

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE ASSEPSIA E SEUS EFEITOS NA SANIDADE E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO

Rebecca Gonçalves Ogioni Grip; Lilianne Gomes da Silva.

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo/Campus de Alegre, BR 482, Rodovia Cachoeiro/Alegre, Km 47, Distrito de Rive - 29520-000 - Alegre-ES, Brasil.

rebeccaogioni@gmail.com, lilianegs@gmail.com

Resumo

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é um vegetal de grande relevância mundial, porém, seu longo ciclo de crescimento o torna suscetível a doenças causadas por fitopatógenos presentes no solo e nas sementes. Este estudo analisou diferentes métodos de assepsia de sementes em cinco variedades de tomate para avaliar seus efeitos na sanidade e germinação. Sementes foram submetidas a cinco tratamentos, com 25 sementes em quatro repetições, utilizando os métodos do papel filtro e gerbox. Os resultados mostraram que o tratamento específico para cada variedade é crucial, com a variedade 4 (Grape) apresentando a maior germinação no papel filtro, enquanto o tratamento D foi mais eficaz contra fungos para gerbox. Os fungos *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Alternaria* sp. foram identificados, destacando a necessidade de adaptações específicas por variedade para otimizar a germinação e minimizar a incidência de fungos.

Palavras-chave: Tomate, fitopatógenos, sementes, fungos, germinação.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma

Introdução

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) emergiu como um dos vegetais de maior relevância global. Devido ao seu ciclo de crescimento relativamente breve e aos rendimentos elevados, esta cultura anual apresenta perspectivas econômicas favoráveis, resultando em um aumento contínuo da área cultivada a cada dia.

Ao longo do cultivo, diversas doenças podem surgir e impactar negativamente o crescimento e desenvolvimento dos tomates, ocasionando a queda de produção e/ou perda de qualidade. Partindo deste princípio, uma das formas de contaminação relacionadas a fitopatógenos que mais comprometem o cultivo de olerícolas no Brasil está relacionada com microrganismos presentes no solo e em sementes, além do clima, local e irrigação. As sementes são contaminadas por microrganismos no campo e/ou por eles contaminadas nas operações de colheita, secagem e beneficiamento, o que afeta a qualidade e reduz a capacidade germinativa, bem como causa tombamento de plântulas recém emergidas (CARNEIRO, 1995).

A associação de patógenos com sementes pode ocorrer por contaminação superficial ou por colonização dos tecidos internos. Portanto, torna-se essencial realizar o tratamento adequado das sementes, uma medida valiosa para mitigar a propagação dessas doenças. Assim, objetivou-se com esse estudo, avaliar a efetividade de métodos de desinfestação na sanidade e germinação de sementes de diferentes genótipos de tomate.

Metodologia

Foram avaliadas sementes de 5 variedades do tomateiro, obtidos no comércio do município de Alegre- ES, sendo estes: 1- Holandês (Bellonetto), 2- Uva (Trebechi), 3- Italiano, 4- Grape (Trebechi) e 5- Tomate de mesa.

Os ensaios de assepsia e sanidade de sementes, montagem do experimento e identificação dos esporos fúngicos foram realizados no Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Instituto Federal do Espírito Santos - Campus Alegre. Os testes de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Instituto. Os tratamentos assépticos utilizados no presente estudo foram: Tratamento A: Controle sem tratamento asséptico; Tratamento B: Termoterapia a seco 60°C, por 5 minutos; Tratamento C: Álcool 70%, 1 minuto; Tratamento D: NaClO 2%, 3 minutos e o Tratamento E: UV-C, 1 minuto.

A fim de avaliar a porcentagem de sementes germinadas e a incidência de fungos nas sementes, estas foram distribuídas em quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento. O teste de germinação foi realizado em folhas de papel filtro umedecido com água destilada autoclavada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel não umedecido e cobertas com uma folha de papel. Posteriormente, foram colocadas em câmara de germinação tipo BOD, na temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h de luz branca fluorescente/12h de escuro e avaliado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992) por 5 dias.

As avaliações ocorreram a partir do quinto dia após a instalação do teste e a cada três dias, foi adicionado aproximadamente 5 mL de água esterilizada/placa durante o período de avaliação do experimento. Os fungos que desenvolveram sobre as sementes foram identificados a nível de gênero, com base nas suas características morfológicas visualizadas sob microscópio estereoscópico e óptico.

Posteriormente, foi avaliado os diferentes métodos de assepsia sobre a ação fúngica nas sementes do tomateiro, onde as mesmas foram submetidas a testes de sanidade, pelo método do papel-filtro, com quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento. O presente método consiste na semeadura em papel filtro esterilizados e autoclavados em caixas tipo gerbox, em ambiente controlado. Posteriormente, as caixas foram acondicionadas em estufa tipo BOD a temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h de luz branca fluorescente/12h de escuro, por três dias. Após esse período iniciou-se as avaliações realizadas diariamente até o décimo dia de incubação. As estruturas fúngicas foram observadas e identificadas em nível de gênero, com base nas suas características morfológicas visualizadas sob microscópio estereoscópico e ótico.

Para a observação das estruturas fúngicas, as sementes contaminadas foram armazenadas em microtubos, os quais foram inseridos 50 microlitros do azul de metileno e para posterior centrifugação (Hermle Z233 M-2) por 1 minuto a 15000 rpm. Com o auxílio de uma micropipeta coletou-se uma amostra de 20 microlitros e adicionou na placa para observação dos esporos.

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%) no programa R Studio.

Resultados

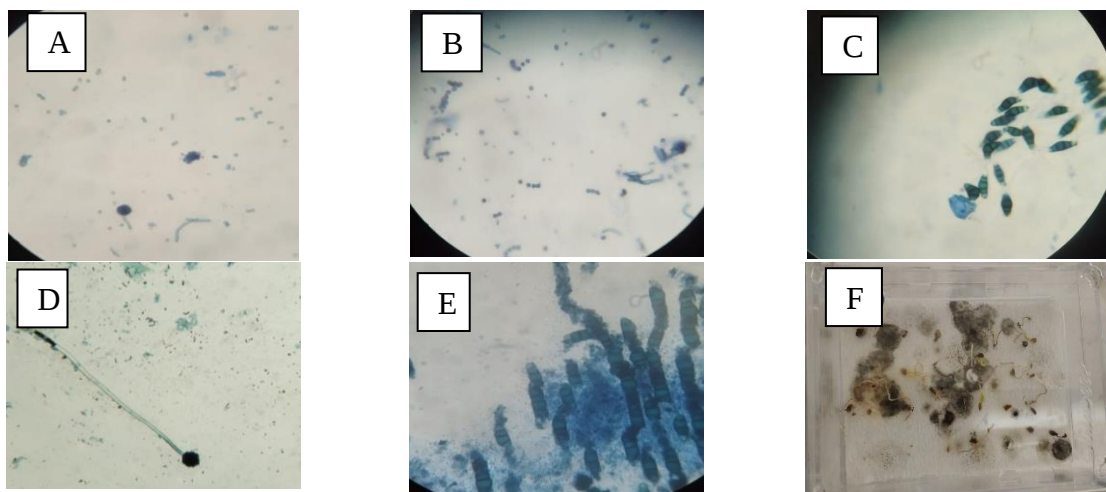
Através da coloração dos fungos presentes nas sementes de tomate e de acordo com a morfologia dos esporos tornou-se possível identifica-los nos testes de sanidade e germinação a nível de gênero conforme apresentado na Figura 1.

Em outros trabalhos semelhantes como de ROSA (2022), detectou incidência de *Fusarium sp.* nas sementes. MEDEIROS (2022) e (BALBI-PEÑA, 2005) detectaram *Penicillium sp* e *Alternaria sp*, em sementes de tomate, causadores de doenças prejudiciais à cultura.

Na germinação com o método de papel o tratamento C foi significativo para as variedades, exceto a variedade 4, que apresentou menor média germinativa (Tabela 1). Para além da germinação, a incidência fúngica se destaca no tratamento A e E para a variedade 5. Enquanto no método utilizando a caixa Gerbox, a maior média germinativa foi na variedade 2 nos tratamentos A e B.

Diante dos resultados, a variedade 4 (Grape) obteve resultados significativos e, visando os melhores resultados, o tratamento E (UV-C) atuou como um processo físico de desinfecção e a inativação microbiana, além de incapacitar a reprodução celular (PEDROSO, et al., 2018, p. 988), propiciando o aumento da germinação. Os menores resultados obtidos são para os tratamentos B, pois o tratamento das sementes por meio de calor seco reduz a infecção das sementes e a incidência de doença com pequena redução na germinação (SILVA et.al, 2002).

Figura 1- Fungos identificados no Teste de Sanidade (A- *Fusarium*, B- *Penicillium* e C- *Alternaria*) e Teste de Germinação e IVE (D-*Penicillium* e E-*Alternaria*) e crescimento fúngico em sementes de tomate (F).



Fonte: autor

A variedade 4 ao receber o tratamento com álcool 70% (C) diminuiu sua germinação, levantando a hipótese de danos ao embrião das sementes, impedindo maior germinação. Por fim, o uso de NaClO aumenta o vigor e a germinação das sementes (RODRIGUES, 2012), porém dentre os tratamentos aplicados este obteve um resultado abaixo dos demais, superando apenas o uso de álcool 70%. Em relação a Incidência Fúngica (IF) houve diferença significativa nas variedades 2 (Uva) e 5 (Mesa). Destacando-se na variedade 2 a maior média fúngica ao utilizar o tratamento E, e ao que se refere a este tratamento, deveria inativar a ação microbiana, e como esta ação não foi possível há a hipótese de que é resistente ao tratamento. Diferente deste resultado, a ação do tratamento D (NaClO 2%) apresentou a maior eficácia, pois compostos a base de cloro são utilizados na eliminação de contaminantes superficiais de material vegetal (COUTINHO et al., 2000). Para a variedade 5 também houve diferença significativa sendo o tratamento D que apresentou a menor IF devido a eficiência na redução dos microrganismos associados superficialmente (COUTINHO et al., 2000).

Tabela 1- Desdobramento das médias de interação Tratamento x Variedade, visando a germinação e incidência fúngica para o método Papel Filtro.

Tratamento	Variedade	GR	IF
A	1	99,00 a	2,00 a
B		99,40 a	0,70 b
C		99,80 a	0,30 b
D		99,40 a	0,15 b
E		93,20 a	1,20 b
A	2	99,40 a	1,25 b
B		99,20 a	1,20 b
C		100,00 a	0,65 b
D		100,00 a	0,00 b
E		96,60 a	3,90 a
A	3	98,00 a	0,85 a
B		99,00 a	1,15 a
C		100,00 a	0,65 a
D		98,40 a	0,30 a
E		93,20 a	1,00 a
A		99,00 a	1,95 a

E		93,40 a	1,35 a
B	4	90,00 b	1,10 a
D		86,80 b	0,65 a
C		83,40 b	0,50 a
A		99,80 a	9,00 a
E		99,80 a	2,45 b
C	5	100,00 a	2,00 b
B		100,00 a	1,85 c
D		93,40 a	1,00 b

Legenda: GR=Germinação; IF=Incidência Fúngica.

Fonte: o autor

Os resultados obtidos evidenciaram que houve diferença significativa na média germinativa (Tabela 2) em todas as cinco variedades com relação aos tratamentos B e C. Deste modo, não houve diferença significativa de germinação nas variedades quanto a aplicação dos tratamentos A, D e E.

Tabela 2- Desdobramento das médias de interação Variedade x Tratamento, visando a germinação e incidência fúngica para o método Papel Filtro.

Tratamento	Variedade	GR	IF
A	1	99,00 a	2,00 b
	2	99,40 a	1,25 b
	3	98,00 a	0,85 b
	4	99,00 a	1,95 b
	5	99,80 a	9,00 a
B	1	99,40 a	0,70 a
	2	99,20 a	1,20 a
	3	99,00 a	1,15 a
	4	95,60 a	1,10 a
	5	86,80 b	1,85 a
C	2	100,00 a	0,65 a
	3	100,00 a	0,65 a
	5	100,00 a	2,00 a
	1	99,80 a	0,30 a
	4	83,40 b	2,00 a
D	1	99,40 a	0,15 a
	2	100,00 a	0,00 a
	3	98,40 a	0,30 a
	4	90,00 a	0,65 a
	5	100,00 a	1,00 a
E	1	93,20 a	1,20 c
	2	96,60 a	3,90 a
	3	93,20 a	1,00 c
	4	93,40 a	1,35 c
	5	93,40 a	2,45 b

Legenda: GR=Germinação; IF=Incidência Fúngica.

Fonte: o autor

A variedade 5 (Mesa) apresentou, estatisticamente o menor crescimento. Do mesmo modo, houve diferença significativa para a variedade Grape (4) ao usar o tratamento à base de álcool 70% (C). Entretanto, o mesmo resultado não ocorreu nas demais variedades.

Por fim, visando a IF, a variedade 5 (Mesa) apresentou maior média no tratamento com UV-C (E), porém a finalidade deste tratamento é reduzir a contaminação por microrganismos sem afetar a qualidade fisiológica do produto. Levantando a hipótese de curto tempo de exposição das sementes e a espessura de sua camada.

A incidência de fungos foi predominante na variedade 1 e 2, quando aplicado o tratamento de termoterapia a seco, sendo consideradas variedades mais resistentes a este tratamento (Tabela 3). As variedades 1, 4 e 5 o tratamento A não interferiu negativamente nas médias germinativas, além de apresentar uma diferença significativa em relação ao tratamento B (termoterapia a seco 60°C), pois a exposição a esta temperatura afetou o vigor germinativo. Na variedade 2 (uva) não houve diferença significativa, ao contrário da variedade 3, o qual observou-se maior germinação no tratamento B, onde a termoterapia não reduziu a germinação.

Tabela 3- Desdobramento das médias de interação Tratamento x Variedade, visando a germinação e incidência fúngica para o método Gerbox.

Tratamento	Variedade	GR	IF
A	1	86,60 a	3,17 b
B		54,60 b	9,45 a
A	2	90,60 a	0,75 b
B		93,40 a	2,35 a
A	3	71,60 b	0,55 a
B		87,80 a	0,65 a
A	4	32,50 a	0,65 a
B		17,00 b	0,97 a
A	5	95,00 a	0,52 a
B		75,50 b	0,90 a

Legenda: GR=Germinação; IF=Incidência Fúngica,

Fonte: o autor

Na Tabela 4 observa-se médias significativas de IF nas 5 variedades de tomate, utilizando os tratamentos A (testemunha) e B (termoterapia a seco 60°C). No tratamento A observa-se diferença na variedade 1 (holandês), ou seja, houve maior incidência fúngica e menor resistência desta variedade, mesmo que nenhum tratamento químico ou de calor tenha sido aplicado.

Já no tratamento B as variedades 4, 5 e 3 são iguais estatisticamente e apresentam a menor IF, pois a termoterapia visa a erradicação ou redução de um agente causador de doenças (COUTINHO et al., 2007), diferente das variedades 1 e 2 que são mais resistentes a termoterapia.

Adicionalmente, a germinação também foi significativa estatisticamente para as cinco variedades propostas. Contudo, destaca-se no tratamento B a maior germinação na variedade 2.

Discussão

Os resultados indicam que a identificação dos fungos *Fusarium*, *Penicillium* e *Alternaria* corrobora com estudos anteriores, como os de Rosa (2022) e Medeiros (2022). A eficácia do tratamento C (álcool 70%) foi variável entre as variedades, com a variedade Grape (4) mostrando menor germinação, possivelmente devido a danos ao embrião das sementes. Já o tratamento E (UV-C) se destacou como um processo físico eficaz, mas com resultados limitados na variedade 2, sugerindo uma possível resistência.

O menor crescimento da variedade 5 (Mesa), deve-se ao tratamento aplicado, termoterapia a seco 60°C (B), pois segundo Silva et al (2002) na maioria das espécies, o tratamento das sementes por meio de calor seco reduz a infecção das sementes e a incidência de doença, porém com pequena redução na germinação

A termoterapia a seco (B) foi eficaz na redução da infecção fúngica, mas impactou negativamente a germinação em algumas variedades, conforme observado por Silva et al. (2002). A necessidade de tratamentos específicos para cada variedade foi evidente, destacando a importância da adaptação dos métodos de assepsia de acordo com as características de cada genótipo

Tabela 4- Desdobramento das médias de interação Variedade x Tratamento, visando a germinação e incidência fúngica para o método Gerbox.

Tratamento	Variedade	GR	IF
A	1	86,60 a	3,17 a
	2	90,60 a	0,75 b
	3	71,60 b	0,65 b
	4	32,50 c	0,55 b
	5	95,00 a	0,52 b
B	1	54,60 c	9,45 a
	2	93,40 a	2,35 b
	4	17,00 d	0,97 c
	5	75,50 b	0,90 c
	3	87,80 a	0,65 c

Legenda: GR=Germinação; IF=Incidência Fúngica.

Fonte: o autor

Conclusão

Pode-se concluir que no teste de papel filtro, os tratamentos B e C foram mais eficazes na inibição da germinação, enquanto o tratamento E teve a menor incidência fúngica. No método gerbox, todas as variedades mostraram boa germinação, com o tratamento B destacando-se na variedade 2 (uva) e apresentando a maior incidência fúngica.

Referências

BALBI-PEÑA, M. I. et al. Efeito do extrato do rizoma de *Curcuma longa* e solução de curcumina em *Alternaria solani* e controle de pinta preta em tomateiro. 2005. <https://tede.unioeste.br/handle/tede/1335> Acesso em: 20 de junho, 2024.

COUTINHO, W. M. et al. Efeitos de hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 552-55, 2000. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/1234/516> Acesso em: 20 de junho, 2024.

HENNIPMAN, H. S. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de araucária durante armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 27, pág. 643-654, 2017. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1072141/1/2017AlvaroCFQualidade.pdf> Acesso em: 18 de junho, 2024.

MEDEIROS, M. A. et al. Análise fisiológica e sanitária de sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) em Altamira-Pará. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 20, n. 1, p. 09-14, 2022. Disponível em: <https://pap.emnuvens.com.br/pap/article/view/269> Acesso em: 19 de junho, 2024.

NEERGAARD, P. **Seed Pathology** London: The Mac Millan Press, 1979. 1191p. Acesso em: 19 de junho, 2024.

ROSA, R. C. T. et al. Detecção de *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici* em sementes de tomateiro pelo método de papel de filtro com adição de restritores. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 27, n. 2, 2022. Disponível em: <https://periodicos.unemat.br/index.php/rcaa/article/view/5544> Acesso em: 17 de junho, 2024.

SILVA, Â. et al. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de tomate: eficiência na erradicação de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* e efeitos sobre a semente. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 586-593, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/cGyTHYKqmmDyxcc4VRRxZyy/?lang=pt> Acesso em: 25 de junho, 2024.

Agradecimentos

Agradecimento ao IFES pela concessão de bolsa.