

QUALIDADE SANITÁRIA E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Pterogyne nitens* TULL. (LEGUMINOSAE – CAESALPINIOIDEAE)¹

WALNICE MARIA OLIVEIRADO NASCIMENTO², ENIEL DAVID CRUZ², MARIA HELOÍSA DUARTE MORAES³, JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN³

RESUMO - *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae – Caesalpinioideae), espécie florestal nativa da Mata Atlântica, é normalmente utilizada para extração de madeira. Devido à necessidade de ampliação da área produtiva com essa espécie, para fins de exploração comercial, tem-se observado maior interesse em relação às informações sobre qualidade e conservação de suas sementes. Apesar da grande importância econômica das espécies florestais, estudos sobre sanidade de tais sementes são quase inexistentes, principalmente com espécies nativas. Procurou-se, com este trabalho, identificar fungos associados às sementes e sua relação com a germinação de sementes de amendoim-bravo, utilizando-se os métodos de detecção do papel de filtro com congelamento, sem congelamento e de sintomas em plântulas. Detectaram-se os seguintes fungos: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp. e *Phoma* sp. A maior ocorrência foi de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. O método do papel de filtro com congelamento permitiu a identificação de *Fusarium moniliforme* e *Alternaria alternata*, duas espécies de fungos potencialmente patogênicos. Não foi detectada ocorrência de sintomas relacionados ao ataque de patógenos nas plântulas.

Termos para indexação: amendoim bravo, espécie florestal, patologia de sementes, espécie nativa, madeira.

HEALTH QUALITY AND GERMINATION OF *Pterogyne nitens* SEEDS

ABSTRACT - *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae – Caesalpinioideae), wood species native to the Atlantic Rain Forest, is constantly used to extract timber. With the need to amplify the cultivation surface for trade, the interest in information about the quality and conservation of its seeds has increased. In spite of the great economic importance of this species, studies about the health quality of seeds are inexistent, mainly for native species. This paper aims to identify the occurrence of pathogens associated in *Pterogyne nitens* seeds. The fungi were studied in a blotter test with and without freezing and symptoms in seedlings. The following fungi were found in seeds: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp. and *Phoma* sp. The largest occurrence found was the fungi *Aspergillus* and *Penicillium*. The blotter test with freezing made it possible to identify two species of the potentially pathogenic *Fusarium moniliforme* and *Alternaria alternata*. Symptoms in seedlings were not detected.

Index terms: amendoim bravo, forest species, seed pathology, native species, timber.

INTRODUÇÃO

O amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tull., Leguminosae – Caesalpinioideae), espécie florestal nativa da Mata Atlântica, ocorre do nordeste do Brasil até o oeste do Estado de Santa Catarina, principalmente na floresta latifoliada semidecídua.

Sua madeira é normalmente utilizada na construção de móveis finos. Apresenta rusticidade e rapidez de crescimento, podendo ser utilizada em plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 1992). Essa espécie corre risco de extinção tendo em vista a redução do número de indivíduos em ocorrência natural no Estado de São Paulo

¹ Submetido em 18/08/2004. Aceito para publicação em 08/11/2005;

² Engº Agrº, Embrapa Amazônia Oriental, Caixa postal 48, CEP 66017-970, Belém, PA - walnice@cpatu.embrapa.br; eniel@cpatu.embrapa.br;

³ Engº Agrº, Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP. Av. Pádua Dias, Caixa postal 9, CEP 13418-970, Piracicaba, SP - mhdmoraes@esalq.usp.br; jomenten@usp.esalq.br

(Itoman et al., 1992), sendo necessária sua conservação genética (Siqueira e Nogueira, 1992).

Nas regiões tropicais, a umidade e a temperatura elevadas são favoráveis ao crescimento e desenvolvimento de patógenos, fazendo com que sementes das espécies nativas dessas regiões tornem-se vulneráveis ao ataque dos mesmos. Para a maioria das espécies florestais nativas, existem poucas informações sobre a ocorrência de fungos potencialmente patogênicos, tanto internos quanto externamente às sementes.

Os fungos que atacam as sementes de espécies florestais não têm recebido a devida atenção ao longo dos anos; conseqüentemente, há desconhecimento sobre os mecanismos de transmissão, método de penetração na semente, modos de ação e danos causados pelos mesmos (Homechin et al., 1986; Singh, 1997), bem como sobre as perdas econômicas devido à presença de patógenos nas sementes (Carneiro, 1987). Contudo, alguns trabalhos têm sido realizados visando determinar quais patógenos causam danos às sementes ou às plântulas. Em baru (*Dipteryx alata*), Santos et al. (1997) observaram a presença dos fungos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Chaetomium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp., sendo que o *Phomopsis* sp. causou maiores perdas na germinação. Em angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*) foram detectados os fungos *Colletotrichum gloeosporioides*, *F. lateritium*, *F. semicetum*, *Pestalotiopsis* sp. e *Phomopsis dalbergiae*, os quais causam podridão da semente e da raiz primária, reduzindo a altura e o número de plântulas (Dhingra et al., 2002).

Em estudos realizados por Stein et al. (1997) para identificação de fungos associados às sementes de 17 espécies florestais nativas da Amazônia, foram detectados, com maior frequência, os fungos *Botryodiplodia* sp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., em mogno (*Swietenia macrophylla*); *Botryodiplodia* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotia* sp. e *Trichoderma* sp., em ucúba-da-terra-firme (*Virola melinonii*) e *Botryodiplodia* sp., *Paecilomyces* sp., *Aspergillus* spp., e *Penicillium* spp., em anani (*Symphonia globulifera*).

A conservação *ex situ* das sementes de espécies florestais nativas, que estão sob forte pressão de exploração madeireira é uma justificativa para acelerar as pesquisas relacionadas ao estudo da avaliação da qualidade sanitária das sementes dessas espécies.

Na literatura, não foram encontrados relatos de fungos associados às sementes de amendoim-bravo. Assim, esse

estudo tem por objetivo identificar fungos associados às sementes e sua relação com a germinação de *P. nitens*.

MATERIAL E MÉTODOS

Efetuuou-se a avaliação da qualidade sanitária de dois lotes de sementes de amendoim-bravo, colhidos em 2002, no município de Nova Europa, SP. O experimento foi realizado no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo.

Para detecção e identificação dos patógenos, utilizaram-se o método do papel de filtro com e sem congelamento e o método da identificação do sintoma em plântulas, conforme metodologia descrita por Lucca Filho (1987).

Antes da instalação dos testes de detecção e identificação de fungos, foi determinado o grau de umidade das sementes e efetuado teste de germinação.

Determinação do grau de umidade - Utilizaram-se quatro repetições de vinte sementes cada, através método da estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Teste de germinação - Para a quebra de dormência as sementes foram escarificadas com lixa para madeira (referência 80), na porção mais larga da semente (cotilédone). Foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, utilizando-se como substrato o papel toalha "germitest", embebido com água destilada, na quantidade correspondente a 2,5 vezes o peso do substrato, conforme o estabelecido nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Os rolos foram colocados em germinador regulado à temperatura constante de 25°C , na presença de luz. A avaliação da primeira contagem foi realizada aos sete dias e a última aos quinze dias após semeadura.

Método de incubação em papel de filtro sem congelamento - Utilizou-se amostra de 200 sementes de cada lote, colocando-se 10 sementes por placa Petri, sobre três camadas de papel de filtro previamente umedecido com água destilada. Após a distribuição nas placas, as sementes foram incubadas à temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, por período de sete dias, com regime alternado de 12 horas de luz fluorescente branca e 12 horas de escuro. As avaliações foram realizadas após sete dias de incubação, examinando-se individualmente as sementes através de observações da morfologia do fungo ao microscópio estereoscópico, com poder de ampliação de 50 a 60 vezes e comparando-se com a literatura disponível (Lucca Filho, 1987).

Método de incubação em papel de filtro com congelamento - Para a instalação do teste utilizou-se a mesma metodologia descrita para o método de incubação em papel de filtro sem congelamento. Após 24 horas de incubação a $20\pm 2^\circ\text{C}$ e regime alternado de 12/12 horas de luz fluorescente branca e escuro, as sementes foram colocadas em “freezer” com temperatura de -20°C por 24 horas, visando paralisar o processo germinativo. Após esse período, as placas contendo as sementes foram retornadas às condições de incubação já referidas, onde permaneceram por mais cinco dias. Para a identificação dos patógenos, utilizou-se microscópio estereoscópico com ampliação de 50 a 60 vezes, examinando-se as sementes individualmente (Lucca Filho, 1987).

Quando necessário, foram montadas lâminas e efetuado exame em microscópio composto com aumento de 400 vezes. Os resultados obtidos foram apresentados como porcentagem de sementes portadoras de fungos.

Método de identificação de sintoma em plântulas - As sementes foram escarificadas com lixa, conforme descrito no teste de germinação, distribuídas de forma equidistante sobre duas folhas de papel toalhas tipo “germitest”, umedecidas com água destilada, e cobertas com outra folha. Em seguida, o conjunto foi enrolado ao longo da maior dimensão. Os rolos foram colocados em sacos para conservar a umidade relativa em 100% e mantidos em câmara de incubação sob temperatura de $20\pm 2^\circ\text{C}$ e luz alternada (12 horas de luz fluorescente branca/ 12 horas de escuro) por sete dias. Utilizou-se amostra de 200 sementes de cada lote, distribuídas em quatro repetições.

Após o período de incubação, as plântulas foram examinadas e dos tecidos que apresentaram sintomas foram

efetuados isolamentos em placa de Petri contendo BDA.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes dos lotes A e B apresentaram grau de umidade de 7 e 9% , respectivamente, com 95% de germinação.

Na avaliação sanitária das sementes de amendoim-bravo foram detectados sete gêneros de fungos (Tabelas 1 e 2), sendo que *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. tiveram maior porcentagem de ocorrência em relação aos demais fungos, nos dois lotes avaliados. Na avaliação das sementes sem congelamento detectou-se diferença significativa entre lotes para os fungos *Penicillium* sp. e *Rhizoctonia* sp. De modo geral, a ocorrência desses variou, dependendo do método de detecção usado. O método do papel de filtro sem o congelamento das sementes permitiu maior detecção dos fungos de armazenamento (Tabela 1).

Nas sementes que não sofreram o congelamento foram mais frequentes os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*, seguidos de *Phoma* sp., com frequência significativa no lote B. *Phoma* sp. foi encontrado causando podridão em sementes de munguba (*Pseubombax munguba*), ipê (*Tabebuia* sp.) e itauba amarela (*Mezilaurus itauba*), conforme relatos de Carneiro (1987). De acordo com Machado (1988), a associação de sementes com fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, ocorre após a colheita, durante o beneficiamento e armazenamento das sementes.

TABELA 1. Ocorrência de fungos (%) associados às sementes em dois lotes de *Pterogyne nitens*, detectados pelo método do papel de filtro sem congelamento.

Lote	Fungos					
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	<i>Alternaria alternata</i>
A	27,0 a	20,5 a	17,0 a	5,5 a	2,5 a	0,0 a
B	17,0 a	10,0 b	15,0 a	0,0 b	8,5 a	1,0 a

TABELA 2. Ocorrência de fungos (%) associados às sementes em dois lotes de *Pterogyne nitens*, detectados pelo método do papel de filtro com congelamento.

Lote	Fungos				
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.	<i>Fusarium moniliforme</i>
A	2,5 a	14,0 a	14,0 a	5,0 a	1,5 a
B	6,0 a	11,5 a	11,5 a	4,5 a	3,5 a

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Com relação a ocorrência do *Cladosporium* sp., na literatura existem poucas citações sobre a incidência deste patógeno em sementes de espécies florestais, porém, Faiad et al. (1997) relataram 61% de incidência deste fungo nas sementes de imburana (*Commiphora leptophloeos*).

Quando usado o método do papel de filtro com congelamento das sementes, houve redução na incidência dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. Entretanto, este método mostrou-se mais sensível para a detecção de fungos potencialmente patogênicos, como *Fusarium moniliforme* e *Alternaria alternata* (Tabela 2).

Algumas espécies de *Fusarium* têm sido relatadas causando tombamento em pré ou pós-emergência de plântulas de espécies florestais, sendo problema comum em sementes dessas espécies (Ferreira, 1989). *Fusarium moniliforme* afeta também, tanto as sementes como as plântulas recém emergidas de algaroba (*Prosopis juliflora*) e timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), conforme Maschio et al. (1990), citado por Santos et al. (2000). Para Dhingra et al. (1980) e Machado et al. (1988), as associações com fungos do gênero *Fusarium* ocorrem durante a formação ou maturação do fruto e cuidados na colheita e no manuseio podem reduzi-las.

Não foi encontrado patógeno associado às plântulas de amendoim-bravo, na avaliação de sintomas em plântulas. A diferença na porcentagem de plântulas normais obtida pelo teste de sintoma em plântulas, quando comparado com o padrão de germinação, pode ter ocorrido devido à temperatura não ser a mais adequada para a germinação da espécie utilizada neste teste (Tabela 3).

Os fungos associados às sementes de amendoim-bravo não afetaram a germinação, provavelmente devido à baixa incidência nos lotes analisados. Menten (1995) verificou redução drástica da germinação de sementes de feijão armazenadas por 16 meses, provocada pela infestação dos fungos *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

A presença de fungos *Aspergillus* e *Penicillium* em alta

TABELA 3. Porcentagem de plântulas normais, anormais e de sementes mortas, de *Pterogyne nitens* avaliadas através do teste de identificação do sintoma em plântulas.

Lote	Plântulas normais (%)	Plântulas anormais (%)	Sementes mortas (%)
A	88 a	8 a	2 a
B	90 a	7 a	3 a

* Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (5%).

porcentagem, como observado nas sementes de amendoim-bravo, tende a prejudicar a qualidade das sementes pela redução da viabilidade. A presença freqüente destes fungos de armazenamento nos lotes pode refletir nas condições de armazenamento dos mesmos. Carneiro (1990) cita a necessidade de dar maior atenção para o aspecto de sanidade de sementes de espécies florestais, visando a obtenção da melhoria da qualidade das sementes e mudas.

CONCLUSÕES

As sementes de amendoim-bravo analisadas apresentam microflora diversificada, incluindo fungos potencialmente patogênicos como *Fusarium moniliforme* e *Alternaria alternata*.

Houve predominância de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* nos dois lotes analisados.

Os fungos presentes nas sementes de amendoim-bravo não afetam a germinação.

AGRADECIMENTOS

Ao IPEF, pela gentileza em fornecer as sementes usadas no experimento.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CARNEIRO, J.S. Teste de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (Ed.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987, p.363-393.
- CARNEIRO, J.S. Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paraopeba, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.75-76, 1990.
- DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes: controle de patógenos**. Viçosa: UFV/Imprensa Universitária, 1980. 121p.
- DHINGRA, O.D.; MAIA, C.B.; LUSTOSA, D.C.; MESQUITA, J.B. Seedborne pathogenic fungi affect seedling quality of red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) trees in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v.150, p.451-455, 2002.
- FAIAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N.; CUNHA, R.; PADILHA, L. Efeito do hipoclorito de sódio sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J.B. Gillet. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.14-17, 1997.
- FERREIRA, F.A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989.

- 570p.
- HOMECHIN, M.; PIZZINATTO, M.A.; MENTEN, J.O.M. Sanidade de sementes de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus taeda* e patogenidade de *Fusarium oxysporum* em plântulas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.12, n.1/2, p.103-112, 1986.
- ITOMAN, M.K.; SIQUEIRA, A.C.M. de F.; CAVASSAN, O. Descrição de quinze espécies arbóreas de mata mesófila do estado de São Paulo ameaçadas de extinção. **Salusvita**, Bauru, v.11, n.1, p.1-38, 1992.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 368p.
- LUCCA FILHO, O.A. Metodologia dos testes de sanidade em sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V. da S. (Ed.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 276-298.
- MACHADO, J.C. **Patologia de sementes fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988, 106p.
- MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Abro, 1995. p.115-136.
- SANTOS, A.F.; JÚNIOR, A.G.; AUER, C.G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, Curitiba, v.30, n.1/2, p.119-128, 2000.
- SANTOS, M.F.; RIBEIRO, R.C.W.; FAIAD, M.G.R., SANO, S.M. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.135-139. 1997.
- SINGH, P. Tree seed pathogens and seed diseases: their detection and management in sustainable forestry. In: PROCHÁZKOVÁ, Z.; SUTHERLAND, J.R. (Ed.) **Proceedings of the ISTA Tree Seed Pathology Meeting**. Opcno: ISTA, 1997, p.9-22.
- SIQUEIRA, A.C.M.F.; NOGUEIRA, J.C.B. Essências brasileiras e sua conservação genética no Instituto Florestal de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.4, p.1187, 1992.
- STEIN, R.L.B.; LEÃO, N.V.M.; CARVALHO, J.E.U. Health testes on native Amazon Forest tree seeds. In: PROCHÁZKOVÁ, Z.; SUTHERLAND, J.R. **Proceedings of the ISTA Tree Seed Pathology Meeting**. Opcno: ISTA, 1997. p.108-111.

