

INFESTAÇÃO POR MICROORGANISMOS DE SEMENTES DE SOJA
OBTIDAS DE PLANTAS TRATADAS COM FITOREGULADORES*PAULO R.C. CASTRO**
HIROSHI KIMATI ***

RESUMO

Para se verificar o efeito de fitoreguladores na incidência de microorganismos nas sementes de soja (*Glycine max* cv. Davis) efetuou-se a aplicação, em condições de campo, de ácido giberélico (GA) 100 ppm, cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC) 2.000 ppm, ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida - (SADH) 4.000 ppm, ácido indolilacético (IAA) 100 ppm, ácido 2,3,5-triidobenzóico (TIBA) 20 ppm (3 vezes) e Agrostemin (1 g/10 ml/3 l), além do controle. Observou-se que aplicação de fitoreguladores nas plantas de soja não afetou a incidência de microorganismos nas sementes. *Phomopsis sojae* foi o principal fungo isolado das sementes. Verificou-se ainda a ocorrência de *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. nas sementes de soja 'Davis'. *Cercospora kikuchii* também mostrou-se presente nas sementes de soja, além da ocorrência de bacteriose. Atraso na colheita e alta umidade aumentaram a incidência de *Phomopsis*.

* Entregue para publicação em 27/01/1981

** Departamento de Botânica, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP

*** Departamento de Fitopatologia, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP

INTRODUÇÃO

Aplicações de fitoreguladores têm sido realizadas em numerosas plantas cultivadas cujos tratamentos culturais já mostram técnicas avançadas. Os fitoreguladores podem causar alterações morfológicas e fisiológicas nas plantas (CASTRO & MALAVOLTA, 1977) capazes de promover maior tolerância ou suscetibilidade a infestação de pragas e doenças.

FLIEGEL *et alii* (1966) observaram que pulverizações com GA 10 a 15 ppm, em cerejeiras afetadas pelo vírus do amarelamento, reduziram a brotação excessiva de ramos e aumentaram a produção de frutos, ATUBRA & KREZDORN (1974) notaram que aplicação de GA pode aumentar a suscetibilidade de *Citrus medica* ao enxofre e de *Citrus aurantifolia* à tristeza. OSWALD & WYLLIE (1973) comprovaram que a aplicação de GA antes da inoculação de *Macrophomina phaseolina* em soja, reduziu a severidade da doença.

CASTRO & MALAVOLTA (1976) verificaram que o CCC aumentou o potencial hídrico e o conteúdo de cálcio em tomateiro, promovendo redução na ocorrência de podridão estilar. RAWLINS (1972) demonstrou que a colocação por 5 dias de discos de folhas de fumo em solução de CCC 5.000 ppm inibe em 91% a multiplicação do vírus do mosaico do fumo; sendo que TAHORI *et alii* (1965) observaram que pulverização com CCC 158 ppm também diminui o número de lesões produzidas pelo vírus em plantas de *Nicotiana glutinosa*. CROSSAN & FIELDHOUSE (1964) observaram que seis aplicações de CCC 500 ppm, em intervalos semanais, exerceram notável controle de mancha bacteriana causada por *Xanthomonas vesicatoria* em pimenteira. SINHA & WOOD (1964) notaram que aplicação de CCC 30 ppm em tomateiro promoveu certa proteção contra a murcha causada por *Verticillium albo-atrum*. TAHORI *et alii* (1965) verificaram que pulverização com CCC 474 ppm reduziu a ocorrência da podridão da haste em plantas de ervilha 'Brittle Wax' infestadas com *Sclerotium rolfsii*. Observaram ainda que o CCC 158 ppm pode promover efeito fungicida sobre o míldio da cevada causado por *Erysiphe graminis* f. *hordei*. TAHORI *et alii* (1965) notaram que CCC 158 ppm retarda o aparecimento de pústulas provenientes da ferrugem da haste causada pelo fungo *Puccinia graminis* em trigo. BOCKMANN (1965) não observou diferenças na infestação de *Cercospora herpotrichoides* em plantas de trigo tratadas com

CCC, sendo que DIERCKS (1965) verificou redução na incidência da doença e no acamamento em plantas tratadas com CCC, aparentemente devido ao espessamento da parede da haste do trigo. BUCHENAUER (1971) comprovou que aplicação de CCC, antes da inoculação, diminuía a severidade das murchas de *Verticillium* e *Fusarium* do tomateiro.

SINGH & MISRA (1974) verificaram que a ação do vírus do nanismo do crisântemo foi evitada com aplicação de 2,4-D 150 ppm. JOSHI & DUBEY (1975) notaram que o NAA e o IAA inibiram em 65% e 30%, respectivamente, a expressão dos sintomas causados pelo vírus do mosaico do pepino em pimentão. PELSER (1974) observou que pulverizações com 2,4-D 250 ppm controlaram de modo efetivo a podridão de *Alternaria* em pomelos armazenados. MOLOT & NOURRISSEAU (1974) notaram que NAA e IAA na concentração de 10^{-8} M inibiam a expressão dos sintomas do ataque de *Phytophthora cactorum* em morangos, sendo que na concentração de 10^{-5} M estimulavam o aparecimento desses sintomas. RUSSEL (1975) verificou que o IAA reduziu a severidade da murcha de *Verticillium* em cultivares suscetíveis de tomateiro.

KARAS *et alii* (1964) comprovaram que SADH reduziu o número de lesões de TRSV em plantas de fumo. CROSSAN & FIELDHOUSE (1964) observaram que SADH reduziu a incidência da murcha bacteriana da pimenteira causada por *Xanthomonas vesicatoria*.

Numerosos trabalhos mostram a ocorrência de microorganismos em sementes de soja, principalmente sob condições adversas de colheita.

WILCOX *et alii* (1974) observaram que o atraso na colheita de soja resultou um aumento significativo na infestação de *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* *Alternaria* sp., mas não em sementes infectadas com *Cercospora kikuchii*. BOLKAN *et alii* verificaram no Brasil Central que o principal fungo isolado de sementes de soja era *Phomopsis*. KMETZ *et alii* (1974) notaram a ocorrência de *D. phaseolorum* var. *sojae* e espécies de *Phomopsis* em 31 cultivares de soja, sendo que a porcentagem de plantas das quais os fungos eram isolados aumentou de 11% quatro semanas após o plantio para 66% sete semanas após o plantio. Com o aumento de infestação das sementes diminuiu a porcentagem de germinação.

HORN *et alii* (1975) consideraram que a ocorrência de *Cercospora sojina*, *Corynespora cassicola* e *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* em vagens de soja pode promover redução na produtividade. ELLIS & SINCLAIR (1976) verificaram que o controle de *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (*Phomopsis* spp) promove maior germinação em sementes de soja, sendo que não se observaram diferenças na germinação em sementes tratadas infectadas com *Alternaria* spp. e *Fusarium* spp.

ROSS (1975) observou que irrigação aumentou a ocorrência de sementes de soja infectadas com *Phomopsis*. Atraso na colheita também aumentou a incidência da doença. DHINGRA & SILVA (1978) verificaram que *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum dematium* f. *truncata* e *Phomopsis sojae* abrangiam 73 a 94% dos fungos isolados de sementes de soja em Viçosa. ATHOW & LAVIOLETTE (1973) notaram o efeito da infecção de *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*, *Alternaria* spp. e *Cercospora kikuchii* na germinação das sementes de soja.

TENNE *et alii* (1975) verificaram a ocorrência da bactéria *Bacillus subtilis* em sementes de soja oriundas de numerosos países.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se o ensaio em condições de campo, visando determinar o efeito de reguladores de crescimento na incidência de microorganismos nas sementes de soja 'Davis'. O experimento foi conduzido no Horto do Departamento de Botânica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba, Estado de São Paulo. A semeadura foi realizada em 24/11/78. O solo caracterizou-se como uma Terra Roxa Estruturada da série Luiz de Queiroz. Sua análise apresentou 1,7% de carbono orgânico, pH 6,8; H, Ca + Mg e K (catiônios trocáveis) nos teores de, respectivamente, 6,4; 9,3 e 0,74 e.mg/100 g; finalmente; 9,8 e.mg/100 g em soma de bases.

No decorrer do ciclo da planta realizaram-se os tratamentos culturais normais para a soja. Neste experimento, além do controle, aplicou-se ácido giberélico (GA) 100 ppm, cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC) 2.000 ppm, ácido indolilacético (IAA) 100 ppm, ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida (SADH)

4.000 ppm e Agrostemin (1g/10 ml/3 l) antes da florescência (08/01/79). O ácido 2,3,5-triiodobenzóico (TIBA) 20 ppm foi aplicado três vezes, com quatro dias de intervalo a partir do início da florescência (18, 22 e 26/01/79). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso. Cada parcela constou de 5 linhas de plantio com 5 metros de comprimento, tendo-se utilizado somente as 3 linhas centrais. As linhas foram distanciadas 0,60 m entre si; apesar de ter-se utilizado 30 sementes por metro linear na semeadura, dez dias após a germinação procedeu-se ao desbaste, deixando-se 20 plantas por metro linear, o que correspondeu a uma população de 333.333 plantas por hectare. No estudo da infestação de microorganismos nas sementes, utilizaram-se 4 blocos com 10 repetições por parcela, tendo a colheita sido realizada em 14/05/79. Nesta data as sementes foram acondicionadas em sacos de papel tendo sido conferidas as notas referentes a infestação de microorganismos que variaram de 1 (não infestada) a 5 (altamente infestada), sendo a nota 3 conferida ao nível de infestação média. Em seguida juntaram-se as sementes que receberam nota 1 classificando-se este lote de bom. O mesmo foi feito com as sementes que receberam notas 3 e 5, sendo classificadas, respectivamente, em lotes médio e ruim. Estes lotes forneceram as amostras de 100 sementes que foram submetidas a incubação para serem identificados os microorganismos infestantes e determinada a porcentagem de germinação das sementes. Deve-se considerar que a colheita foi retardada pela ocorrência de chuvas, o que favoreceu a deterioração da qualidade das sementes.

RESULTADOS

Verifica-se pela Tabela 1 que não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste utilizado. Deste modo a aplicação de fitoreguladores não afetou o nível de infestação de microorganismos nas sementes de soja 'Davis'.

Tabela 1 - Médias das notas conferidas devido à infestação de microorganismos em sementes de soja provenientes de plantas tratadas com fitoreguladores. Valores correspondentes aos testes F e Tukey (5%) e ao coeficiente de variação. Médias de 10 repetições.

Tratamento	Blocos				Média
Controle	2,80	4,00	3,00	4,40	3,55
GA	3,40	4,40	4,60	4,20	4,15
CCC	3,00	3,60	3,00	2,60	3,05
IAA	4,20	4,40	4,20	4,20	4,25
SADH	2,40	5,00	4,00	2,40	3,45
TIBA	2,40	4,40	4,40	3,60	3,70
Agrostemin	4,00	4,40	4,00	5,00	4,35
F (trat.) = 2,46 C.V.(%) = 16,18 D.M.S. (5%) = 1,43					

Tabela 2 - Microorganismos associados a três tipos de sementes de soja provenientes dos blocos submetidos a aplicação dos diferentes tratamentos e respectivas porcentagens de germinação.

Microorganismo	Nº de microorganismos observados em 100 sementes nos lotes classificados como		
	Ruim	Médio	Bom
<i>Fusarium</i> sp.	36	10	6
<i>Alternaria</i> sp.	22	21	23
Bactéria	20	4	3
<i>Cercospora kikuchii</i>	2	9	4
<i>Phomopsis sojae</i>	50	49	52
% de germinação (*)	3	32	33

(*) Consideradas germinadas as sementes com radícula maior do que o diâmetro da semente-avaliação efetuada após 5 dias de incubação, a temperatura de 20 a 28°C, sob condições e luz fluorescente.

Observou-se pela Tabela 2 a ocorrência de *Phomopsis sojæ*, *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., bactéria e *Cercospora kikuchii* como os principais microorganismos associados às sementes de soja provenientes de plantas submetidas aos diferentes tratamentos. A infestação de *Fusarium* sp. e bactéria parecem determinar mais efetivamente o mau aspecto das sementes para efeito de classificação visual.

DISCUSSÃO

Observou-se que a aplicação de fitoreguladores em plantas de soja não afetou a incidência de microorganismos nas sementes (Tabela 1). Notou-se porém, que sementes de plantas pulverizadas com GA, IAA e Agrostemin tenderam a mostrar infestação ligeiramente mais alta. Deve-se considerar que GA e IAA são aceleradores de crescimento e Agrostemin é um bioestimulante, ao contrário de CCC, SADH e TIBA considerados retardadores de crescimento das plantas, Aplicação de GA pode aumentar a suscetibilidade de citros à viroses (ATUBRA & KREZDORN, 1974) ou reduzir a severidade de infestação de *Macrophomina* em soja (OSWALD & WYLLIE, 1973). Auxinas, dependendo das concentrações aplicadas, podem inibir ou estimular a expressão dos sintomas do ataque de *Phytophthora* em morangos (MOLOT & NOURISSEAU, 1974). Pulverização com 2,4-D 250 ppm controlou a ocorrência de *Alternaria* em frutos de pomelo. CCC tem normalmente promovido diminuição na infestação de microorganismos e nas plantas tratadas. BUCHENAUER (1971) observou redução na severidade das murchas de *Verticillium* e *Fusarium* em tomates tratados com CCC. O SADH diminuiu a incidência da murcha bacteriana da pimenteira.

Notou-se que *Phomopsis sojæ*, *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., bactéria e *Cercospora kikuchii* constituíram-se nos principais microorganismos associados às sementes de soja colhidas com atraso. A ocorrência de *Phomopsis sojæ*, como o mais frequente fungo associado às sementes de soja, foi também verificada por WILCOX *et alii* (1974), KMETZ *et alii* (1974) e BOLKAN *et alii* (1976) em Brasília. Incidência de *Alternaria* sp. foi também estudada por ATHOW & LAVIOLETTE (1973), WILCOX *et alii* (1974) e ELLIS & SINCLAIR (1976). *Fusarium* sp. foi pes-

quisado por ELLIS & SINCLAIR (1976) e DHINGRA & SILVA (1978) em Viçosa. Ocorrência de bactéria (*Bacillus subtilis*) em sementes de soja foi verificada por TENNE *et alii* (1975). *Pseudomonas glycinea* é outra bactéria de ocorrência comum em sementes de soja (DAFT & LEBEN, 1972). *Cercospora kikuchii* foi estudada por ATHOW & LAVIOLETTE (1973) e WILCOX *et alii* (1974).

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos podemos auferir as seguintes conclusões:

1. Aplicação de fitoreguladores em soja não afeta a incidência de microorganismos nas sementes.
2. *Phomopsis sojae* é o principal fungo isolado das sementes de soja 'Davis'.
3. *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. são organismos de elevada ocorrência nas sementes de soja,
4. *Cercospora kikuchii* também é de comum incidência nas sementes de soja.
5. Bactéria mostra-se associada às sementes colhidas com atraso.

SUMMARY

INFECTION BY MICROORGANISMS ON SOYBEAN SEEDS OBTAINED FROM PLANTS TREATED WITH GROWTH REGULATORS

This research deals with the effects of exogenous growth regulators on infection by microorganisms on soybean (*Glycine max* cv. Davis) seeds. To study the influence of the chemicals, soybean plants were sprayed with gibberellic acid (GA) 100 ppm, (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride (CCC) 2,000 ppm, succinic acid-2,2-dimethylhydrazide (SADH) 4,000 ppm,

indolylacetic acid (IAA) 100 ppm, 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) 20 ppm (three applications), and Agrostemin (1g/10 ml/3 l). Application of growth regulators did not affect infection by microorganisms on soybean seeds. The prominent fungus isolated was *Phomopsis sojae*. *Alternaria* and *Fusarium* spp. were isolated from seeds. The presence of a bacterium on the seeds was observed. The delay in harvest and high humidity increased the number of seeds from which *Phomopsis* was recovered.

LITERATURA CITADA

- ATHOW, K.L.; LAVIOLETTE, F.A., 1973. Pod protection affects on soybean seed germination and infection with *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and other microorganisms. *Phytopathology* **63**: 1021-1023.
- ATUBRA, O.K.; KREZDORN, A.H., 1974. Responses of healthy and virus-infected citrus to growth regulator. *Proc. Fl. Sta. Hort. Soc.* **86**: 24-29.
- BOCKMANN, H., 1965. Lodging in wheat and its control. *Mitt. Deut. Landwirt.-Ges.* **80**: 1095-1098.
- BOLKAN, H.A.; SILVA, A.R.; CUPERTINO, F.P., 1976. Fungi associated with soybean and bean seeds and their control in Central Brazil. *Plant Dis. Repr.* **60**: 545-548.
- BUCHENAUER, H., 1971. Einfluss einiger wuchshemmstoffe (CCC, CMH, AMO 1618, Phosphon D, B-995) auf die *Fusarium* and *Verticillium* - welke der tomate. *Phytopathologische Zeitschrift* **72**: 53-66.
- CASTRO, P.R.C.; MALAVOLTA, E., 1976. Ocorrência da podridão estilar em tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob efeito de reguladores de crescimento. *Anais Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"* **33**: 173-189.
- CASTRO, P.R.C.; MALAVOLTA, E., 1977. Influence of growth regulators upon mineral nutrition, osmotic potential, and incidence of blossom-end rot of tomato fruit. *Turrialba* **27**: 273-276.

- CROSSAN, D.F.; FIELDHOUSE, D.J., 1964. A comparison of dwarfing and other compounds with and without fixed copper fungicide for control of bacterial spot of pepper. *Plant Dis. Repr.* 48: 549-550.
- DAFT, G.C.; LEBEN, C., 1972. Bacterial blight of soybeans, epidemiology of blight outbreaks. *Phytopathology* 62: 57-62.
- DHINGRA, O.D.; SILVA, J.F., 1978. Effect of weed control on the internally seedborn fungi in soybean seeds. *Plant Dis. Repr.* 62: 513-516.
- DIERCKS, R., 1965. The control of eye-spot disease of wheat (*Cercospora herpotrichoides*) with chlorocholine chloride. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 72: 257-271.
- ELLIS, M.A.; SINCLAIR, J.B., 1976. Effect of Benomyl field-sprays on internally-borne fungi, germination, and emergence of late-harvested soybean seeds. *Phytopathology* 66: 680-682.
- FLIEGEL, P.; PARKER, K.G.; EDGERTON, L.J., 1966. Gibberellic acid treatment of sour cherry infected by sour cherry yellows virus: response to sprays applied throughout the growing season and the influence of environmental conditions. *Plant Dis. Repr.* 50: 240-244.
- HORN, N.L.; LEE, F.N.; CARVER, R.B., 1975. Effects of fungicides and pathogens on yields of soybeans. *Plant Dis. Repr.* 59: 724-728.
- JOSHI, R.D.; DUREY, L.N., 1975. Studies on the inhibition of cucumber mosaic virus in chilli (*Capsicum annum*). III. Effect of growth regulators. *Science and Culture* 41: 351-353.
- KARAS, J.G.; HAMNER, C.L.; DEZEEUW, D.J.; SELL, H.M., 1964. Inhibition of localized virus lesions by N-dimethylamino-succinamic acid. *Nature* 203: 1197.

- KMETZ, K.; ELLETT, C.W.; SCHMITTHENNER, A.F., 1974. Isolation of seedborn *Diaporthe phaseolorum* and *Phomopsis* from immature soybean seeds. Plant Dis. Repr. 58: 978-982.
- MOLOT, P.M.; NOURRISSEAU, J.G., 1974. Influence de quelques substances de croissance sur la sensibilité du fraiser aux attaques de *Phytophthora cactorum*. Fruits 29: 697-702.
- OSWALD, T.H.; WYLLIE, T.D., 1973. Effects of growth regulator treatments on severity of charcoal rot disease of soybean. Plant Dis. Repr. 57: 782-792.
- PELSER, P.T., 1974. Influence of thiabendazole and benomyl on *Alternaria* rot in stored grapefruit. Citrus and Sub - Tropical Fruit Journal 486: 15-17.
- RAWLINS, T.E., 1962. The inhibitory effect of 2-chloroethyl - trimethylammonium chloride treatment on tobacco mosaic virus (TMV) multiplication. Plant Dis. Repr. 46: 170.
- ROSS, J.P., 1975. Effect of overhead irrigation and Benomyl sprays on late-season foliar diseases, seed infection, and yields of soybean. Plant Dis. Repr. 59: 809-813.
- RUSSEL, S., 1975. The role of cellulase produced by *Verticillium albo-atrum* in *Verticillium* wilt tomatoes. Phytopathologische Zeitschrift 82: 35-48.
- SINGH, B.P.; MISRA, A.K., 1974. Effects of chemical in flowering of *Chrysanthemum* stunt virus-infected plants. Proc. Indian Acad. Sci. 80: 267-274.
- SINHA, A.K.; WOOD, R.K.S., 1964. Control of *Verticillium* wilt of tomato plants with "Cycocel" (2-chloroethyl trimethylammonium chloride). Nature 202: 824.
- TAHORI, A.S.; ZEIDLER, G.; HALEVY, A.H., 1965. Effect of some plant growth retarding compounds on three fungal diseases and one viral disease. Plant Dis. Repr. 49: 775-777.

TENNE, F.D.; MENGISTU, A.; SINCLAIR, J.B., 1975. Occurrence and identification of *Bacillus subtilis* associated with soybean seeds from six geographical countries. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 2: 91.

WILCOX, J.R.; LAVIOLETTE, F.A.; ATHOW, K.L., 1974. Deterioration of soybean seed quality associated with delayed harvest. Plant Dis. Reprtr. 58: 130-133.