

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR

"PATOLOGIA DE SEMENTES"

POR: MARCIEL JOÃO STADNIK

FLORIANÓPOLIS-SANTA CATARINA

1989

138461

" A vocês, que mesmo distantes, mantiveram-se sempre ao meu lado, dedico este relatório, com a mais profunda admiração e respeito."

## AGRADECIMENTOS

O acadêmico Marciel João Stadnik expressa seus sinceros agradecimentos:

Ao Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN/EMBRAPA), pelo espaço concedido.

Às supervisoras do estágio, Marta Gomes Rodrigues Faiad (Bióloga) e Maria Magaly Velloso da Silva Wetzell(Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>), pela orientação fornecida.

Aos pesquisadores do CENARGEN, em especial, às Biólogas Laurinete C. Moreira Formiga e Arailde Fontes Urban, pelo muito que ensinaram.

A todos os funcionários do CENARGEN, que contribuíram direta ou indiretamente, para a realização deste estágio.

Ao Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC/EMBRAPA), em especial ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Luiz Carlos Bhering Nasser, pelos conhecimentos repassados.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPQ/EMBRAPA), em especial ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> José Eustáquio Menezes, pela atenção fornecida durante a estada neste centro.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pelo apoio recebido.

Ao professor Talmir Duarte da Silva, pela valiosa orientação e amizade.

Ao professor João Lídio Sprada, pelo seu esforço na Coordenação de Estágios.

Aos familiares e demais pessoas queridas, que compartilharam os ideais e os alimentaram, incentivando a prosseguir na jornada, fossem quais fossem os obstáculos.

Lista de Figuras .....iv

Apresentação ..... 1

1.Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia ..... 3

    1.1.Intrôdução, Intercâmbio e Quarentena ..... 5

    1.2.Conservação de Germoplasma ..... 8

        1.21.Conservação de Germoplasma Semente ... 8

    1.3.Laboratório de Patologia de Sementes .....11

        1.31.Projeto de Longevidade de Fusarium mó-  
             niliforme em Sementes de Milho Doce...13

        1.32.Localização de Patógenos em Sementes..17

    1.4.Outras Atividades .....18

2.Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados .....19

3.Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças .....22

4.Universidade de Brasília .....24

5.Conclusão .....25

6.Bibliografia Citada .....26

Anexos .....28

LISTA DE FIGURAS

	Página
1.Casas de Vegetação para Quarentena e para Pesquisa.....	6
2.Experimento para testar o efeito de diferentes fungicidas na germinação de sementes de Cagaita(Casa de Vegetação)....	21
3.Experimento para testar o efeito de diferentes fungicidas na germinação de sementes de Cagaita(Laboratório).....	21

## APRESENTAÇÃO

Patologia de Sementes é um segmento da Ciência Agrônômica, que reúne basicamente conhecimentos de Fitopatologia e de Tecnologia de Sementes. O reconhecimento e a compreensão da importância da semente como um dos veículos mais eficientes na disseminação de patógenos das culturas, é fator relevante na formulação de estratégias para o controle das doenças. Para muitos patógenos que têm na semente o principal veículo de disseminação, sem dúvida, o controle sanitário das sementes é o meio mais econômico e mais eficiente que se pode pensar no momento.

Durante a minha vida acadêmica estive envolvido com Patologia de Sementes através de cursos e pesquisas na referida área. Visando dar continuidade aos estudos nesta área, realizei no período de 2 a 27 de Outubro de 1989, no Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN/EMBRAPA), o estágio curricular.

Com sua sede em Brasília, o CENARGEN tem a finalidade de coordenar e desenvolver a coleta, caracterização, enriquecimento, preservação e documentação do germoplasma animal e vegetal, necessários ao desenvolvimento da pesquisa agropecuária.

A importância da Patologia de Sementes para este Centro, pode ser facilmente observada quando se leva em consideração o perigo de introdução de espécies ou raças de patógenos em áreas isentas. Além disto, o CENARGEN é uma das raras instituições no mundo que vem desenvolvendo pesquisas em Patologia de Sementes em material armazenado a médio e longo prazo.

Levando em consideração os objetivos do estagiário e as atividades que o Centro desenvolveria na época do estágio, elaboramos um plano de atividades (Anexo I).

No CENARGEN, participei de atividades em Patologia de Sementes na Área de Conservação de Germoplasma Ex-situ e Área de Introdução, Intercâmbio e Quarentena. No Laboratório de Patologia de Sementes, participei da segunda monitoração do projeto de longevidade de Fusarium moniliforme em sementes de milho doce, localização de patógenos em sementes e atividades de rotina.

Durante o estágio, também permaneci por curtos períodos em outras instituições: Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados - CPAC/EMBRAPA (3 dias), Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças - CNPH/EMBRAPA (1 dia) e Universidade de Brasília-UnB (1/2 dia).

No CPAC participei da implantação de um experimento para testar o efeito de diferentes fungicidas sobre a germinação de sementes de Çagaita.

Durante a estada no CNPH, tive a oportunidade de conhecer uma fazenda para produção de sementes de olerícolas.

As atividade realizadas, bem como, algumas considerações sobre os trabalhos desenvolvidos pelas instituições citadas anteriormente, serão descritas nas páginas a seguir.

# 1. CENTRO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA (CENARGEN/EMBRAPA)

O Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN/EMBRAPA) foi criado em 1974, com a finalidade de coordenar e desenvolver a coleta, caracterização, enriquecimento, preservação e documentação de germoplasma. Este Centro é responsável pelo Programa Nacional de Pesquisa em Recursos Genéticos, que inclui a coordenação de uma rede de Bancos de Germoplasma distribuídos em todo país.

Resumidamente, as principais atividades desenvolvidas pelo CENARGEN são:

-Introdução, Intercâmbio e Quarentena de Germoplasma (vide item 1.1)

-Coleta: As coletas de germoplasma podem ser executadas em todo o território nacional e também no exterior, através de expedições de exploração botânica e resgate de germoplasma. As coletas têm por objetivos: resgatar variedades melhoradas que estão sendo substituídas por outras mais avançadas; resgatar a variabilidade genética para grande número de espécies em áreas onde se está impondo mudanças severas; introduzir novas alternativas ao sistema de pesquisa agropecuária.

-Conservação de Germoplasma: (vide item 1.2)

-Caracterização e Avaliação: Os principais objetivos da caracterização e avaliação são: proporcionar melhor conhecimento do germoplasma disponível, essencial para seu uso mais intenso em etapas subsequentes; permitir a identificação dos acessos duplicados; permitir o estabelecimento de coleções nucleares, que por definição, abrangem com o mínimo de redundância, a diversidade genética reunida numa espécie cultivada e nas espécies silvestres a ela relacionada (FRANKEL & BROWN, 1984); permitir a identificação dos modos de reprodução predominantes nos acessos, bem como da ocorrência ou não de variabilidade intrínseca em acessos individuais.

-Documentação e Informática: No desenvolvimento de atividades de recursos genéticos, as ações relacionadas com documentação e informática tem um papel estratégico, não somente para orientar a tomada de decisões, mas também para permitir o acompanhamento dos trabalhos e esforços que estão sendo realizados. Aos usuários do germoplasma existem catálogos e manuais editados periodicamente.

-Cultura de Tecidos: É feita para introduzir materiais cujo estado fitossanitário não permita a introdução convencional. A cultura de tecidos é utilizada também para conservação "in vitro" de certas espécies.

-Engenharia Genética: Com o auxílio da Engenharia Genética são desenvolvidas atividades que se apoiam em três áreas de pes

quisa: Cultura de células de tecidos, identificação e caracterização de genes manipuláveis pela engenharia genética e tecnologia do DNA recombinante visando transferência de genes entre organismos distantes do ponto de vista evolutivo.

-Controle Biológico: O CENARGEN possui a Área de Controle Biológico que tem como principal atividade o desenvolvimento de estudos básicos sobre o controle de insetos-praga e plantas daninhas através de agentes biológicos. Os principais projetos desenvolvidos dizem respeito ao controle da cigarrinha das pastagens e do Percevejo da soja, ambos parasitados pelo fungo Metharizium anisopliae. Também se pesquisa outros microrganismos entomopatogênicos, controle biológico de plantas daninhas e mais recentemente, iniciou-se o estudo de feromônios como técnica auxiliar ao controle microbiológico.

-Recursos Genéticos Florestais: Os recursos genéticos autóctones são conservados em reservas genéticas "in situ", onde encontram-se espécies de reconhecido valor florestal para a produção de sementes. Também há a conservação de material exótico e autóctone no sistema "ex-situ", nos BAGs e nas câmaras frias em Brasília.

-Recursos Genéticos Animais: Ciente da importância que representa a preservação dos grupos animais tidos como pertencentes às raças e/ou tipos naturalizados, o CENARGEN vem desde 1981 atuando no desenvolvimento de projetos relacionados com a caracterização e avaliação dos mencionados grupamentos, visando sua preservação.

-Biblioteca: Há um acervo especializado em áreas como Genética, Fitopatologia, etc na biblioteca do CENARGEN.

## 1.1 Introdução, Intercâmbio e Quarentena.

Os centros de origem das plantas cultivadas constituem centros de diversidade genética, e por conseguinte, centros de origem de patógenos e pragas que atacam as respectivas espécies. No processo evolutivo da espécie na presença de parasitas, estabeleceu-se um equilíbrio resultante da tolerância e resistência desenvolvida pela espécie através dos tempos. A introdução de germoplasma leva em consideração a presença de parasitas nestes centros de origem tanto como medida de precaução como também para buscar fontes de resistência (GIACOMETTI, 1988).

A introdução constitui na transferência ordenada e sistemática de germoplasma para um novo local a fim de atender as necessidades do melhoramento genético e pesquisa correlata (GIACOMETTI, 1988). No Brasil, a introdução de germoplasma e o seu intercâmbio entre as instituições de pesquisa, tanto no âmbito nacional como internacional, é feita sob responsabilidade do CENARGEN. Para isto existe a Área de Introdução, Intercâmbio e Quarentena, que tem por objetivo evitar a introdução de doenças e pragas inexistentes no país ou região.

Conforme KAHN (1966), a estratégia para a introdução de germoplasma obedece aos seguintes princípios: -Deve-se preferir a introdução por meio de sementes;

-Quando a introdução de material vegetal é inevitável, preferir borbulhas ou estacas, evitando-se mudas enraizadas;

-Material lenhoso não deve ter mais de dois anos e preferivelmente não deve proceder de uma mesma planta mãe;

-Somente o subclone testado e liberado pela quarentena pode ser multiplicado;

-Observações visuais não são satisfatórias para doenças causadas por vírus.

Atualmente, está ocorrendo uma verdadeira revolução no processo introdutório de germoplasma em forma vegetativa, devido o uso de transferência de propágulos "in vitro". O intercâmbio de germoplasma "in vitro", além de garantir a sanidade do material, reduz consideravelmente os custos, como no caso da bananeira e do coco, dos quais se transfere respectivamente, o meristema e o embrião.

A solicitação de um produto é feita através de seu curador (pesquisador do CENARGEN, responsável por um ou mais produtos), que ficará encarregado de fazer o pedido e controlar o materi-

al recebido.

A Área de Introdução, Intercâmbio e Quarentena, quando recebe o material, faz uma rigorosa inspeção deste germoplasma, através de seus quatro laboratórios: micologia, nematologia, virologia e bacteriologia.

Se forem detectados patógenos inexistentes no país, o material é descartado. Caso o patógeno já exista a campo, é feita uma limpeza no material (através de cultura de tecido e técnicas complementares, termo e quimioterapia), visando impedir a introdução de novas raças. Também, todo material passa por uma câmara fumigadora, objetivando eliminar insetos que possam eventualmente existir.

Existem vários testes que podem ser aplicados para a detecção de microrganismos associados às sementes. Estes testes variam quanto à sensibilidade e objetivo, sendo que alguns métodos exigem incubação das sementes, enquanto outros permitem a identificação de patógenos através de descolorações e anormalidades no tegumento das mesmas, sem prévia incubação.

Além dos testes de sanidade em laboratório, existem Quarentenários, para que o material fique sob observação durante um período, para busca de eventuais sintomas (Fig.1).

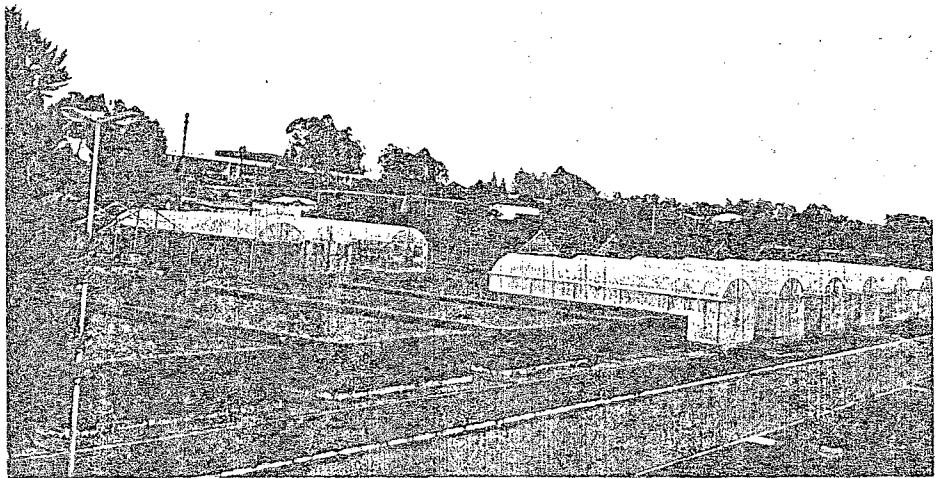


Fig.1-Casas de Vegetação para Quarentena e para Pesquisa.

KAHN(1970) considera que a introdução de germoplasma se realiza de acordo com as seguintes categorias: -Proibição Absoluta : Quando a presença de patógenos ou pragas envolve alto risco.

-Quarentena: Consiste na adoção de técnicas efetivas de detecção e tratamento, o que requer laboratórios e pessoal com treinamento adequado.

-Quarentena de Pós-Entrada: Quando o material é proveniente de um país de risco. Além da inspeção na chegada, exige que o material passe por uma fase de inspeção e tratamento em quarentenário.

-Entrada Restrita: Trata-se de materiais admissíveis, porém sujeitos a alguma restrição prevista nos regulamentos, sujeitos a revisões periódicas.

Quando o produto é liberado, ele pode ser enviado ao destinatário, ou então, à Área de Conservação de Germoplasma, para se juntar à coleção de base.

Cada laboratório aplica técnicas para verificar a presença ou não de patógenos, conforme sua especialidade.

O Laboratório de Micologia utiliza rotineiramente três métodos distintos para a detecção de fungos associados às sementes : Exame direto, Blotter Test e Plaqueamento em Meio Ágar, descritos por NEERGAARD(1979). Neste laboratório, fizemos alguns estudos taxonômicos, principalmente no que se refere a espécies do gênero *Fusarium*. Quanto a determinação de espécies de *Fusarium*, seguimos a chave de BOOTH(1971).

O Laboratório de Virologia utiliza algumas técnicas para detecção de vírus. As espécies vegetais que são citadas na literatura como hospedeiras de vírus são obrigatoriamente testadas neste sentido, podendo aquelas que não foram descritas a respeito serem à título de pesquisa, testadas. As técnicas adotadas pelo laboratório de virologia são: Exame direto visual(em casos específicos que resultem em anormalidades da semente causadas por vírus); Testes "grow - ing-on" (examinam-se os sintomas nas plântulas, embora alguns autores enfatizam o fato de que os sintomas aparecem em poucas plântulas e também plântulas portadoras de vírus podem não manifestar sintomas ); Testes de infectabilidade (Os vírus transmitidos por sementes podem ser indexados por estes, pois via de regra têm a capacidade de infectar o parênquima e podem ser transmitidos através deste); Testes serológicos (Geralmente são diretos, específicos, rápidos e efetivos.) e Testes com microscópio eletrônico(Não é um teste de grande sensibilidade e o fato de não indicar a presença de partículas do vírus não garante a ausência do vírus).

## 1.2 Conservação de Germoplasma

Existem diversas formas para manter o patrimônio genético vegetal, tais como: armazenamento de sementes, conservação "in vivo", criopreservação e conservação "in vivo".

A conservação "in vivo" pode ser subdividida em dois subítens: a conservação "in situ", que tem por objetivo preservar a diversidade genética como ela ocorre na natureza e a conservação "ex situ", através de coleções de plantas vivas no campo.

A conservação de coleções de germoplasma depende da biologia reprodutiva de cada espécie. Quando normalmente uma espécie se propaga por sementes, então, o armazenamento a longo prazo é o método usualmente preferido para conservação, por ser este, o método mais conveniente, seguro e atualmente mais econômico, considerando-se os investimentos a longo prazo (GOEDERT, 1988).

### 1.2.1 Conservação de Germoplasma Semente

Para fins de armazenamento, as sementes foram classificadas por ROBERTS (1973) em dois grandes grupos: -Sementes Ortodoxas: São aquelas que podem ser dessecadas a baixos teor de umidade (4 a 6%) e armazenadas por longos períodos em temperatura sub-zero. Fazem parte deste grupo, a maioria das grandes culturas, incluindo as forrageiras gramíneas e leguminosas.

-Sementes Recalcitrantes: São aquelas que morrem rapidamente, quando dessecadas a baixo de determinados níveis críticos de teor de umidade. Neste grupo se enquadram café, cacau, citros, etc.

O CENARGEN dispõe de câmaras com temperatura e umidade controlada para armazenar a variabilidade genética a médio e a longo prazo. As câmaras de conservação possuem capacidade para armazenar aproximadamente 500.000 acessos.

Estas câmaras foram construídas obedecendo as exigências do material armazenado. Assim, as sementes ortodoxas são armazenadas em câmara com temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , para coleções de Base conservadas a longo prazo.

Além do germoplasma conservado em Coleções de Base, o Banco de Germoplasma considera em suas atividades a preservação do material proveniente de coletas. Especial atenção deve ser dispensada a este tipo de germoplasma, que em virtude de suas características, representada principalmente pela pouca semente e pela diversidade de espécies, limitam sua inclusão no sistema permanente

de conservação de germoplasma. Os testes normais para controle de qualidade deste material, não podem ser realizados e o armazenamento, então, é feito em câmara especial com temperatura de 5°C e 30% de Umidade Relativa, até que seja feita a multiplicação pelos Bancos Ativos de Germoplasma, estando assim em condições para entrar no sistema permanente de conservação (Anexo 2).

O funcionamento de um Banco de Germoplasma, está aliado em quatro atividades relacionadas entre si: Documentação, Controle de Qualidade, Conservação propriamente dita e Pesquisas de Base (Anexo 3).

O Controle de qualidade das sementes é uma atividade constante dentro do sistema de conservação de germoplasma. Ao receber um lote de sementes para ser incorporado no sistema de armazenamento, paralelamente ao registro de informações necessárias, é realizada a fumigação, a limpeza, a pureza e o teste inicial do teor de umidade do material. Não havendo possibilidade de trabalhar o lote imediatamente, este fica numa Câmara de Espera (10°C, 30%UR) para um armazenamento a curto prazo.

A análise de pureza e limpeza são partes de uma mesma operação, pois o resultado da análise de pureza pode indicar a necessidade de uma limpeza mais acurada, para reduzir e separar a fração de sementes chochas. Num Banco de Germoplasma não deve haver sementes chochas, pois a presença desta fração irá mascarar os resultados dos testes de germinação.

A determinação do teor de umidade do acesso é extremamente importante para a decisão das ações posteriores, ou seja, quando as sementes apresentarem teor de umidade elevado (>10%), antes de entrarem para a Câmara de Espera, deverão permanecer na Câmara de Secagem, para baixar a umidade a níveis tais, que quando armazenadas a 10°C não ocorram danos fisiológicos nas sementes.

Terminada a análise de pureza e secagem, é necessário determinar o número de sementes por acesso, para se ter conhecimento se há suficiente sementes para conservação e distribuição futura, além dos testes de umidade, germinação, sanidade e monitoramento durante o armazenamento. Na Coleção de Base são conservadas de 1001 a 4000 sementes, conforme a disponibilidade.

Faz-se também os testes de germinação, pois é imprescindível que as sementes armazenadas possam reproduzir plantas normais sem mutações. Os testes de germinação são realizados para cada acesso, no início e durante o armazenamento (cada 3 anos), para verificar se a percentagem de viabilidade está acima do nível de regeneração (85%).

Outro teste de controle de qualidade requerido num

Banco de Germoplasma, é o teste de sanidade. Entretanto, deixaremos os comentários deste teste para o item 1.3 deste relatório.

Quando o material se encontra em condições de ser incorporado à Coleção de Base, ele deve seguir para a sala de embalagem. Aonde as sementes são embaladas em latas recravadas. Na tampa de cada lata são impressos, em relevo, o código do produto, o código do acesso e a posição na bandeja de armazenamento. As amostras destinadas à distribuição e monitoramento são embaladas em envelopes multifoliados com alumínio e polietileno, fechados a calor e armazenados em câmaras com temperatura de  $-3^{\circ}\text{C}$  sem controle de Umidade Relativa (Anexo 4).

### 1.3 Laboratório de Patologia de Sementes

Dentro da Área de Conservação de Germoplasma Ex-situ, existe o Laboratório de Patologia de Sementes, o qual desempenha funções de extrema importância, como por exemplo, o controle da sanidade do material armazenado.

O controle da sanidade dos acessos é realizado através de testes e tem por objetivo qualificar e quantificar o estado sanitário do germoplasma semente.

Sementes secas podem mostrar sintomas em diferentes intensidades, devido a necroses ou descolorações produzidas por microrganismos, como também podem ser detectadas estruturas de resistência (esclerócios), corpos de frutificação e massa de esporos aderidas à semente. Por exemplo, em trigo um complexo de fungos entre eles patógenos e saprófitas, são os responsáveis pelo dano conhecido por "Ponta-preta". Entre os fungos envolvidos, destacam-se os gêneros: *Curvularia*, *Alternaria* e *Drechslera*.

No CENARGEN, comumente quando se examina a semente in cubada, utiliza-se o método do Papel de Filtro (Blotter Test) e o método em Meio Ágar, descritos por NEERGAARD (1979), e frequentemente utilizados em Patologia de Sementes.

Evidentemente, existem outros métodos. Entretanto, a seleção do tipo de teste a ser utilizado depende do conhecimento prévio da maneira como o patógeno está associado com a semente, para que possa ser detectado.

Durante o estágio, realizamos testes de sanidade com sementes de arroz (Anexo 5) e milho.

Existe certa controvérsia sobre a época apropriada para realização dos testes de sanidade, se antes do armazenamento ou quando se distribui as sementes após o armazenamento. No CENARGEN, os testes de sanidade são realizados antes do armazenamento, quando se está determinando a qualidade do lote recebido, pois além de se ter conhecimento dos patógenos que interferem na germinação das sementes durante o teste inicial de germinação, tem-se a possibilidade com este conhecimento, de se fazer a monitoração da longevidade desses patógenos durante o armazenamento a longo prazo (GOEDERT, 1988).

O CENARGEN é uma das poucas instituições no mundo que vem desenvolvendo pesquisas e testes de sanidade em material armazenado a médio e longo prazo.

FAIAD et al. (1989), em estudo sobre o comportamento dos fungos patogênicos (*Pyricularia oryzae*, *Drechslera oryzae*, *Phoma oryzae* e *Rhynchosporium oryzae*) em sementes de arroz armazenadas até

8 anos, nas seguintes condições: ambiente (20-30°C e UR não controlada), câmara de conservação de germoplasma a médio prazo (10°C e 25% UR) e em câmara de conservação a longo prazo (18°C e sem controle de umidade), concluíram que as condições ideais para a conservação de germoplasma semente de arroz a médio e a longo prazo são a mesmas requeridas para a sobrevivência fúngica.

FAIAD & WETZEL (1987) em trabalho com o objetivo de determinar a sobrevivência de fungos patogênicos e saprófitas nas sementes do germoplasma-feijão armazenado, concluíram que os organismos patogênicos Macrophomina phaseolina, Colletotrichum lindemuthianum e Rhizoctonia solani estão também sendo preservados na coleção de germoplasma. Os microrganismos saprófitas: Aspergillus spp., Penicillium spp. e Rhizopus sp. estão sobrevivendo em todas as condições. As pesquisadoras também evidenciaram que em geral a incidência fúngica inicial tende a decrescer durante o período, a partir do 1º ano, conservando porém, muitos fungos viáveis ao longo de largos períodos de tempo.

Objetivando avaliar a sobrevivência de Drechslera sorokiniana associada a sementes de trigo e cevada sob condições de armazenamento, FAIAD et al. (1989) concluíram que o fungo tem sobrevivido por um período de até 3 anos nas condições testadas e que as sementes se mantiveram viáveis, apesar da presença do patógeno.

Os trabalhos citados anteriormente, e tantos outros mais, demonstram que muitos fungos patogênicos estão sendo preservados no Banco de Germoplasma Semente. Fato este, que poderá constituir em sério problema quanto ao uso deste material para os trabalhos futuros de melhoramento e formação de novos campos de produção.

Vale ressaltar também, que não se faz tratamento das sementes antes do armazenamento, porque podem afetar o grau de deterioração e afetar os resultados nos testes subsequentes de monitoração. Na verdade, segundo comentamos no estágio, a falta de pesquisa em tratamentos para sementes armazenadas a longo prazo, bem como, a imprevisão dos efeitos de tratamentos sobre as sementes armazenadas a longo prazo determinam a não utilização deste artifício.

Além de atividades de rotina no Laboratório de Patologia de Sementes, trabalhamos na segunda monitoração do projeto sobre longevidade de Fusarium moniliforme em sementes de milho doce armazenado e em atividade sobre localização de patógenos nas sementes.

### 1.31 Projeto de Longevidade de Fusarium moniliforme em Sementes de Milho Doce.

Segundo NEERGAARD(1973) alguns patógenos têm uma vida mais curta que a semente, outros têm a longevidade igual e outros podem sobreviver por muitos anos dependendo das condições de umidade da semente, da temperatura de armazenamento e da localização do patógeno. Outros autores, como ARNDT(1953), SIDDQUI et al (1983) e WARREN(1977), comentam que os patógenos de sementes podem permanecer viáveis por vários anos em condições de armazenamento.

Sendo que, a semente se mantém viável por um longo período de tempo, torna-se necessário estudar o comportamento de fungos patogênicos transmitidos por sementes, em germoplasma armazenado. Neste sentido, o Laboratório de Patologia de Sementes/ACGEs/CENARGEN vem conduzindo a aproximadamente um ano um experimento que tem por objetivo verificar o comportamento do fungo Fusarium moniliforme e das sementes de milho doce em diferentes condições de armazenamento.

O fungo Fusarium moniliforme causa Podridão do Colmo e a Podridão da Espiga. É uma doença de fim de ciclo, manifestando-se no colmo algumas semanas após a polinização, secando a planta prematuramente. Tanto as raízes, como também a parte basal do colmo, podem apresentar lesões que evoluem para podridões, enfraquecendo os internódios basais, podendo resultar no tombamento da planta por ocasião de ventos fortes. Os tecidos afetados do caule apresentam alteração na coloração da medula, que variam de esbranquiçado a rosada. Nas espigas, o patógeno provoca a podridão das sementes e da espiga, surgindo entre as sementes, o crescimento de um micélio cottonoso, provocando alteração na coloração das sementes, as quais assumem uma coloração que varia de rosa a marrom-avermelhado(LUCCA FILHO, 1987; BALMER, 1988).

As sementes de milho doce armazenadas para este experimento pertencem a duas variedades: 249 e BR-400. Estas sementes estão mantidas em 6 diferentes condições de armazenamento:

- 1-Temperatura de -18°C mantidas em câmara;
- 2-Temperatura de -18°C mantidas em Freezer;
- 3-Temperatura de 5°C mantidas em câmara;
- 4-Temperatura de 5°C mantidas em geladeira;
- 5-Ambiente do Laboratório;
- 6-Ambiente Sala.

Trabalhamos na segunda monitoração deste material armazenado. Anteriormente, aos 6 meses, tinha-se procedido a primeira

monitoração.

Na monitoração realizamos os seguintes testes:

a-Teste de Germinação: O teste de germinação tem por finalidade, fazer o controle da viabilidade das sementes. Utilizamos 100 sementes, divididas em quatro rolos de papel toalha previamente umedecidos em água destilada. Os rolos foram acondicionados no germinador de câmara, a 25°C, durante 7 dias. Após este período, procedemos a contagem do número de plântulas normais e anormais (Anexo 5).

b-Determinação da Umidade: Para determinação da umidade das sementes, utilizamos o Método da Estufa à temperatura de 105°C  $\pm$  3°C, de acordo com as Regras de Análise de Sementes do MA (1976). Iniciamos o teste assim que as amostras foram retiradas das condições de armazenamento. Colocamos as sementes de cada amostra em dois recipientes de metal identificados numericamente. Em seguida, determinamos o peso inicial e colocamos os recipientes e as sementes na estufa por 24 horas. Após este período, retiramos os recipientes da estufa, tampamos imediatamente, colocamos os recipientes em dessecadores para esfriar e determinamos o peso final e o peso da tara. Posteriormente, calculamos a umidade percentualmente (Anexo 6).

c-Teste de Sanidade: A avaliação da sanidade, ou melhor, a determinação percentual das sementes com Fusarium moniliforme, foi feita através do Método de Papel de Filtro (Blotter Test). Onde distribuimos as sementes de milho doce, pré tratadas com solução de hipoclorito de sódio (1%), em caixas plásticas do tipo Gerbox, contendo como substrato, duas folhas do tipo mata-borrão esterilizadas, embebidas em água destilada o suficiente para manter a umidade durante a execução do teste. As condições de incubação foram: temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas de luz e escuro. Após sete dias fizemos a identificação fúngica (Anexo 7), examinando individualmente todas as sementes, através de um microscópio estereoscópio e um microscópio comum, quando necessário. Além de contarmos o número de sementes com colônias de Fusarium moniliforme, também identificamos os outros fungos associados às sementes.

d-Teste de Patogenicidade: As sementes por serem ricas em muitos nutrientes, favorecem o crescimento de vários microrganismos. Entretanto, muitos destes, não possuem qualquer relação parasitária com a plântula durante ou após a germinação, e nem mesmo com a planta adulta. Estes microrganismos são chamados de saprófitas ou oportunistas.

No trabalho que desenvolvemos sobre longevidade de Fusarium moniliforme, além de verificar a viabilidade do fungo na semente, tinha-se interesse em saber se o fungo estava mantendo a patogenicidade. Para a maioria dos patógenos, a comprovação da patogenicidade, pode ser feita através das "provas de patogenicidade" fundamentadas nos postulados de Koch, que consistem basicamente dos seguintes passos: uma vez isolado da semente, o microrganismo é inoculado em plantas sadias, da mesma espécie vegetal e mesma variedade. Se aparecem sintomas da doença, isola-se o microrganismo das plantas, fazendo-se a comparação com aquele que foi isolado inicialmente. Para que seja comprovada a patogenicidade, os isolados devem ser idênticos, sob todos os aspectos observados (forma e cor da colônia, morfologia dos esporos, etc.).

No teste de patogenicidade procedemos da seguinte maneira:

d.1-Obtenção de plântulas sadias: Fizemos a germinação prévia das sementes em rolos de papel, como se fossemos realizar o teste normal de germinação. Após o período de incubação, escolhemos as plântulas sadias para serem inoculadas com os isolados de Fusarium moniliforme.

d.2-Isolamento de F. moniliforme: O método de isolamento pode ter algumas variações, entretanto, procedemos da seguinte forma: primeiramente fizemos a desinfecção superficial das sementes, que consiste na imersão em álcool 50% por alguns segundos, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio (1%) por 3 minutos. Após isto, passamo-las para um recipiente com água esterilizada. Após a desinfecção superficial, colocamos uma semente em cada placa de Petri, contendo BDA. As placas etiquetadas com os respectivos ambientes de origem das sementes, foram então incubadas em câmara com 25°C de temperatura e fotoperíodo de 12/12 horas de luz e escuro. Tentamos obter 3 placas/tratamento com o fungo isolado diretamente da semente. Entretanto houve contaminação e sendo assim, fizemos repicagem a partir de placas não contaminadas no mesmo tratamento.

d.3-Determinação da concentração de inóculo: Antes de fazermos qualquer inoculação, foi necessário estimarmos a concentração do inóculo a ser aplicado. Isto pode ser conseguido com a utilização de lâminas especiais para esse fim, denominadas de hemacitômetros.

Preparamos uma suspensão de esporos a partir de uma placa de Petri, e agitamos para ter uniformidade e para que a alíquota fosse representativa. Feito isto, recobrimos a lâmina com a

lamínula e colocamos uma gota de suspensão num dos cantos da lamínula. Então, levamos ao microscópio e através da média de esporos da contagem de 10 quadrículas pré-estabelecidas, determinamos através da fórmula:  $\text{Esporos/ml} = 4 \times 10 \times n (\text{n}^\circ \text{médio de esporos em 10 quadrículas})$ .

Caso a concentração de inóculo não fosse a desejada (10 esporos/ml), diluíamos mais e fazíamos nova determinação da concentração. Assim procedemos com os demais isolados.

d.4-Inoculação das plântulas: Inoculamos 10 plântulas por tratamento, através da submersão das raízes das plântulas em suspensões de esporos por 3 minutos.

d.5-Incubação: As plântulas foram colocadas em caixas de acrílico, especiais para testes de patogenicidade e incubadas durante 7 dias.

d.6-Avaliação das plântulas: Após sete dias da inoculação das plântulas com F. moniliforme, fizemos a avaliação. Anotamos o número de plântulas que apresentavam necroses nas raízes, as sementes que apresentavam crescimento micelial característico do fungo e para as folhas seguimos a seguinte escala, quanto a área foliar das plântulas que apresentavam sintomas necróticos:

Np - Necrose pequena (1-30%)

Nm - Necrose média (31-60%)

Ng - Necrose grande (61-100%)

### 1.32 Localização de Patógenos em Sementes

O conhecimento do tipo de associação entre a semente e a estrutura do patógeno que acompanha, determina a escolha do método de detecção e a eficiência de diferentes tratamentos que podem ser adotados.

Diz-se que a semente está infectada quando a estrutura do patógeno está localizada no interior de seus tecidos. A infecção pode ocorrer em todas as partes da semente, tais como, ôvulo, embrião, endosperma e tegumento ou pericarpo.

O Laboratório de Patologia de Sementes do CENARGEN tem desenvolvido pesquisas sobre localização de patógenos em sementes. A verificação da possibilidade de infecção no interior das sementes é feita pela técnica de extração de embrião descritas por SHETTY et al. (1977), com modificações.

As sementes são embebidas em hidróxido de sódio (NaOH) a 5% por 24 horas, a 25°C; o objetivo desta solução é separar o endosperma, do embrião. Então, os embriões e os endospermas são coletados e lavados em água ( $\pm$  60°C), duas vezes. Após a lavagem, são colocados em lactofenol contendo 1% de anilina azul e posteriormente, em banho maria por 20 minutos. O objetivo do lactofenol é clarear os tecidos do embrião para que se possa ver a estrutura do fungo. Depois é feita a montagem, onde o material, embrião e pericarpo, são montados lâmina por lâminula, examinados e fotografados ao microscópio ótico.

Uma outra modificação desta técnica, consiste na adição de anilina azul à solução de NaOH. Na verdade, um dos principais segredos desta técnica está em achar a melhor concentração de NaOH, pois uma solução com concentração de NaOH muito fraca não soltará o embrião, enquanto que, uma concentração muito forte desta base, poderá ocasionar a destruição parcial ou total do embrião ou das estruturas do fungo.

Durante o estágio, tivemos a oportunidade de trabalhar com estas técnicas para localizar patógenos em sementes de arroz e trigo.

#### 1.4 Outras Atividades

Durante o estágio, tivemos a oportunidade de participar (ouvinte) de:

a) Reunião do Grupo Multidisciplinar de Avaliação do Programa Nacional de Pesquisas em Recursos Genéticos (PNPRG). Aonde foram analisados projetos de pesquisas em Recursos Genéticos Animais, Recursos Genéticos Vegetais, Microrganismos e Biotecnologia .

b) Palestra: "Efeito dos Agrotóxicos sobre trabalhadores Rurais".

Palestrante: Jairo Restrepo Rivera (Secretaria de Saúde de Vitória-ES).

Assunto: O palestrante expôs com clareza e linguagem acessível, a problemática do controle de doenças e pragas através de venenos, Embasou-se na Teoria da Trofobiose (CHABOUSSOU, 1987) para mostrar como os agrotóxicos e fertilizantes químicos solúveis predispõem os desequilíbrios, favorecendo as doenças e pragas. Numa segunda parte da palestra, o palestrante mostra os possíveis danos causados à saúde de agricultores de uma comunidade no interior do Espírito Santo.

## 2. CENTRO DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DOS CERRADOS (CPAC/EMBRAPA)

A região dos Cerrados ocupa cerca de 200 milhões de hectares do território brasileiro. A EMBRAPA, consciente da necessidade de incentivar estudos que promovessem a ocupação dos Cerrados, mediante técnicas criadas e adaptadas à região, criou o Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC).

O CPAC está localizado em Planaltina-DF, a 35 Km de Brasília. Ocupando uma área experimental com cerca de 3.500 hectares, o centro possui atualmente, 20.000 m<sup>2</sup> de área construída e uma ótima infra-estrutura (casas de vegetação e laboratório), que dá suporte à pesquisa.

Os trabalhos de pesquisa do CPAC estão voltados para o conhecimento potencial agropecuário da região, possibilitando a criação de técnicas viáveis e adaptadas às condições dos cerrados.

A nível interno, o CPAC está funcionalmente organizado em cinco áreas técnicas: Área de Recursos Naturais e Sócio-Econômicos; Área de Solos e Água; Área de Produção Vegetal; Área de Produção Animal e Área de Transferência de Tecnologia.

A nossa estada no CPAC se concentrou na Área de Produção Vegetal, com maior ênfase à Fitopatologia.

A Área de Produção Vegetal tem estudado um orbe de espécies nativas dos Cerrados, tais como: Araticum (Annona crassiflora Mart.), Baru (Dypterix alata Vog.), Cagaita (Eugenia dysenterica DC.), Jatobá (Hymenaea stigonocarpa Mart.), etc

A Cagaita (Eugenia dysenterica DC), trata-se de uma mirtácea frutífera dos cerrados, com grande potencial para produção de sorvete, geléias, doces e licores. Esta espécie floresce de agosto a setembro e frutifica de outubro a novembro. Segundo ALMEIDA et al. (1987), a produção de frutos pode chegar a até 2.000 frutos por árvore. Para obtenção das sementes, os frutos maduros coletados, são colocados numa peneira sobre um vasilhame de boca larga. Em seguida, espremem-se os frutos. Na peneira ficam retidas as cascas e as sementes. Essas sementes, após a secagem, podem ser usadas para a produção de mudas. Do vasilhame, recolhe-se o suco (polpa), que pode ser utilizado.

As sementes de Cagaita têm apresentado problemas de germinação. RIZZINI (1970), em trabalho sobre o efeito tegumentar na germinação de Eugenia dysenterica DC, concluiu que a testa exerce ação desfavorável sobre a germinação, como consequência de relativa carência de oxigênio imposta pela testa saturada de água. A deficiência nas trocas gasosas, associa-se a presença de um inibidor como

causa secundária, visto que a livre aeração anula qualquer efeito que ele pudesse ter sobre a germinação. Os técnicos do CPAC também observaram uma grande incidência de Aspergillus niger associado às sementes de Cagaita, que podem estar atuando de forma depreciativa na germinação.

Com base no anteriormente exposto, implantamos um experimento que tinha como principal objetivo verificar o efeito de diferentes fungicidas na germinação de sementes de Cagaita.

Os tratamentos foram:

To - Testemunha;

T1 - Benlate 500 (PM)=Benzimidazol, aplicado via úmida(10%);

T2 - Benlate 500 (PM)=Benzimidazol, aplicado via seca;

T3 - Tecto 100 (PM)=Benzimidazol, aplicado via úmida (10%);

T4 - Tecto 450 (Suspensão Concentrada).

T5 - Vitavax-Thiran (PM)= Carboxin-thiran, aplicado via úmida;

T6 - Tecto 100 (PM)= Benzimidazol, aplicado via úmida (10%);

T7 - Vitavax-Thiran (PM)= Carboxin-thiran, aplicado via seca.

T8 - Hipoclorito de Sódio= Solução de hipoclorito de sódio(5%)

A concentração de produto utilizada foi:

-Via seca=2 Kg/100Kg de sementes.

-Via úmida= imersão das sementes em solução(10%) do produto, por 10 minutos.

As sementes tratadas foram levadas posteriormente a dois ambientes distintos:

1.Casa de vegetação=As sementes foram plantadas em caixas plásticas, com substrato areia. Sendo o delineamento experimental completamente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes por tratamento (Figura 2).

2.Laboratório=As sementes foram colocadas em placas de Petri de vidro, contendo Batata Dextrose Ágar(BDA). O delineamento experimental foi completamente casualizado, com 4 repetições de 12 sementes por placa(repetição), por tratamento (Figura 3).

Devido ao curto período de estágio e a lenta germinação das sementes desta espécie, não foi possível obter os resul-

tados deste experimento.

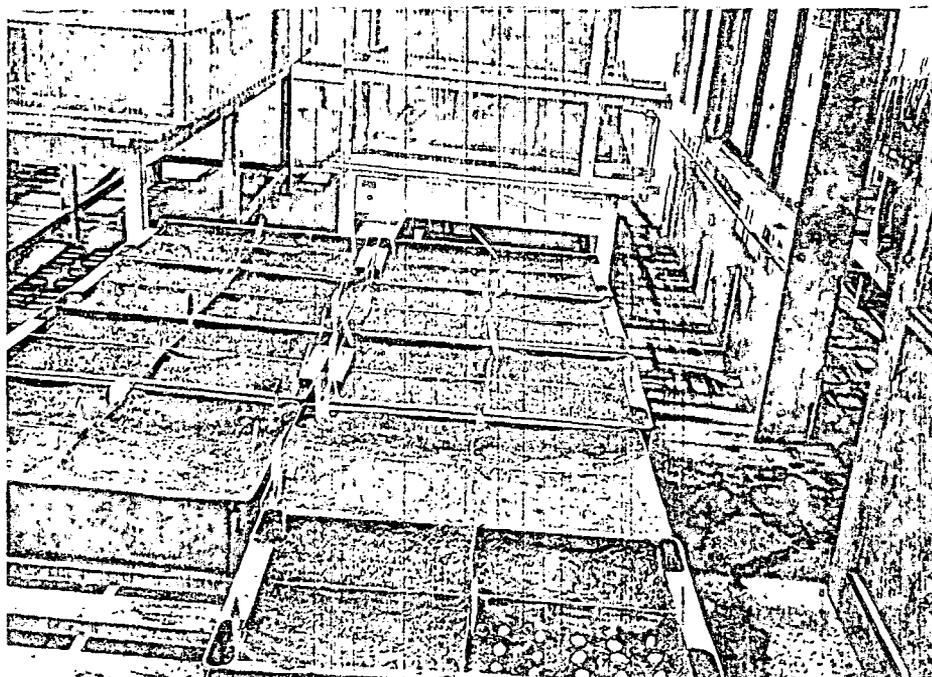


Figura 2 - Experimento para testar o efeito de diferentes fungicidas na germinação de sementes de Cagaita(Casa de Vegetação)

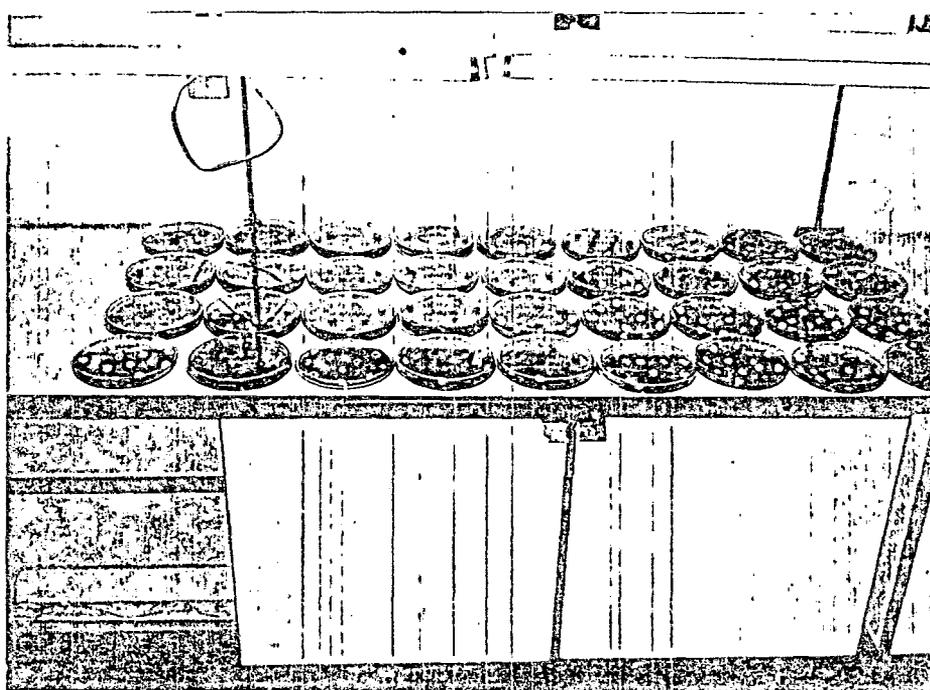


Figura 3 - Experimento para testar o efeito de diferentes fungicidas na germinação de sementes de Cagaita(Laboratório).

### 3. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE HORTALIÇAS (CNPH/EMBRAPA)

O Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPH) é a unidade central de pesquisa em hortaliças da EMBRAPA e é responsável pela coordenação nacional da pesquisa olerícola.

Este centro está localizado no Distrito Federal (Rodovia Brasília/Anápolis) e possui uma área experimental de aproximadamente 115 ha. Além disto, possui ótima infra-estrutura necessária à pesquisa olerícola, tais como: casas de vegetação, laboratórios, etc.

O CNPH dispõe de uma equipe multidisciplinar, composta de especialistas, que desenvolvem pesquisas visando tornar a produção brasileira mais abundante, evitando importações desnecessárias e possibilitando a existência de excedentes exportáveis (EMBRAPA, 1981).

A carência de cultivares nacionais tem sido um dos maiores entraves ao desenvolvimento da olericultura brasileira, além de ocasionar uma grande evasão de divisas com a importação de sementes. Segundo REIFSCHNEIDER et al. (1984), a insuficiente estrutura nacional de sementes de olerícolas, aliada à falta de avaliação tanto de sementes importadas, como das sementes produzidas aqui, são apontadas como os principais pontos de nossa vulnerabilidade tecnológica e fitossanitária.

Além de conhecer a infra-estrutura do Centro, tivemos a oportunidade de conhecer alguns trabalhos e pesquisadores na área que tínhamos interesse.

Também visitamos uma fazenda para produção de sementes de olerícolas da Vigoragro. Na fazenda da Vigoragro nos inteiramos de alguns aspectos de produção de algumas olerícolas, tais como a-bóbora, cenoura e pimentão. Do ponto de vista sanitário, observamos as ótimas condições existentes para produção de sementes, aonde é possível obter sementes com baixa incidência de patógenos.

A produção de sementes de elevado padrão sanitário depende de uma série de fatores, destacando-se o da escolha da área de produção, onde as condições edafoclimáticas devem ser desfavoráveis ao desenvolvimento e multiplicação dos patógenos. As regiões áridas são as mais indicadas para a produção de sementes sadias. Outros fatores são a época de plantio, espaçamento e densidade de plantio, controle químico das doenças (CARRIJO & VIGGIANO, 1986).

Segundo o técnico responsável pela fazenda da Vigoragro, os limites de tolerância de doenças no campo são obedecidos com bastante rigor, pois a empresa tem interesse em obter um produto

de ótima qualidade, visando assim, conquistar novos mercados.

Os critérios para rejeição de um campo de produção de se mentes por incidência de doenças são: -Ocorrência de doenças em ní veis superiores aos limites de tolerância previstos nas normas e padrões para a produção de sementes, que é específico para cada hortaliça.

-Incidência elevada ou con - trole deficiente de doenças em geral, que possam prejudicar o de senvolvimento normal da cultura e a qualidade das sementes.

#### 4. UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

(UnB)

A Universidade de Brasília(UnB) oferece o curso de pós-graduação em Fitopatologia, a nível de mestrado. Credenciado pelo Conselho Federal de Educação em 1976.

Levando em consideração este fato, a UnB possui um corpo docente de alto nível, que atua em Fitopatologia e trabalha em diferentes área de pesquisas(Bacteriologia, micologia, micotoxologia e virologia vegetal).

Tivemos a oportunidade de conhecer a infra-estrutura disponível para o curso.

## 5. CONCLUSÃO

A Patologia de Sementes tem sido nos países desenvolvidos, um instrumento de apoio de maior significação para obtenção de acrês cimos na produtividade. Entretanto, nos países do "Terceiro Mundo", o nível tecnológico na referida área é, por inúmeras razões, muito preocupante.

Atualmente, os setores envolvidos na produção, comercialização e utilização de sementes no Brasil já entendem e aceitam, em diferentes níveis, a importância da sanidade das sementes.

A carência de técnicos capacitados em todos os níveis, tem se mostrado como fator limitante ao maior desenvolvimento da Patologia de Sementes no Brasil. Um dos fatores que contribui para a carên cia de técnicos treinados, é a exigência de muita dedicação por par te do interessado em se especializar.

A realização do estágio curricular em Patologia de Sementes, possibilitou-me um maior aprimoramento técnico na área. Nele complementei assuntos deficitários na minha formação, como por exemplo, localização de patógenos nas sementes.

Além da realização de trabalhos, relatados nas páginas anteriores, tive a oportunidade de trocar idéias com diversos pesquis adores. Fato este, extremamente importante para a consolidação do co nhecimento.

Outro ponto que deve ser lembrado, foi a oportunidade que tive, através deste estágio, para conhecer a infra-estrutura de pes quisa agropecuária existente no Distrito Federal.

Como consideração final, ciente da importância deste ramo da ciência agrônômica, acredito que este estágio foi muito importan te, no contexto global e específico, da minha formação profissional.

## 6. BIBLIOGRAFIA CITADA :

- ALMEIDA, S.P. de A.; SILVA, J.A. da & RIBEIRO, J.F. Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos Cerrados: Araticum, Baru, Cagaita e Jatobá. EMBRAPA/CPAC. Planaltina, 1987. 83p.
- ARNDT, C.H. Survival of Colletotrichum gossypii on cotton seeds in storage. Phytopathology, 43:220. 1953.
- BALMER, E. Doenças do Milho. In: Manual de Fitopatologia. São Paulo. Editora Agronômica Ceres. 1980, Vol. II; p. 371-391.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Divisão de Sementes e Mudanças. Regras para análise de sementes. s.l, 1976. 188p.
- BOOTH, C. The Genus Fusarium. Comm. Mycol. Inst. England. 1971.
- CARRILHO, I.V. & VIGGIANO, J. Inspeção de campo visando sanidade de sementes de hortaliças. In: 2º Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes. Campinas. Fundação Cargill. 1986. p. 73-77.
- CHABOUSSOU, F. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose. L&PM Editores. 1987. 256p.
- EMBRAPA. Guia da EMBRAPA e de instituições Brasileiras de pesquisa agropecuária. Brasília. 1980. v.1.
- FAIAD, M.G.R.; URBEN, A.F. & PIAULINO, L.E.V. Sobrevivência de Drechslera sorokiniana (Sacc) Subram. & Jain. associado a sementes de trigo (Triticum aestivum L.) e Cevada (Hordeum vulgare L.) sob condições de armazenamento. In: Congresso Brasileiro de Sementes, VI (Resumo). Brasília. 1989. p. 119.
- FAIAD, M.G.R. & WETZEL, M.M.V. da S. Sobrevivência de fungos em sementes de feijão armazenamento. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 20 (Resumo). Londrina. 1987. p. 153.
- FAIAD, M.G.R.; WETZEL, M.M.V. da S. & PIAULINO, L.E.V. Viabilidade de patógenos em sementes de arroz armazenadas. In: Congresso Brasileiro de Sementes, VI (Resumo). Brasília. 1989. p. 118.
- FRANKEL, O.H. & BROWN, A.H.D. Current plant genetic resources - a critical appraisal. In: Genetics. Vol. 5: 3-13. Oxford & IBH Publishing Co. New Delhi. 1984.
- GIACOMETTI, D.C. Introdução e Intercâmbio de germoplasma. In: Encontro sobre Recursos Genéticos (Anais). Jaboticabal. 1988. p. 43-55.
- GOEDERT, C.O. Conservação de germoplasma semente. In: Encontro sobre Recursos Genéticos (Anais). Jaboticabal. 1988. p. 78-95.
- KAHN, R.P. Plant quarantine aspects of plant introduction. Proc. Int. Symposium on Plant Introduction. Escuela Panamericana. Tegucigalpa. 1966. p. 55-66.
- KAHN, R.P. International plant quarantine. In: Genetics Resources in Plants. Int. Biol. Program. Londres: 403-411, 1971.

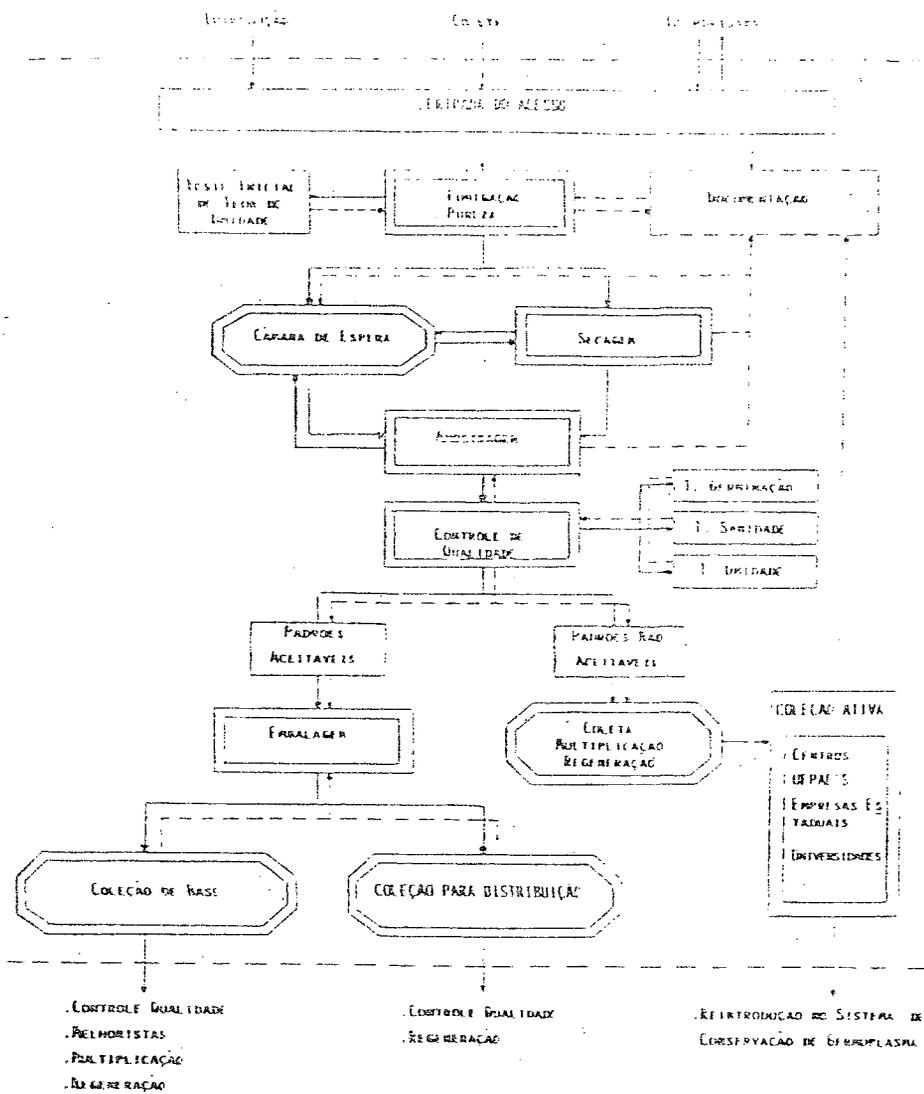
- LUCCA FILHO, O.A. Testes de sanidade de sementes de milho. In: Patologia de Sementes. Campinas. Fundação Cargill. 1987. p.430-440.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London. The MacMillan Press, 1979. V.1. 839p.
- REIFSCHNEIDER, R.J.B. & GUEDES, A.C. Diagnóstico da Patologia de Sementes de hortaliças no Brasil. In: Situação e perspectivas da Patologia de Sementes no Brasil. 1º Simpósio Brasileiro de Sementes (Anais). Piracicaba. 92p.
- RIZZINI, C.T. Efeito tegumentar na germinação de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). Revista Brasileira de Biologia, 30(3):381-402. 1970.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. Seed Sci. Technology. 1:449-513. 1973.
- SHETTY, S.H.; KHANZADA, A.K.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Procedures for detecting seed-borne inoculum of *Sclerospora graminicola* (Sacc) Schroet on pearl millet (*Pennisetum typhoides* (Burm.) Stapf & Hubbard). Seed Science and Technology. 11:353-361. 1983.
- WARREN, H.L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in corn kernels. Phytopathology, 67:160-162. 1977.

A N E X O S

## ANEXO 1 - Plano de Atividades para o Estagiário.

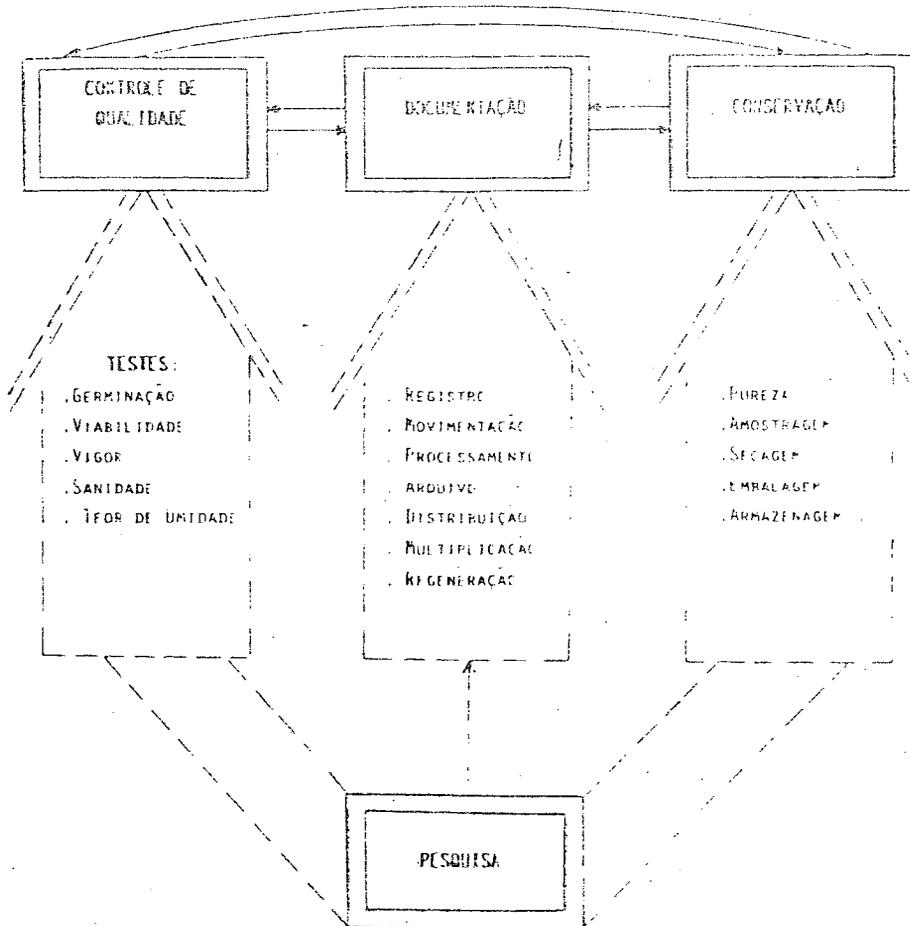
1. Acompanhamento de Pesquisas Desenvolvidas pelo Laboratório de Patologia de Sementes.
  - 1.1 Projeto de Longevidade de Fusarium moniliforme em sementes de Milho Doce.
    - Monitoração: a-Testes de Germinação;
    - b-Determinação de Umidade;
    - c-Testes de Sanidade;
    - d-Testes de Patogenicidade.
  - 1.2. Testes de Sanidade com Arroz (Oryza sativa L.).
2. Trabalhos de Rotina em Laboratório de Patologia de Sementes.
3. Determinação e Localização de Patógenos de Sementes.
4. Acompanhamento das Atividades Desenvolvidas na Área de Conservação de Germoplasma Ex-situ (ACGEs) e Área de Introdução, Intercâmbio e Quarentena de Germoplasma (AIIQG).
5. Participação do Grupo Multidisciplinar de Avaliação do Programa Nacional de Pesquisas em Recursos Genéticos (PNPRG).
6. Participação de Seminários Realizados na EMBRAPA e/ou Outras Instituições.
7. Visitas a outras Instituições.

ANEXO 2-Sistema para Multiplicação e Regeneração de Sementes Ortodoxas.



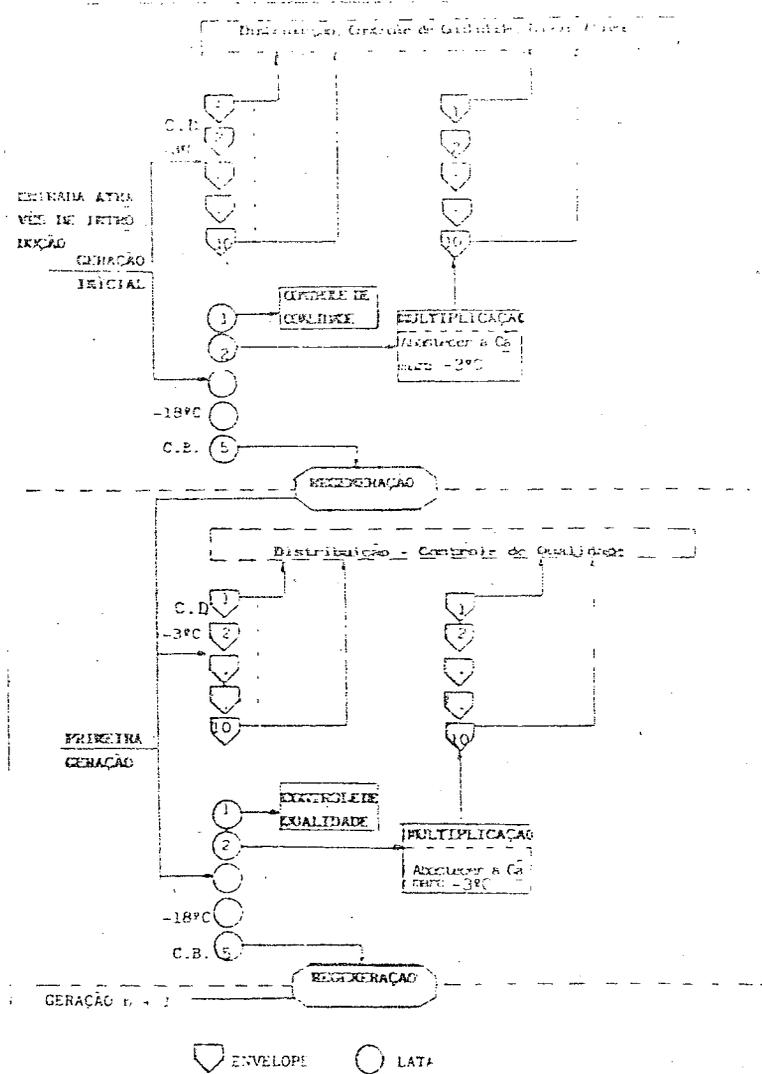
Fonte: GOEDERT, C.O. (1988)

ANEXO 3-Sistema de Conservação de Germoplasma Semente (Atividades Básicas).



Fonte: GOEDERT, C.O. (1988)

## ANEXO 4-Fluxograma para Conservação de Germoplasma Semente.



Fonte: GOEDERT, C.O. (1988)

ANEXO 5-Resultado dos Testes de Sanidade com Sementes de Arroz  
(Oryza sativa L.)

Nº da Amostra: 638

Fungos	% de sementes com fungos asso- ciados
<u>Alternaria alternata</u>	2.0
<u>Curvularia</u> sp.	14.0
<u>Drechslera</u> sp.	20.0
<u>Fusarium</u> sp.	20.0
<u>Gerlachia</u> sp.	32.0
<u>Phoma</u> sp.	38.0
<u>Pithomyces</u> sp.	18.0
<u>Pyricularia oryzae</u>	12.0
<u>Trichoderma</u> sp.	4.0
Fungo não Identificado	4.0

Nº da Amostra: 652

Fungos	% de sementes com fungos asso- ciados
<u>Alternaria alternata</u>	8.0
<u>Drechslera</u> sp.	16.0
<u>Epicoccum</u> sp.	4.0
<u>Fusarium</u> sp.	10.0
<u>Gerlachia</u> sp.	14.0
<u>Nigrospora</u> sp.	4.0
Fungo não Identificado	4.0

ANEXO 6-Resultado do Teste de Germinação da Segunda Monitoração do Projeto de Longevidade de Fusarium moniliforme em Sementes de Milho Doce.

Variedade 249	Condições de Armazenamento					
	-18°Ccâm	-18°Cfre	5°Ccam	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
Plântulas normais(%)	55.0	37.0	43.0	37.0	34.0	44.0
Plântulas anormais(%)	13.0	19.0	27.0	23.0	16.0	17.0

Variedade BR-400						
	-18°Ccâm	-18°Cfre	5°Ccam	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
Plântulas normais(%)	80.0	82.0	83.0	75.0	69.0	75.0
Plântulas anormais(%)	10.0	9.0	10.0	15.0	14.0	12.0

ANEXO 7-Resultado da Determinação da Umidade da Segunda Monitoração do Projeto de Longevidade de *Fusarium moniliforme* em Sementes de Milho Doce(%).

Variedade	<u>Condições de Armazenamento</u>					
	-18°Ccâm	-18°Cfree	5°Ccâm	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
249	7.94	8.22	7.78	7.77	8.05	3.06*
BR-400	9.07	8.87	9.1	9.5	8.89	14.5 *

Obs: \*Dados incorretos.

ANEXO 8-Resultado do Teste de Sanidade da Segunda Monitoração do Projeto de Longevidade de Fusarium moniliforme em Sementes de Milho Doce.

8.1 Porcentagem de Sementes dom F. moniliforme associado:

Variedade	Condições de Armazenamento					
	-18°Ccâm	-18°Cfree	5°Ccâm	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
249	75.0	65.0	63.0	70.0	48.0	63.0
BR-400	81.0	64.0	59.0	67.0	62.0	68.0

8.2 Outros Fungos Associados com as Sementes de Milho Doce.

249= Alternaria alternata, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Aspergillus ochraceus, Chaetomium sp. Colletotrichum sp. , Drechslera sp., Nigrospora sp., Phoma sp. , Trichoderma sp. e Rhizopus sp..

BR-400= Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Chaetomium sp. , Colletotrichum sp., Drechslera sp., Nigrospora sp., Phoma sp. Rhizopus sp.

Obs= \*Média de duas leituras.

ANEXO 9-Resultado do Teste de Patogenicidade da Segunda Monitoração do Projeto de Longevidade de Fusarium moniliforme em Sementes de Milho Doce.

9.1 Porcentagem de Plântulas com Sintomas Necróticos nas Raízes.

Variedade	Condições de Armazenamento					
	-18°Ccâm	-18°Cfree	5°Ccâm	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
249	100	100	100	100	70	100
BR-400	100	100	100	90	100	100

9.2 Porcentagem de Sementes com Crescimento Micelial Típico de F. moniliforme.

Variedade	-18°Ccâm	-18°Cfree	5°Ccâm	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
249	70	20	20	80	60	50
BR-400	60	20	20	40	70	50

9.3 Porcentagem de Plântulas com Sintomas Necróticos nas Folhas.

Variedade	-18°Ccâm	-18°Cfree	5°Ccâm	5°Cgel	AmbLab	AmbSala
249						
Necrose pequena	20	10	10	10	-	10
Necrose média	-	30	20	-	10	40
Necrose grande	-	10	10	-	-	10
BR-400						
Necrose pequena	40	10	10	20	50	10
Necrose média	-	30	20	-	10	40
Necrose grande	-	10	10	10	-	10