foi constatada em ambiente controlado, durante testes de germinação em rolo de papel, nos quatro lotes de sementes utilizados variando de 8 a 12% entre os lotes (Figura 3.2.1). Com isso realizou-se a identificação destes isolados e também a avaliação da patogenicidade em plantas jovens de trigo mourisco.

Caracterização morfológica

Os quatro isolados de *Fusarium* spp. apresentaram características distintas entre si (Tabela 3.3.7). O crescimento micelial diário variou de 2,54 a 7,72 mm.

A coloração das colônias variaram de rosa claro a vermelho escuro (Figura 3.3.1 A, D, G e J) com micélio aéreo cotonoso de coloração mais clara nas bordas e mais escura próxima ao centro. Os esporodóquios (Figura 3.3.1 B, E e H) das colônias crescidas em meio FCA variaram de coloração alaranjado claro a alaranjado escuro, em quantidade abundante. No entanto, para o isolado 2 não se obteve esporulação, o qual permaneceu apenas em seu estágio vegetativo, não sendo possível a visualização de tais características morfológicas. Para os isolados 1 e 3 nas colônias produzidas em FCA também pode-se observar microconídios formados em monofiálides (Figura 3.3.1 L). Já para o isolado 4 os macroconídios foram observados em polifiálides (Figura 3.3.1 M). Não foi observada a presença de clamidósporos em nenhum isolado e os macroconídios normalmente apresentavam de 4-5 septos.

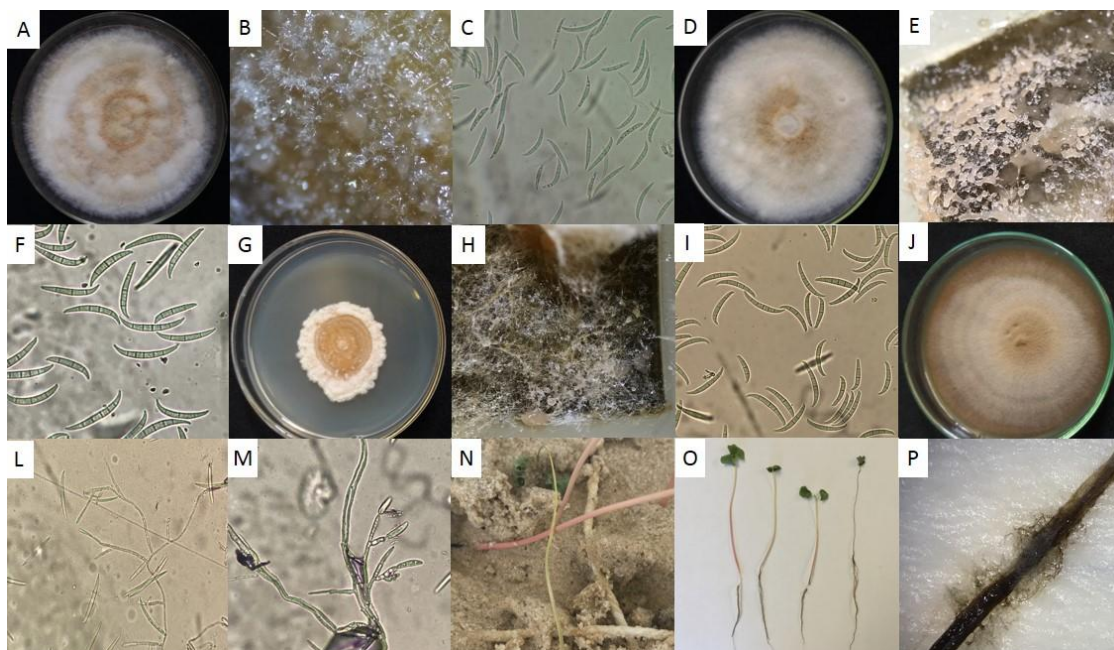
O tamanho dos macroconídios (Tabela 3.3.7) foi semelhante entre os isolados e de acordo com as chaves utilizadas para a identificação, confirmou-se que eram isolados do gênero *Fusarium*.

Tabela 3.3.7 – Características morfológicas de *Fusarium* spp. isolados de partes de plântulas de trigo mourisco após sete dias de incubação em meio BDA (batata-dextrose-ágar), com fotoperíodo de 24 horas, a 25° C.

| Isolado | Diâmetro (mm) | CMD (mm/dia) | IVCM | Esporulação (x10 ⁵ ml ⁻¹) | Conídio | | | Coloração da colônia |
|---------|------------------|-----------------|-------|---|------------------------------|--------------------|-------|------------------------------|
| | | | | | Comprimento µm..... | Largura | Septo | |
| 1 | 54,07 | 7,72 | 75,96 | 8,9 | 42,8 (33,6 - 51,7) | 3,6 (3 - 4,5) | 4 - 5 | Rosa claro (5YR 8/2) |
| 2 | 37,9 | 5,41 | 49,93 | - | - | - | - | Vermelho escuro (2.5 YR 3/6) |
| 3 | 74,54 | 7,02 | 74,54 | 4,31 | 40 (34,6 - 56,9) | 3,7 (2,9 - 4,5) | 4 - 5 | Rosa (5YR 7/3) |
| 4 | 17,8 | 2,54 | 16,44 | 4,76 | 30,9 (24,6 - 39,9) | 3,1 (2,5 - 4,1) | 3 - 4 | Vermelho claro (2.5 YR 7/8) |

*CMD = Crescimento médio diário; ICM = Índice de velocidade de crescimento médio.

Figura 3.3.1 – Características morfológicas de *Fusarium* spp. associado a sementes de trigo mourisco.



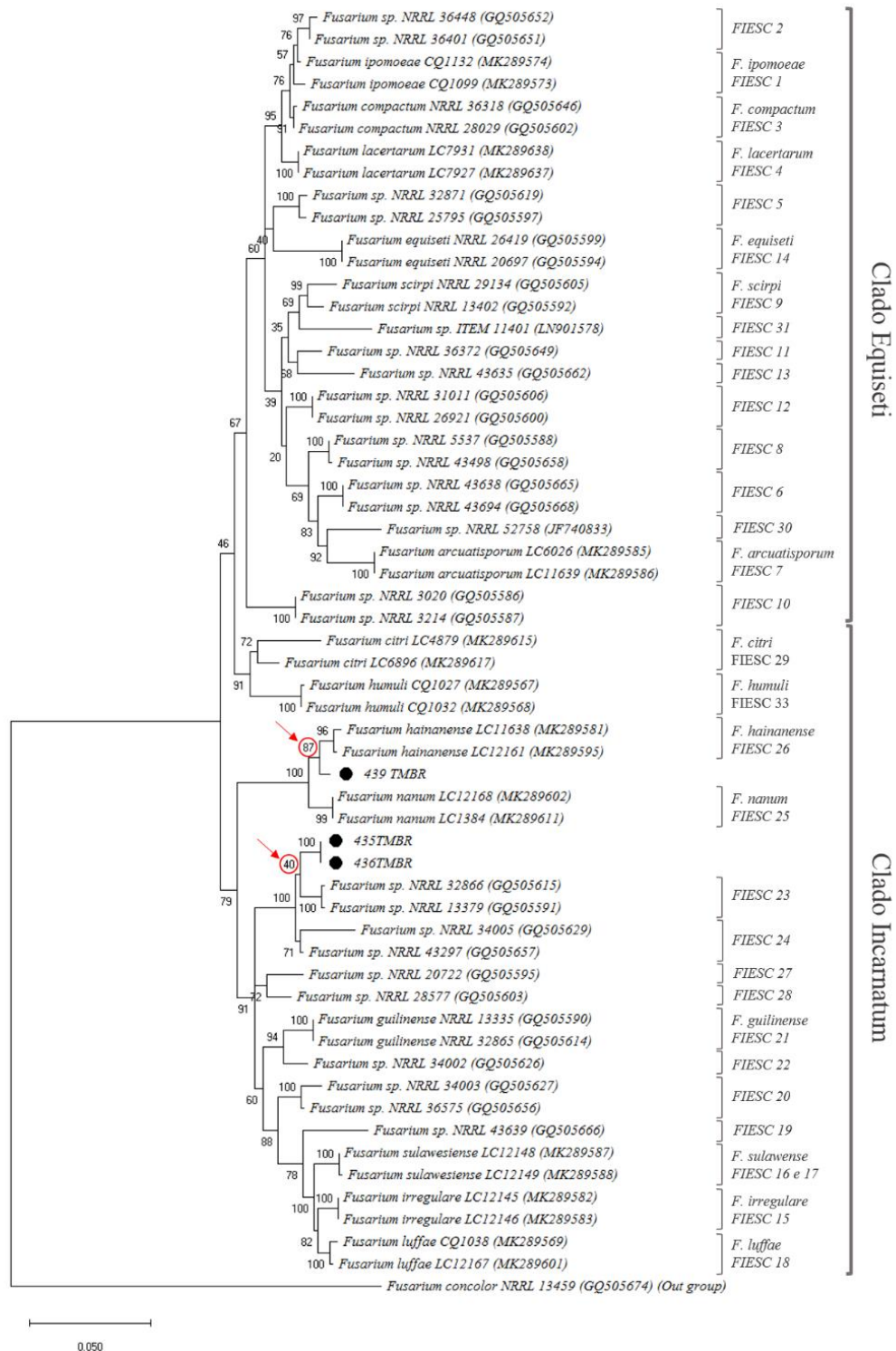
(A - C) Cultura em meio BDA; esporodóquio em meio FCA e macroconídios do isolado 1, respectivamente; (D - F) cultura em meio BDA; esporodóquio em meio FCA e macroconídios do isolado 3, respectivamente; (G - I) cultura em meio BDA; esporodóquio em meio FCA e macroconídios do isolado 4, respectivamente; (J) cultura em meio BDA do isolado 2; (L) monofiálides; (M) polifiálides; (N) tombamento de plântulas em teste de patogenicidade; (O) plântulas após teste de patogenicidade (esquerda controle, direita inoculadas); (P) reisolamento após o teste de patogenicidade.

Análise molecular

Os três isolados de *Fusarium* foram identificados como *Fusarium incarnatum-equiseti* espécie complex (Figura 3.3.2). Baseado no gene parcial do fator de alongação 1-alfa (*tef1- α*) o suporte estatístico de *bootstrap* para o isolado 439TMBR foi de 87% e para os isolados 435TMBR e 436TMBR foi de 40% para os respectivos clados. Estes suportes de bootstrap são insuficientes para a discriminação das espécies dentro do complexo. Em estudo realizado por Wang et al. (2019), o qual relatou a filogenia de diferentes espécies do complexo FIESC, pode-se sugerir que se utilize outros genes para análise, como CAL, RPB1 e RPB2. Com isso pode-se realizar uma análise poligênica, afim de se obter a identificação a nível de espécies dos isolados utilizados neste estudo.

Figura 3.3.2 – Árvore filogenética obtida a partir das sequências do gene parcial fator de alongação 1-alfa (*tef1- α*), de três isolados de *Fusarium* spp., associados às

sementes de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench), mostrando as relações filogenéticas das espécies no complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) de acordo com o método estatístico “Maximum Likelihood”. Os números sobre os ramos indicam a porcentagem de repetições da análise de *bootstrap* na qual as repetições foram observadas (1000 repetições).



A árvore filogenética (Figura 3.3.2) indica que morfologicamente os isolados 435TMBR e 436TMBR podem pertencer a espécie FIESC 23, enquanto que o isolado 439TMBR pode pertencer ao grupo de espécies *F. hainanense* FIESC 26. São classificados como diferentes, pois dentro do complexo eles apresentam variabilidade. Muitas espécies do complexo FIESC ainda não foram descritas pela literatura, o que torna importante o estudo das mesmas para a identificação de espécies com potencial patogênico em culturas agrícolas.

Teste de patogenicidade

As plantas inoculadas com os quatro isolados de *Fusarium* sp. apresentaram sintomas 15 dias após sua inoculação, sendo que a sintomatologia foi semelhante aos resultados iniciais encontrados no teste de germinação em rolo de papel. Os sintomas observados nas folhas foram o encarquilhamento e início do amarelecimento, com posterior murcha e tombamento das plantas. As raízes apresentavam sinais de podridão. Não foi observada alteração para as plantas no tratamento controle (Figura 3.3.1 N - O). As plantas que apresentaram sintomas foram incubadas em câmara úmida a $25\pm 1^\circ$ C e fotoperíodo de 12 h por quatro dias, onde pode-se observar as estruturas fúngicas características de *Fusarium* sp., demonstrando que houve colonização dos tecidos de plantas de trigo mourisco (Figura 3.3.1 P). Posteriormente os fungos foram reisolados completando os postulados de Koch.

O tombamento das plantas jovens, dano mais severo, foi observado em aproximadamente 8-10% das plantas avaliadas. A agressividade do patógeno é variável de acordo com a espécie e planta hospedeira. Para *Pinus Taeda* observou-se sintomas de podridão de raiz, sendo que dos 12 isolados de *F. spp.* avaliados, apenas o isolado *F. subglutinans* foi o que apresentou maior agressividade às mudas de *P. taeda* (Silva et al., 2017). Já Maciel et al. (2017) em estudo com *P. taeda* e *P. elliottii* verificaram tombamento de plântulas em pré e pós emergência, pelas espécies identificadas como *F.*

verticillioides e *F. oxysporum*. Em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) foram observadas duas espécies (*F. solani* e *F. oxysporum*), as quais foram potencialmente patogênicas, onde o principal sintoma observado foi a podridão radicular (Poletto et al. 2012).

Entretanto, nem sempre a presença de um agente patogênico indica perda na viabilidade das sementes. Em estudo com duas espécies (*Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides*) e seu efeito na germinação de sementes de milho, Ramos et al. (2014), concluíram que o período de 16 h foi suficiente para que os inóculos dos patógenos infectassem as sementes, mas no entanto, nenhuma das espécies interferiu na germinação de sementes de

milho. Porém quando se avaliou o teste de frio (teste de vigor), a espécie *Fusarium graminearum* reduziu o desempenho dos lotes.

Agarwal et al. (2017) testaram diferentes antagonistas para o controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* em trigo mourisco na Índia. Neste trabalho, pode-se observar que um isolado de *Bacillus* (*B. pumilus* MSUA3) exerceu atividade antagônica e foi eficiente no controle de *R. solani* e *F. oxysporum*, causadores de podridão de raízes e murcha de plântulas em trigo mourisco, respectivamente.

Assim, observa-se que há alta variabilidade de espécies de *Fusarium* e uma especificidade em relação ao hospedeiro, enquanto que a agressividade do patógeno varia de acordo com a espécie e com a planta hospedeira.

3.4 CONCLUSÕES

Os lotes de sementes de trigo mourisco apresentam alta qualidade fisiológica, na avaliação de germinação (5° e 7° dia).

Na verificação da qualidade sanitária das sementes observou-se a presença de seis diferentes gêneros fúngicos (*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia* e *Aspergillus*).

Há alta incidência do gênero *Fusarium* em todos os lotes de sementes, a qual reduz com a utilização de assepsia (imersão em álcool 70% durante 1 minuto e imersão em hipoclorito de sódio 0,5% durante 1 minuto, seguidas por três lavagens em água destilada) nas sementes. Os isolados foram identificados como *Fusarium incarnatum-equiseti* espécie complex, e são patogênicos as plantas de trigo mourisco.

A assepsia das sementes reduz a germinação (5° dia) e aumenta o número de plântulas anormais e sementes mortas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, M., et al. Differential antagonistic responses of *Bacillus pumilus* MSUA 3 against *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* causing fungal diseases in *Fagopyrum esculentum* Moench. **Microbiological Research**, p.40-17, 2017.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St. Paul, Minnesota: APS Press, 1998. 218p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: MAPA, 2009b. 200p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009a. 395p.

CAI, Y. Z., et al. Buckwheat. **Reference Module in Food Sciences**, p.120, 2016.

FANTINEL, V.S., et al. Detecção de fungos e transmissão de *Alternaria alternata* via sementes de ipê-amarelo, *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos. **Revista de Ciências Ambientais**, v.7, n.2, p.05-14, 2013.

FERNANDES, MR. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo – RS: EMATER – CNPT, 1993.

GAO, J. et al. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) starch, a side product in functional food production, as a potential source of retrograded starch. **Food Chemistry**, p. 552-558, 2015.

ISHIZUKA, M. S., et al. Effect of fungal incidence on physiological quality of tobacco seeds used in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1-6, 2018.

KUMAR, S., et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p.1547-1549, 2018.

LESLIE J, SUMMERELL BA. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Publishing, Hoboken 2006.

MACIEL, C. G., et al. *Fusarium oxysporum* e *F. verticillioides* causando damping-off em *Pinus* spp. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 134-141, 2017.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES: Londrina, 2015. 650p.

MEDEIROS, J. G. F., et al. Control of fungi and physiological quality of soybean seeds (*Glycine max* L.) subjected to moist heat. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 464-471, 2019.

MORRALL, R. A. A.; MCKENZIE, D.L. Diseases of specialty crops in Saskatchewan: 1. Notes on buckwheat and sunflower 1972-73. **Canadian Plant Disease Survey**, v.55, 1975.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999.

NASCIMENTO, W.M.O; MORAES, M.H.D. Fungos associados a sementes de açaí: efeito da temperatura e do teor de água das sementes durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p.415-425, 2011.

NELSON PE, TOUSSON TA, MARASAS WF. **Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification**. Pennsylvania State University Press, Philadelphia. 1983.

NYVALL, R.F., 1989. Diseases of buckwheat. In: Nyvall, R.F. (Ed.), **Field Crop Diseases Handbook**. Springer, US, pp. 87–89.

O'DONNELL K., et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial genes genealogies. **Proc Natl Acad Sci**, USA, v. 95, n.5, p.2044–2049, 1998.

OLIVEIRA, C.F. et al. Deterioração de sementes de espécies brasileiras de *Eugenia* em função da incidência e do controle de fungos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p.520-532, 2011.

PEREIRA, M.F.S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de coentro [*Coriandrum sativum* (L.)]. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.13, n. esp, p.518-522, 2011.

PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M.D.; ROTA, G.R.M. **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª edição. Pelotas: Editora rua Pelotas, 2012. 573p.

POLETTI I., et al. Caracterização e patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. causadores de podridão-de-raízes em erva-mate. **Floresta**, v.42, n.1, p.95-104, 2012.

RAMOS, D.P. et al. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, n.1, p.24-31, 2014.

SANTOS, L. A. et al. Radioterapia e Termoterapia como tratamentos de sementes de Soja. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 37-44, 2016.

SILVA, T. W. R., et al. Detection methods, transmission and pathogenicity of *Fusarium* spp in *Pinus taeda* seeds. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 1 p. 73-84, 2017.

SIMONETTI, A.P.M.M. et al. Efeito alelopático do fruto de crambe sobre germinação de trigo mourisco. **Acta Iguazu**, v.5, n.2, p.73-83, 2016.

STADEN R., JUDGE D. P., BONFIELD J. K. Analyzing Sequences Using the Staden Package and EMBOSS. **Introduction to Bioinformatics**, 2003.

ZHANG, Z. et al. Bioactive compounds in functional buckwheat food. **Food Research International**, p. 389-394, 2012.

WANG, M. M., et al. *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v.43, n.70, 2019.

4 CAPÍTULO II

TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA MASSAL NA DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE LOTES DE SEMENTES DE TRIGO MOURISCO

RESUMO

A condutividade elétrica massal é um teste que permite avaliar diferenças de vigor em lotes de sementes, por meio do nível de deterioração que as sementes se encontram. O objetivo deste estudo foi determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco por meio do teste de condutividade elétrica massal, bem como ajustar a metodologia do teste para obter uma avaliação rápida e precisa da viabilidade dos lotes de sementes. Foram utilizados sete lotes de sementes de trigo mourisco, caracterizados pelos testes de grau de umidade, contagem de germinação ao 5º e 7º dia, comprimentos de raiz e parte aérea e massa seca de raiz e parte aérea. A condutividade elétrica foi avaliada sob diferentes quantidades de sementes (25 e 50), volumes de água (25, 50 e 75 mL) e períodos de embebição (1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas), nas temperaturas de 25° e 30° C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em parcelas subdivididas com quatro repetições. Os resultados foram analisados por meio de comparação de médias pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Concluiu-se que a condutividade elétrica massal foi eficiente na discriminação de classes de vigor em lotes de sementes de trigo mourisco. Em curtos períodos de avaliação (1, 2 horas) já pode ser evidenciada a separação dos lotes que possuem mais alto vigor. Sugere-se a utilização de 25 sementes em 50 mL de água na temperatura de 30° C.

Palavras - chave: Vigor de sementes. Exsudatos. Deterioração.

ABSTRACT

Mass electrical conductivity is a test that allows evaluating differences in vigor in seed lots, through the level of deterioration in the seeds. The aim of this study was to determine the viability of buckwheat seed lots through the mass electrical conductivity test, as well as to adjust the test methodology to obtain a quick and accurate assessment of the seed lots viability. Seven lots of buckwheat seeds were used, characterized by tests of moisture content, germination count on the 5th and 7th day, root length and aerial part and root and aerial part dry mass. The electrical conductivity was evaluated under different quantities of seeds (25 and 50), volumes of water (25, 50 and 75 mL) and soaking periods (1, 2, 4, 6, 8 and 24 hours), at temperatures of 25° and 30° C. The experimental design was completely randomized in split plots with four replications. The results were analyzed by comparing means by the Scott-Knott test, at 5% probability of error. It was concluded that mass electrical conductivity was efficient in discriminating vigor classes in buckwheat seed lots. In short periods of evaluation (1, 2 hours) the separation of the batches that have the highest vigor can already be evidenced. It is suggested to use 25 seeds in 50 mL of water at a temperature of 30° C.

Key - words: Vigor. Exudates. Deterioration.

4.1 INTRODUÇÃO

O trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) tem adquirido espaço no cenário agrícola brasileiro. É considerado um pseudocereal, pois a partir de suas sementes é extraída a farinha utilizada em produtos alimentares, assim como nos demais cereais (CHRISTA; SORAL-ŚMIETANA, 2008). Como sua produção ainda é pouco expressiva em relação as demais culturas agrícolas produzidas no país, informações a respeito da produção de sementes ainda são escassas. Aliado a isso, é uma planta de crescimento indeterminado. Ou seja, a maturação dos aquênios ocorre de baixo para cima, sendo bem desuniforme, o que é um grande empecilho quando se busca por obtenção de sementes de alta qualidade.

O potencial máximo de lotes de sementes é determinado principalmente pelo teste de germinação, o qual avalia o percentual de plântulas normais sob condições ótimas de desenvolvimento (BRASIL, 2009a; PEREIRA et al., 2011). No entanto, nem sempre o valor de germinação obtido em testes laboratoriais, revela de fato o potencial de germinação das sementes a campo, onde muitas vezes esse valor pode ser superestimado. Assim, cada vez mais tem-se utilizado do conceito de vigor e de plântulas vigorosas tanto em programas de produção de sementes como em estratégias de qualidade, marketing e garantia de bom estabelecimento de plântulas no campo (SILVA; BARBOSA; VIEIRA, 2017).

De acordo com a *Association of Official Seed Analysts* (AOSA, 1983), o termo vigor é definido como aquelas propriedades das sementes que determinam o potencial para a emergência rápida e uniforme e o desenvolvimento de plântulas normais sob diferentes condições de campo. Sendo assim, tem-se buscado por testes rápidos que possam estimar a viabilidade das sementes e permitir o descarte rápido de lotes que não atingem os padrões mínimos de qualidade fisiológica para comercialização de suas sementes.

A grande maioria dos testes de vigor é baseada na avaliação do nível de deterioração das sementes. Entende-se que a deterioração das sementes tem início com a alteração ou perda da integridade das membranas celulares (MARCOS FILHO, 2015). Assim, lotes com potencial germinativo semelhante podem apresentar capacidades fisiológicas diferentes, visto que, as primeiras alterações de deterioração das sementes ocorrem antes que se possa verificar o declínio na capacidade de germinação de um lote de sementes (RIBEIRO et al., 2009).

Testes que avaliem a integridade do sistema de membranas das sementes como, por exemplo a condutividade elétrica massal, são indicados para a avaliação do vigor (DODE et al., 2013). O teste é baseado nos exsudatos liberados pelas sementes quando estas encontram-se

embebidas em água a uma determinada temperatura (FESSEL et al., 2010). A liberação dos exsudatos indica um nível de integridade das membranas celulares, ou seja, sementes deterioradas apresentam maiores valores de condutividade elétrica e, conseqüentemente, menor vigor, enquanto sementes com menores valores de condutividade elétrica, são sementes com baixo grau de deterioração e, maior nível de vigor.

Vários fatores podem interferir nos resultados obtidos como, por exemplo, o número de sementes, o volume de água, o tempo de embebição das sementes, características genéticas da espécie, a idade dos lotes de sementes, bem como o grau de deterioração que as sementes apresentam (MARCOS FILHO, 2015). Com isso, torna-se necessário ajustar a metodologia do teste para cada espécie estudada e verificar a resposta das diferentes variáveis nos resultados de condutividade elétrica obtidos.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco por meio do teste de condutividade elétrica massal, bem como ajustar a metodologia do teste para obter uma avaliação rápida e precisa da viabilidade dos lotes de sementes.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático e de Pesquisas em Sementes (LDPS) da Universidade Federal de Santa Maria, no ano de 2019. Utilizaram-se sete lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades (Tabela 4.2.1).

Tabela 4.2.1 – Lotes de sementes de trigo mourisco provenientes de diferentes localidades.

| Lote | Cultivar | Origem | Ano de colheita |
|------|---------------|--------------------------------------|-----------------|
| 1 | IPR 91- Baili | IAPAR ^{®*} -PR | 2018 |
| 2 | IPR 92- Altar | IAPAR [®] - PR | 2018 |
| 3 | IPR 91- Baili | Sementes com Vigor [®] - RS | 2018 |
| 4 | IPR 92- Altar | Sementes Pozza [®] - RS | 2018 |
| 5 | IPR 91- Baili | Pinhal Grande- RS | 2019 |
| 6 | IPR 92- Altar | Pinhal Grande- RS | 2019 |
| 7 | IPR 91- Baili | Pinhal Grande- RS | 2019 |

* IAPAR: Instituto Agrônômico do Paraná

Para a caracterização física e fisiológica dos lotes foram utilizados os testes descritos abaixo:

a. **Grau de umidade:** determinado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ \text{C}$ por 24 horas, utilizando-se duas amostras de trabalho com $4,5 \pm 0,5 \text{ g}$ (BRASIL, 2009);

b. **Teste de germinação (TPG):** foram semeadas quatro repetições de 50 sementes em rolo de papel de germinação umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador tipo BOD, com luz constante e temperatura alternada de $20\text{-}30^\circ \text{C}$, correspondendo 16h a 20°C e 8h a 30°C . A avaliação de germinação foi realizada no 5º e 7º dia após a instalação do teste (BRASIL, 2009a);

c. **Comprimento de plântula:** foram utilizadas quatro repetições de 20 sementes semeadas em duas linhas desencontradas no terço superior do papel de germinação e, mantidas na mesma condição do TPG. No quinto dia após a semeadura mediu-se o comprimento da parte aérea e da raiz primária de dez plântulas normais de cada repetição (NAKAGAWA, 1999);

d. **Massa seca de plântula:** para esse teste foram utilizadas as dez plântulas normais oriundas do teste de comprimento de plântula. A secagem do material ocorreu em estufa de ventilação forçada a $65 \pm 5^\circ \text{C}$ por 48 horas (NAKAGAWA, 1999).

Condutividade elétrica massal: a lixiviação dos exsudatos foi avaliada sob seis diferentes períodos de embebição (1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas), com duas quantidades de sementes (25 e 50) em três quantidades de água destilada (25, 50 e 75 mL) e em duas temperaturas (25° e 30°C). Inicialmente as sementes foram pesadas em balança de precisão de 0,001 g e, logo após, colocadas em recipientes plásticos de capacidade de 200 mL, com os volumes de água pré estabelecidos nas temperaturas de 25° e 30°C . Sementes que apresentavam algum dano mecânico ou encontravam-se quebradas foram descartadas antes do início do teste. A condutividade elétrica da solução foi mensurada com o auxílio de um condutivímetro digital de bancada da marca Bel Engineering, modelo W12D. Os resultados foram divididos pelos respectivos valores de massa de cada amostra de sementes, e expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de semente.

A condução do teste seguiu o delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdivididas com quatro repetições. Os tratamentos alocados nas parcelas eram compostos pelos sete lotes de sementes, combinados em duas quantidades de sementes (25 e 50) e três volumes de água (25, 50 e 75 mL). As subparcelas foram compostas por seis períodos de embebição (1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas). As diferentes temperaturas foram avaliadas separadamente (Apêndice A e B). Os resultados foram analisados por meio de comparação de médias pelo de

teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

A correlação de Pearson foi realizada com o software estatístico R, com o auxílio do pacote Corplot para a criação da imagem gráfica. Foram correlacionadas combinações dos tratamentos de condutividade elétrica com as variáveis contagem de germinação ao 5° dia (G5) e ao 7° dia (G7), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA). A combinação dos tratamentos de condutividade elétrica consistiu em 12 variáveis nomeadas da seguinte forma: **T1**: 25 sementes em 25 mL a 25° C; **T2**: 25 sementes em 50 mL a 25° C; **T3**: 25 sementes em 75 mL a 25° C; **T4**: 50 sementes em 25 mL a 25° C; **T5**: 50 sementes em 50 mL a 25° C; **T6**: 50 sementes em 75 mL a 25° C; **T7**: 25 sementes em 25 mL a 30° C; **T8**: 25 sementes em 50 mL a 30° C; **T9**: 25 sementes em 75 mL a 30° C; **T10**: 50 sementes em 25 mL a 30° C; **T11**: 50 sementes em 50 mL a 30° C; **T12**: 50 sementes em 75 mL a 30° C.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4.3.1 indica o grau de umidade dos lotes de sementes de trigo mourisco antes da condução do teste de condutividade elétrica, o qual variou entre 12,47% a 13,85%. É importante esta mensuração nos lotes de sementes, afim de se obter confiabilidade nos demais testes. A recomendação para o teste de condutividade elétrica é que os valores do teor de umidade fiquem na faixa de 10 a 17%, para padronizar as avaliações e obter resultados confiáveis e consistentes (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Tabela 4.3.1 – Grau de umidade (GU) dos sete lotes de sementes de trigo mourisco.

| Lotes | GU* (%) |
|-------|---------|
| 1 | 12,81 |
| 2 | 12,47 |
| 3 | 13,34 |
| 4 | 12,51 |
| 5 | 13,75 |
| 6 | 13,85 |
| 7 | 13,20 |

*Dados não submetidos a análise estatística.

Na Tabela 4.3.2 é informada a caracterização dos sete lotes estudados por meio dos testes de germinação com contagem ao 5° e 7° dia, comprimentos de raiz e parte aérea e massa

seca de raiz e parte aérea. Na contagem de germinação ao 5º dia pode-se verificar uma estratificação dos lotes em três classes de vigor, sendo que os lotes de mais alto vigor foram o 1, 2, 5 e 6, seguidos pelos lotes 4 e 7 com vigor intermediário, enquanto o lote 3 foi classificado como o de mais baixo vigor. Esses resultados se repetiram quando foi avaliada a germinação ao 7º dia.

Tabela 4.3.2 – Médias de germinação ao 5º dia (G5), germinação ao 7º dia (G7), comprimento de raiz (CR) comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca de parte aérea (MSPA) de sete lotes de sementes de trigo mourisco.

| | G5 (%) | G7 (%) | CR (cm) | CPA (cm) | MSR (g. 10 pl ⁻¹) | MSPA (g. 10 pl ⁻¹) |
|--------|--------|--------|---------|----------|-------------------------------|--------------------------------|
| Lote 1 | 89 A | 97 A | 9,4 A | 5,0 A | 0,025 A | 0,137 A |
| Lote 2 | 89 A | 93A | 10,4 A | 5,1 A | 0,022 A | 0,091 C |
| Lote 3 | 54 C | 59 C | 8,5 A | 3,1 A | 0,019 A | 0,119 B |
| Lote 4 | 77 B | 84 B | 9,5 A | 3,4 B | 0,022 A | 0,116 B |
| Lote 5 | 92 A | 95 A | 10,2 A | 3,4 B | 0,020 A | 0,140 A |
| Lote 6 | 93 A | 94 A | 10,3 A | 3,2 B | 0,023 A | 0,116 B |
| Lote 7 | 73 B | 77 B | 11,3 A | 4,4 A | 0,018 A | 0,101 C |
| cv (%) | 8,19 | 8,47 | 20,85 | 23,89 | 21,13 | 9,85 |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na coluna pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro. cv (%): coeficiente de variação.

Para o comprimento de raiz e massa seca de raiz não houve diferenciação entre os lotes, mostrando-se como testes pouco sensíveis na discriminação de lotes de sementes de trigo mourisco. Avaliando diferentes testes de vigor para trigo mourisco, Ponce et al. (2019) verificam para diferentes lotes da cultivar IPR 92- Altar, percentuais de germinação ao 5º e 7º dia semelhantes ao dos lotes utilizados neste trabalho, corroborando com os resultados encontrados.

A interação tripla significativa entre o número de sementes, o volume de água e os lotes de sementes de trigo mourisco para a temperatura de 25º C, pode ser observada na Tabela 4.3.3. Analisando a classificação dos lotes em um mesmo número de sementes e mesmo volume de água, pode-se verificar que para 25 sementes em 25 mL os lotes foram separados em seis classes. Os lotes 5 e 6 apresentaram menor valor de condutividade, sendo portanto, os de maior vigor, enquanto os lotes 3 e 4 apresentaram maior valor de condutividade, indicando assim, um nível de vigor inferior.

Tabela 4.3.3 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações entre número de sementes de 25 e 50, volumes de água de 25, 50 e 75 mL e sete lotes de sementes de trigo mourisco a 25° C.

| | Número de sementes | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | 25 | | | 50 | | |
| | Volumes de água (mL) | | | | | |
| | 25 | 50 | 75 | 25 | 50 | 75 |
| Lote 1 | 74,83 Bay | 55,99 Cb β | 35,70 Bba | 77,04 Bay | 39,27 Ba β | 25,28 Ba α |
| Lote 2 | 115,31 Day | 67,02 Da β | 45,34 Ca α | 111,04 Cay | 60,13 Ca β | 40,41 Ca α |
| Lote 3 | 150,90 Eay | 88,69 Eb β | 67,73 Db α | 173,42 Eby | 79,50 Da β | 56,40 Da α |
| Lote 4 | 178,43 Fby | 83,49 Ea β | 69,31 Db α | 156,66 Day | 82,62 Da β | 54,57 Da α |
| Lote 5 | 57,57 Aby | 28,15 Aa β | 18,87 Aa α | 44,93 Aa β | 23,29 Aa α | 17,05 Aa α |
| Lote 6 | 51,19 Aby | 27,32 Aa α | 37,81 Bb β | 42,09 Aa β | 23,03 Aa α | 17,07 Aa α |
| Lote 7 | 101,04 Cby | 48,23 Ba β | 36,50 Ba α | 81,15 Bay | 42,51 Ba β | 31,98 Ba α |

Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparação entre lotes dentro do mesmo número de sementes e volume de água, enquanto letras minúsculas indicam comparação entre número de sementes dentro do mesmo lote e mesmo volume de água. Médias seguidas de letras gregas indicam comparação entre volumes de água dentro de cada lote e cada número de sementes. Teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Tal separação dos lotes foi semelhante quando observou-se 50 sementes em 25 mL. Os lotes 5 e 6 continuaram a apresentar os maiores níveis de vigor, enquanto os lotes 3 e 4 foram classificados como de mais baixo vigor.

Ao aumentar o volume de água para 50 e 75 mL, a discriminação dos lotes seguiu a mesma tendência. Ou seja, os lotes de mais alto vigor (5 e 6) apresentaram os menores valores de condutividade, enquanto os lotes 3 e 4 demonstraram ser os lotes de mais baixo vigor. Essa informação é importante quando se compara testes de vigor utilizados para discriminação de lotes de sementes. Se for observada a contagem ao 5° e 7° dia (Tabela 4.3.2), pode-se perceber que não há discriminação entre quatro dos sete lotes estudados.

Um dos fatores que está atrelado aos resultados de condutividade elétrica é a idade dos lotes (MARCOS FILHO, 2015). Esse fator foi observado na separação feita entre os lotes 1, 2, 5 e 6. O teste de condutividade elétrica foi sensível para separar os lotes 5 e 6 (ano agrícola 2019) dos lotes 1 e 2 (ano agrícola 2018), algo que pelos testes de contagem (5° e 7° dia) não pode ser evidenciado, demonstrando que de fato há um certo nível de deterioração em sementes de lotes mais velhos.

O número de sementes utilizados por tratamento também diferiu em alguns lotes (Tabela 4.3.3). Para os lotes 4, 5, 6 e 7 em 25 mL de água, utilizando-se 25 sementes, a condutividade elétrica foi maior. O mesmo foi observado nos lotes 1 e 3 com 50 mL e 1, 3, 4 e 6 com 75 mL.

Os resultados da condutividade elétrica massal são expressos pela média de um determinado número de sementes, sendo essa a principal desvantagem do teste, pois assume-se

que todas as sementes do tratamento apresentam o mesmo nível de deterioração (VIEIRA; CARVALHO, 1994). Sendo assim, uma semente que tenha um alto grau de deterioração, tende a contaminar as demais sementes do tratamento. Tal desvantagem também é apontada nos estudos com soja (MATTIONI et al., 2015) e trigo (MERTZ et al., 2012).

Em trabalho com milho, Gaspar e Nakagawa (2002) verificaram grande diferença nos valores de condutividade quando utilizaram 10 e 100 sementes por repetição, onde a utilização de 10 sementes resultou em maiores valores de condutividade. Esta informação corrobora com os resultados obtidos neste trabalho para alguns tratamentos. O número de sementes utilizadas não deveria implicar em diferenças na condutividade elétrica, uma vez que o resultado da condutividade é dividido pela massa de sementes correspondente. No entanto, isso ocorre porque a leitura de condutividade elétrica, principalmente para sementes pequenas, é muito baixa e neste caso a condutividade da água exerce uma grande influência sob o resultado da condutividade da solução, aumentando o valor da leitura da condutividade (GASPAR; NAKAGAWA, 2002).

O volume de água utilizado para a embebição das sementes é outro fator que exerce influência nos resultados obtidos. Quando se analisa a condutividade elétrica em relação ao volume de água utilizado (Tabela 4.3.3), pode-se verificar que para todos os lotes com 25 sementes, quanto maior o volume de água utilizado, menor foi a condutividade elétrica. Assim, no volume de 25 mL foram observados os maiores valores de condutividade elétrica entre os lotes. No entanto, quando foi avaliada a condutividade elétrica utilizando 50 sementes, os lotes 5 e 6 apresentaram maiores valores de condutividade no volume de 25 mL, e não houve diferença na condutividade utilizando 50 ou 75 mL. Tais resultados podem ser melhor observados no desdobramento da interação entre volume de água e tempo de embebição das sementes (Tabela 4.3.4).

Tabela 4.3.4 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco a 25° C.

| Volume (mL) | Tempo (horas) | | | | | |
|-------------|---------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 24 |
| 25 | 65,74 Ac | 79,11 Bc | 97,96 Cc | 110,22 Dc | 118,92 Ec | 134,74 Fc |
| 50 | 32,51 Ab | 40,82 Bb | 51,82 Cb | 58,00 Db | 64,04 Eb | 73,93 Fb |
| 75 | 23,73 Aa | 30,28 Ba | 38,62 Ca | 43,40 Da | 47,58 Ea | 53,83 Fa |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na linha, enquanto letras minúsculas diferem na coluna, pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Em volumes maiores de água, os eletrólitos lixiviados ficam mais diluídos e, conseqüentemente, a leitura de condutividade é inferior. Assim, para muitas espécies, o volume de água utilizado para a embebição das sementes é um fator determinante para o sucesso ou não do teste. Em trabalho com grão-de-bico, a discriminação dos lotes foi obtida com o maior volume de água testado (100 mL) (DIAS et al., 2019).

Na Tabela 4.3.4, verifica-se também que quanto maior o tempo que as sementes ficam embebidas, maior é a condutividade elétrica resultante. Tais resultados são confirmados por Dias et al. (2019), onde os autores observaram que um tempo maior de embebição resulta em maior liberação de íons e, conseqüentemente, maior condutividade elétrica da solução.

O desdobramento dos fatores tempo de embebição e lotes de sementes, para a temperatura de 25° C é apresentado na Tabela 4.3.5.

Tabela 4.3.5 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco a 25° C.

| | Tempo (horas) | | | | | |
|--------|---------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 24 |
| Lote 1 | 28,54 Ab | 37,29 Bb | 49,61 Cb | 56,92 Db | 63,11 Eb | 72,65 Fb |
| Lote 2 | 47,24 Ac | 57,44 Bc | 71,08 Cc | 79,97 Dc | 86,08 Ec | 97,45 Fd |
| Lote 3 | 69,62 Ad | 82,80 Bd | 100,45 Cd | 110,77 Dd | 119,91 Ed | 133,11 Ff |
| Lote 4 | 67,28 Ad | 84,71 Bd | 106,01 Cd | 117,06 Dd | 124,32 Ed | 125,69 Ee |
| Lote 5 | 18,02 Aa | 22,14 Aa | 28,52 Ba | 32,97 Ba | 36,84 Ba | 51,38 Ca |
| Lote 6 | 19,03 Aa | 23,32 Aa | 30,67 Ba | 35,32 Ca | 40,96 Ca | 49,22 Da |
| Lote 7 | 34,86 Ab | 42,80 Bb | 53,25 Cb | 60,78 Db | 66,71 Db | 83,01 Ec |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na linha, enquanto letras minúsculas diferem na coluna, pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Em 1 hora de embebição foi possível separar os lotes em quatro classes, onde os lotes 5 e 6 foram os que apresentaram menor condutividade elétrica, enquanto os lotes 3 e 4 apresentaram maiores valores de condutividade elétrica. Essa separação manteve-se nos demais tempos de embebição, indicando a superioridade dos lotes 5 e 6 em relação ao demais. Como a separação dos lotes ocorreu a partir de 1 hora de avaliação, esse pode ser considerado um fator positivo, pois tempos curtos de avaliação são essenciais na escolha de um teste de vigor.

Na Tabela 4.3.6 é possível observar a mesma análise da Tabela 4.3.3, no entanto, para a temperatura de 30° C a discriminação dos lotes seguiu a mesma tendência da condução do teste realizada em 25° C. Os lotes 5 e 6 continuaram diferenciando-se dos demais, como lotes de mais alto vigor, enquanto os lotes 3 e 4 continuaram sendo os de mais baixo vigor. Para

todos os lotes com 25 sementes, quanto maior o volume de água utilizado, menor a condutividade elétrica, ou seja, os maiores valores de condutividade elétrica foram observados no volume de 25 mL. Essa relação manteve-se para os lotes 2, 3, 4 e 7 quando foram utilizadas 50 sementes. Os lotes 1, 5 e 6 obtiveram maiores valores de condutividade elétrica quando se utilizou o volume de 25 mL, no entanto, não houve diferença na condutividade elétrica utilizando-se volumes de 50 e 75 mL.

O fator número de sementes utilizadas teve relação semelhante ao teste conduzido na temperatura de 25° C, onde em determinados tratamentos ao se utilizar 25 sementes, a condutividade elétrica foi maior quando comparada com 50 sementes.

Tabela 4.3.6 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações entre número de sementes de 25 e 50, volumes de água de 25, 50 e 75 mL e sete lotes de sementes de trigo mourisco a 30° C.

| | Número de sementes | | | | | |
|--------|---------------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| | 25 | | | 50 | | |
| | Volume de água (mL) | | | | | |
| | 25 | 50 | 75 | 25 | 50 | 75 |
| Lote 1 | 92,50 Bby | 50,78 Bbβ | 30,63 Aaα | 76,10 Baβ | 38,73 Baα | 30,01 Baα |
| Lote 2 | 164,92 Dby | 68,35 Caβ | 47,18 Baα | 132,45 Day | 60,64 Daβ | 43,16 Caα |
| Lote 3 | 165,69 Day | 104,40 Ebβ | 66,83 Caα | 172,31 Eay | 91,30 Eaβ | 64,05 Daα |
| Lote 4 | 177,97 Eby | 94,05 Daβ | 74,16 Cbα | 167,10 Eay | 87,24 Eaβ | 61,15 Daα |
| Lote 5 | 63,67Aby | 32,42 Aaβ | 20,88 Aaα | 50,34 Aaβ | 28,19 Aaα | 19,43 Aaα |
| Lote 6 | 54,74 Aay | 32,27 Aaβ | 22,61 Aaα | 50,60 Aaβ | 27,83 Aaα | 18,57 Aaα |
| Lote 7 | 111,78 Cby | 53,31 Baβ | 39,82 Baα | 90,75 Cay | 45,44 Caβ | 33,79 Baα |

Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparação entre lotes dentro do mesmo número de sementes e volume de água, enquanto letras minúsculas indicam comparação entre número de sementes dentro do mesmo lote e mesmo volume de água. Médias seguidas de letras gregas indicam comparação entre volumes de água dentro de cada lote e cada número de sementes. Teste de Scott-Knott a 5% de erro.

A Tabela 4.3.7 apresenta o desdobramento dos fatores lotes de sementes e tempos de embebição para a temperatura de 30° C. Os resultados seguiram a mesma seqüência de quando avaliados na temperatura de 25° C. Sendo assim em 1 hora de avaliação já foi possível separar os lotes 5 e 6 como de mais alto vigor, e os lotes 3 e 4 como de mais baixo vigor. Nos períodos seguintes de avaliação, essa discriminação permaneceu igual.

Tabela 4.3.7 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações entre tempo de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas e sete lotes de sementes de trigo mourisco a 30° C.

| | Tempo (horas) | | | | | |
|--------|---------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 24 |
| Lote 1 | 29,87 Aa | 39,46 Bb | 52,42 Cb | 60,18 Cb | 65,38 Db | 71,42 Db |
| Lote 2 | 56,32 Ac | 68,19 Bd | 85,30 Cc | 94,88 Dc | 101,30 Ec | 110,70 Ed |
| Lote 3 | 74,05 Ad | 91,61 Be | 111,95 Cd | 122,61 Dd | 127,74 Ed | 136,61 Ee |
| Lote 4 | 71,21 Ad | 88,40 Be | 113,68 Cd | 124,09 Dd | 129,52 Dd | 134,76 De |
| Lote 5 | 23,92 Aa | 28,38 Aa | 33,54 Aa | 37,78 Ba | 41,09 Ba | 50,20 Ca |
| Lote 6 | 22,80 Aa | 27,02 Aa | 32,09 Aa | 36,50 Ba | 39,48 Ba | 48,73 Ca |
| Lote 7 | 43,00 Ab | 51,10 Bc | 57,35 Bb | 65,28 Cb | 70,49 Cb | 87,67 Dc |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na linha, enquanto letras minúsculas diferem estatisticamente na coluna, pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Na Tabela 4.3.8, encontra-se o desdobramento dos fatores volume de água e tempo de embebição a 30° C. Novamente, os resultados vão de encontro aos obtidos quando a condução do teste ocorreu a 25° C, mostrando que quanto maior o tempo que as sementes ficaram embebendo em água, maior foi a condutividade elétrica, e quanto maior o volume de água utilizado, menor foi a condutividade elétrica, pois os exsudatos ficaram mais diluídos em volumes maiores.

Tabela 4.3.8 – Médias de condutividade elétrica massal ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) utilizando as combinações de volume de água de 25, 50 e 75 mL e tempos de avaliação de 1, 2, 4, 6, 8 e 24 horas em sementes de trigo mourisco a 30° C.

| Volume (mL) | Tempo (horas) | | | | | |
|-------------|---------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 1 | 2 | 4 | 6 | 8 | 24 |
| 25 | 74,08 Ac | 91,69 Bc | 111,89 Cc | 124,05 Dc | 131,26 Ec | 140,27 Fc |
| 50 | 36,96 Ab | 44,90 Bb | 57,18 Cb | 63,65 Db | 67,65 Db | 78,93 Eb |
| 75 | 26,61 Aa | 32,34 Aa | 39,35 Ba | 44,30 Ca | 47,52 Ca | 55,13 Da |

Letras maiúsculas diferem estatisticamente na linha, enquanto letras minúsculas diferem estatisticamente na coluna, pelo teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Em trabalho com sementes de feijão, Silva et al. (2014), ao testar diferentes métodos de condutividade elétrica massal, concluíram que a utilização de 10 sementes inteiras em um período de cinco horas permitiu a separação dos lotes em níveis de vigor. Venske et al. (2014), em trabalho com algodão, ao avaliarem a condutividade elétrica das sementes perceberam que ela foi eficiente, porém não tão sensível na discriminação dos lotes como outros testes de vigor utilizados. Já Barbieri et al. (2013), em trabalho com o efeito da redução aleatória de plantas de trigo na qualidade fisiológica das sementes produzidas, verificaram que o teste de

condutividade elétrica não foi eficiente para detectar diferenças de qualidade entre os lotes de sementes de trigo.

Por outro lado, Ponce et al. (2019) testaram a condutividade elétrica em sementes de trigo mourisco para determinar o vigor dos lotes. Concluíram que a condutividade elétrica com períodos de embebição de até 24 horas não foi eficiente para determinar o vigor dos lotes, resultado esse que vai em desacordo com os resultados do presente estudo.

Conforme discutido anteriormente, a condutividade elétrica pode ser alterada por vários fatores. Entre eles pode-se citar o tamanho das sementes, a temperatura na qual o teste é conduzido, o tempo de embebição, o volume de água utilizado e a idade dos lotes (MARCOS FILHO, 2015). No trabalho realizado por Ponce et al. (2019) foram utilizados lotes de sementes de apenas uma cultivar (IPR 92- Altar), com características de germinação muito semelhantes. Também não foram levadas em consideração variações de temperatura, número de sementes e volume de água, sendo assim pouco abrangente.

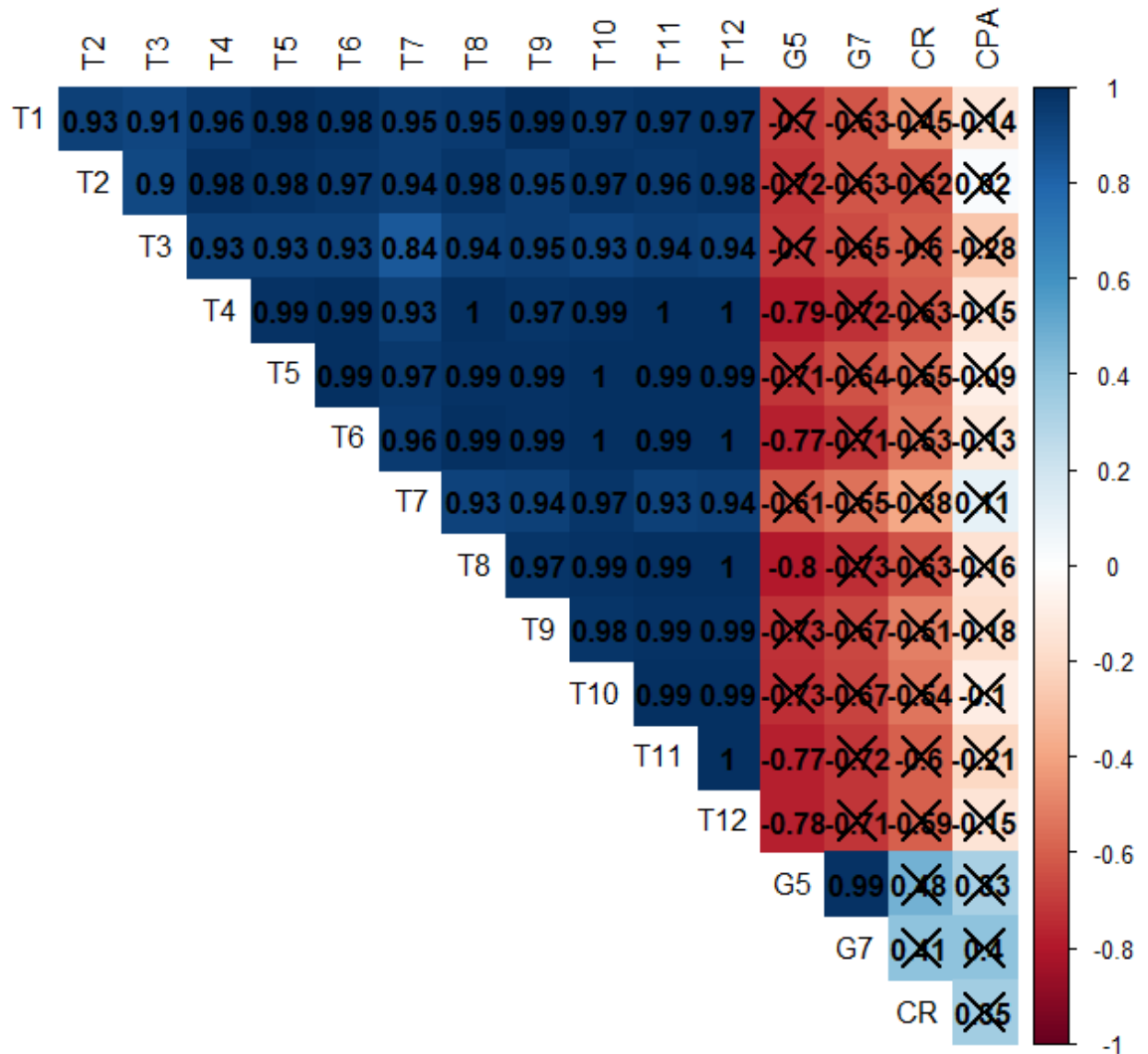
Em trabalho com sementes hortícolas, Frandoloso et al. (2017) constataram que a condutividade elétrica foi eficiente na discriminação de lotes de sementes de alface, proporcionando a obtenção de resultados mais rápidos.

A Figura 4.3.1 indica a correlação de Pearson entre as variáveis do teste de condutividade elétrica e os testes de contagem de germinação ao 5º dia (G5) e 7º dia (G7), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA).

Pode-se verificar uma correlação significativa e positiva entre todas combinações do teste de condutividade elétrica, indicando que o aumento ou redução dessas variáveis ocorre de forma linear. As combinações T4, T6, T8, T11 e T12, apresentaram correlação significativa e negativa com a germinação ao 5º dia (G5), indicando uma linearidade nas variações destas variáveis. Esse ponto pode ser considerado positivo, pois um aumento da condutividade elétrica implica em redução do vigor, visto que maiores valores de condutividade indicam menor vigor. Isso sugere que o teste de condutividade elétrica pode ser utilizado na tomada de decisão durante a avaliação dos lotes de sementes.

Tais considerações já foram verificadas por Prado et al. (2019) em sementes de soja, com os testes de tetrazólio e primeira contagem de germinação. Rosa et al. (2018) em trabalho com sementes de *Amarantus cruentus* L. ao analisarem a correlação, verificaram resultados inversamente proporcionais. Ou seja, conforme aumentava os valores de condutividade elétrica, a porcentagem de mudas emergidas diminuía.

Figura 4.3.1 – Correlação de Pearson entre o teste de condutividade elétrica e contagem de germinação ao 5º dia (G5) e 7º dia (G7), comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA), de sete lotes de sementes de trigo mourisco.



*X indica correlação não significativa.

Condutividade elétrica representada pelas combinações: T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11 e T12.

Assim, pode-se observar que cada espécie responde de forma diferenciada ao teste de vigor proposto, sendo que para algumas espécies determinados testes são eficientes, enquanto para outras não. Diante disso, o estudo, o teste e a combinação dos diferentes fatores acima mencionados é de suma importância na hora de indicar ou não um teste de vigor para determinada espécie.

A partir deste experimento pode-se verificar que os sete lotes de trigo mourisco foram separados em três classes de acordo com as contagens realizadas ao 5º e 7º dia, sendo que os lotes 1, 2, 5 e 6 foram os de mais alto vigor, enquanto o lote 3 foi o de mais baixo vigor.

Independente da combinação de número de sementes, volume de água e tempo de embebição, nas temperaturas de 25 e 30° C, os lotes 5 e 6 foram o de mais alto vigor, enquanto os lotes 3 e 4 foram de mais baixo vigor. Ao aumentar o período de embebição foram observados maiores valores de condutividade elétrica. No entanto, em tempos mais curtos, como 1 e 2 horas, o teste já conseguiu distinguir os lotes de acordo com o seu potencial fisiológico, podendo sugerir a realização do teste em tempos mais curtos.

De acordo com a análise de correlação, tanto as combinações T4, T6, T8, T11 e T12 foram significativas. No entanto, sugere-se a combinação T8 (25 sementes em 50 mL de água na temperatura de 30° C), pelo fato de utilizar um menor número de sementes, associado a curtos períodos de avaliação.

4.4 CONCLUSÕES

A condutividade elétrica massal é eficiente na discriminação de classes de vigor em lotes de sementes de trigo mourisco.

Em curtos períodos de embebição (1, 2 horas) já pode ser evidenciada a separação dos lotes que possuem mais alto vigor.

Sugere-se a utilização de 25 sementes em 50 mL de água na temperatura de 30° C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. East Lasing, 1983. 93p.

BARBIERI, A. P. et al. Population reduction of wheat for yield and the physiological quality of seeds. **Revista Ciência Agrônômica**, v.44, n.4, p.724-731, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009a. 395p.

CHRISTA, K.; SORAL-SMIETANA, M. Buckwheat grains and buckwheat products nutritional and prophylactic value of their components a review. **Czech Journal of Food Science**, v.26, p.153-162, 2008.

DIAS, L. B. X. et al. Teste de condutividade elétrica e embebição de sementes de grão-de-bico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.14, n.2, 2019.

DODE, J.S. et al. Respiration test soybean seed as related of physiological quality. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.193-198, 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FESSEL, S. A. et al. Electrical conductivity test of soybean seeds stored under different temperatures. **Bragantia**, v.69, n.1, 2010.

FRANDOLOSO, V. C. L. et al. Lettuce seeds quality evaluated by accelerated aging test. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n.4, p.703-713, 2017.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.70-76, 2002.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES: Londrina, 2015. 650p.

MATTIONI, N. M. et al. Teste de condutividade elétrica individual para a estimativa da germinação em sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.31-38, 2015.

MERTZ, L.M. et al. Condutividade elétrica individual para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de trigo. **Informativo ABRATES**, v.22, n.1, 2012.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C. et al. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999.

PRADO, J.P. et al. Physiological potential of soybean seeds and its relationship to electrical conductivity. **Journal of Seed Science**, v.41, n.4, p.407-417, 2019.

PEREIRA, M.F.S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de coentro [*Coriandrum sativum* (L.)]. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.13, n. esp, p.518-522, 2011.

PONCE, R. M. et al. Physiological potential of buckwheat seeds evaluated by different vigor tests. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, n.3, 2019.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: Foundation for Statistical Computing, 2011. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.

RIBEIRO, D. M. Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes em milho-pipoca (*Zea mays* L.). **Revista Ceres**, v.5, n.6, p.772-776, 2009.

ROSA, T.D. et al. Electrical conductivity and accelerated aging in amaranth (*Amaranthus crueentus* L.) seeds. **Journal of Seed Science**, v.40, n.1, p.044-051, 2018.

SILVA, C.B.; BARBOSA, R.M; VIEIRA, R.D. Accelerated aging as vigor test for sunn hemp seeds. **Ciência Rural**, v.47, n.1, p.1-6, 2017.

SILVA, V. N. et al. Electrical conductivity test with parts of bean seeds. **Revista de Ciências Agrárias**, v.37, n.2, p.206-213, 2014.

VENSKE, E. et al. Atividade respiratória como teste de vigor em sementes de algodão. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.9, n.2, p.174-179, 2014.

VIEIRA RD, KRZYZANOWSKI FC. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI FC; VIEIRA RD; FRANÇA NETO JB (eds). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. cap.4. p.1-26. 1999.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

5 CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE TRIGO MOURISCO PELO TESTE DO pH DO EXSUDATO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco com o auxílio da metodologia do teste do pH do exsudato. Foram utilizados sete lotes de sementes, caracterizados pelos testes de germinação ao 5º e 7º dia, velocidade de emergência, índice de velocidade de emergência e emergência a campo. O teste do pH do exsudato foi avaliado nas temperaturas de 25° e 30° C por períodos de embebição de 20, 40 e 60 minutos. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes com a presença do tegumento para cada tratamento. O resultado foi expresso em percentual de viabilidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os resultados foram analisados por meio de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Concluiu-se que o teste do pH do exsudato com a presença do tegumento das sementes não foi eficiente na discriminação de lotes de sementes de trigo mourisco, não sendo indicado para essa cultura.

Palavras - chave: Vigor de sementes. Exsudatos. Deterioração.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the viability of buckwheat seed lots using the exudate pH test methodology. Seven seed lots were used, characterized by germination count tests on the 5th and 7th day, germination speed, germination speed index and field emergence. The exudate pH test was evaluated at temperatures of 25° and 30° C for soaking periods of 20, 40 and 60 minutes. Four replicates of 50 seeds with the presence of the seed coat were used for each treatment. The result was expressed as a percentage of viability. The experimental design was completely randomized and the results were analyzed by comparing means by the Scott Knott test, at 5% probability of error. It was concluded that the exudate pH test with the presence of seed coat was not efficient in discriminating buckwheat seed lots.

Key - words: Seed vigor. Exudates. Deterioration.

5.1 INTRODUÇÃO

A avaliação rápida e precisa do potencial fisiológico dos lotes de sementes é um ponto importante e que tem ganhado mais atenção nas análises de rotina. Isto porque para a maioria das espécies vegetais é requerido um tempo de avaliação da germinação que varia de sete a 28 dias (BRASIL, 2009). Período este, considerado muito longo para atender os interesses comerciais de produtores de sementes. Outro ponto que deve ser ressaltado, é que com o encurtamento do período de avaliação, consegue-se descartar lotes que não atendem aos padrões de comercialização, reduzindo assim os custos com beneficiamento e armazenamento destas sementes (CABRERA; PESKE, 2002).

Os testes de vigor baseados na integridade das membranas são classificados como testes bioquímicos (MARCOS FILHO, 2015). Entende-se que a desestruturação das membranas celulares é o passo que desencadeia a deterioração das sementes, culminado com a diminuição da velocidade de germinação e germinação das sementes (KOOSTRA; HARRINGTON, 1973; MARCOS FILHO, 2015).

Uma metodologia que tem sido estudada é o teste do pH do exsudato, a qual apresenta resultados da viabilidade das sementes em menos de um dia. Esse teste envolve a lixiviação de solutos e a integridade do tegumento/membranas das sementes. Conforme o princípio do teste, sementes de elevada qualidade fisiológica apresentam baixa lixiviação de solutos, não promovendo grandes alterações no pH da solução, enquanto sementes deterioradas liberam mais íons para a solução diminuindo assim o pH (SANTOS et al., 2011). Desta forma, a solução com as sementes viáveis apresentará coloração rosa, enquanto com as sementes inviáveis a solução permanecerá incolor.

Alguns trabalhos já mostraram resultados positivos na verificação do vigor de lotes de sementes de milho (CABRERA; PESKE, 2002), crambe (ALVES et al., 2016), soja (THEODORO et al., 2018) e sementes florestais como araucária (ARALDI; COELHO, 2015). Em outras espécies, a eficácia do teste não foi comprovada, como em limão-cravo (CARVALHO, 2018), sendo assim necessária a utilização de outro teste que melhor se adéque à espécie. Com isso, verifica-se que há resposta variada em função da espécie e do arranjo metodológico utilizado em cada teste rápido, podendo ser ou não indicado para avaliação eficiente de lotes de sementes.

O trigo mourisco ou sarraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench) é uma espécie vegetal que tem ganhado espaço na rotação de cultivos agrícolas. Sua produção e consumo concentram-

se basicamente em países como China, Japão, Itália, Canadá, Índia, Ucrânia e Brasil (CAI et al., 2016). O consumo principal é na forma de farinha, a qual é utilizada para a fabricação de macarrão, panquecas, pães e outros alimentos presentes na chamada dieta funcional, pois seus grãos apresentam propriedades anti-inflamatórias, neuroprotetoras, anticancerígenas e antioxidantes (GIMÉNEZ-BASTIDA; ZIELINSKI, 2015). O grão é rico em proteína de excelente qualidade e o amido possui propriedades especiais que são diferentes de outros cereais, onde destaca-se principalmente a ausência de glúten, muito importante para a dieta celíaca (GAO et al., 2015).

Com isso, o objetivo deste estudo foi determinar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco com o auxílio da metodologia do teste do pH do exsudato.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se sete lotes de sementes de trigo mourisco, das safras 2018 e 2019, os quais foram caracterizados física e fisiologicamente conforme os testes descritos abaixo.

Grau de umidade: determinado pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ \text{C}$ por 24 horas, utilizando-se duas amostras de trabalho com $4,5 \pm 0,5 \text{ g}$ (BRASIL, 2009).

Teste de germinação (TPG): foram semeadas quatro repetições de 50 sementes em rolo de papel de germinação umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos em germinador tipo BOD, com luz constante e temperatura alternada de $20\text{-}30^\circ \text{C}$, correspondendo 16h a 20°C e 8h a 30°C . A avaliação de germinação foi realizada no 5º e 7º dia após a instalação do teste (BRASIL, 2009).

Emergência no campo: quatro repetições de 50 sementes foram semeadas em linhas de 1 m, com espaçamento entre si de 0,2 m com 0,03 m de profundidade. A determinação do índice de velocidade de emergência (IVE) e da velocidade de emergência (VE) ocorreu com avaliação diária conforme a metodologia descrita por Maguire (1962). Enquanto, a avaliação de emergência foi realizada após estabilizar o número de plântulas emergidas, com resultados expressos em percentagem de emergência.

pH do exsudato individual: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes com a presença do tegumento para cada um dos lotes avaliados. Cada semente foi embebida individualmente em copos plásticos contendo 5 mL de água destilada nas temperaturas de 25 e 30°C pelos períodos de 20, 40 e 60 minutos. Após os respectivos períodos de embebição, adicionou-se 1 gota de solução de carbonato de sódio anidro (0,8 g de carbonato de sódio anidro

dissolvido em 1000 mL de água destilada fervida) e 1 gota de solução de fenolftaleína (1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool mais a adição de 100 mL de água destilada fervida) em cada copo plástico. Logo em seguida, a solução foi homogeneizada com um bastão de vidro e realizou-se a avaliação em relação a coloração da solução de embebição (AMARAL; PESKE, 1984). Soluções que apresentaram coloração rosa foram consideradas viáveis, enquanto soluções que apresentaram ausência de coloração foram consideradas inviáveis, conforme a Figura 5.2.1. O resultado foi expresso em porcentagem de viabilidade.

Figura 5.2.1 – Coloração rosa indicando viabilidade das sementes e ausência de coloração indicando inviabilidade da semente, pelo teste do pH do exsudato em sementes de trigo mourisco.



Fonte: Zini, P. B. (2021).

A condução do teste seguiu o delineamento inteiramente casualizado e os resultados foram analisados por meio de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro (Apêndice C), com o auxílio do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

A correlação de Pearson foi realizada por meio do software estatístico R, com o auxílio do pacote Corplot para a criação da imagem gráfica. Foram correlacionadas combinações dos tratamentos do teste do pH do exsudato com as variáveis germinação ao 5º dia (G5) e 7º dia (G7), velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (ECP). A combinação dos tratamentos do pH do exsudato consistiu em 6 variáveis nomeadas da seguinte forma: **T1**: 20 minutos de embebição a 25° C; **T2**: 40 minutos de embebição a 25° C; **T3**: 60 minutos de embebição a 25° C; **T4**: 20 minutos de embebição a 30° C; **T5**: 40 minutos de embebição a 30° C; **T6**: 60 minutos de embebição a 30° C.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 5.3.1 indica o grau de umidade (GU) dos lotes antes do início dos testes. Há uma variação de 1,1% entre o lote com maior teor de umidade (13,2%) e o de menor (12,1%). O teor de umidade é um fator importante quando visa-se obter confiabilidade nos demais testes realizados. Marcos Filho (2015) menciona que a diferença de umidade entre os lotes não deve ultrapassar 2%. Tal fato pode ser verificado nos lotes em estudo.

Tabela 5.3.1 – Grau de umidade (GU), germinação ao 5° dia (G5), germinação ao 7° dia (G7), velocidade de emergência (VE), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (ECP) de sete lotes de sementes de trigo mourisco.

| | GU (%) [*] | G5 (%) ¹ | G7 (%) ¹ | VE(dias) ¹ | IVE ¹ | ECP (%) ¹ |
|--------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|------------------|----------------------|
| Lote 1 | 12,7 | 83 B | 89 B | 3,29 A | 14,76 A | 90 A |
| Lote 2 | 12,4 | 91 A | 95 B | 3,81 A | 11,81 A | 85 A |
| Lote 3 | 13,1 | 58 C | 63 D | 3,43 A | 11,19 A | 68 B |
| Lote 4 | 12,3 | 67 C | 90 B | 3,62 A | 12,19 A | 84 A |
| Lote 5 | 13,2 | 84 B | 93 B | 3,14 A | 15,43 A | 89 A |
| Lote 6 | 13,1 | 95 A | 98 A | 3,54 A | 13,06 A | 85 A |
| Lote 7 | 12,1 | 80 B | 83 C | 3,58 A | 13,32 A | 86 A |
| cv (%) | | 7,43 | 6,00 | 15,44 | 23,1 | 10,33 |

*Dados não submetidos a análise estatística. ¹Dados submetidos ao teste de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. cv: coeficiente de variação.

O vigor expresso pelo teste de contagem de germinação ao 5° dia (G5) (Tabela 5.3.1) variou entre os lotes estudados. Pode-se observar uma estratificação dos lotes em três níveis de vigor, sendo que os lotes 2 e 6 foram de mais alto nível de vigor, seguidos pelos lotes 1, 5 e 7 com vigor intermediário, e lotes 3 e 4 como de mais baixo nível de vigor. Já o teste de germinação com contagem realizada no 7° dia (G7) (Tabela 5.3.1) estratificou esses lotes em quatro classes de acordo com seu potencial de germinação. O lote 6 foi o que apresentou o maior potencial germinativo, seguido pelos lotes 1, 2, 4 e 5. O lote 7 ocupou a terceira classe nessa classificação, enquanto o lote 3 foi considerado de mais baixo potencial germinativo.

Os testes de velocidade de emergência (VE) e índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 5.3.1) não foram sensíveis na discriminação dos lotes, enquanto a emergência a campo (ECP) (Tabela 5.3.1) separou apenas o lote 3 dos demais, sendo este, o que apresentou a menor emergência. Nem sempre os testes de vigor, como no caso da contagem de germinação ao 5° dia, refletem no campo a real diferença entre os lotes de sementes. Neste caso, pela emergência a campo não conseguiu-se distinguir as diferenças entre os lotes utilizados. Isso pode ser observado por Wendt et al. (2017) em sementes de soja, os quais verificaram resultados

diferentes quando avaliaram os lotes por meio da primeira contagem de germinação, aferida pelo teste de tetrazólio em comparação ao teste de emergência a campo.

Os resultados do teste do pH do exsudato, expressos por meio do percentual de viabilidade das sementes, podem ser observados na Tabela 5.3.2. Esta indica a interação tripla entre temperatura, período de embebição e lotes de sementes utilizados.

Tabela 5.3.2 – Porcentagem de viabilidade de sete lotes de sementes de trigo mourisco submetidos ao teste do pH do exsudato nas temperaturas de 25° e 30° C por 20, 40 e 60 minutos de embebição.

| | Temperatura (°C) | | | | | |
|--------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 25 | | | 30 | | |
| | Tempo (minutos) | | | | | |
| | 20 | 40 | 60 | 20 | 40 | 60 |
| Lote 1 | 94 Aaα | 97 Aaα | 86 Abα | 85 Abα | 96 Aaα | 95 Aaα |
| Lote 2 | 94 Aaα | 93 Aaα | 88 Aaα | 83 Bbα | 95 Aaα | 95 Aaα |
| Lote 3 | 89 Aaα | 86 Aaα | 88 Aaα | 76 Bbβ | 94 Aaα | 92 Aaα |
| Lote 4 | 79 Abβ | 88 Aaα | 93 Aaα | 84 Aaα | 63 Bbβ | 82 Baβ |
| Lote 5 | 76 Bcβ | 86 Abα | 96 Aaα | 87 Aaα | 95 Aaα | 89 Aaα |
| Lote 6 | 82 Aaβ | 90 Aaα | 87 Aaα | 79 Abα | 96 Aaα | 93 Aaα |
| Lote 7 | 92 Aaα | 86 Baα | 90 Aaα | 70 Bbβ | 97 Aaα | 90 Aaα |

Médias seguidas de letras maiúsculas indicam comparação entre temperaturas dentro do mesmo período de tempo e lote, enquanto letras minúsculas indicam comparação entre temperatura e lote dentro do mesmo período de tempo. Médias seguidas de letras gregas indicam comparação entre lotes dentro de cada temperatura e período de tempo. Teste de Scott-Knott a 5% de erro.

Ao observar a comparação entre as temperaturas de 25° e 30° C, dentro de um mesmo lote em um mesmo período de embebição verificam-se algumas diferenças. No tempo de 20 minutos de embebição a 25° C os lotes 2, 3 e 7 apresentaram maior viabilidade quando comparados à temperatura de 30° C, enquanto o lote 5 apresentou maior viabilidade quando avaliado na temperatura de 30° C. Os lotes 1, 4 e 6 não apresentaram diferenças na sua viabilidade quando avaliados em 20 minutos de embebição nas diferentes temperaturas. Para a avaliação com 40 minutos de embebição, houve diferenças de viabilidade de acordo com a temperatura utilizada apenas nos lotes 4 e 7. Enquanto o lote 4 apresentou maior viabilidade a 25° C, o lote 7 apresentou sua maior viabilidade com 30° C. Assim, para 60 minutos de embebição, apenas o lote 4 apresentou diferença na viabilidade quando utilizou-se diferentes temperaturas, sendo que em 30° C a viabilidade foi menor quando comparada a 25° C.

Por ser um teste que avalia a viabilidade das sementes de acordo com a liberação de exsudatos na solução, a temperatura é um fator que apresenta influência nos resultados obtidos,

pois o processo de deterioração da semente pode variar de acordo com a temperatura utilizada. Bewley et al. (2013) mencionam que a temperatura, a umidade relativa do ar e o teor de água das sementes estão diretamente ligados ao processo de deterioração.

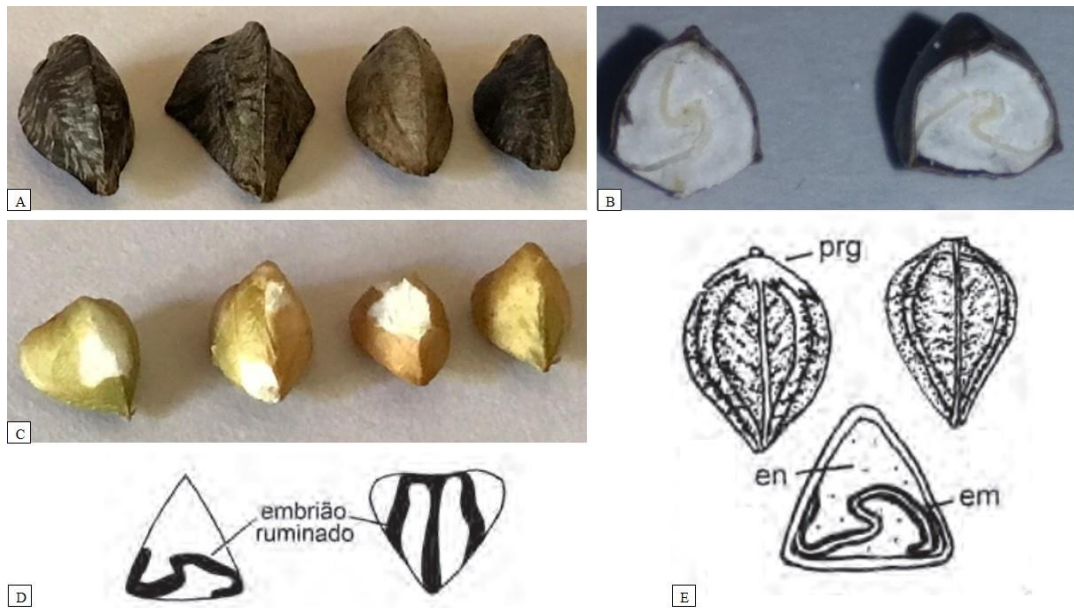
Quando analisou-se os diferentes períodos de tempo (20, 40 e 60 minutos), dentro de um mesmo lote e na mesma temperatura, observou-se que para alguns lotes houve diferença na viabilidade conforme aumentava-se o tempo de embebição. Para o lote 1 na temperatura de 25° C o maior tempo de embebição resultou na menor viabilidade. Já para os lotes 4 e 5 os menores tempos de embebição resultaram na menor viabilidade. Tal fato também foi observado nos lotes 1, 2, 3, 6 e 7 quando testou-se a temperatura de 30° C. Essa dissimilaridade entre valores que são atribuídos de forma visual também foram verificadas por Carvalho et al. (2018), que ao avaliar a viabilidade de diferentes lotes de limão-cravo por meio do teste do pH do exsudato, não observaram similaridade nos resultados quando avaliados em diferentes períodos de embebição. Isto indica uma desvantagem do teste de pH do exsudato, pois a avaliação por coloração torna-se subjetiva e variável de acordo com o analista.

A discriminação dos lotes dentro de um mesmo período de embebição e mesma temperatura também pode ser observada na Tabela 5.3.2. Quando analisou-se os lotes em 20 minutos na temperatura de 25° C verificou-se a estratificação em duas classes de vigor, sendo que os lotes 1, 2, 3 e 7 foram de mais alto vigor, enquanto os lotes 4, 5 e 6 foram classificados como de mais baixo vigor. Ainda na temperatura de 25° C, porém com 40 e 60 minutos de embebição não foram verificadas diferenças de vigor entre os lotes.

Na temperatura de 30° C com 20 minutos de embebição, os lotes 3 e 7 foram classificados como de mais baixo nível de vigor em relação aos demais lotes, enquanto para os tempos de 40 e 60 minutos, apenas o lote 4 foi classificado como de mais baixo nível de vigor.

Os frutos de trigo mourisco são botanicamente classificados como aquênios tríquetros (FURLAN et al., 2006), com um tegumento espesso e bem aderido ao endosperma (Figura 5.3.1 A e B). De acordo com o Glossário Ilustrado de Morfologia (2009), o embrião do trigo mourisco é classificado como ruminado, pois ocorrem invaginações do endosperma para dentro do embrião (Figura 5.3.1 D e E). Em virtude de tais características, a remoção do tegumento torna-se difícil, uma vez que pode-se causar danos ao embrião (Figura 5.3.1 C), induzindo a resultados não condizentes com o real potencial fisiológico das sementes. Também cabe destacar, que por se tratar de um teste rápido de vigor, a retirada do tegumento implicaria em um maior tempo requerido para a obtenção dos resultados, inviabilizando a rapidez do teste.

Figura 5.3.1 – Estruturas das sementes de trigo mourisco.

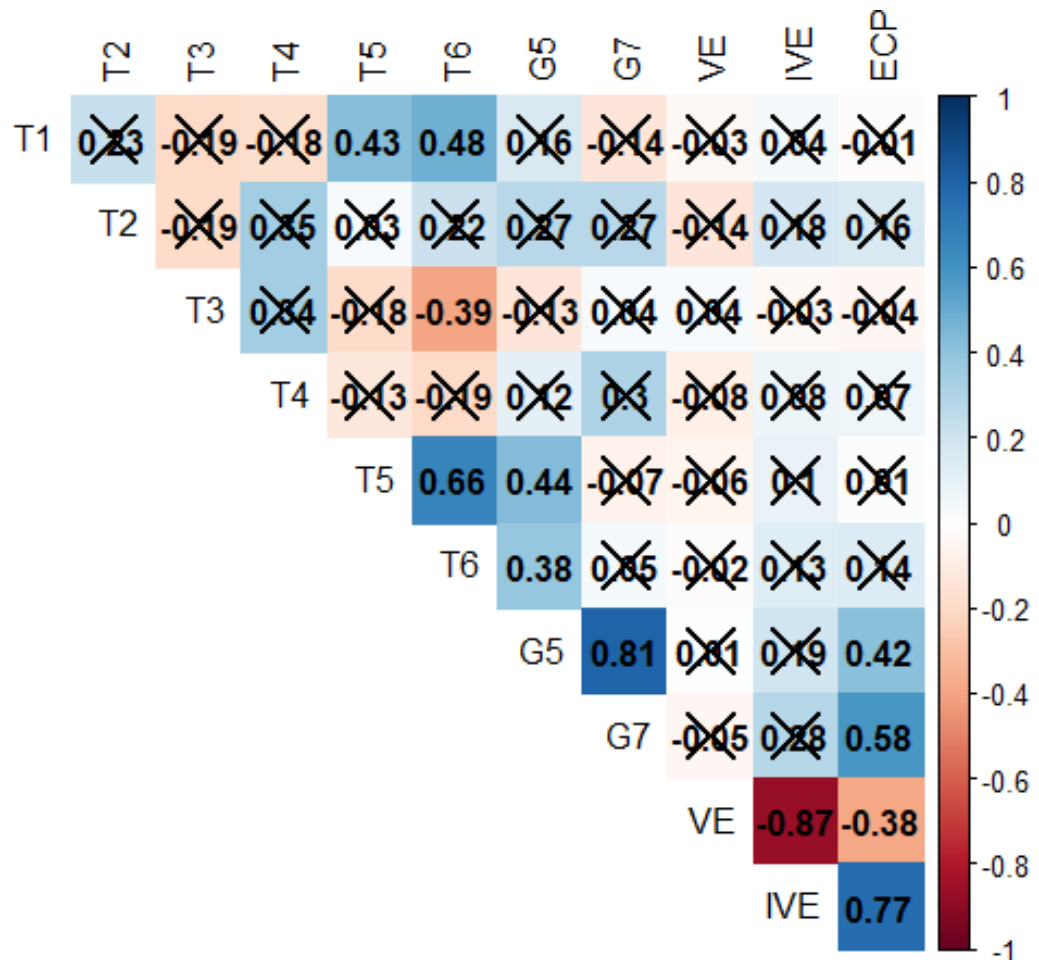


(A) Sementes de trigo mourisco com tegumento. (B) Corte longitudinal das sementes com visualização do embrião. (C) Retirada do tegumento das sementes, indicando danos que podem ocorrer durante esse processo. (D – E) Ilustração das estruturas de uma semente de trigo mourisco. Fonte: Glossário Ilustrado de Morfologia (2009).

Um fator que pode ter contribuído para a baixa discriminação dos lotes pelo teste do pH do exsudato foi a presença do tegumento das sementes no momento da realização do teste. Isto porque, ele pode interferir nos resultados da solução de avaliação, mascarando o real potencial fisiológico da semente. Santos et al. (2019) em trabalho com sementes de arroz observaram que em todos os lotes avaliados com o tegumento da semente, o teste do pH do exsudato não foi eficiente para detectar diferenças nos níveis de vigor. Ainda afirmaram que o tegumento pode interferir no processo de embebição da semente, e pelo fato do teste estar diretamente relacionado ao número de exsudatos presentes na solução de embebição, pode-se gerar resultados inconsistentes e não confiáveis a respeito da qualidade fisiológica dos lotes.

A Figura 5.3.2 indica a correlação de Pearson entre diferentes combinações do teste do pH do exsudato com as contagens de germinação ao 5º e 7º dia, velocidade de emergência, índice de velocidade de emergência e emergência a campo.

Figura 5.3.2 – Correlação de Pearson entre o teste do pH do exsudato e contagem de germinação ao 5º dia (G5) e 7º dia (G7), velocidade de emergência (VE) e índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (ECP) em trigo mourisco.



*X indica correlação não significativa.

Teste do pH do exsudato representado pelas combinações: T1, T2, T3, T4, T5 e T6.

Pode-se observar poucas correlações significativas e positivas entre as combinações do teste do pH do exsudato. A combinação T6 (60 minutos a 30° C) correlacionou positivamente com T1 (20 minutos a 25° C) e T5 (40 minutos a 30° C), com um coeficiente de correlação moderado de 0,48 e 0,66, respectivamente. A combinação T5 (40 minutos a 30° C) correlacionou positivamente com T1 (20 minutos a 25° C), com um coeficiente de 0,43. Esta correlação positiva indica linearidade entre as combinações, ou seja, a ocorrência de um aumento ou diminuição é proporcional nas duas combinações. Já para a combinação T6 (60 minutos a 30° C) com T3 (60 minutos a 25° C) a correlação foi significativa e negativa, indicando que o aumento de uma combinação implica na diminuição da outra.

Na contagem de germinação ao 5º dia (G5) obteve-se correlações significativas e positivas apenas com as combinações T5 (40 minutos a 30° C) e T6 (60 minutos a 30° C), com um coeficiente moderado de 0,44 e 0,38 respectivamente. Essas combinações de tempo e temperatura podem discriminar as diferenças de vigor entre os lotes de trigo mourisco. Já para a variável germinação com contagem ao 7º dia (G7), nenhuma das combinações do teste do pH do exsudato apresentou correlação significativa. Ela se correlacionou apenas com G5, com um coeficiente alto de correlação de 0,81. A emergência a campo (ECP) correlacionou positivamente com as contagens de germinação no 5º (G5) e 7º dia (G7) e também com o índice de velocidade de emergência (IVE). De acordo com Medeiros et al. (2020), o coeficiente de correlação de Pearson varia de -1 a 1, e quanto mais próximo desses valores, mais forte é a correlação. Assim, valores próximos a zero irão indicar correlação fraca.

Em experimento com limão-cravo, Carvalho et al. (2018) observaram que não houve correlação significativa entre o teste do pH do exsudato com os testes de germinação e emergência. O insucesso do teste foi atribuído ao fato da presença do duplo tegumento do limão-cravo, tornando-se um impedimento para que as sementes exsudem rapidamente, e exigindo mais tempo para que se possa observar seu real desempenho.

Já para sementes de soja pode-se observar uma correlação significativa (0,786) entre o teste do pH do exsudato com 30 minutos de embebição a 20° C e a emergência de plântulas (THEODORO et al., 2018). Pode-se inferir também que parte do sucesso do teste esteja atrelada ao tipo de tegumento presente na soja, o qual não causa impedimentos na liberação dos exsudatos na solução de avaliação.

Sena et al. (2015) afirmaram que para a avaliação da eficácia dos testes de vigor, a utilização de correlações pode levar a informações incompletas, uma vez que a significância de uma correlação indica apenas similaridade nas variações de duas variáveis, mas não sua precisão na estimativa da qualidade fisiológica. Por isso, deve ser usada apenas como complementação para a compreensão das variações entre diferentes testes aplicados.

Diante disso, pode-se verificar que o teste do pH do exsudato com o tegumento das sementes não é recomendado para avaliar a viabilidade de lotes de sementes de trigo mourisco, visto que ele não se mostrou sensível na discriminação dos lotes quando comparado a outros testes rotineiramente utilizados, como a contagem de germinação ao 5º e 7º dia e emergência a campo. Ressalta-se também a importância de mais estudos que visem adaptar e adequar a metodologia do teste a espécie estudada.

5.4 CONCLUSÃO

O teste do pH do exsudato com a presença do tegumento das sementes não foi eficiente na discriminação de lotes de sementes de trigo mourisco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, C.Z. et al. pH of exudate test in the physiological quality of crambe seeds. **Ciência Rural**, v.46, n.6, p.1014-1018, 2016.
- AMARAL, A. S.; PESKE, S. T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de sementes**, n.3, p. 85-92, 1984.
- ARALDI, C.G.; COELHO, C.M.M. pH do Exsudato na avaliação da viabilidade de sementes de *Araucaria angustifolia*. **Floresta e Ambiente**, v.22, n.3, p.426-433, 2015.
- BEWLEY, J.D. et al. Seeds: Physiology of development, germination and dormancy (3rd edition). **Seed Science Research**, 2013. 392p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: MAPA, 2009. 395p.
- CABRERA, A.C.; PESKE, S.T. Teste do pH do exsudato para sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.134-140, 2002.
- CAI, Y. Z. et al. Buckwheat. **Reference Module in Food Sciences**, p.120, 2016.
- CARVALHO, D.U. et al. pH exudate test as a method to estimate viability and vigor of *Citrus limonia* Osbeck seeds. **Journal of Seed Science**, v.40, n.2, p.156-163, 2018.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FURLAN, A.C. et al. Avaliação nutricional do trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*, Moench) para coelhos em crescimento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, n.1, p. 21-26, 2006.
- GAO, J. et al. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) starch, a side product in functional food production, as a potential source of retrograded starch. **Food Chemistry**, p. 552-558, 2015.
- GIMÉNEZ-BASTIDA, J. A.; ZIELINSKI, H. Buckwheat as a functional food and its effects on health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.63, p.7896-7913, 2015.
- GLOSSÁRIO ILUSTRADO DE MORFOLOGIA. **Ministério da Pecuária, Agricultura e Abastecimento**, 2009.

KOOSTRA, P.; HARRINGTON, J. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seed. **Proceedings International Seed Testing Association**, v. 34, p.329-340, 1973.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES: Londrina, 2015. 650p.

MEDEIROS, J.A.D. et al. Vigor test of (strong) normal intact *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith seedlings. **Journal of Seed Science**, v.42, 2020.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: Foundation for Statistical Computing, 2011. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.

SANTOS, J.F. et al. Avaliação do potencial fisiológico em lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.743-751, 2011.

SANTOS, M.A. et al. Test of exudate pH in rice seeds. **Revista Caatinga**, v.32, n.4, p.960-965, 2019.

SENA, D.V.A.; ALVES, E.U.; MEDEIROS, D.S. Vigor de sementes de milho cv. “Sertanejo” por testes baseados no desempenho de plântulas. **Ciência Rural**, v.45, n.11, p.1910-1916, 2015.

THEODORO, J.V.C. et al. Teste do pH do exsudato e alagamento para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Caatinga**, v.31, n.3, p.667-663, 2018.

WENDT, L. et al. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.12, n.2, p.166-171, 2017.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A verificação da qualidade de lotes de sementes é o passo inicial quando almeja-se um estabelecimento satisfatório de plântulas no campo. Entre os parâmetros de análise destaca-se a qualidade sanitária, a qual auxilia no controle de patógenos causadores de doenças que podem ser transmitidos via sementes.

Neste estudo pode-se verificar a presença de *Fusarium incarnatum-equiseti* espécie complex em diferentes lotes de sementes de trigo mourisco. Nas avaliações sobre as relações de patogenicidade verificou-se também que esta espécie causa danos em pré emergência, ocasionando o tombamento de plântulas.

Além da verificação da qualidade sanitária, a qualidade fisiológica por meio de testes de vigor é outro ponto importante. Através dos testes de vigor são obtidas respostas em um curto período de tempo, sendo complementares aos testes de germinação. Para trigo mourisco a condutividade elétrica massal mostrou-se eficiente na discriminação de diferentes lotes, enquanto o teste do pH do exsudato com o tegumento da semente, não foi eficiente, requerendo mais estudos em relação as variáveis metodológicas.

Em função da crescente utilização de trigo mourisco nos sistemas de rotação de cultivos, estudos mais aprofundados que demonstrem as particularidades da espécie são importantes na obtenção de sementes com alto potencial fisiológico e também auxiliem no manejo de doenças que podem ser transmitidas via sementes. Por isso, esse trabalho visou abordar tais questões, afim de elucidar pontos ainda não esclarecidos a respeito da espécie em questão, funcionando como ferramenta para o produtor na tomada de decisão durante o manejo do cultivo agrícola.

Apêndice A – Resumo da análise da variância do teste de condutividade elétrica massal no delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, na temperatura de 25° C.

| FV | GL | QM | FC | PR>FC |
|-------------------------|----|-------------|----------|----------------------|
| Lote (L) | 6 | 129886,5713 | 807,298 | 0,0000** |
| Número de sementes (NS) | 1 | 14624,397 | 90,897 | 0,0000** |
| Volume de água (VA) | 2 | 298531,5281 | 1855,496 | 0,0000** |
| L x NS | 6 | 714,2299 | 4,439 | 0,0002** |
| L x VA | 12 | 22125,056 | 137,516 | 0,0000** |
| NS x VA | 2 | 2558,7197 | 15,903 | 0,0000** |
| L x NS x VA | 11 | 961,7755 | 5,978 | 0,0000** |
| Período (P) | 5 | 50306,8637 | 312,678 | 0,0000** |
| P x L | 30 | 776,1355 | 4,824 | 0,0000** |
| P x NS | 5 | 694,1707 | 4,315 | 0,0007** |
| P x VA | 10 | 2743,3378 | 17,051 | 0,0000** |
| P x L x NS | 30 | 79,3756 | 0,493 | 0,9901 ^{ns} |
| P x L x VA | 60 | 153,5178 | 0,954 | 0,5759 ^{ns} |
| P x NS x VA | 10 | 22,5132 | 0,14 | 0,9992 ^{ns} |
| P x L x NS x VA | 55 | 48,618 | 0,302 | 1,0000 ^{ns} |

FV= fator de variação; GL= grau de liberdade; QM= quadrado médio; FC = fator calculado **Significativo a 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott.

Apêndice B – Resumo da análise da variância do teste de condutividade elétrica massal no delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, na temperatura de 30° C.

| FV | GL | QM | FC | PR>FC |
|-------------------------|----|-------------|----------|----------------------|
| Lote (L) | 6 | 151598,0918 | 568,712 | 0,0000** |
| Número de sementes (NS) | 1 | 18471,5158 | 69,295 | 0,0000** |
| Volume de água (VA) | 2 | 465052,6675 | 1744,620 | 0,0000** |
| L x NS | 6 | 633,1560 | 2,375 | 0,0279** |
| L x VA | 12 | 14151,4903 | 53,089 | 0,0000** |
| NS x VA | 2 | 1544,1574 | 5,793 | 0,0032** |
| L x NS x VA | 12 | 780,1946 | 2,927 | 0,0006** |
| Período (P) | 5 | 48025,4087 | 180,165 | 0,0000** |
| P x L | 30 | 1185,3133 | 4,447 | 0,0000** |
| P x NS | 5 | 527,8597 | 1,980 | 0,0794 ^{ns} |
| P x VA | 10 | 3322,8733 | 12,466 | 0,0000** |
| P x L x NS | 30 | 54,9445 | 0,206 | 1,0000 ^{ns} |
| P x L x VA | 60 | 185,4310 | 0,696 | 0,9610 ^{ns} |
| P x NS x VA | 10 | 285,7401 | 1,072 | 0,3813 ^{ns} |
| P x L x NS x VA | 60 | 39,9502 | 0,150 | 1,0000 ^{ns} |

FV= fator de variação; GL= grau de liberdade; QM= quadrado médio; FC = fator calculado. **Significativo a 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott.

Apêndice C – Resumo da análise da variância do teste de pH do exsudato no delineamento inteiramente casualizado.

| FV | GL | QM | FC | PR>FC |
|------------------|----|------------|--------|----------------------|
| Temperatura (T°) | 1 | 61.928571 | 1.700 | 0.1946 ^{ns} |
| Tempo (Tp) | 2 | 846.452381 | 23.241 | 0.0000 ^{**} |
| Lote (L) | 6 | 279.984127 | 7.688 | 0.0000 ^{**} |
| T° x Tp | 2 | 213.500000 | 5.862 | 0.0037 ^{**} |
| T° x L | 6 | 142.539683 | 3.914 | 0.0013 ^{**} |
| Tp x L | 12 | 106.674603 | 2.929 | 0.0013 ^{**} |
| T° x Tp x L | 12 | 261.777778 | 7.188 | 0.0000 ^{**} |

FV= fator de variação; GL= grau de liberdade; QM= quadrado médio; FC = fator calculado. ^{**}Significativo a 5% de probabilidade. ^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott.