

NOTA CIENTÍFICA

QUALIDADE SANITÁRIA DE SEMENTES DE MAÇARANDUBA

ELEANDRO CANDIDO DAPONT¹; JOSUÉ BISPO DA SILVA²;
LÍVIA MARIA SAMPAIO DE SOUZA³, MARCO ANTONIO CAMILLO DE
CARVALHO⁴, CHARLINE ZARATIN ALVES⁵

Recebido em 30.08.2013 e aceito em 15.12.2013.

¹Mestre em Agronomia, Centro de Ciência Biológicas e da Natureza/CCBN, Universidade Federal do Acre/UFAC, Rod. BR 364, s/n, 69915-900, Rio Branco, AC, Brasil, candidodapont@hotmail.com;

²Prof. Adjunto, CCBN/UFAC, josuebispo@bol.com.br;

³Enga. Florestal, CCBN/UFAC, liviamss@live.com;

⁴Prof. Adjunto, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, 78580-000, Alta Floresta, MT, Brasil, marcocarvalho@unemat.br.

⁵Prof. Adjunto, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus Chapadão do Sul, Estrada Fazenda Campo Bom, s/n, Chapadão do Sul, MS, Brasil, charline.alves@ufms.br

RESUMO: A qualidade sanitária das sementes assume grande importância em programas de formação de mudas. O objetivo foi determinar o método mais eficaz para identificar fungos em sementes de *Manilkara huberi*. Foram testados os métodos do papel-de-filtro e do meio de cultura batata-dextrose-água (BDA). Antes da instalação dos testes as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (1,5% por 5min) para eliminação de fungos saprófitas na superfície da semente. Os fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. podem se associar a sementes de *M. huberi*. Os métodos de incubação em papel-de-filtro e em meio BDA são eficazes para a condução do teste de sanidade em sementes de *M. huberi*, entretanto, o meio BDA é mais adequado por ser um substrato rico em nutrientes.

Palavras chave: *Manilkara huberi*, sanidade, patógenos.

SANITARY QUALITY OF MAÇARANDUBA SEEDS

ABSTRACT: Seed quality assumes great importance in programs to seedlings production. The aim was to determine a procedure to identify fungi in *Manilkara huberi* seeds. Were tested the methods of paper-filter (blotter test) and potato dextrose agar (PDA). Before test installation seeds were immersed in a solution of sodium hypochlorite (1.5%/5 min) to elimination of saprophytic fungi on inner seeds. *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. can be associated with *M. huberi* seed. Incubation methods in paper-filter and PDA are effective for conducting sanity test in *M. huberi* seeds, however, the PDA is more suited to be a substrate rich in nutrients.

Key words: *Manilkara huberi*, sanity, pathogens.

INTRODUÇÃO

Maçaranduba (*Manilkara huberi* Ducke Standl. - Sapotaceae) tem sido altamente explorada pelo setor madeireiro (Azevedo et al., 2003), pois possui madeira de alta durabilidade, mesmo em contato direto com o solo, o que possibilita sua indicação para uso em construção e estruturas de suporte, ou ainda em outras aplicabilidades onde são maiores os riscos de danos ocasionados por fatores climáticos e pela diversidade de insetos e fungos xilófagos (Jesus et al., 1998). Essa exploração intensa de forma extrativista pode reduzir sensivelmente a

população de plantas da espécie, o que torna necessária a realização de estudos para viabilizar a produção de mudas destinadas ao uso em projetos de reflorestamento.

Sementes de alta qualidade é fator determinante no êxito de um empreendimento florestal, influenciando diretamente no resultado final do plantio, proporcionando uniformidade de população, alto vigor de plantas e ausência de doenças transmitidas via semente. No Brasil, o setor de produção de sementes florestais nativas carece de informações sobre a ocorrência de fungos e,

para sementes de maçaranduba, são poucos os trabalhos avaliando a presença de fungos.

A associação de microrganismos com sementes é um dos sérios problemas na formação de mudas de espécies florestais, pois, quando não impedem a germinação, provocam anormalidades e/ou lesões nas plântulas (Netto & Faiad, 1995). Portanto, a análise sanitária é essencial para evitar que as sementes funcionem como fonte de inóculo primário e aumentem as perdas, prevenindo que ocorra a introdução de novos patógenos em área indene e também que se possa aumentar os índices de germinação (Brasil, 2009), principalmente para as sementes florestais, uma vez que determinadas espécies apresentam periodicidade de produção de sementes, produzindo grande quantidade em um ano e pequena no ano seguinte. Desse modo, o conhecimento das condições sanitárias das sementes de maçaranduba assume grande importância na formação de mudas e no auxílio aos testes de germinação em laboratório. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar métodos de crescimento para identificar a população de microrganismos associados às sementes de *M. huberi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos nos Laboratórios de Fitopatologia da Universidade Federal do Acre e do Centro de Pesquisas Agroflorestais da Embrapa Acre, Rio Branco, AC, entre julho e outubro de 2008, com sementes fornecidas por produtores extrativistas a partir de diferentes matrizes na Floresta Estadual do Antimary (9°22'29"S e 68°23'36"W), municípios de Bujari e Sena Madureira, AC. Essas sementes foram coletadas em agosto de 2008, permanecendo armazenadas em câmara fria (10 °C e 70% UR ar) até o início dos trabalhos. O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa (105 ± 3 °C por 24 horas) (Brasil, 2009), por meio de duas repetições de 8g de sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem. Previamente à instalação do teste de sanidade, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (1,5%) durante 5 min, para desinfestação.

Na detecção de microrganismos pelo método do papel de filtro, foram utilizadas 20 caixas de acrílico tipo "gerbox" (11 x 11 x 3,5 cm), desinfestadas com solução de álcool 70%, nas quais foram colocadas duas folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada,

esterilizadas em autoclave (120 °C e 1 atm por 30 min) e levadas para o interior de uma câmara de fluxo laminar, onde 50 sementes foram dispostas sobre o papel de filtro, em dez caixas (cinco sementes por caixa) que foram vedadas com filme transparente de PVC e mantidas em B.O.D. a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas (lâmpada fluorescente com luz branca), durante sete dias. A presença ou ausência de colônias de fungos em desenvolvimento foi verificada por meio de análises visuais com o auxílio de uma lupa. Após as observações, fragmentos das estruturas fúngicas foram repicados para tubos de ensaio contendo meio BDA para observação e classificação em microscópio óptico. No método de incubação das sementes em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), adotou-se procedimento idêntico ao descrito anteriormente, utilizando-se placas de Petri (9 x 1,5 cm) esterilizadas em autoclave contendo o meio BDA, nas quais foram dispostas cinco sementes por placa. Os resultados foram expressos em porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de sanidade foram encontrados *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. (Tabela 1). Carneiro (1986) também encontrou fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em sementes de maçaranduba coletadas no Pará, além de *Trichoderma*, *Curvularia*, *Fusarium* e *Monocillium*. Observa-se que fungos encontrados em sementes de maçaranduba formadas na Amazônia Oriental (Pará) ocorrem também na Amazônia Ocidental (Acre).

TABELA 1. Fungos em sementes de *Manilkara huberi* detectados pelos métodos do papel de filtro (PF) e do meio de cultura batata dextrose ágar (BDA).

Fungos	PF	BDA
%.....	
<i>Aspergillus</i> sp.	31	44
<i>Penicillium</i> sp.	28	37
<i>Rhizopus</i> sp.	24	31

Fungos desses gêneros são os principais responsáveis pela perda da viabilidade das sementes, pois se localizam preferencialmente no embrião (Santos et al.,

1998). *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. são os principais gêneros associados às sementes de ipê-amarelo e ipê-roxo armazenadas em condições inadequadas (Botelho et al., 2008). Da mesma forma, Ferreira et al. (2004), avaliando a qualidade fisiológica de sementes de *Copaifera langsdorffii*, verificaram deterioração das sementes devido à presença de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp.

O teor de água determinado nas sementes foi de 7,6%. Segundo Cherobini et al. (2008), em sementes com baixos teores de água, próximos ao limite mínimo para o crescimento dos fungos, o ataque é lento mas, à medida que a umidade da semente se eleva, torna-se mais rápida a perda de germinação, em virtude do rápido crescimento de fungos, que acaba influenciando negativamente a produção final de mudas em consequência das perdas pelo apodrecimento de sementes e o aparecimento de lesões nas plântulas. Para Oliveira et al. (2003), principalmente *Aspergillus* e *Penicillium* são fungos que proliferam e mantêm a atividade metabólica quando o teor de água das sementes está entre 12-18%.

Para Carvalho & Nakagawa (2000), *Penicillium* e *Aspergillus* podem causar danos às sementes ao produzir enzimas hidrolíticas extracelulares e micotoxinas, substâncias conhecidas como inibidores da síntese de proteínas e ácidos nucleicos, podendo apresentar propriedades mutagênicas e antirrespiratórias. Outros efeitos são a inibição da germinação, o impedimento da atividade fotossintética e danos às membranas celulares (Braccini et al., 2001). A contaminação de sementes por fungos desses gêneros ocorre após a colheita das mesmas, sugerindo a ocorrência de problemas durante a colheita, a secagem e o beneficiamento (Machado, 1988).

Além do potencial de fungos fitopatogênicos para causar doenças nas plantas e prejuízos aos produtores, Mendonça et al. (2009) explicam que espécies micotoxigênicas podem ser encontradas em todos os principais grupos de fungos, com destaque para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Apesar das sementes não serem comestíveis, esse fungos podem causar outros tipos de toxidez ao serem manuseadas.

Em relação à incubação das sementes, 70% das caixas usadas no método do papel de filtro mostraram contaminação por fungos, com 31%, 28% e 24% de contaminação por *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, respecti-

vamente, enquanto no meio BDA 90% das placas apresentaram-se contaminadas com 44%, 37% e 31%, evidenciando que esse último método foi mais eficiente para a detecção de microrganismos em sementes de maçaranduba.

Avaliando a qualidade sanitária das sementes de caroba, Santos et al. (1998) também observaram uma maior incidência de fungos (*Aspergillus niger* - 19% e *Aspergillus flavus* - 30%) no método de plaqueamento em BDA em relação ao método de incubação em papel filtro (9,5% e 1,5%, respectivamente). Do mesmo modo, Oliveira et al. (2012) verificaram que apenas *Penicillium* sp. manifestou-se de modo semelhante nos procedimentos estudados, ou seja, houve 30% de incidência do fungo nos dois métodos de incubação. Para os outros fungos (*A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum* e *Pestalotiopsis* sp.), o método do papel de filtro permitiu desenvolvimento menos expressivo dos fungos em comparação ao meio BDA.

A superioridade do meio BDA deve-se, em grande parte, ao fato de ser um substrato rico em nutrientes (Magalhães et al., 2008), característica que pode favorecer o desenvolvimento dos fungos em maior intensidade e velocidade. Para Parisi & Santos (2011), em comparação ao papel de filtro, este método é mais adequado ao crescimento e a esporulação de determinados patógenos ou quando estes produzem colônias características no meio de cultura, sendo, dessa forma, identificadas macroscopicamente, sem o preparo de lâminas.

As sementes de espécies florestais, devido às condições favoráveis de temperatura e umidade, ficam vulneráveis ao ataque de diversos agentes bióticos, principalmente fungos, tanto no campo como no armazenamento, que podem causar descolorações do tegumento, deformações na semente, redução da germinação, doenças, manchas necróticas e apodrecimento em plântulas, podendo levar a problemas na formação das mudas, além de se constituir em focos primários de infecção no viveiro e no campo. Assim, o conhecimento preciso da flora micotoxigênica auxilia na elaboração de protocolos de coleta, beneficiamento e armazenamento de sementes, da mesma forma que permite a obtenção de resultados confiáveis nos testes de germinação e de vigor.

CONCLUSÃO

Os fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* podem se associar a sementes de *M. huberi*. Os métodos de incubação em papel de filtro e em meio BDA podem ser usados no teste de sanidade em sementes dessa planta, mas o meio BDA é mais eficaz, por ser um substrato rico em nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZEVEDO, V.C.R.; VINSON, C.C.; SILVA, V.P.; CIAMPI, A.Y. **Desenvolvimento e aplicação de marcadores microssatélites em maçaranduba (*Manilkara huberi*)**. Brasília: EMBRAPA, 2003. 3p. (Circular técnica, 25).
- BOTELHO, L.S.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, n.4, p.343-348, 2008.
- BRACCINI, A.L.; BRACCINI, M.C.L.; SCAPIM, C.A. Mecanismo de deterioração de sementes: aspectos bioquímicos e biológicos. **Informativo Abrates**, Brasília, v.11, n.1, p.10-15, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: SDA/CGAL, 2009. 202p.
- CARNEIRO, J.S. Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, p.557-566, 1986.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CHEROBINI, E.A.L.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.18, n.1, p.65-73, 2008.
- FERREIRA, R.A.; OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, D.; OLIVEIRA, A.F.; GEMAQUE, R.C.R. Qualidade fisiológica de sementes de *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae Caesalpinioideae) envelhecidas artificialmente. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.35, n.1, p.82-86, 2004.
- JESUS, M.A.; ABREU, J.W.M.R.L.S.; CÁRDIAS, M.F.C. Durabilidade natural de 46 espécies de madeira amazônica em contato com o solo em ambiente florestal. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n.54, p.81-92, 1998.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1988. 107 p.
- MAGALHÃES, H.M., CATÃO, H.C.R.M.; SALES, N.L.P.; LIMA, N.F.; LOPES, P.S.N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.8, p.2371-2374, 2008.
- MENDONÇA, M.B.; HIDALGO, A.F.; CHAVES, F.C.M. Isolamento e identificação de fungos com potencial patogênico para a saúde humana em material vegetal de uso medicinal comercializado em Manaus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, p.1208-1214, 2009.
- NETTO, D.A.M.; FAIAD, M.G.R. Viabilidade e sanidade de sementes de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.17, n.1, p.75-80, 1995.
- OLIVEIRA, L.M.; DAVIDE, A.C.; CARVALHO, M.L.M. Avaliação de métodos para quebra de dormência e desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorium dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.5, p.597-603, 2003.
- OLIVEIRA, J.D.; SILVA, J.B.; DAPONT, E.C.; SOUZA, L.M.S.; RIBEIRO, S.A.L. Métodos para detecção de fungos e assepsia de sementes de *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.6, p.945-953, 2012.
- PARISI, J.J.D.; SANTOS, A.F. Métodos convencionais de detecção de fungos em sementes. In: SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O.M. (Eds.) **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. p.49-61.
- SANTOS, M.F.; RIBEIRO, W.R.C.; FAIAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.20, n.1, p.1-6, 1998.

★★★★