

HIPOCLORITO DE SÓDIO E ÁLCOOL NA ESTERILIZAÇÃO SUPERFICIAL DE SEMENTES DE SOJA¹

Roberto K. Zito²
Carlos S. Sedyama²
Tocio Sedyama²
José Luiz Lopes Gomes²
Valterley S. Rocha²

1. INTRODUÇÃO

O teste de sanidade de sementes de soja é utilizado para se obterem informações sobre o grau de infecção das sementes por fungos internos ao tegumento.

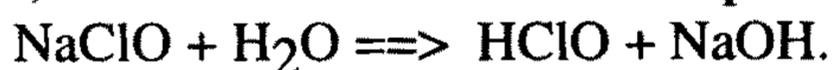
Na metodologia em uso faz-se uma esterilização externa das sementes que, em seguida, são colocadas em caixas de plástico (Gerbox). Os fungos recuperados das sementes são considerados fungos internos. A esterilização externa das sementes é feita, utilizando-se a seguinte seqüência de imersões: um minuto em solução 70:30 de álcool: água (v/v); um minuto em solução 40:60 de hipoclorito de sódio, a 2%: água (v/v); e, por último, um minuto em água destilada (7).

Sabe-se que a mais efetiva forma germicida conhecida do cloro é o ácido hipocloroso (HClO) (5, 8), o que ocorre quando o valor do pH é menor ou igual a 5,0. Abaixo deste valor, 100% do cloro está na forma de HClO (6). Por isso, quanto menor o pH da solução, mais acentuado é o poder desinfetante do cloro (2).

¹ Trabalho realizado com apoio do CNPq.
Aceito para publicação em 04.05.1995.

² Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

De acordo com CULP *et alii* (1), o hipoclorito de sódio, em meio aquoso, se ioniza formando o ácido hipocloroso:



A adição de hipoclorito de sódio na água tende a elevar o valor do pH (6).

A ação bactericida do cloro resulta da reação química entre o ácido hipocloroso (HClO) e a estrutura celular da bactéria, inativando os processos necessários à vida (4). O cloro penetra nos microrganismos e reage com suas enzimas, inativando-as (6).

O objetivo deste trabalho foi verificar a efetividade do processo de desinfecção externa com álcool e hipoclorito de sódio, bem como a necessidade de se ajustar o pH deste, utilizado no teste de sanidade de sementes de soja, para obtenção de esterilização externa satisfatória.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de soja, envelhecidas no campo, foram obtidas do Campo Experimental da Universidade Federal de Viçosa. Os testes foram realizados no Laboratório de Melhoramento de Soja da UFV e avaliados no sétimo dia após a montagem dos experimentos. Avaliou-se a percentagem de sementes com *Phomopsis* sp., com *Fusarium* sp. e com fungos em geral (total de sementes com fungos), que inclui sementes com *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum dematium*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* ssp., *Chaetomium* sp., *Cercospora kikuchii* e *Cercospora* sp.

Experimento 1: cada tratamento foi constituído de imersão(ões) das sementes de soja por período(s) de um minuto no(s) produto(s) descrito(s), nas seqüências cronológicas conforme se descrevem a seguir (o hífen separa duas imersões consecutivas):

1. Água;
2. Solução alcoólica - Água;
3. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio - Água;
4. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0 - Água.

A variedade utilizada foi a 'Savana'. As soluções alcoólica e de hipoclorito de sódio tinham a relação 70:30 (álcool:água) e 40:60 (hipoclorito de sódio, a 2%:água), respectivamente. O ajuste de pH foi realizado com HCl 5 N.

Montagem do teste: as sementes tratadas foram colocadas em caixas tipo Gerbox (11,5 x 11,5 x 3,0 cm) contendo de seis a oito folhas de papel germitest embebidas em água destilada, previamente autoclavadas, durante

20 minutos, a 120°C. Para evitar a presença de bactérias nas sementes, foi usado estreptomicina, diluída na água utilizada na embebição do papel germitest, na dose de 100 mg/L de água. As caixas contendo as sementes foram deixadas à temperatura ambiente durante sete dias, quando foram feitas as avaliações.

Em razão dos resultados não-esperados, obtidos neste experimento, foi instalado o Experimento II, com acréscimo de outros tratamentos, para confirmação dos resultados.

Experimento II: cada tratamento foi constituído de imersão(ões) das sementes de soja por período(s) de um minuto no(s) produto(s) descrito(s), nas seguintes seqüências cronológicas (o hífen separa duas imersões consecutivas):

1. Água;
2. Solução alcoólica;
3. Solução alcoólica - Água;
4. Solução de hipoclorito de sódio;
5. Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0;
6. Solução de hipoclorito de sódio - Água;
7. Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0 - Água;
8. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio - Água;
9. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0 - Água.

Na condução deste experimento, foram introduzidas duas modificações em relação ao Experimento I: na primeira, em razão da grande incidência de rachaduras, padronizou-se o tamanho das sementes, já que naquelas maiores observa-se, com maior freqüência, a ocorrência de rachaduras fisiológicas em algumas variedades de soja (9). Assim, as sementes da variedade 'Savana' foram selecionadas por tamanho, com peso médio de 17,4 g/100 sementes. A segunda modificação neste experimento consistiu no ajuste do pH, com HNO₃ concentrado.

O processo de montagem das sementes na caixa Gerbox foi semelhante ao realizado no Experimento I. As sementes utilizadas eram do mesmo lote do experimento anterior.

Análise estatística: Nos dois experimentos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições de 25 sementes. Os dados percentuais foram transformados em arco-seno $(n/100)^{1/2}$ para realização das análises estatísticas. Valores iguais a 0% foram previamente substituídos por 1/4N, em que N é o valor do denominador utilizado no cálculo da percentagem (3). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1, encontram-se as percentagens médias estimadas, obtidas no teste de sanidade do Experimento I. Observa-se que o tratamento 4 foi mais eficiente em diminuir a frequência de sementes contaminadas com fungos que o tratamento 3, tradicional. O efeito do tratamento 2 não era esperado, já que se supunha que o álcool serviria apenas para quebrar a tensão superficial das sementes e, portanto, tornar a ação oxidativa do hipoclorito mais eficiente.

A partir desses resultados, foi instalado o Experimento II, acrescentando outros tratamentos além daqueles, para confirmação dos resultados.

QUADRO 1 - Médias estimadas, em percentagem, de sementes infectadas com *Phomopsis* sp. e com *Fusarium* sp. e total de sementes com fungos, obtidas no Experimento I¹

Tratamento	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	Total de fungos
1	30,6 a	41,4 a	80,0 a
2	19,7 a	21,7 c	45,4 c
3	19,0 a	48,5 a	73,7 a
4	27,8 a	30,7 b	58,6 b

¹ Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (dados previamente transformados em arco-seno, para análise estatística e médias destransformadas).

No Quadro 2, encontram-se as percentagens médias obtidas no Experimento II. Verifica-se que os tratamentos 3 e 9, que correspondem aos tratamentos 2 e 4 do Experimento I, foram consistentemente mais eficazes em diminuir a percentagem de sementes infectadas com fungos. O tratamento 9 mostra que há necessidade de se fazer ajuste do pH na solução de hipoclorito de sódio, para aumentar a eficiência da esterilização externa no teste de sanidade tradicionalmente feito.

Observa-se, também, que o efeito da solução alcoólica seguida de lavagem em água (tratamento 3) mostra-se tão promissor quanto o tratamento completo com pH 5,0 (tratamento 9). É possível que o maior efeito desse tratamento esteja na retirada de esporos e, ou, micélios

QUADRO 2 - Médias estimadas, em percentagem, de sementes infectadas com *Phomopsis* sp. e com *Fusarium* sp. e total de sementes com fungos, obtidas no Experimento II¹

Tratamento	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	Total de fungos
1	33,4 a	40,4 abc	77,5 bc
2	29,8 ab	38,9 bc	75,8 bc
3	28,5 ab	33,8 cd	67,8 cd
4	30,9 ab	50,0 a	89,2 a
5	24,1 ab	46,5 ab	74,3 bcd
6	36,4	45,5 ab	89,3 a
7	21,2 b	51,0 a	81,5 ab
8	26,4 ab	42,5 abc	75,1 bc
9	25,9 ab	27,21 d	61,4 d

¹ Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

aderidos ao tegumento, retirada esta que se completa com a passagem em água destilada.

Os tratamentos 4, 6 e 7, em razão da grande incidência de fungos apresentada, demonstram que o uso único e exclusivo do hipoclorito não proporciona boa esterilização externa das sementes. O tratamento 5 não controlou satisfatoriamente o fungo *Fusarium* sp., mas, no total de sementes com fungos, apresentou média razoavelmente baixa. É possível que, neste caso, a ação do hipoclorito esteja sendo prejudicada pela lavagem em água destilada, procedimento que diferencia o tratamento 5 do 7.

Diante dos resultados encontrados, pode-se sugerir que há necessidade de se fazer ajuste do pH da solução de hipoclorito de sódio, a 2%, no teste de sanidade de sementes. Além disso, a possibilidade de se usar somente uma solução alcoólica, com posterior lavagem em água destilada das sementes (tratamento 3), pode ser considerada, desde que ancorada em mais estudos sobre o problema exposto.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho objetivou investigar a efetividade do processo de desinfecção superficial com álcool e hipoclorito de sódio, bem como a

necessidade de se ajustar o pH da solução de hipoclorito de sódio utilizado no teste de sanidade de sementes de soja. Utilizaram-se sementes de soja da variedade 'Savana'. Cada unidade experimental foi constituída de uma caixa tipo Gerbox, contendo 25 sementes. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições.

Foram realizados dois experimentos: no primeiro, cada tratamento foi constituído por imersão(ões) das sementes de soja de período(s) de um minuto no(s) produto(s) descrito(s), nas seqüências cronológicas conforme se descrevem a seguir (o hífen separa duas imersões consecutivas): 1. Água; 2. Solução alcoólica - Água; 3. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio - Água; 4. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0 - Água. As soluções alcoólica e de hipoclorito de sódio tinham a relação 70:30 (álcool: Água) e 40:60 (hipoclorito de sódio, a 2%: Água), respectivamente. O ajuste do pH foi realizado com HCl 5 N.

As sementes tratadas foram colocadas em caixas Gerbox (11,5 x 11,5 x 3,0 cm), contendo de seis a oito folhas de papel germitest embebidas em Água e avaliadas sete dias após.

No segundo experimento, cada tratamento foi constituído de imersão(ões) das sementes de soja por período(s) de um minuto no(s) produto(s) descrito(s), nas seqüências cronológicas conforme se descrevem a seguir (o hífen separa duas imersões consecutivas): 1. Água; 2. Solução alcoólica; 3. Solução alcoólica - Água; 4. Solução de hipoclorito de sódio; 5. Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0; 6. Solução de hipoclorito de sódio - Água; 7. Solução de hipoclorito de sódio com pH=5,0 - Água; 8. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio - Água; 9. Solução alcoólica - Solução de hipoclorito de sódio com pH = 5,0 - Água.

Utilizaram-se sementes da variedade 'Savana' selecionadas por tamanho, com peso médio de 17,4 g/100 sementes, e o pH foi ajustado com HNO₃ concentrado. A montagem das Gerboxes foi semelhante à do primeiro experimento. Os resultados permitem concluir que há necessidade de se fazer ajuste do pH na solução de hipoclorito de sódio, a 2%, do teste de sanidade de sementes e sugerem a seqüência solução alcoólica - Água como sendo promissora para a limpeza externa de sementes de soja.

5. SUMMARY

(SODIUM HYPOCHLORIDE AND ALCOHOL IN SUPERFICIAL DISINFECTION OF SOYBEAN SEED)

To investigate the effectiveness of sodium hypochloride and alcohol

in superficial disinfection of soybean seed, as well as the need of pH adjustment of the hypochloride solution, several immersion combinations were evaluated on seeds of Savana soybean cultivar, plated in gerboxes for seven days. The results showed that it is necessary to adjust the sodium hypochloride solution to pH 5.0, and that the other good disinfection procedure is to immerse the seeds in an alcoholic solution and then rinse with sterile water to clean the seed surface.

6. LITERATURA CITADA

1. CULP, R.L.; WESNER, G.M. & CULP, G.L. *Handbook of advanced wastewater treatment*. New York, Van Nostrand Reinhold, 1978. 632 p.
2. DALACH, N.G. *Sistemas urbanos de água*. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 1979. 490 p.
3. GOMEZ, K.A. & GOMEZ, A.A. *Statistical procedures for agricultural research*. New York, John Wiley & Sons, 1984. 680 p.
4. HAMMER, M.J. *Water and wastewater technology*. New York, John Wiley & Sons, 1975. 502 p.
5. LUDOVICI, P.P.; PHILLIPS, R.A. & JETER, W.S. Comparative inactivation of bacteria and viruses in tertiary-treated wastewater by chlorination. In: JOHNSON, J.D. (ed.). *Desinfection water and wastewater*. Ann Arbor, Ann Arbor Science Publishers, 1977. p. 359-390.
6. PESSÔA, C.A. & JORDÃO, E.P. *Tratamento de esgotos domésticos*. Rio de Janeiro, ABES, 1982. Vol 1, 536 p.
7. ROCHA, V.S. *Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de genótipos de soja (Glicine max (L.) Merrill), em três épocas de colheita*. Viçosa, UFV, Impr. Univ., 1982. 109p. (Tese M.S.).
8. TEBBUTT, T.H.Y. *Principles of water quality control*. Oxford, Pergamon Press, 1979. 201p.
9. ZITO, R.K. *Padrões eletroforéticos de proteínas e qualidade fisiológica durante o desenvolvimento da semente de soja*. Viçosa, UFV, Impr. Univ., 1994. 48p. (Tese M.S.).