

Artigos

Fisiologia, sanidade e controle de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal em Mirinzal - MA

Physiological, sanitary study and disease management in forest seeds of Resex Quilombo do Frechal in Mirinzal/MA state

Wildinson Carvalho do Rosário¹ , Antônia Alice Costa Rodrigues¹ ,
Anna Christina Sanazário de Oliveira¹ ,
Claudio Belmino Maia¹ , Bruno Rafael Marques^{II} 

¹Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil

^{II}Universidade Federal do Maranhão, Pinheiro, MA, Brasil

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi traçar o perfil fisiológico, sanitário e o controle de fitopatógenos em quatro espécies de sementes florestais. Antes dos testes, as sementes de juçara (*Euterpe oleracea* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), urucum (*Bixa orellana* L.) e cuia (*Crescentia cujete* L.) foram desinfestadas com álcool 70%, hipoclorito de sódio a 5% e água destilada. Os testes de germinação, emergência e sanidade foram realizados conforme a RAS. No manejo alternativo, foram testados o isolado de *Bacillus methylotrophicus* e o óleo de nim, sendo realizado por meio de dois experimentos independentes em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e oito repetições. O experimento "um" foi realizado através da microbiolização das sementes com *B. methylotrophicus* e, no experimento "dois", as sementes foram pulverizadas com óleo de nim a 15% com auxílio de pulverizador manual. As sementes de juçara, jenipapo, urucum e cuia obtiveram 9,0; 67,00; 17,50 e 63,5% de germinação; 0,5; 7,00; 0,5 e 63,5% de emergência; 22,81; 12,15; 15,66 e 8,73% de teor de água, respectivamente. Os fungos fitopatogênicos de maior incidência foram *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., nas sementes florestais de cuia, jenipapo, juçara e urucum, respectivamente. As sementes tratadas com óleo de nim e as microbiolizadas com *B. methylotrophicus* obtiveram controle significativo para *Aspergillus* sp.; *Penicillium* sp., em sementes de jenipapo; *Lasiodiplodia* sp. e *Fusarium* sp. em sementes de urucum. Portanto, o uso de *B. methylotrophicus* e óleo de nim pode ser considerado alternativa viável na redução de patógenos de sementes florestais.

Palavras-chave: Controle biológico; *Bacillus methylotrophicus*; *Azadirachta indica*

ABSTRACT

The objective of this work was to trace the physiological, health and phytopathogen control in four species of forest seeds. Before the tests and treatments, the juçara (*Euterpe oleracea* Mart.), genipap (*Genipa americana* L.), annatto (*Bixa Orellana* L.) and calabash (*Crescentia cujete* L.) seeds were washed three times with 70% alcohol, 5% sodium hypochlorite and distilled water. Germination, emergency and health tests were performed according to the RAS. In the alternative management, *Bacillus methylotrophicus* isolate and neem oil were tested, being carried out through two independent experiments in a completely randomized design (DIC), with four treatments and eight repetitions. Experiment one was carried out by microbiolizing the seeds with *B. methylotrophicus* and, in experiment two, the seeds were sprayed with 15% neem oil with the aid of a manual spray. The seeds of juçara, genipapo, annatto and calabash, obtained 9.0%, 67.00%, 17.50%, 63.5% of germination; 0.5%, 7.00%, 0.5%, 63.5% emergency; 22.81%, 12.15%, 15.66%, 8.73% water content respectively. The phytopathogenic fungi with the highest incidence were *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., in the forest seeds of calabash, genipap, juçara and annatto, respectively. The seeds treated with neem oil and those microbiolized with *B. methylotrophicus* obtained significant control for *Aspergillus* sp; *Penicillium* sp., In genipap seeds; *Lasiodiplodia* sp. and *Fusarium* sp. in annatto seeds. Therefore, the use of *B. methylotrophicus* and neem oil can be considered viable alternatives to reduce pathogens from forest seeds.

Keywords: Biological control; *Bacillus methylotrophicus*; *Azadirachta indica*

1 INTRODUÇÃO

Sementes de espécies florestais são muito utilizadas para plantios de recuperação de áreas degradadas e áreas de reflorestamento, tanto em projetos voluntários como em comerciais, intensificando assim o mercado de produção de sementes. No bioma amazônico, as árvores de grande porte totalizam 2.500 espécies dentre mais de 30 mil espécies de plantas (das 100 mil existentes na América do Sul). São mais de 2.000 espécies de plantas identificadas como de utilidade na alimentação, bem como na produção de óleos, graxas, ceras, geração de renda, uso da madeira, resinas e látex, utilização nos preparos medicinais e ritualísticos (BRASIL, 2019).

A crescente demanda por sementes florestais exige um conhecimento da qualidade fisiológica e fitossanitária. Sendo assim, a avaliação da qualidade das sementes contribui para a tomada de decisão nas etapas finais da produção, armazenamento e comercialização destas sementes.

A dormência e as condições ambientais influenciam nas condições ideais para germinação das sementes e emergência das plântulas. Cada espécie florestal possui uma resposta diferenciada nesses processos fisiológicos. Dessa forma, é de fundamental importância ter total conhecimento das condições ótimas para a germinação e emergência de cada espécie.

As sementes são portadoras eficientes de fitopatógenos e estes podem interferir na germinação, emergência das plântulas e no desenvolvimento das plantas em campo. É fundamental que se utilizem sementes sadias para evitar ou reduzir a disseminação desses fitopatógenos. As doenças são normalmente controladas por meio de aplicações de fungicidas, e essa prática tem agravado problemas como a contaminação ambiental com resíduos de agrotóxicos e a seleção de populações de patógenos resistentes a essas substâncias (PARISI *et al.*, 2019).

Uma alternativa no manejo de doenças de plantas é o controle biológico e o uso de óleos essenciais, pois utilizam ingredientes biodegradáveis, seguros ao homem, seletivos a outros organismos e que não causam desequilíbrios quando comparados aos agrotóxicos. Entre os gêneros mais usados em controle biológico, *Bacillus* spp. se destaca por apresentar diversos mecanismos antagônicos, sendo a antibiose o principal modo de ação antagônica. Para o tratamento de sementes, *Bacillus methylotrophicus* Madhaiyan, já vem sendo utilizado na microbiolização de sementes em vários patossistemas, como em (*Daucus carota* L. x *Alternaria alternata*) (DOGNINI, 2017); (*Capsicum annum* L. x *Colletotrichum gloeosporioides*) (DOURADO *et al.*, 2020); (*Oryza sativa* x *Monographella albescens*), entre outros, promovendo controle de até 100% dos fitopatógenos (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Produtos com princípios ativos vegetais têm sido estudados como alternativa aos fungicidas sintéticos para o manejo de fungos fitopatogênicos. Dentre as espécies utilizadas como fungicida destaca-se o nim, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), uma importante planta com atividade fungicida e adaptada ao Brasil. O nim possui mais de 50 terpenoides já identificados, no entanto, a azadiractina é o principal composto bioativo (SANTOS *et al.*, 2017).

A sustentabilidade do manejo de doenças de plantas depende da integração de diferentes ferramentas de controle. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi traçar o perfil fisiológico, sanitário e o controle de fitopatógenos em quatro espécies de sementes florestais utilizando *B. methylotrophicus* e óleo de nim.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Material vegetal e área de estudo

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação, do Núcleo de Biotecnologia Agronômica da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, *Campi São Luís* - MA.

Sementes de quatro espécies florestais, juçara (*Euterpe oleraceae* Mart.), jenipapo (*Genipa americana* L.), urucum (*Bixa orellana* L.) e cuiá (*Crescentia cujete* L.) foram coletadas manualmente, no primeiro semestre de 2019 na Reserva Extrativista Quilombo do Frechal, município de Mirinzal - MA. Após a coleta, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel e conduzidas ao laboratório de fitopatologia da Universidade Estadual do Maranhão. As sementes foram lavadas em água corrente. As que possuíam polpa, foram despulpadas com auxílio de peneira e água corrente. Após esses procedimentos, todas as sementes foram secas à sombra, acondicionadas em sacos de papel e plástico e armazenadas em geladeira.

2.2 Testes realizados

Foram realizados os testes de teor de água, germinação, índice de velocidade de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência e o manejo de doenças com *B. methylotrophicus* e óleo de nim.

Antes da realização dos testes, as sementes passaram pelo processo de desinfestação superficial com água destilada, álcool 70% e hipoclorito de sódio a 5%. Para cada etapa, as sementes ficaram emergidas por dois minutos e após imersão em hipoclorito de sódio, foram lavadas três vezes em água destilada.

Para o teste de germinação, as sementes foram dispostas em rolos de papel Germitest esterilizados, com duas folhas para a base e uma para a cobertura, umedecidas com água destilada e mantidas em câmara de germinação a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. A contagem de sementes de juçara iniciou 15 dias após semeadura (DAS) e finalizou 60 DAS; jenipapo iniciou após sete DAS e finalizou 40 DAS; urucum iniciou 20 DAS e finalizou 90 DAS; cuia iniciou após sete DAS e finalizou 21 DAS. Para cada espécie, o teste foi realizado em períodos diferentes. Foram utilizadas oito repetições de 100 sementes para jenipapo; quatro repetições de 100 sementes para urucum e cuia, e oito repetições de 25 sementes para juçara.

O teste de emergência foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, semeadas em bandejas de plástico, com areia autoclavada, em casa de vegetação. A avaliação em sementes de juçara, jenipapo e urucum foi feita a cada três dias e em cuia foi feita diariamente conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e Instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013), considerando as plântulas emergidas presentes, expressando-se o resultado em porcentagem.

O teor de água foi calculado com base na massa fresca, pelo método padrão de estufa $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24 horas de acordo com RAS, sendo os resultados expressos em porcentagem.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi realizado durante a condução do teste de germinação, avaliando-se diariamente, a partir do dia em que as primeiras sementes emitiram radícula até o dia da última contagem. O índice de velocidade de emergência (IVE) foi feito em conjunto com o teste de emergência de plântulas. A contagem foi realizada diariamente, a partir da primeira plântula até o último dia da contagem.

O teste de sanidade das sementes foi realizado pelo método de incubação em papel de filtro ou *Blotter test*. Inicialmente, as sementes foram desinfestadas por dois minutos através de imersão em álcool 70%, em seguida em hipoclorito de sódio

(NaOCl) a 5%, seguida de três lavagens com água destilada. Depois, as sementes foram semeadas em caixas plásticas tipo “gerbox”, previamente desinfestadas por exposição à luz ultravioleta (UV), durante 20 minutos, contendo duas camadas de papel de filtro esterilizado e umedecido com água destilada, foram incubadas por sete dias a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, utilizando-se dez repetições de 20 sementes. A identificação dos gêneros fúngicos foi realizada pelas características morfológicas observadas no microscópio estereoscópico e óptico. Quando não foi possível a identificação direta, as colônias que se desenvolveram sobre as sementes foram transferidas para meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA), além de preparo de microculturas para auxiliar na identificação através de chaves dicotômicas específicas, de acordo com as estruturas reprodutivas e vegetativas.

2.3 Controle de fitopatógenos

O manejo alternativo na redução de fungos em sementes florestais foi realizado por meio de dois experimentos independentes em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e oito repetições. No primeiro experimento, foi utilizado o controle biológico com *B. methylotrophicus* e no segundo experimento, foi usado o controle fúngico com óleo de nim, ambos visando ao controle fúngico. Os tratamentos foram T1 (juçara), T2 (jenipapo), T3 (urucum) e T4 (cuia), de forma que cada tratamento teve a respectiva testemunha. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e transformados na \sqrt{x} , com comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para o primeiro experimento, foi realizado o processo de microbiolização das sementes florestais com *B. methylotrophicus*, multiplicada em meio de cultura BDA e levada à BOD para crescimento por 72 horas a 28°C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse tempo, foi preparada suspensão bacteriana ajustando sua concentração para 10^8 UFC ml⁻¹ e determinada sua concentração em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm e absorvância de 0,5. As sementes foram imersas na suspensão

preparada com solução salina (NaCl 0,85%) e *B. methylotrophicus* em quantidade suficiente para cobrir as sementes e colocadas em mesa agitadora a 300 rpm por 30 minutos; para o segundo experimento, as sementes foram tratadas com óleo de nim através de pulverização com auxílio de um pulverizador manual. O óleo de nim foi diluído a 15 ml por litro de água destilada. Após todos esses procedimentos, 160 sementes, de cada espécie florestal, foram distribuídas em oito caixas gerbox (para cada espécie) contendo duas folhas de papel de filtro esterilizados, umedecidas com água destilada e incubadas por sete dias a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A testemunha constou das sementes imersas em água destilada. A avaliação da incidência dos patógenos ocorreu por número de sementes com crescimento fúngico visível após sete dias, examinando-se individualmente as sementes em microscópio estereoscópico para observação da incidência dos fitopatógenos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de cuia começaram a germinar aos cinco dias após a semeadura (DAS) e alcançaram estabilidade aos 23 DAS, com percentual de 63,5% de sementes germinadas e índice de velocidade de germinação (IVG) de 2,84; enquanto as sementes de jenipapo germinaram aos sete DAS e alcançaram estabilidade aos 91 DAS, com percentual de 67,00% de sementes germinadas e IVG de 2,18; sementes de juçara iniciaram a germinação 30 DAS e alcançaram estabilidade aos 75 DAS, com total de 9% de sementes germinadas e IVG de 3,88; as sementes de urucum iniciaram a germinação aos quatro DAS e alcançaram estabilidade aos 13 DAS, obtendo 17,5% de sementes germinadas e IVG de 11,26; (Tabela 1).

As sementes de cuia emergiram aos nove dias após semeadura (DAS) e alcançaram estabilidade aos 28 DAS, com um percentual de 63,5% de sementes emergidas e IVE de 3,00. As sementes de jenipapo começaram a emergir aos 179 DAS, e neste mesmo dia, alcançaram estabilidade, com 7% de sementes emergidas e IVE de 0,28. As sementes de juçara iniciaram a emergência aos 78 DAS, finalizando com

apenas 0,5% de sementes emergidas. Seu índice de velocidade de emergência (IVE) foi de 0,00. Já as sementes de urucum emergiram aos 17 DAS e alcançaram estabilidade aos 38 DAS, com emergência de 0,5% e IVE de 0,29 (Tabela 1).

Tabela 1 – Perfil fisiológico de sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal

Espécies	Germinação	Índice de Velocidade de Germinação	Emergência	Índice de Velocidade de Emergência	Umidade
	(%)		(%)		(%)
Cuia	63,5	2,84	63,5	3	8,73
Jenipapo	67	2,18	7	0,28	12,15
Juçara	9	0,11	0,5	0	22,81
Urucum	17,5	11,26	0,5	0,29	15,66

Fonte: Autores (2020)

O teste de umidade das sementes de cuia apresentou 8,73% de umidade; sementes de jenipapo apresentaram 12,15%; de juçara 22,81% e urucum 15,66% (Tabela 1).

Para o valor de germinação de sementes de cuia, obteve-se o percentual de 63,5% de sementes germinadas e IVG de 2,84, os quais foram superiores aos observados por Azevedo *et al.* (2010), que obtiveram germinação de 28% e IVG de 0,5 para sementes desta espécie. Provavelmente isso ocorreu devido às sementes de cuia utilizadas nesta pesquisa possuírem maior vigor do que as utilizadas por esses autores.

O percentual de emergência para sementes de cuia foi de 63,5%, com valor do IVE de 3,00. Valor divergente foi alcançado por Valverde-Rodríguez, Morales e García (2019), que, trabalhando com sementes de *Crescentia alata*, obtiveram valor de emergência superior a 80%. Esse resultado pode estar relacionado com o manuseio das sementes desde a colheita até a implementação dos testes.

O teste de umidade para sementes de cuia obteve o percentual de 8,73%, valor diferente do encontrado por Obayomi, Suleiman e Bashir (2019), também analisando

sementes de cuia, que obtiveram 19,16% de umidade. É possível que isso tenha relação com o tempo de coleta do fruto e da retirada das sementes de cuia, como também do beneficiamento destas sementes, influenciando no teor de água.

Nesta pesquisa, as sementes de jenipapo apresentaram um percentual de 67,00% de sementes germinadas e IVG de 2,18. Possivelmente, a baixa germinação das sementes de jenipapo se deu devido às sementes possuírem dormência e pelo teor de água, conforme foi demonstrado em experimento de Arruda *et al.* (2018).

Os resultados da presente pesquisa para jenipapo foram de 7,00% de sementes emergidas e IVE de 0,28. A baixa emergência das sementes de jenipapo pode ter ocorrido devido às sementes de jenipapo serem de baixa viabilidade, conforme afirmam Salla, José e Faria (2016), que, trabalhando com Jenipapo, obtiveram percentual de emergência de 16,5% e 18,3%.

O teor de água nas sementes de jenipapo foi de 12,15%. Comparando os resultados do presente trabalho aos obtidos por Salla, José e Faria (2016), com sementes de jenipapo, verifica-se que obtiveram valor de teor de água de 56%. Essa diferença pode ter ocorrido devido ao teste de teor de água não ter sido feito logo após a retirada da mucilagem das sementes de jenipapo. Pois, após a retirada da mucilagem, o teor de água ainda é alto.

Souza *et al.* (2018) obtiveram, em sementes de juçara não hidratadas e reidratadas por nove dias, germinação de 2 e 80%. Os resultados obtidos neste trabalho com 9% de germinação de sementes de juçara são divergentes aos obtidos por esses autores, possivelmente, devido à dormência tegumentar e à não reidratação das sementes de juçara.

Nascimento, Cícero e Novembre (2010), analisando a conservação de sementes de *Euterpe oleracea*, identificaram que sementes com teor de água abaixo de 37,4% tiveram o processo de deterioração das sementes iniciado. Esse processo foi se tornando mais intenso quando o teor de água foi reduzido para valores iguais ou inferiores a 26,1%, constatado pelas reduções da germinação e vigor. Quando o teor de água

chegou a 15,1%, a emergência foi anulada. Esses autores afirmam que as sementes de *Euterpe oleracea* são recalcitrantes e estão sujeitas à deterioração decorrente da secagem; sendo o teor de água crítico entre 34,2 a 37,4%, abaixo disso, a viabilidade é reduzida. Conforme a análise desses autores, o teor de água nas sementes de juçara (22,81%), da presente pesquisa, encontra-se na faixa crítica. Possivelmente, esse fato, pode ter influenciado nas outras variáveis analisadas.

As sementes de urucum obtiveram 17,50% de sementes germinadas e IVG de 11,26. Esses resultados corroboram os de Sousa *et al.* (2015), que, trabalhando com sementes de urucum, também obtiveram baixa germinação (29%) e valor de IVG de 1,6. Esses autores afirmam que a propagação sexuada do urucum é dificultada devido à dormência tegumentar, dificultando, assim, a absorção de água pelas sementes para desencadear a germinação.

O valor de germinação de sementes de urucum, nesta pesquisa, foi superior aos alcançados por Picolotto *et al.* (2013), que obtiveram valores de 8% e IVG de 0,6 para sementes de urucum sem tratamento. Esses autores constataram que mesmo superando a dormência, as sementes de urucum ainda apresentam baixa germinação. Também observaram que as sementes possuem baixa viabilidade.

As sementes de urucum obtiveram um percentual de 0,5% de sementes emergidas e IVE de 0,29. Resultados divergentes foram alcançados por Melo Junior *et al.* (2019), que alcançaram valor de emergência em sementes de urucum de 100% e IVE de 0,4 em três substratos testados. O resultado alcançado nesta pesquisa pode ser explicado devido às sementes de urucum possuírem dormência tegumentar e serem sementes de baixa viabilidade, conforme constataram Picolotto *et al.* (2013).

A percentagem de umidade nas sementes de urucum foi de 15,66%. Resultado aproximado foi alcançado por Costa *et al.* (2013), que, trabalhando com sementes de urucum, obtiveram o percentual de 12,42% de umidade nas sementes.

Diferentemente dos resultados obtidos nesta pesquisa, com sementes de urucum, Araújo *et al.* (2019), analisando cinco amostras de 50 sementes de urucum, encontraram valores de teor de água de 3,00; 0,00; 10,00; 0,40 e 3,08%. Conforme esses autores, esses valores relativamente baixos podem estar relacionados com fatores abióticos e ao longo período de desligamento das sementes da planta-mãe.

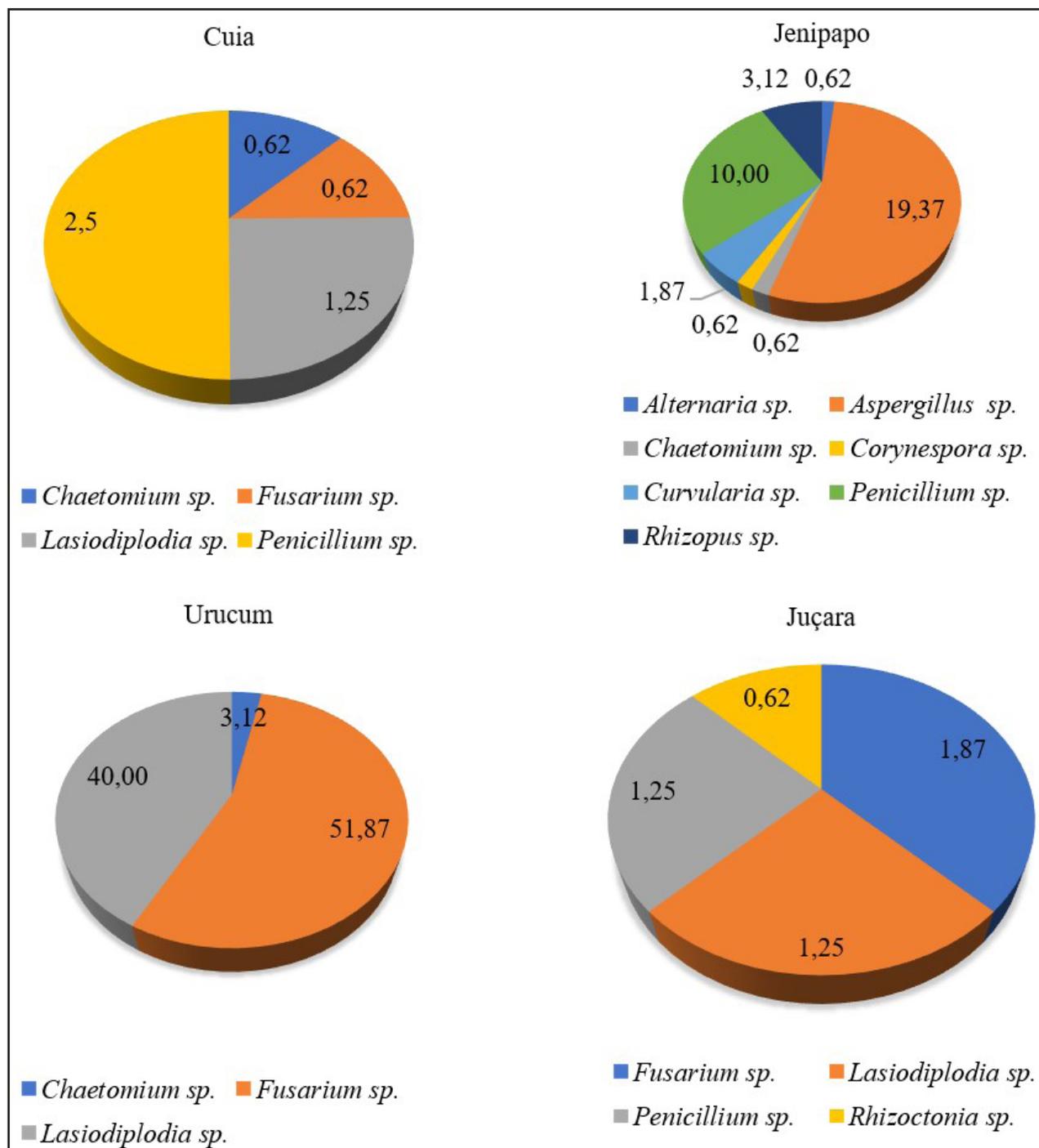
Dornelas *et al.* (2015), analisando o teor de água em sementes de urucum, obtiveram valor de 82,43% de umidade das sementes aos 29 dias após a antese, sendo observado que, após esse período, houve redução lenta e gradativa no teor de água, chegando a menos de 20% após 120 dias da antese. Esse resultado corrobora os desta pesquisa, pois as sementes de urucum foram coletadas após 120 dias de antese e o teor de água foi 15,66%.

De acordo com Oliveira (2012), a dormência é a incapacidade das sementes de germinarem, mesmo havendo fatores ambientais favoráveis. Essa incapacidade é considerada como mecanismo de sobrevivência das espécies, ordenando a germinação no tempo e no espaço, ampliando a possibilidade de estabelecimento e/ou a colonização dos indivíduos em novas áreas. Esse fato pode explicar a baixa germinação das sementes, principalmente juçara e urucum.

Através do teste de sanidade foi possível verificar que a maior incidência fúngica em cuja foi de *Penicillium* sp.; em jenipapo de *Aspergillus* sp.; em juçara e urucum foi de *Fusarium* sp. (Figura 1).

Os gêneros *Aspergillus* sp.; *Penicillium* sp.; *Chaetomium* sp. e *Rhizopus* sp., considerados como “fungos de armazenamento”, produzem micotoxinas que são formadas pelo metabolismo secundário quando esses microrganismos estão sujeitos às condições climáticas favoráveis e podem causar prejuízos na germinação e no vigor das sementes (PRESTES *et al.*, 2019).

Figura 1 – Porcentagem de incidência de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal



Fonte: Autores (2020)

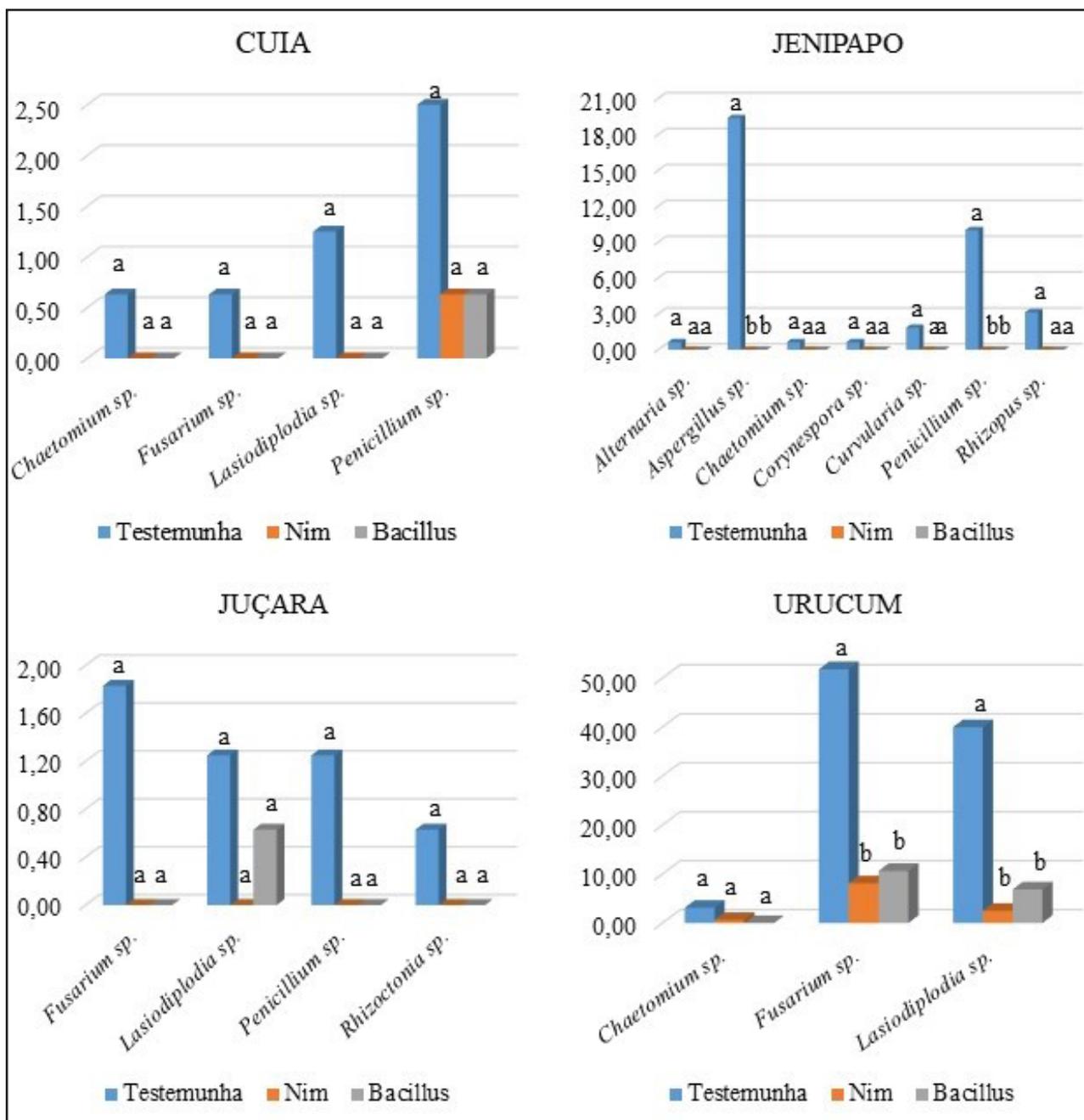
Fusarium é um dos principais gêneros de fungos fitopatogênicos relatados em associação com sementes de espécies florestais, sendo responsável por danos em

sementes, afetando a germinação; causando podridão radicular e tombamento de plântulas. No território brasileiro, espécies do gênero *Fusarium* foram descritas em associação com sementes de aproximadamente 100 espécies florestais e identificado como causador de tombamento em mudas de espécies nativas e exóticas (SANTOS; REGO, 2011). O gênero *Lasiodiplodia* sp. é constituído de fitopatógenos oportunistas que, associado às sementes, causa redução no potencial germinativo e no desenvolvimento de plântulas, assim como a podridão de sementes (MACIEL *et al.*, 2012). De acordo com esses autores e com os resultados alcançados nesta pesquisa, vê-se a grande importância do teste de sanidade para as sementes florestais, como meio de prevenir a contaminação de sementes sadias, bem como a contaminação de áreas livres de fitopatógenos.

Vechiato e Parisi (2013) também identificaram fungos considerados potencialmente patogênicos às sementes florestais, podendo ocasionar podridão, manchas foliares e danos em plântulas: *Pestalotia*, *Botrytis*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Macrophomina*, *Stemphylium*, *Exerohilum*, *Curvularia* e *Fusarium*. Destes, apresentaram incidências expressivas: *Phomopsis* (83,0%), *Macrophomina* (44,5%), *Stemphylium*, (52,0%) e *Fusarium* (34,5%). Esses resultados corroboram os desta pesquisa, pois confirmam a presença de diferentes gêneros de fungos nas sementes florestais, que podem, de alguma forma, interferir na produção de mudas, reduzindo o número de plantas emergidas e contaminando o substrato, refletindo na qualidade sanitária da muda produzida e acarretando prejuízos ao produtor.

Os tratamentos com *B. methylotrophicus* obtiveram 100% de redução para os seguintes fitopatógenos: *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., em sementes de jenipapo; 82,82% para *Lasiodiplodia* sp. e 79,52% para *Fusarium* sp., em sementes de urucum (Figura 2).

Figura 2 – Porcentagem de incidência de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal tratadas com óleo de nim e *Bacillus methylotrophicus*



Fonte: Autores (2020)

Em que: *Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Dados transformados pela \sqrt{x} .

Resultado semelhante foi obtido nos tratamentos com *óleo de nim*, em que houve redução de 100% para: *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., em sementes de jenipapo; 93,75% para *Lasiodiplodia* sp. e 84,34% para *Fusarium* sp., em sementes de urucum (Figura 2).

O controle biológico mediado por espécies de *Bacillus* tem sido largamente comprovado na literatura, em diferentes patossistemas, reforçando os resultados encontrados nesta pesquisa. Bezerra *et al.* (2013), avaliando sementes de soja microbiolizadas com *B. licheniformis* e *B. pumilus*, obtiveram 99,83% e 99,22% de controle dos fungos nas sementes. Já Sá *et al.* (2019), utilizando sementes microbiolizadas de *Vigna unguiculata* com *Bacillus* sp. e *B. subtilis*, obtiveram controle fúngico de 91,75% e 89%, respectivamente.

Corroborando os resultados da presente pesquisa, Dognini (2017), trabalhando com sementes de cenoura, cultivar Erica, microbiolizadas com *Bacillus* spp., obteve 100% de controle para *Fusarium* spp. Sá *et al.* (2019), trabalhando com sementes de feijão-caupi microbiolizadas com *Bacillus* sp. (BMH), *B. subtilis* (LCB 30) e *B. subtilis* (LCB 45), obtiveram redução fúngica de 91,75%; 93,25% e 89,00%, respectivamente.

A espécie *B. methylotrophicus* tem sido muito promissora na redução de fitopatógenos em sementes e na redução da severidade de doenças em campo. Nascimento *et al.* (2020), utilizando sementes de arroz microbiolizadas com *B. methylotrophicus*, alcançaram resultados satisfatórios na redução do fitopatógeno *Monographella albescens*, diminuindo assim a severidade da escaaldadura foliar na variedade BRS-Primavera. Dourado *et al.* (2020), trabalhando com sementes de pimentão, observaram 100% de controle dos fitopatógenos *Aspergillus* spp., *Curvularia lunata* e *Rhizopus stolonifer* e *Fusarium* sp. associados a estas sementes, microbiolizadas com isolados de *B. methylotrophicus*. Esses resultados corroboram os alcançados nesta pesquisa, pois a redução de 100% foi alcançada para *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.

Os resultados deste trabalho sugerem que o *B. methylotrophicus*, utilizado na microbiolização das sementes florestais, apresentou em algum nível ação

biocontroladora de fitopatógenos que causam injúrias às sementes. Bactérias antagônicas, como *B. methylotrophicus*, de maneira geral, agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição, e seus isolados produzem uma grande variedade de metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina.

Em relação à eficiência de redução de fitopatógenos do óleo de nim, Silva *et al.* (2011), trabalhando com cinco cultivares de sementes de arroz tratadas com óleo de nim, obtiveram 66% de controle sobre o *Fusarium* sp. A presente pesquisa alcançou resultado superior de controle fúngico comparado ao destes autores, com 79,52% de controle sobre *Fusarium* sp. Possivelmente, o uso do óleo de nim, nesta pesquisa, em maior concentração, proporcionou maior controle fúngico do que o alcançado por esses autores.

Silva, Santos e Gomes (2014), analisando sementes de feijão-caupi tratadas com óleo de nim a 4%, obtiveram na cultivar maranhão controle 86% para *Aspergillus* sp. Neste trabalho, houve redução superior ao alcançado por esses autores com controle de 100% para *Aspergillus* sp. Provavelmente, a pulverização das sementes, ao invés de sementes submersas na diluição, proporcionou melhor adsorção do óleo de nim nas sementes, alcançando assim maior controle deste fitopatógeno.

O óleo de nim em concentrações superiores a 2% foi capaz de inibir o crescimento micelial de *Schizophyllum commune*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Coniophora puteana* e *Alternaria alternata* que causam podridão em madeira (RAWAT *et al.*, 2017). Nesta pesquisa, o óleo de nim foi capaz de reduzir em 100% os fitopatógenos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., em sementes de jenipapo. Possivelmente, esse resultado se deu devido ao uso do óleo de nim diretamente sobre as estruturas dos fitopatógenos, promovendo maior redução fúngica.

A eficácia do óleo de nim como fumigante em *Tectona grandis* e *Araucaria angustifolia* foi comprovada por Ganguly *et al.* (2020), promovendo a inibição do crescimento de fungos causadores de bolores e manchas em madeira, revelando o efeito potencial deste óleo como conservante ecológico, alternativo aos produtos químicos tóxicos existentes.

4 CONCLUSÃO

As sementes de jenipapo, juçara e urucum obtiveram um baixo percentual de germinação e emergência, com exceção das sementes de cuia. O teor de água para as sementes de jenipapo, juçara e urucum foi abaixo da faixa ideal; com bom resultado para cuia.

A maior incidência fúngica em cuia foi de *Penicillium* sp.; em jenipapo de *Aspergillus* sp.; em juçara e urucum foi de *Fusarium* sp.

As sementes tratadas com óleo de nim e as microbiolizadas com *Bacillus methylophilus* obtiveram controle significativo para *Aspergillus* sp.; *Penicillium* sp., em sementes de jenipapo; *Lasiodiplodia* sp. e *Fusarium* sp. em sementes de urucum.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo ao primeiro autor e ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, M. K. C. *et al.* Caracterização física das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.), visando processos de pós-colheita. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 592-600, 2019.
- ARRUDA, S. A. *et al.* Physiological potential of jenipapo seeds stored in different packages. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 34, n. 2, p. 287-295, 2018.
- AZEVEDO, C. F. *et al.* Germinação de sementes de cabaça em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 3, p. 354-357, 2010.
- BEZERRA, G. A. *et al.* Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. **Revista Agroecossistemas**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 68-73, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília, DF: Mapa; ACS, 2013. 98 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa; ACS, 2009. 398 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Bioma Amazônia**. Brasília, 2019. Disponível em: 461 <https://www.mma.gov.br/biomas/amazonia>. Acesso em: 30 set. 2020.

COSTA, C. K. *et al.* Identificação de δ tocotrienol e de ácidos graxos no óleo fixo de urucum (*Bixa orellana* Linné). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 12, n. 4, p. 508-512, 2013.

DOGNINI, A. C. **Interferências das aplicações de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. na qualidade das sementes de cenoura**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

DORNELAS, C. S. M. *et al.* Desenvolvimento na maturação de frutos e sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.). **Scientia Plena**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2015.

DOURADO, G. F. *et al.* Alternative seed treatment methods for plant pathogen control in sweet pepper crops. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 15, n. 3, p. 101-110, 2020.

GANGULY, S. *et al.* Screening of *Azadirachta indica* seed oil against sap-stain and mould fungi in imported *Tectona grandis* and southern yellow pine wood through fumigation. **Journal of Tropical Forest Science**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 114-124, 2020.

MACIEL, C. G. *et al.* *Trichoderma* spp. no biocontrole de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus saligna*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 36, n. 5, p. 825-832, 2012.

MELO JUNIOR, L. M. *et al.* Germinação de sementes e crescimento inicial de urucum (*Bixa orellana* L.) sob diferentes substratos submetidos a estresse salino. **Revista Ambientale**, Arapiraca, v. 11, n. 1, p. 56-69, 2019.

NASCIMENTO, W. M. O.; CÍCERO, S. M.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Conservação de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 24-33, 2010.

NASCIMENTO, I. O. *et al.* Effects of silicon and seed microbiolization with *Bacillus methylotrophicus* against leaf spot (*Curvularia lunata*) in rice. **International Journal of Research - Granthaalayah**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 203-212, 2020.

OBAYOMI, M. O.; SULEIMAN, B.; BASHIR, A. Y. Proximate and anti-nutrient composition of *Azzeria africana* and *Crescentia cujete* seeds. **Ife Journal of Agriculture**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 72-79, 2019.

OLIVEIRA, O. S. **Tecnologia de sementes florestais: espécies nativas**. Curitiba: Ed. UFPR, 2012. 404 p.

PARISI, J. J. D. *et al.* Patologia de sementes florestais: danos, detecção e controle, uma revisão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 45, n. 2, p. 129-133, 2019.

PICOLOTTO, D. R. N. *et al.* Germinação de sementes de urucum em função de métodos de superação de dormência e temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 3, p. 232-238, 2013.

PRESTES, I. D. *et al.* Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências. **Scientia Agropecuaria**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 559-570, 2019.

RAWAT, K. *et al.* Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Oil against Decay Fungi. **Science and Technology Journal**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 48-51, 2017.

SÁ, M. N. F. *et al.* Microbiolização na qualidade de sementes e crescimento inicial de plantas de *Vigna unguiculata* L. Walp. **Acta Brasiliensis**, Patos, v. 3, n. 3, p. 111-115, 2019.

SALLA, F.; JOSÉ, A. C.; FARIA, J. M. R. Análise Ecofisiológica da *Genipa americana* L. Em banco de sementes induzido. **Cerne**, Lavras, v. 22, n. 1, p. 93-100, 2016.

SANTOS, A. F.; REGO, S. S. Hospedeiros, métodos de detecção e fungos encontrados em sementes florestais. In: SANTOS, A. F.; PARISI, J. J. D.; MENTEN, J. O. M. **Patologia de Sementes Florestais**. [s. l.]: Embrapa Florestas, 2011. p. 115-188.

SANTOS, M. D. *et al.* Eficiência do óleo de nim e do extrato pironim sobre o ácaro vermelho do tomateiro *Tetranychus evansi* Baker e Pritchard (acarí: tetranychidae). **Revista Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 15, n. 2, p. 53-59, 2017.

SILVA, G. C.; SANTOS, C. C.; GOMES, D. P. Incidência de fungos e germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.(Walp) tratadas com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 850-855, 2014.

SILVA, M. S. B. S. *et al.* Redução de fitopatógenos de sementes de arroz através do tratamento com extratos vegetais e óleo de nim. **Cadernos de Agroecologia**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 1-4, 2011.

SOUSA, F. H. M. *et al.* Umedecimento do substrato, temperatura na germinação e vigor de sementes de *Bixa orellana* L. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 31, 2015.

SOUZA, P. A. *et al.* Efeito da reidratação na germinação de sementes de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 17, n. 2, p. 286-291, 2018.

VALVERDE-RODRÍGUEZ, K.; MORALES, C. O.; GARCÍA, E. G. Germinación de semillas de *Crescentia alata* (Bignoniaceae) en distintas condiciones de temperatura, luminosidad y almacenamiento. **Revista de Biología Tropical**, [s. l.], v. 67, n. 2, p. 120-131, 2019.

VECHIATO, M. H.; PARISI, J. J. D. Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 27-32, 2013.

Contribuição de Autoria

1 – Wildinson Carvalho do Rosário

Engenheiro Agrônomo, Me.

<https://orcid.org/0000-0002-3840-0099> • wildinsoncr@hotmail.com

Contribuição: Curadoria de dados, Análise Formal, Investigação, Metodologia, Visualização de dados (Tabelas e Gráficos), Escrita – primeira redação

2 – Antônia Alice Costa Rodrigues

Engenheira Agrônoma, Dra., Professora

<https://orcid.org/0000-0002-9084-0868> • aacrodrigues@outlook.com

Contribuição: Conceituação, Obtenção de financiamento, Administração do projeto, Supervisão, Validação

3 – Anna Christina Sanazário de Oliveira

Engenheira Agrônoma, Dra., Pesquisadora

<https://orcid.org/0000-0002-9769-0567> • annasanazario@gmail.com

Contribuição: Investigação, Metodologia, Supervisão, Escrita – revisão e edição

4 – Claudio Belmino Maia

Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor

<https://orcid.org/0000-0001-6687-8658> • claudiobelmino@yahoo.com.br

Contribuição: Supervisão, Escrita – revisão e edição

5 – Bruno Rafael Marques

Graduando, Engenharia de Pesca, Pesquisador

<https://orcid.org/0000-0003-2274-1216> • brunomarquesof@hotmail.com

Contribuição: Investigação, Metodologia

Como citar este artigo

Rosário, W. C.; Rodrigues, A. A. C.; Oliveira, A. C. S.; Maia, C. B.; Marques, B. R. Fisiologia, sanidade e controle de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal em Mirinzal - MA. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 959-978, 2022. DOI 10.5902/1980509864510. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509864510>.