

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Fungos associados a sementes de pau-brasil: efeito de local, colheita
e armazenamento, prejuízos e controle com fungicidas**

Tathiana Lisbôa Padulla

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola**

**Piracicaba
2006**

Tathiana Lisbôa Padulla
Bióloga

Fungos associados a sementes de pau-brasil: efeito de local, colheita e armazenamento, prejuízos e controle com fungicidas

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2006**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Padulla, Tathiana Lisbôa

Fungos associados a sementes de pau-brasil: efeito de local, colheita e armazenamento, prejuízos e controle com fungicidas / Tathiana Lisbôa Padulla.
- - Piracicaba, 2006.

59 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

1. Armazenamento agrícola 2. Colheita 3. Fitossanidade 4. Fungicidas 5. Fungo fitopatogênico 6. Germinação de sementes 7. Pau-Brasil I. Título

CDD 634.973323

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Dedico este trabalho primeiramente a DEUS.

Aos meus pais, Neto e Lurdinha, que, sempre com muito amor, me proporcionaram tudo para que chegasse até aqui.

Ao meu esposo, Luiz Fernando, por todo amor e compreensão,

A minha querida irmã Samantha e meu cunhado Amauri, por me apoiarem sempre, me incentivando e dando forças.

A minha avó Ester,

Aos meus avós maternos, Santa (*in memorian*) e Atílio (*in memorian*), meu avô paterno Geraldo (*in memorian*), que onde quer que estejam olham por mim,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre ser providencial em minha vida.

Agradeço, em especial meu pai Neto e minha mãe Lurdinha, por me apoiarem em todos os momentos, me encorajando, dando todas as condições necessárias para os meus estudos, além de me darem uma família maravilhosa e unida.

Ao meu esposo, Luiz Fernando, por fazer parte da minha vida, me fortalecendo, apoiando, acreditando e por ser paciente em todos os momentos. Obrigada por ter cruzado o meu caminho mais de uma vez, me dando oportunidade de te olhar com outros olhos. Que possamos caminhar sempre juntos, lado a lado, de mãos dadas, na mesma direção! Ao meu Boy, todo amor desse mundo!

À minha irmã e meu cunhado, Samantha e Amauri, pela paciência, atenção e carinho desprendidos. Por serem companheiros, compreensivos, me ajudando sempre, em qualquer momento, mesmo quando estou ausente.

A todos meus familiares, aos meus sogros, cunhados e cunhadas, primas e primos, avós, tios e tias, sobrinha, enfim, a todos que me agüentam, meu muito obrigada!!!

À Dra. Maria Heloísa Duarte Moraes (Helô), pela orientação, amizade, compreensão, preocupação, durante todos esses anos de convivência. Que a vida possa sempre me trazer pessoas como você, sem qual orientação nada seria concretizado.

Ao Prof. Dr. José Otávio Machado Menten, pela orientação, amizade e atenção diante das dificuldades encontradas no caminho.

Aos amigos do laboratório: Adriana, Anelise, Alderi, Guilherme, Laura, Lia, Pastora e Paulo, pelas boas risadas, trabalhos, companhia e apoio.

À Alessandra por me mostrar que na vida precisamos saber ceder e compreender as pessoas, fazendo que de uma amizade sejam colhidos muitos frutos.

Ao Diogo, por ser um bom amigo, pelos momentos de descontração, pelos conselhos e companheirismo.

À Luana, minha companheira de todas as horas e de todas as espécies florestais que tivemos que pesquisar. Muito obrigada pela amizade incomparável e pelo exemplo de dedicação, força de vontade e alegria que você é.

À Thaïs (grande T), que sempre me ouviu quando precisei, me apoiou, me fez rir muito e... também, por me fazer conhecer algumas dimensões da vida, como o tamanho de determinadas sementes e plântulas!!

À Vanessa, que foi a primeira a me acolher há anos, pela amizade, por sempre estar disposta a ajudar, principalmente no término da dissertação, estando pronta para ajudar, com muita boa vontade!

Todos contribuíram diariamente para que me tornasse uma pessoa melhor, além de ajudarem no desenvolvimento da pesquisa, nos momentos de dúvidas e, principalmente, por me fazerem sentir, mais uma vez, que quem tem amigos nunca está sozinho.

Aos funcionários do Departamento, em especial, Fernanda e Rodolfo, por serem tão presentes em todos os momentos, me ajudando a discernir o certo do errado e sempre me acolherem com carinho.

Ao Jéferson, Edvaldo e Sílvia, que sempre me atenderam com prontidão.

À Carmen, Sandra e todas as outras colegas que mantêm em ordem nosso ambiente de trabalho. Vocês são pessoas maravilhosas e que sempre estarão em meu coração.

Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos, que sempre me apóiam, sem os quais tudo seria mais difícil, Daniela, Karina, Maria Amélia, Monique, Samira e Tatiane.

*“Se não for por amizade e por amor, que seja então pela
gratidão de estar vivo...”*

*Se não for pelo companheirismo e atenção, que seja então
pela vontade de ir um pouco mais longe...*

*Se não for pela dignidade e alegria, que seja pela esperança
de ser algo melhor e não em ter algo melhor...*

*Pois, se for assim, será por tudo, para todos e por todos que
trilharemos um caminho que nos levará mais longe, por uma
longa estrada, cercada de flores, folhas e frutos, que irão
sempre gerar uma nova semente, pronta para germinar ao
regar dos olhos de Deus!”*

Tathiana Lisbôa Padulla

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
1 INTRODUÇÃO	13
Referências	18
2 ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS COM SEMENTES DE PAU-BRASIL (<i>CAESALPINIA ECHINATA</i>) E EFEITO SOBRE A GERMINAÇÃO: INFLUÊNCIA DO LOCAL, MÉTODO DE COLETA E ARMAZENAMENTO	21
Resumo	21
Abstract	22
2.1 Introdução	23
2.2 Desenvolvimento	25
2.2.1 Material e Métodos	25
2.2.1.1 Experimento 1	26
2.2.1.2 Experimento 2	26
2.2.2 Resultados e Discussão	27
2.2.2.1 Experimento 1	27
2.2.2.2 Experimento 2	30
2.3 Considerações Finais	34
Referências	36
3 TRATAMENTO DE SEMENTES DE PAU-BRASIL COM FUNGICIDAS: EFEITO NA INCIDÊNCIA DE FUNGOS, GERMINAÇÃO E PRODUÇÃO DE MUDAS SADIAS	39
Resumo	39
Abstract	40
3.1 Introdução	41
3.2 Desenvolvimento	42
3.2.1 Material e Métodos	42

3.2.1.1 Caracterização da amostra de sementes de pau-brasil	43
3.2.1.2 Tratamento de sementes com fungicidas.....	43
3.2.1.3 Efeito de fungicidas na incidência de fungos.....	43
3.2.1.4 Efeito de fungicidas na germinação e produção de mudas sadias.....	44
3.2.1.5 Transmissão de fungos pelas sementes	44
3.2.2 Resultados e Discussão	45
3.2.2.1 Caracterização da amostra de sementes de pau-brasil	45
3.2.2.2 Efeito de fungicidas na incidência de fungos.....	45
3.2.2.3 Efeito de fungicidas na germinação das sementes e produção de mudas sadias.....	47
3.2.2.4 Transmissão de fungos pelas sementes	49
3.3 Considerações Finais.....	51
Referências	51
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS.....	54
Referências	55

RESUMO

Fungos associados a sementes de pau-brasil: efeito de local, colheita e armazenamento, prejuízos e controle com fungicidas

Os objetivos deste trabalho foram efetuar o levantamento de fungos presentes nas sementes de pau-brasil coletadas em dois locais, no momento da coleta e após o armazenamento; verificar o efeito desses fungos na germinação das sementes antes e durante o período de armazenamento; avaliar a transmissão de fungos encontrados em maior incidência nas sementes e comparar o tratamento de sementes com fungicidas como forma de controle de fungos. Para tanto, o trabalho foi dividido em quatro partes: (1) utilização de sementes do campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP), coletadas diretamente das árvores e após queda ao solo, armazenadas por 15 dias em ambiente de laboratório e câmara fria; (2) utilizar sementes coletadas diretamente das árvores e após queda ao solo, no campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP), e coletadas do solo na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (SP), armazenadas em ambiente e em câmara fria e seca, por 15 e 30 dias; (3) comparar o tratamento de sementes com carboxim+tiram, benomil e captam, a fim de determinar a eficiência no controle dos fungos incidentes; (4) verificar a transmissão de fungos por sementes transplantando plântulas para vasos, avaliando diariamente os sintomas e identificando os patógenos associados. Os resultados mostraram que os fungos incidentes foram *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp., *Epicoccum* sp. e *Alternaria* spp. Não houve diferença na incidência de fungos e na porcentagem de plântulas normais entre as sementes coletadas em Piracicaba e em Mogi-Guaçu. A melhor coleta de sementes de pau-brasil no campus da ESALQ/USP foi diretamente das árvores, quando estas tinham aproximadamente 65 dias pós-antese, e foram capazes de originar maior porcentagem de plântulas normais. Em relação ao armazenamento, as sementes mantiveram a germinação até 15 dias de armazenamento em laboratório e os fungos de armazenamento incidentes foram *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. No tratamento com fungicidas, captam foi o fungicida que mais reduziu a incidência dos fungos e preservou a qualidade fisiológica das sementes de pau-brasil, embora seja necessário acertar a dose do fungicida, diminuindo a porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas, colaborando para o aumento de plântulas normais capazes de originar mudas saudáveis. Foi evidenciada a patogenicidade e transmissão de *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*, causando lesões em cotilédones e hipocótilos de plântulas anormais.

Palavras chave: sanidade de sementes, *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, Captam.

ABSTRACT

Fungi associated to brazilian-wood seeds: place effect, harvest and storage, damages and fungicide control

The objectives of this work were carry out the survey of fungi associated with brazilian-wood seeds collected in two places, in the collected moment and during the storage; verify the effect of these fungi in seed germination before and during the storage period; realize the transmission test for the fungi found in higher incidence in seeds and utilize the seed chemical treatment like a way of fungi control. For this, the work had been divided in four parts: (1) utilization of seeds from ESALQ/USP, in Piracicaba (SP), recently collected, collected directly from trees and after drop to soil, stored for 15 days in laboratory environmental and cold chamber; (2) seeds collected directly from trees and after drop to soil, in ESALQ/USP, in Piracicaba (SP), and collected from soil in Biological Forest and Experimental Station of Moji-Guaçu, in Mogi-Guaçu (SP), stored in laboratory and cold chamber, for 15 and 30 days; (3) carry out the seeds treatment with carboxin+thiram, benomyl and captan, to determine the control efficiency in incident fungi; (4) effectuate the fungi transmission test by brazilian-wood seeds, transplanting seedlings to pots and evaluating the symptoms daily, identifying the pathogens associated with them. The results showed that the associated fungi were *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp., *Epicoccum* sp. e *Alternaria* spp. There was no difference in fungi incidence and in the normal seedlings percentage between seeds collected in Piracicaba and in Mogi-Guaçu. The best collect brazilian-wood seeds in ESALQ/USP was directly from trees, when this had approximately 65 days after anthesis and, originating a higher percentage of normal seedlings. In relation to storage, the seeds kept the germination till 15 days in laboratory and storage fungi associated with seeds was *Aspergillus* sp. And *Penicillium* sp. In fungicide treatment, captan was the fungicide that showed a higher reduction in the fungi incidence and preserved the physiological quality of brazilian-wood seeds, however it is necessary adjust the fungicide dose, decreasing the percentage of abnormal seedlings and dead seeds, collaborating for the increase of normal seedlings capable of originate healthy seedlings. The pathogenicity and transmission of *Pestalotiopsis* sp. and *Cladosporium cladosporioides*, causing lesions in cotyledons and hypocotylous of abnormal seedlings were evident.

Key-words: seed health, *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, Captan.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Plântula anormal de pau-brasil infeccionada (A); plântula anormal de pau-brasil não-infeccionada tratada com fungicidas (B).....48
- Figura 2 – Plântula normal de pau-brasil.....48
- Figura 3 – Cotilédone com lesões de *Pestalotiopsis* sp. (A); cirros de *Pestalotiopsis* sp. em cotilédones de plântula de pau-brasil(B)50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1 - Germinação (%) de sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo), na ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2003, submetidas a armazenamento em ambiente de laboratório (LAB) e em câmara fria (CF), por 15 dias28
- Tabela 2.2 - Incidência (%) dos principais fungos em sementes de pau-brasil, coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo), na ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2003, submetidas a armazenamento em ambiente de laboratório (LAB) e em câmara fria (CF), por 15 dias.28
- Tabela 2.3 - Germinação (%) de sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo) no campus da ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2004, e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (MO), do solo (Solo), submetidas a armazenamento em laboratório (LAB) e câmara fria e seca (CFS), por 15 e 30 dias.....31
- Tabela 2.4 - Incidência (%) dos principais fungos em sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Árv) e do solo (Solo) no campus da ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2004, e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (MO), do solo (Solo), submetidas a armazenamento em laboratório (LAB) e câmara fria e seca (CFS), por 15 e 30 dias35
- Tabela 3.1 - Produtos e doses de fungicidas utilizados no tratamento de sementes de pau-brasil 43
- Tabela 3.2 - Incidência (%) de fungos em sementes de pau-brasil submetidas a tratamento com fungicidas46
- Tabela 3.3 - Porcentagem de Plântulas Normais (PN), Anormais (PA) Infeccionadas e não-infeccionadas e Sementes Mortas (SM) obtidas de sementes de pau-brasil submetidas a tratamento com fungicidas48

1 INTRODUÇÃO

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) é um dos clássicos exemplos de distúrbio causados à Mata Atlântica (MELLO-FILHO, 1991/1992). Isso ocorreu quando os portugueses verificaram que as matas das novas terras de seu domínio eram ricas nesse produto vegetal que lhes poderia trazer lucros.

Naquela época, o pau-brasil tornou-se a fonte principal de corantes para a tintura de tecidos, propiciando a cor vermelha ao algodão, à seda e à lã. Sua exploração caracterizou o ciclo do pau-brasil, cuja importância econômica acabou inspirando o nome de Brasil ao território onde sua exploração encontrava-se. Embora não tendo mais utilidade na fabricação de corantes, hoje totalmente substituídos por produtos sintéticos, o potencial de utilização dessa espécie arbórea ainda é imenso, podendo-se destacar a arborização urbana e a fabricação de instrumentos musicais (RAMALHO, 1978; AGUIAR; BARBOSA, 1985; SOARES, 1985).

A literatura sobre a história do pau-brasil é escassa, a não ser pela obra do Professor Dr. Bernardino José de Souza, publicada em 1939, que trata do pau-brasil e da história de sua exploração econômica, e pelo livro publicado por Cunha; Lima (1992), em que são apresentados, sucintamente, alguns de seus aspectos históricos e botânicos. Apesar das medidas de preservação do pau-brasil já tomadas por todo país, essa espécie continua em perigo de extinção de acordo com a Portaria do IBAMA n.37-N, de 03 de abril de 1992 (IBAMA, 1992). Todas as ações que contribuirão para a retirada da espécie dessa categoria são importantes, uma vez que o número de espécies ameaçadas de extinção existentes num país é parâmetro para mensurar a seriedade e competência da nação no gerenciamento e manutenção de seu patrimônio ambiental remanescente.

Porém, quando se procuram medidas para iniciar um trabalho de recuperação de espécies florestais, como o pau-brasil, muitas dificuldades são encontradas. Sabe-se que as espécies florestais se propagam pela semente e um aspecto importante é a qualidade sanitária. A ocorrência de patógenos pode causar prejuízos quantitativos ou qualitativos. Grande parte da literatura relata doenças em essências exóticas, onde os maiores problemas ocorrem durante a germinação de sementes e a formação de mudas em viveiros, pelo uso de tecnologia inadequada; um dos aspectos de maior relevância é

a sanidade da semente, pois esta é um dos veículos mais importantes de transmissão de patógenos e a consequência dessa transmissão pode ser apodrecimento das sementes antes de germinarem, queda do vigor das plântulas, início de epidemias e/ou introdução de patógenos em áreas isentas (MACHADO, 1987).

Patógenos podem associar-se às sementes por três maneiras diferentes: (a) sendo encontrados externamente à semente; (b) infectando a semente e (c) em associação concomitante, onde apenas acompanham o lote de sementes. Dentre os organismos que podem associar-se às sementes, os fungos formam o maior grupo, seguido das bactérias e, em menor proporção, dos vírus e nematóides (MACHADO, 2000). De acordo com Dhingra; Muchovej; Cruz Filho (1980), os patógenos presentes nas sementes, tanto interna como externamente, tornam-se ativos tão logo as sementes sejam colocadas em substratos úmidos. Estas sementes podem apodrecer antes de germinarem ou originar plântulas infeccionadas.

Estudos sobre sanidade de sementes florestais são bastante recentes, começando na década de 70, onde Lasca; Sampaio; Cintra (1971) relataram os gêneros de fungos *Pestalotiopsis*, *Fusarium*, *Diplodia*, *Botryodiplodia*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Trichotecium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Chaetomium*, *Rhizopus*, *Penicillium* e *Neurospora* em sementes de *Pinus* sp. Em relação às espécies florestais nativas, os primeiros trabalhos foram realizados por Carneiro, em 1986, onde foi feito o levantamento da microbiota associada às sementes. Mais recentemente, os trabalhos se multiplicaram, pois muitos pesquisadores se conscientizaram da necessidade de se obter mais informações sobre as espécies florestais, principalmente as nativas.

Sabe-se que fungos presentes nas sementes podem afetar sua qualidade fisiológica e sanitária. Podem interagir com as sementes mesmo antes delas atingirem a maturidade fisiológica, que se inicia com a fertilização do óvulo e se estende até o momento em que a semente se desliga fisiologicamente da planta, cessando a troca de fotossintetizantes. É neste momento que o máximo peso seco da semente é atingido e esta apresenta seu maior poder germinativo e máximo vigor (MARCOS FILHO; CÍCERO; SILVA, 1987). Lisbôa; Moraes; Pascholati (2003a) constataram que sementes de pau-brasil, submetidas ao teste de sanidade, evidenciaram a presença dos fungos *Cladosporium cladosporioides*, *Pestalotiopsis* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp., aos 40

e 50 dias pós-antese, e aumento na incidência de *Pestalotia* sp. (sinonímia de *Pestalotiopsis* sp., de acordo com Mendes; Muchovej, 2001) e *Cladosporium cladosporioides* nas sementes com 60 dias pós-antese. Trabalhos como este mostram que os fungos podem associar-se às sementes em vários estádios de desenvolvimento, até mesmo durante o processo de maturação.

A tecnologia envolvendo sementes de *C. echinata* tem aspectos importantes a serem esclarecidos quanto à conservação da qualidade fisiológica, visando à preservação e o pleno aproveitamento da espécie. Entre esses aspectos inclui-se, também, o processo de armazenamento em condições apropriadas. Uma das alterações que pode ocorrer durante o processo de armazenamento é a interação da semente com fungos de armazenamento que, associados a outros fatores ambientais, podem acelerar, consideravelmente, a rapidez de deterioração das mesmas.

O armazenamento das sementes deve ser iniciado na maturidade fisiológica e o maior desafio é conseguir que estas, após um certo período, ainda apresentem alta qualidade fisiológica (VILELLA; PERES, 2004). De acordo com Barbedo; Cicero, 2000 apud Barbedo; Bilia; Ribeiro (2002), a identificação do estágio de maturidade fisiológica das sementes e, conseqüentemente, o momento ideal para a coleta, são condições essenciais para a conservação da viabilidade durante o armazenamento. Ainda de acordo com estes autores, durante o período de formação e maturação das sementes, a água assume papel crucial e seu teor permanece elevado até o final do desenvolvimento. Ao final da maturação, as sementes podem ser classificadas de duas formas: sementes ortodoxas que, além de tolerar a dessecação, provavelmente dependem desse processo para redirecionar seu caminho metabólico em direção à germinação; e sementes recalcitrantes, que não dependem desta secagem para adquirir a capacidade germinativa, e apresentam limites de tolerância à dessecação. Testes realizados com sementes de pau-brasil mostraram que estas se comportam como ortodoxas, tolerando a dessecação até baixo teor de água (7,6%), o que pode facilitar seu armazenamento e ampliar sua conservação para fins de reposição das populações naturais (BARBEDO; BILIA; RIBEIRO, 2002). É importante ressaltar que a qualidade das sementes não é melhorada pelo armazenamento, mas pode ser mantida com um mínimo de deterioração possível, se estocada adequadamente (LEMOS FILHO;

DUARTE, 2001). No entanto, fungos associados às sementes podem ter sua incidência aumentada ou diminuída, dependendo do gênero a que pertencem e das condições de armazenamento. Os poucos trabalhos existentes não esclarecem em que momento da formação das sementes ocorre a incidência desses fungos e qual é a sobrevivência dos mesmos durante o armazenamento. Há relatos de fungos patogênicos transportados por sementes de *Anadenanthera macrocarpa*, uma espécie florestal popularmente conhecida como angico vermelho, que reduzem a emergência, a qualidade e o desenvolvimento de plântulas oriundas de sementes portadoras (DHINGRA; MAIA; MESQUITA, 2002). Todos os fungos detectados nas sementes de angico vermelho (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium lateritium*, *Pestalotiopsis* sp. e *Phomopsis dalbergia*), foram altamente patogênicos para as sementes e plântulas, causando podridão de sementes, podridão de raiz, redução na altura e definhamento de plântulas sobreviventes (DHINGRA; MAIA; MESQUITA, 2002). De acordo com Dhingra (1985), fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são causadores de prejuízos em sementes armazenadas. Esses fungos foram encontrados, mesmo que em baixa incidência, em sementes de pau-brasil submetidas ao teste de sanidade (LISBÔA; MORAES; PASCHOLATI, 2003a, 2003b).

Para a maioria das espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica, são escassas as informações sobre fungos potencialmente patogênicos associados as sementes. Testes realizados em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*), timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) e coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora*), mostraram que os fungos identificados pertencem aos gêneros *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Botryodiplodia*, *Phoma*, *Phomopsis* e *Sthemphylium*,. Foram constatados, também, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Chaetomium*, associados à deterioração de sementes armazenadas inadequadamente e *Pestalotiopsis*, relatado em outras espécies vegetais, plantas agrônômicas ou ervas daninhas (SANTOS; MEDEIROS; SANTANA, 2001).

Testes realizados com sementes de pau-alho (*Microlobius foetidus* subsp. *paraguensis*), uma espécie florestal nativa encontrada no Pantanal, identificaram como principais patógenos os fungos *Botryodiplodia* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e *Phoma* sp. Estes fungos são patógenos em sementes de muitas espécies de plantas

(BOOTH, 1971; CARVALHO; MUCHOVEJ, 1991), podendo causar redução na germinação das sementes (DHINGRA; MUCHOVEJ; CRUZ FILHO, 1980; MACHADO, 1988).

No caso do pau-brasil, Lisbôa; Moraes; Pascholati (2003b), mostraram que, para as amostras coletadas na Reserva Biológica de Mogi-Guaçu e no Instituto de Botânica de São Paulo, os fungos de maior incidência foram *Cladosporium cladosporioides* e *Pestalotiopsis* sp., independentemente do período de armazenamento e época de coleta. Em outro trabalho, foram detectados *Epicoccum* sp., *Botryodiplodia theobromae*, *Aspergillus* sp., *Drechslera* sp., *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp. e *Penicillium* sp. (LISBÔA; MORAES; PASCHOLATI, 2003a). Trabalhos realizados por Santos; Grigoletti Júnior; Auer (2000) relatam que estes fungos já foram detectados em sementes de várias espécies florestais no Brasil, porém, não existem trabalhos destacando seus efeitos sobre a qualidade dessas sementes. Mendes; Muchovej (1991) constataram a patogenicidade de *Pestalotiopsis maculans* em folhas de pau-brasil, este fungo é detectado em alta incidência em trabalhos realizados por Lisbôa; Moraes; Pascholati (2003a, 2003b). Já a contaminação e/ou infecção de sementes por espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* ocorrem após a colheita das sementes, enquanto, ainda de acordo com Dhingra; Muchovej; Cruz Filho (1980) e Machado (1988), contaminações e/ou infecções por *Fusarium* ocorrem durante a formação ou maturação do fruto. Segundo esses autores, dentre os fungos potencialmente patogênicos a essências florestais, estão, também, as espécies de *Fusarium*, que podem ser responsáveis por grande variação existente na germinação de sementes.

Sabe-se que patógenos não afetam somente a semente ou a emissão das plântulas, mas infectam a planta sistemicamente, reduzindo seu vigor e manifestando sintomas mais tarde. No entanto, nem todos os patógenos associados a sementes, que podem ou não causar podridão ou crestamento das plântulas, infectam-na sistemicamente. Às vezes produzem inóculo secundário, o qual irá infectar as plântulas originadas de sementes sadias. Assim, uma semente infectada dá origem a uma planta doente que, por sua vez, torna-se a fonte de inóculo para o ciclo secundário da doença, disseminando o patógeno para as demais (Santos; Grigoletti Júnior; Auer, 2000). Por isso é importante realizar o teste de sanidade para identificar os patógenos presentes

nas sementes e o de germinação, onde se pode observar a formação de plântulas anormais, lesionadas, infectadas e, conseqüentemente, o desenvolvimento da plântula originada. Através destas observações, pode-se verificar a transmissão de fungos por sementes, relacionando-os aos sintomas encontrados nas sementes e nas plântulas. Após a identificação dos principais fungos patogênicos às sementes de pau-brasil, é possível utilizar o tratamento químico como forma de controle desses microrganismos nas sementes. O tratamento químico consiste na incorporação de produtos químicos às sementes (MACHADO, 2000) e é uma alternativa utilizada com o intuito de diminuir ou erradicar a incidência dos fungos e colaborar para que a germinação das sementes seja preservada e as mudas produzidas sejam saudáveis e vigorosas.

Este trabalho teve por objetivos efetuar o levantamento de fungos presentes em sementes coletadas em dois locais, diretamente das árvores e no solo, logo após a coleta e durante o armazenamento; verificar o efeito desses fungos na germinação das sementes antes e durante o período de armazenamento; verificar o efeito desses fungos no estabelecimento de plântulas normais e avaliar o tratamento de sementes com fungicidas como forma de controle de fungos e produção de mudas saudáveis e vigorosas.

Referências

- AGUIAR, F.F.A.; BARBOSA, J.M. Estudo de conservação e longevidade de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.10, p.145-50,1985.
- BARBEDO, J.C.; BILIA, D.A.C.; RIBEIRO, R.C.L.F. Tolerância à dessecação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.4, p.431-39, 2002.
- BOOTH, E. **The genus *Fusarium***. Kew: Commonwealth Mycological Institute, s.l.,1971, 237p.
- CARVALHO, W.L.; MUCHOVEJ, J.J. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.15, n.2, p.173-178, 1991.
- CUNHA, M.W.; LIMA, H.C. **Viagem à terra do pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura, 1992. p.28.
- DHINGRA, O.D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n1, p. 139-145, 1985.

DHINGRA, O.D.; MAIA, C.B.; MESQUITA, J.B. Seedborne pathogenic fungi that affect seedling quality of red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) trees in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul., v.150, p.451-55, 2002.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes** (Controle de patógenos). Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1980. 121p.

IBAMA. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. (unpublished). 4pp. Sociedade Botânica do Brasil. Centúria plantarum Brasiliensium extintions minitata. Sociedade Botânica do Brasil. 1992. p.175.

LASCA, C.C.; SAMPAIO, A.S.; CINTRA, A.F. Condições fitossanitárias de sementes importadas de *Pinus* spp. **O Biológico**, Campinas, v.27, p.287-292, 1971.

LEMON FILHO, J.P. DE; DUARTE, R.J. Germinação e longevidade das sementes de *Swietenia macrophylla* King- (Mogno) (Meliaceae). **Revista Árvore**, Viçosa – MG, v.25, n.1, p.125-130, 2001.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Incidência de fungos em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 377, 2003a.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Qualidade sanitária de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) no momento da coleta e após armazenamento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 376, 2003b.

MACHADO, J.C. Introdução à patologia de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. da SILVA (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.1, p. 3-15.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: Fundamentos e Aplicações**. Brasília: Ministério da Educação, Lavras: ESAL/FAEP. 1988, 107 p.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: PS/UFLA/FAEPE, 2000. 137p.

MARCOS FILHO, J. M.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ. 1987. 38p.

MELLO-FILHO, L.E. A floresta Atlântica. In: MONTEIRO, S.; KAZ, L. (Coord.) **Floresta Atlântica/textos científicos**. Rio de Janeiro: Edições Alumbamento, 1991/1992. p.17-21.

MENDES, M.L.; MUCHOVEJ, J.J. *Pestalotiopsis* leaf spot of Brazil Wood, *Caesalpinia echinata*. **Plant Pathology**, London, v. 40, p.635-636, 1991.

RAMALHO, R.S. **Pau-brasil *Caesalpinia echinata*, Lam.** Viçosa: 1978. UFV-MG: (Boletim de Extensão), p.65.

SANTOS, A.F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p.119-128, 2000.

SANTOS, A.F.; MEDEIROS, A.C.S.; SANTANA, D.L.Q. Fungos associados às sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica. Colombo, **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, n.42, p.51-60, jan/jun 2001.

SOARES, C.M.C. **Pau-brasil: a árvore nacional.** 2 ed. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Estação Ecológica de Tapacurá, 1985. p.67.

SOUZA, B.J. **O pau-brasil na história nacional.** São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1939. p.55.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação – do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 17, p 266-281.

2 ASSOCIAÇÃO DE FUNGOS COM SEMENTES DE PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*) E EFEITO SOBRE A GERMINAÇÃO: INFLUÊNCIA DO LOCAL, MÉTODO DE COLETA E ARMAZENAMENTO.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi analisar a sanidade e a germinação de sementes de pau-brasil coletadas no Campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP) e na Reserva Biológica e Estação experimental de Moji-Guaçu, Mogi-Guaçu (SP), diretamente das árvores e após queda ao solo, assim como observar o efeito do armazenamento sobre estas variáveis. Em um primeiro experimento, sementes de pau-brasil, coletadas em 2003, diretamente das árvores e após queda ao solo, em Piracicaba (SP), foram imediatamente submetidas aos testes de sanidade e germinação. Subamostras foram armazenadas por 15 dias, em ambiente de laboratório e câmara fria e, posteriormente, analisadas quanto às duas variáveis. Em 2004 foi realizado outro experimento, avaliando a incidência de fungos em sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores e após queda ao solo em Piracicaba (SP), e em sementes coletadas em Mogi-Guaçu (SP), após queda ao solo e armazenadas por 15 e 30 dias em ambiente de laboratório e câmara fria e seca. Avaliou-se, também, os efeitos destes fungos sobre a germinação. Os resultados mostraram que os fungos incidentes foram *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp. e *Alternaria* spp. Não houve diferença na incidência de fungos em sementes colhidas em Piracicaba e Mogi-Guaçu. Sementes recém-coletadas das árvores apresentaram maior capacidade de produzir plântulas normais. Se houver necessidade de armazenamento dessas sementes, o melhor é por 15 dias em laboratório. A associação de *Pestalotiopsis* sp. com sementes de pau-brasil pode ser um dos fatores que contribuíram para a diminuição no número de plântulas normais para sementes coletadas em Piracicaba, após queda ao solo, em 2004.

Palavras-chave: Sementes florestais, incidência, fungos, *Pestalotiopsis* sp.

Fungi association with brazilian-wood (*Caesalpinia echinata*) seeds and effect over germination: influence of place, collection method and storage

Abstract

The objective of this work was to analyze the health and the germination of brazilian-wood seeds collected directly from trees and after drop to soil in ESALQ/USP, in Piracicaba (SP/Brazil) and in Biological Forest and Experimental Station of Mogi-Guaçu, in Mogi-Guaçu (SP/Brazil), as well as observe the storage effect over this variables. In one first experiment, brazilian-wood seeds, collected in 2003, directly from trees and after drop to soil, in Piracicaba (SP) were immediately submitted to health and germination tests. Subsamples were stored for 15 days in laboratory and cold chamber conditions and, afterwards, analyzed as to two variables. In 2004 was carry out another experiment, evaluating the fungi incidence in brazilian-wood seeds collected directly from trees and after drop to soil in Piracicaba (SP), and in Mogi-Guaçu (SP), after dehiscence and stored for 15 and 30 days in laboratory and cold chamber. The possible effects of this fungi over germination was evaluated too. The results showed that the incident fungi were *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp. e *Alternaria* spp. There was no difference in fungi incidence in seeds collected in Piracicaba and Mogi-Guaçu. Seeds recently collected from trees presented higher capacity to produce normal seedlings. If it will have necessity of storage of these seeds, 15 days in laboratory is the best. The association of *Pestalotiopsis* sp. with brazilian-wood seeds can be one of the factories that contributed to the diminish of the number of normal seedlings for seeds collected in Piracicaba, after drop to soil, in 2004.

Key-words: forestry seeds, incidence, fungi, *Pestalotiopsis* sp.

2.1 Introdução

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) é uma importante espécie florestal brasileira, tanto por seu aspecto econômico quanto histórico. Era abundantemente encontrado na Floresta Atlântica litorânea no período do descobrimento do Brasil. Ramalho (1978) relata que, nessa década, a espécie encontrava-se restrita em alguns pontos, como pequenos talhões artificiais na maioria das vezes, nos estados de Pernambuco, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. No sul do estado da Bahia ainda era encontrado em mata natural. A espécie foi muito explorada pois da madeira extraía-se um corante incolor, a brasilina, que era muito utilizado pelos europeus como tinta de escrever e para tingir tecidos, pois em contato com soluções alcalinas e em reação com o oxigênio do ar transformava-se em outro corante, vermelho, a brasileína (Vianna 1944 apud Rocha 2004). Sua madeira, por ser muito resistente, era empregada nas construções civis, navais e em trabalhos de torno (AGUIAR, 1992). A madeira até hoje é muito utilizada para a fabricação de arcos de violinos. No Brasil, a árvore é utilizada, também, em paisagismo.

Devido a toda esta exploração, o pau-brasil encontra-se enquadrado na categoria de extinção e todas as ações que auxiliarem para a retirada da espécie dessa categoria serão úteis, uma vez que o número de espécies ameaçadas num país pode ser considerado parâmetro para mensurar a seriedade e competência da nação no gerenciamento e manutenção de seu patrimônio ambiental remanescente.

Além disso, ultimamente, tem se intensificado o interesse na propagação de espécies florestais nativas, devido à ênfase atual nos problemas ambientais, ressaltando-se a necessidade de recuperação de áreas degradadas e recomposição da paisagem. Entretanto, não há conhecimento disponível para o manejo e análise de sementes da maioria dessas espécies, de modo a fornecer dados que possam caracterizar seus atributos físicos e fisiológicos. É preciso obter informações básicas sobre a germinação, cultivo e potencialidade dessas espécies nativas, visando sua utilização para fins diversos (ARAÚJO NETO; AGUIAR; FERREIRA, 2003).

A germinação das sementes pode ser afetada por vários fatores, sejam químicos, físicos ou biológicos. Desta forma, temperatura, umidade, luz e associação

com patógenos, entre outros, são processos que podem afetar diretamente a germinação das sementes. No caso de sementes de pau-brasil, poucos são os estudos que esclareçam estes processos.

Sabe-se que uma semente de boa qualidade deve proporcionar uma boa germinação e estabelecimento da plântula, que são as fases de vida da planta onde podem ser observadas altas taxas de mortalidade. A sobrevivência nos estádios iniciais influencia a demografia das populações, afetando a abundância, a distribuição dos adultos, a composição e a dinâmica das comunidades vegetais (DENSLOW; NEWELL; ELLISON, 1991). Esta sobrevivência pode ser afetada se as sementes entrarem em contato com algum microrganismo que possa lhe causar prejuízos, afetando seu desenvolvimento. Neste contexto, os fungos ocupam um lugar especial, pois são o maior grupo dentre os microrganismos que se associam às sementes. A consequência dessa associação pode ser apodrecimento das sementes antes de germinarem, queda do vigor das plântulas, início de epidemias e/ou introdução de patógenos em áreas isentas (MACHADO, 1987). Sendo assim, a interação de patógenos com sementes precisa ser verificada, a ponto de se identificar possíveis efeitos negativos por eles causados.

Em termos gerais, no Brasil, poucos estudos têm sido feitos com espécies florestais sobre a transmissão de fungos por sementes (CARNEIRO, 1987; SANTOS; GRIGOLETTI JÚNIOR, 2000), dando-se maior importância às grandes culturas. Desta forma, para a maioria das espécies arbóreas nativas da Floresta Atlântica, não existem informações sobre a transmissão de fungos potencialmente patogênicos associados as sementes.

Dos fatores que podem ter influência sobre a qualidade sanitária e fisiológica da semente e da planta resultante desta, a origem da semente é dos menos estudados, apesar da grande importância (CARVALHO; NAKAGAWA, 1980).

A forma de coleta das sementes também assume papel fundamental, estando relacionada, principalmente, à ocorrência de injúrias mecânicas causadas por impactos, cortes, abrasões ou pressões, influenciando na formação de focos de infecção, afetando, até mesmo, o armazenamento dessas sementes (MARCOS FILHO, 2005). Árvores de pau-brasil têm suas sementes expulsas das vagens após a maturação e a coleta pode

ser feita cortando-se as vagens nas árvores, antes da liberação das sementes, ou após queda ao solo. Este é um fator que precisa ser estudado a fim de se constatar seu efeito sobre a incidência dos fungos a qualidade fisiológica das sementes.

Em relação ao armazenamento das sementes, este é iniciado na maturidade fisiológica e o maior desafio é conseguir que estas, após um certo período, ainda apresentem alta qualidade fisiológica (VILLELA; PERES, 2004). Assim sendo, a qualidade das sementes não é melhorada pelo armazenamento, mas pode ser mantida com um mínimo de deterioração possível, se estocada adequadamente (LEMOS FILHO, 2001).

A identificação correta do comportamento de conservação das sementes de uma espécie, durante o armazenamento, é de extrema importância para a definição da estratégia de conservação, já que as sementes ortodoxas podem ser conservadas a longo prazo, intermediárias a médio prazo e as recalcitrantes a curto prazo (MELO; VARELA, 2000). De acordo com Barbedo; Bilia; Ribeiro (2002), sementes de pau-brasil comportam-se como ortodoxas, tolerando o dessecamento até baixo teor de água (7,6%), o que, potencialmente, permite o armazenamento por período prolongado.

Porém, é durante o armazenamento que alguns fungos podem associar-se às sementes e causar prejuízos representativos tanto às sementes quanto às plântulas originadas. Neste contexto, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Nigrospora* sp. são fungos encontrados em sementes em condições inadequadas de armazenamento, estando associados à deterioração das mesmas (SANTOS; MEDEIROS; SANTANA, 2001).

O presente trabalho teve o objetivo de analisar a sanidade e a germinação de sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores e após queda ao solo, em Piracicaba (SP) e em Mogi-Guaçu (SP), logo após a coleta e durante o armazenamento em ambiente de laboratório e em câmara fria, por 15 e 30 dias.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

Todos os ensaios foram desenvolvidos no laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP, em Piracicaba (SP).

2.2.1.1 Experimento 1

Em dezembro de 2003, no campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP), as sementes foram coletadas diretamente das árvores e após queda ao solo, e imediatamente submetidas aos testes de sanidade e germinação, e, depois, armazenadas sob duas condições: câmara fria (10°C e 80% de U.R.) e ambiente de laboratório. Após 15 dias de armazenamento foram novamente analisadas quanto à sanidade e germinação.

O método utilizado para o teste de sanidade foi o do papel de filtro. Consistiu em dispor 20 sementes em placas do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel do tipo germitest, previamente umedecidas com água destilada até saturação. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em câmara de incubação, com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e luz alternada (12h de luz branca fluorescente/12h de escuro), por sete dias, quando então efetuou-se a observação das estruturas fúngicas com auxílio de microscópio estereoscópico e ótico e identificou-se a micota fúngica (BARNETT; HUNTER, 1998).

Para o teste de germinação foi utilizado o método do rolo de papel, descrita por Marcos Filho; Cícero; Silva (1987). Consistiu em distribuir 15 sementes sobre duas folhas de papel tipo germitest, previamente umedecidas, e cobri-las com uma terceira; em seguida, as folhas foram enroladas, e levadas para o germinador com temperatura controlada de 25°C e alta umidade. A avaliação se deu após 7 e 15 dias, contando-se o número de plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) e sementes mortas (SM). O critério adotado para caracterizar uma plântula normal foi a emissão da radícula com, no mínimo, 1 cm de comprimento, conforme Barbedo; Bilia; Ribeiro (2002).

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados e esquema fatorial 2 (forma de coleta) x 2 (armazenamento) para o teste de germinação e 2 (forma de coleta) x 3 (armazenamento) para o teste de sanidade. Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2.1.2 Experimento 2

Em dezembro de 2004, as sementes foram coletadas na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (SP), após queda ao solo, e no

Campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP), diretamente das árvores e após queda ao solo. Sementes assim coletadas foram imediatamente submetidas aos testes de sanidade e germinação, e depois armazenadas, por 15 e 30 dias, sob duas condições: câmara fria e seca (8°C, 40%UR) e em ambiente de laboratório, sendo, posteriormente, analisadas para as duas variáveis.

O delineamento experimental utilizado para os testes de sanidade e germinação foi blocos casualizados e esquema fatorial 3 (forma e locais de coleta: Piracicaba árvore; Piracicaba solo e Mogi-Guaçu solo) x 5 (armazenamentos). Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2.2 Resultados e Discussão

2.2.2.1 Experimento 1

As vagens de pau-brasil foram coletadas quando apresentavam frutos e espinhos de coloração marrom e, as sementes, coloração pardo-esverdeada para pardo, com manchas púrpuras e não eram flexíveis. De acordo com Borges et al. (2005), estas características evidenciam que as vagens foram coletadas com aproximadamente 65 dias pós-antese. Neste momento, as sementes estão no final do processo de maturação, próximas à deiscência natural e, de acordo com esses autores, é neste período que as sementes possuem maior capacidade de produzir plântulas normais, embora tenham alta capacidade de germinação desde o início do processo de maturação. Isto é evidenciado pelos dados da Tabela 2.1, onde, a quantidade de plântulas normais e anormais foi maior em sementes coletadas das árvores e o número de sementes mortas foi maior nas coletadas após queda ao solo.

Quando submetidas ao armazenamento, o comportamento das sementes não foi alterado, não havendo diferença na porcentagem de plântulas normais e sementes mortas, embora o número de plântulas anormais tenha sido superior em sementes que permaneceram em laboratório, diferindo dos demais. O armazenamento em ambiente não favoreceu a manutenção da qualidade fisiológica da semente, evidenciada pela quantidade de plântulas anormais.

Tabela 2.1 - Germinação (%) de sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo), na ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2003, submetidas a armazenamento em ambiente de laboratório (LAB) e em câmara fria (CF), por 15 dias

Armazenamento por 15 dias	Plântula Normal			Plântula Anormal			Sementes Mortas		
	Arv	Solo	Média	Arv	Solo	Média	Arv	Solo	Média
LAB	45	8	26A*	46	13	29A	9	79	44A
CF	50	12	31A	32	2	17B	18	86	52A
Média	47a	10b		39a	8b		13b	82a	
CV %	33,12			26,68			25,54		

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os fungos associados as sementes de pau-brasil podem ser observados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Incidência (%) dos principais fungos em sementes de pau-brasil, coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo), na ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2003, submetidas a armazenamento em ambiente de laboratório (LAB) e em câmara fria (CF), por 15 dias

Momento de coleta/ armazena mento (15 dias)	<i>Pestalotiopsis</i> sp.			<i>C. cladosporioides</i>			<i>Aspergillus</i> sp.			<i>Penicillium</i> sp.		
	Arv	Solo	Média	Arv	Solo	Média	Arv	Solo	Média	Arv	Solo	Média
Recém coletadas	60	28	43 A*	63	73	68 A	28	5	16 B	28	7	17 B
LAB	57	48	52 A	75	52	64 A	5	36	20 AB	15	14	15 B
CF	72	29	50 A	74	77	76 A	45	7	26 A	22	20	22 A
Média	63 a	34 b		71a	67 a		6 a	4 a		22 a	13 a	
CV %	15,54			16,35			36,37			47,31		

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Pestalotiopsis sp. apresentou maior incidência em sementes coletadas diretamente das árvores, tanto em sementes armazenadas nos dois ambientes, como nas recém-coletadas. Provavelmente, quando coletadas diretamente das árvores, as condições de umidade da semente favoreceram a incidência do fungo. Ao cair no solo, no entanto, quando sujeita à ação do ambiente por mais tempo, essas condições podem ter sido modificadas, fazendo com que houvesse uma queda na incidência do patógeno.

Em relação ao armazenamento, não houve diferença estatística entre as médias para as recém-coletadas e armazenadas nos dois ambientes, o que era esperado, pois *Pestalotiopsis* sp. é considerado fungo de campo e a tendência é ter a incidência mantida ou diminuída durante o armazenamento.

Este fungo é relatado como patogênico para sementes e plântulas de outras espécies florestais como o angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), causando podridão de sementes, podridão de raiz e definhamento de plântulas sobreviventes (DHINGRA; MAIA; MESQUITA, 2002). Além disto, Carneiro (1987) relatou que *Pestalotiopsis* é um dos gêneros descritos como possíveis patógenos encontrados associados às sementes de espécies florestais.

Cladosporium cladosporioides não apresentou diferença na incidência tanto para sementes coletadas das árvores e do solo quanto para as armazenadas. Este fungo tem sido relatado como patogênico a muitas espécies de plantas, podendo causar redução na germinação das sementes (DHINGRA; MUCHOVEJ; CRUZ FILHO, 1980; MACHADO, 1988) e definhamento de plântulas de angico vermelho (DHINGRA; MAIA; MESQUITA, 2002), quando em condições inadequadas de armazenamento. Faiad; Ramos; Wetzel (2004) estudaram 58 espécies nativas do cerrado, dentre elas as do gênero *Tabebuia* sp., e constataram que *Cladosporium* sp. esteve freqüentemente associado às sementes das espécies estudadas e foram responsáveis pela descoloração das sementes e redução da germinação.

A incidência de *Aspergillus* sp. não diferiu estatisticamente em relação a forma de coleta. No armazenamento em câmara fria a incidência do fungo foi maior, o que era esperado por se tratar de fungo de armazenamento.

Penicillium sp. também apresentou maior incidência em sementes armazenadas em câmara fria. As diferenças estatísticas evidenciam o armazenamento em câmara fria

favorável ao desenvolvimento fúngico, em relação às sementes recém-coletadas. Este comportamento era esperado, uma vez que, *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. proliferam facilmente em sementes armazenadas, podendo causar podridão das mesmas (SANTOS; GRIGOLETTI JÚNIOR; AUER, 2000).

Estes fungos também foram encontrados em associação com muitas sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica, como canafístula (*Peltophorum dubium*), timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) e coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora*) (SANTOS; MEDEIROS; SANTANA, 2001).

Comparando os dados das Tabelas 2.1 e 2.2 verifica-se que sementes coletadas das árvores apresentaram maior porcentagem de plântulas normais apesar da alta incidência de *Pestalotiopsis* sp. Pode ser que o fato das sementes terem sido coletadas das árvores, com aproximadamente 65 dias pós-antese, quando, de acordo com Borges et al. (2005), estão mais próximas de atingirem valores máximos de produção de plântulas normais, tenha favorecido o desenvolvimento da semente, e o inóculo fúngico não foi suficiente para causar prejuízos às sementes e às plântulas originadas. Além disso, apesar do número de plântulas normais ter sido alto para as coletadas das árvores quando comparadas com as do solo, talvez essa porcentagem fosse maior se houvesse redução na incidência do fungo que pode, também, ser responsável pela elevada porcentagem de plântulas anormais. Na maioria das sementes mortas, foi possível identificar a presença do fungo.

Pestalotiopsis sp., muitas vezes foi relatado como patógeno de parte aérea, porém, também é verificado associado a sementes de espécies florestais, desde os primeiros trabalhos realizados com sementes de espécies florestais, por Carneiro (1986).

2.2.2.2 Experimento 2

Os dados da Tabela 2.3 mostram que houve maior porcentagem de plântulas normais em sementes coletadas das árvores até armazenamento por 15 dias. O armazenamento por 30 dias, fez com que as sementes perdessem a viabilidade e produzissem menos plântulas normais, contribuindo para o aumento de sementes mortas.

Não houve diferença estatística na porcentagem de plântulas normais para as sementes coletadas em Mogi-Guaçu e em Piracicaba, evidenciando que elas apresentaram mesma qualidade fisiológica.

Sementes armazenadas não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram das recém-coletadas na porcentagem de plântulas normais e sementes mortas, portanto, o armazenamento não manteve qualidade fisiológica das mesmas

Tabela 2.3 - Germinação (%) de sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo) no campus da ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2004 e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (MO), do solo (Solo), submetidas a armazenamento em laboratório (LAB) e câmara fria e seca (CFS)

Método de coleta/ Armazenamento	Plântulas Normais				Plântulas Anormais				Sementes Mortas			
	Piracicaba		Mogi		Piracicaba		Mogi		Piracicaba		Mogi	
	Arv	Solo	Solo	Média	Arv	Solo	Solo	Média	Arv	Solo	Solo	Média
Recém coletadas	75aA*	48bA	59abA	60A	0	9	0	3A	25aB	42aB	41aB	36C
15 LAB	74aA	33bAB	44bB	50AB	3	3	0	2A	23bB	64aAB	56aA B	48BC
15 CFS	50aB	34aAB	35aAB	40B	10	2	3	5A	40aB	64aAB	62aA B	55B
30 LAB	0bC	14aB	12aB	10C	0	1	5	2A	100aA	85bA	83bA	88A
30 CFS	0bC	30aAB	18aB	16C	0	5	0	2A	100aA	65bAB	82bA	82A
Média	40a	30a	33a		2a	4a	3a		57a	65a	64a	
CV %	26,0				141,0				14,0			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

É evidente que as sementes coletadas das árvores perderam bruscamente a viabilidade quando armazenadas por 30 dias, deixando de produzir plântulas normais e sim, sementes mortas. Quando armazenadas por até 15 dias, porém, a porcentagem de plântulas normais reduziu em relação às não armazenadas, mas as sementes não perderam totalmente o vigor. Sementes coletadas do solo, porém, provavelmente estavam mais secas, por terem completado o processo de maturação e por sofrerem

ações do ambiente após a deiscência natural, o que refletiu em menos perda de vigor durante o armazenamento, quando comparadas com as das árvores. Talvez, fosse preciso submeter as sementes coletadas das árvores e do solo a uma secagem prévia, a fim de prolongar sua viabilidade, uma vez que Barbedo; Bilia; Ribeiro (2002), relataram que, quando submetidas a secagem prévia, até níveis de 7,6% de umidade, sementes armazenadas por até 18 meses apresentaram boa germinação.

Em se tratando do local de coleta das sementes, tanto sementes coletadas em Piracicaba como em Mogi-Guaçu, após queda ao solo, apresentaram valores próximos de porcentagens de plântulas normais, comprovando que não houve diferença na qualidade fisiológica dessas sementes em relação ao local de coleta, conforme verificado também no Experimento 1.

De acordo com a Tabela 2.4, os fungos incidentes nas sementes foram: *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma* sp. e *Penicillium* sp.

Pestalotiopsis sp. foi encontrado, em maior incidência, em sementes coletadas do solo em Mogi-Guaçu em relação ao local e forma de coleta. Sementes coletadas do solo, em Piracicaba, apresentaram maior incidência nas recém-coletadas, diferindo do que aconteceu no Experimento 1, onde as sementes coletadas das árvores apresentaram maior incidência do fungo em relação as do solo. Talvez, no Experimento 1, as sementes tenham permanecido por menos tempo no solo, diminuindo o tempo de exposição ao inóculo fúngico.

No armazenamento, a porcentagem de incidência do fungo diminuiu, o que era esperado, pois fungos considerados de campo, como *Pestalotiopsis* sp., tendem a ter sua incidência reduzida ou mantida quando armazenados. Neste caso, tanto laboratório como câmara fria e seca reduziram a incidência do fungo.

Mucci; Lasca (1986) fizeram um levantamento de espécies de fungos associados a sementes de espécies florestais como, *Cassia leptotophylla*, *Cedrela fissilis*, *Peltophorum dubium*, *Tabebuia* sp., *Myroxylon balsamum*, *Anadenanthera macrocarpa*, *Dalbergia nigra* e *Cassia ferruginos*. Foram detectados, nessas espécies, vários gêneros de fungos, entre eles *Pestalotiopsis* que, segundo os autores, é um gênero que pode causar prejuízos a espécies cultivadas e poderia fazer o mesmo às essências estudadas.

Para *Cladosporium cladosporioides*, fungo de campo, em relação ao local e forma de coleta, a maior incidência ocorreu em sementes coletadas em Mogi-Guaçu, do solo, e das árvores, em Piracicaba. No solo, pode ser que as sementes tenham permanecido por mais tempo em contato com fungos de campo, facilitando a associação da semente ao fungo.

Em relação às coletadas nas árvores, isso era esperado, pois *Cladosporium cladosporioides* foi identificado por Lisbôa, Moraes, Pascholati (2003a) em sementes de pau-brasil com 40, 50 e 60 dias pós-antese, evidenciando que pode associar-se as sementes desde o início o seu processo de maturação, antes mesmo da deiscência natural, conforme verificado, também, no Experimento 1.

No armazenamento, a incidência permaneceu estável, como esperado, por se tratar de fungo de campo. O armazenamento em câmara fria e seca por 30 dias foi mais favorável ao desenvolvimento do fungo, registrando a maior média de incidência.

Faiad; Ramos; Wetzel (2004) estudaram a ocorrência fúngica e sua patogenicidade em sementes de 58 espécies florestais nativas do cerrado brasileiro e espécies do gênero *Cladosporium* estiveram freqüentemente associadas às sementes das espécies estudadas. Os principais prejuízos por eles causados foram descoloração das sementes, redução da taxa de germinação, impedimento do desenvolvimento de plântulas, escurecimento das sementes provocando deterioração do endosperma, necrose nas raízes e morte de plântulas em viveiro de modo geral.

Em se tratando de *Phoma* sp., a maior incidência ocorreu em sementes coletadas na ESALQ, das árvores. No armazenamento, não houve diferença estatística entre as condições testadas.

Phoma sp. foi relatado por Wielewski; Auer; Grigoletti Junior (2002) como um dos gêneros potencialmente patogênicos às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha*).

As sementes coletadas em Mogi-Guaçu apresentaram maior incidência de *Penicillium* sp. O armazenamento manteve estável a incidência do fungo, embora este seja considerado fungo de armazenamento e, por isso, se desenvolveria melhor nessas condições. Para sementes coletadas do solo em Mogi-Guaçu, isso foi verificado, uma vez que a incidência aumentou após o armazenamento das sementes.

Cherobin et al. (2004) relataram a incidência de *Penicillium* sp. em sementes de guapuruvú (*Shizolobium parahyba*) e relataram que este pode ser responsável por apodrecimento de sementes e que, em alta percentagem, prejudicaram a qualidade das sementes pela queda de viabilidade.

Neste experimento foi possível observar, comparando os dados das tabelas 2.3 e 2.4 que sementes coletadas das árvores em Piracicaba apresentaram maior porcentagem de plântulas normais e a menor incidência de *Pestalotiopsis* sp. quando não armazenadas. Assim, a melhor forma de coleta foi na árvore e, se houver necessidade de armazenamento dessas sementes, o melhor é fazê-lo por até 15 dias em laboratório.

2.3 Considerações Finais

Os fungos incidentes nas sementes de pau-brasil foram *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp. e *Alternaria* spp.

Não houve diferença entre a gama de fungos associadas às sementes coletadas em Piracicaba e em Mogi-Guaçu.

Sementes recém-coletadas das árvores apresentaram maior capacidade de produzir plântulas normais.

Se houver necessidade de armazenamento dessas sementes, o melhor é por 15 dias em laboratório

A associação de *Pestalotiopsis* sp. com sementes de pau-brasil pode ser um dos fatores que contribuíram para a diminuição no número de plântulas normais para sementes coletadas em Piracicaba, após queda ao solo, em 2004.

O ideal seria realizar o tratamento com fungicidas dessas sementes, para verificar se é possível melhorar a germinação das sementes em virtude da diminuição da incidência de fungos, principalmente *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*.

Tabela 2.4 - Incidência (%) dos principais fungos em sementes de pau-brasil coletadas diretamente das árvores (Arv) e do solo (Solo) no campus da ESALQ/USP, Piracicaba (SP), em 2004, e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Moji-Guaçu (Mogi), do solo (Solo), submetidas a armazenamento em laboratório (LAB) e câmara fria e seca (CFS), por 15 e 30 dias

	<i>Pestalotiopsis</i> sp.				<i>C. cladosporioides</i>				<i>Phoma</i> sp.				<i>Penicillium</i> sp.			
	Piracicaba		Mogi		Piracicaba		Mogi		Piracicaba		Mogi		Piracicaba		Mogi	
	Arv	Solo	Solo	Média	Arv	Solo	Solo	Média	Arv	Solo	Solo	Média	Arv	Solo	Solo	Média
Recém-coletadas	58bA*	85 aA	83abBC	75 A	98 aAB	66 bB	79 bB	81 B	14 aB	16 aA	6 aA	12 A	14 bA	16 bA	35 aC	22 AB
15 CFS	18 cB	66 bABC	100 aA	61 A	87 aABC	56 bB	93 aAB	80 B	35 aA	0 bB	1 bA	12 A	8 bAB	0 cC	49 aBC	19 B
15 LAB	11 cB	76 bAB	98 aAB	62 AB	79 bC	62 bB	98 aA	80 B	26 aAB	14 aA	3 bA	14 A	19 bAB	19 bA	44 aBC	27 A
30 CFS	15 cB	67 bC	76 aABC	52 B	87 aBC	73 aAB	86 aAB	82 B	44 aA	11 bAB	7 bA	20 A	12 bAB	3 cBC	73 aA	29 A
30 LAB	9bB	67 aABC	76 aC	50 B	100 aA	87 bA	83 bAB	90 A	18abAB	28 aA	10 bA	18 A	5 bB	8 bAB	64 aAB	26 A
Média	22 c	71 b	85 a		90 a	67 b	88 a		27 a	14 b	5 b		11 b	9 b	54 a	
CV %	24,12				69,03				18,89				27,33			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Referências

- AGUIAR, F.F.A. Comportamento ecológico de *Caesalpinia echinata* Lam, (pau-brasil), cultivado em arboreto experimental. **Revista Árvore**, Viçosa, v.16, n. 3, p.225-261, 1992.
- ARAÚJO NETO, J.C.; AGUIAR, I.; FERREIRA, V.M. Efeito de temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acaccia polyuphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.249-256, jun 2003.
- BARBEDO, J.C.; BILIA, D.A.C.; RIBEIRO, R.C.L.F. Tolerância à dessecação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.4, p.431-439, 2002.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998. 218 p.
- BORGES, I.F.; GIUDICE NETO, J.D.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BARBEDO, C.J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 48, n. 6, p. 851-861, nov. 2005.
- CARNEIRO, J.S. Microflora associada a sementes de espécies florestais em Paraopepa, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, p.556-557, 1986.
- CARNEIRO, J.S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. DA SILVA (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.17, p. 386-394.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. p. 79.
- CHEROBIN, E. A.I.; MUNIZ, M. F.B. ; HOPPE, J. M.; ÁVILA, A . L. e CAMARGO, R.F. Fungos associados às sementes de guapuruvú (*Schizolobium parahyba*) provenientes dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004, p.247.
- DENSLOW, J.S.; NEWELL, E.; ELLISON, A.M. The effect of understory palms and *Cyclanths* on the growth and survival of *Inga* seedlings. **Biotropica**, Washington, v. 23, p.225-234. 1991.
- DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes (Controle de patógenos)**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1980. p. 35.

- DHINGRA, O.D.; MAIA, C.B.; MESQUITA, J.B. Seedborne pathogenic fungi that affect seedling quality of red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) trees in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v.150, p.451-55. 2002.
- FAIAD, M.G.R.; RAMOS, V.R ; WETZEL, M.M.V. Patologia de Sementes de Espécies Florestais do Cerrado: **In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004.247p.
- LEMOS FILHO, J.P. DE; DUARTE, R.J. Germinação e longevidade das sementes de *Swietenia macrophylla* King- (Mogno) (Meliaceae). **Revista Árvore**, Viçosa – MG, v.25, n.1, p.125-130, 2001.
- LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Qualidade sanitária de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) no momento da coleta e após armazenamento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 376, 2003a.
- MACHADO, J.C. Introdução à Patologia de Sementes. In: SOAVE, J. E WETZEL, M.M.V. da SILVA (Eds.). **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.1, p. 3-15.
- MACHADO, J.C. **Patologia de Sementes**: Fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação, Lavras: ESAL/FAEP, 1988. 107 p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.341. p. 170.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 127 p.
- MELO, Z.L. DE O.; VARELA, V.P. Viabilidade de sementes de táxi-vermelho (*Sclerolobium melanocarpum* Ducke). **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n.33, p.103-108, 2000.
- MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.
- MUCCI, E.S.F.; LASCA, C.C. Flora fúngica de sementes de essências florestais nativas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.352-353, 1986
- RAMALHO, R.S. **Pau-brasil *Caesalpinia echinata*, Lam.** Viçosa:1978. UFV – MG: (Boletim de Extensão) p. 65.
- SANTOS, A.F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, Viçosa, v. 30, n.1 /2, p.119-128, 2000.

SANTOS, A.F.; MEDEIROS, A.C.S.; SANTANA, D.L.Q. Fungos associados às sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.42,. p.51-60, jan/jun 2001.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, Beneficiamento e Armazenamento. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 17, 266-281.

WIELEWSKI, P.; AUER, C. G.; JUNIOR, A. G. Levantamento de doenças de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha*) em Curitiba-PR. **Revista Floresta**, Viçosa, 32(2), p.277-281, 2002.

3 TRATAMENTO DE SEMENTES DE PAU-BRASIL COM FUNGICIDAS: EFEITO NA INCIDÊNCIA DE FUNGOS, GERMINAÇÃO E PRODUÇÃO DE MUDAS SADIAS

Resumo

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o tratamento com fungicidas em sementes de pau-brasil, verificando o controle e possíveis efeitos prejudiciais dos fungos à sua germinação, e verificar os efeitos de *Cladosporium cladosporioides* e *Pestalotiopsis* sp. Para tanto, foram utilizados os fungicidas captam, benomil e carboxim-tiram, nas doses recomendadas para grandes culturas. As sementes foram submetidas aos testes de sanidade e germinação e os dados foram analisados estatisticamente e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Plântulas anormais infeccionadas obtidas de teste de germinação com sementes de pau-brasil foram transplantadas para vasos com solo esterilizados e avaliadas diariamente quanto ao surgimento de lesões. Em seguida, o fragmento lesionado foi mantido em câmara úmida para identificação dos fungos associados. Os resultados mostraram que, nos fungos encontrados na testemunha foram *Pestalotiopsis* sp. (38%), *Cladosporium cladosporioides* (66%), *Phoma* sp. (9%), *Fusarium* spp. (3%), *Epicoccum* sp. (2%) e, *Alternaria* spp. (1%). Os três fungicidas foram eficientes na redução da incidência dos fungos. Em relação ao número de plântulas normais, não houve diferença estatística entre a testemunha (80%), captam (79%), benomil (75%), carboxim+tiram (72%). Captam foi o fungicida que controlou, com mais eficiência, a incidência dos fungos sem alterar a quantidade de plântulas normais; porém, a dose deve ser ajustada para que haja redução na porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas por provável fitotoxicidade ao fungicida. Foi confirmada a patogenicidade e transmissão dos fungos *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*, que causaram lesões nos cotilédones e hipocótilos das plântulas de pau-brasil.

Palavras-chave: tratamento, patogenicidade, *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*.

Brazilian-wood seeds treatment with fungicide: effect in fungi incidence, germination and production of health seedlings

Abstract

The objectives of this work were to evaluate the fungicide treatment in brazilian-wood seeds, verifying the fungi control and possible damage effects to germination and to verify the effects of *Cladosporium cladosporioides* and *Pestalotiopsis* sp. For this, the fungicides captan, benomyl and carboxin-thiram had been used in doses recommended for major crops. The seeds were submitted to the health and germination tests and the data were statistically analyzed and compared by the Tukey test at 5% of probability. Abnormal infected seedlings obtained from brazilian-wood seeds germination test had been transplanted to pots containing sterile soil and evaluated daily for the lesions appearance. After that, tissues material were kept in moist chamber for identification of associated fungi. The results showed that the fungi found in control were *Pestalotiopsis* sp. (38%), *Cladosporium cladosporioides* (66%), *Phoma* sp. (9%), *Fusarium* spp. (3%), *Epicoccum* sp. (2%) and *Alternaria* spp. (1%). All fungicides were efficient in the reduction of fungi. In relation to normal seedlings number, there were no statistical difference between control (80%), captan (79%), benomyl (75%), carboxin-thiram (72%). The fungicide that show a higher efficiency in the fungi incidence control without change the normal seedlings quantity was captan, however, the dose must be adjusted to decrease the percentage of abnormal seedlings and dead seeds by fungicide phytotoxicity. The transmission and of the fungi *Pestalotiopsis* sp. and *Cladosporium cladosporioides*, that caused lesions in cotyledons and hypocotylous of brazilian-wood seedlings had been confirmed.

Key-words: treatment, pathogenicity, *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*.

3.1 Introdução

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) é uma árvore semidecídua, heliófita, com casca pardo acinzentada e cerne vermelho (LORENZI, 1992). É originária da floresta pluvial Atlântica, ocorrendo desde o Rio de Janeiro (RJ) até Natal (RN) (AGUIAR; AOKI, 1983; CUNHA; LIMA, 1992; AGUIAR, 2001).

A árvore tem potencial ornamental devido sua beleza e raridade (SOUZA, 1982). Porém, encontra-se enquadrada na categoria de extinção, segundo a Portaria do IBAMA de n.37, de 03 de abril de 1992 (IBAMA, 1992). O fato da espécie se enquadrar nesta categoria originou interesse de pesquisadores para que fossem estudados, em todo ciclo de vida da árvore, possíveis anormalidades, ocorrência de doenças, etc., a fim de minimizar os prejuízos a ela causados e, conseqüentemente, elaborar projetos de reflorestamento e conscientização da população sobre a espécie em questão, que é considerada a árvore nacional, pela Lei 6.607 de 12/12/1978 (BRASIL, 1978).

São raros os estudos sobre pau-brasil e poucos patógenos foram registrados sobre a espécie (ARAÚJO; GAMACHO; BEZERRA, 2005). Grandi e Silva (2003) estudaram alguns hifomicetos na serrapilheira de pau-brasil; Mendes et al. (1998) citam, neste hospedeiro, os fungos *Ganoderma* sp. e *Pestalotiopsis* sp. como patogênicos; Araújo; Gamacho; Bezerra (2005) relataram *Anthomyces brasiliensis* causando ferrugem em folhas de pau-brasil.

Contudo, nenhum destes trabalhos relata a presença de fungos associados diretamente às sementes de pau-brasil. Segundo Machado (2000), a manipulação de sementes requer cuidados especiais sob vários aspectos, pois trata-se de um insumo biológico. Principalmente em países tropicais, onde as condições ambientais são bem diversificadas, aumentando o número de problemas sanitários, a associação de patógenos com as sementes torna-se um aspecto muito importante a ser estudado. Esta associação pode causar perdas diretas da população de plantas, assim como gerar prejuízos irreparáveis ao sistema agrícola, pois as sementes podem ser a única forma de disseminação e perpetuação de determinadas espécies de patógenos (MACHADO, 1988). Lisbôa; Moraes; Pascholati (2003a, b e c) e Lisbôa; Moraes; Menten (2004) efetuaram o levantamento de fungos em sementes de pau-brasil e possíveis efeitos na germinação. Foram detectados diversos fungos associados às sementes, entre eles

Pestalotiopsis sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma* sp., *Alternaria* sp., *Botryodiplodia* sp., *Drechslera* sp., *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Epicoccum* sp. e *Penicillium* sp.

Cladosporium cladosporioides e *Pestalotiopsis* sp., em especial, foram fungos encontrados associados a plântulas de pau-brasil danificadas e sementes mortas. Desta forma, é importante verificar os efeitos desses fungos às sementes de pau-brasil. Além disto, a fim de se evitar os prejuízos causados por essa associação, pode-se efetuar o tratamento das sementes com fungicidas, pois esta é uma das medidas mais eficientes para o controle de diversos agentes causadores de doenças, além de ser simples de ser executado e de apresentar um baixo custo.

É necessário utilizar fungicidas que sejam tóxicos ao patógeno e não à semente; deve ser atóxico ao homem e animais, não acumulável no solo, não ser explosivo nem corrosivo, capaz de ser armazenado sem deterioração, não ser afetado por temperaturas extremas, ser facilmente obtido no comércio e de baixo custo (MACHADO, 2000).

Os produtos devem ser registrados para a cultura em que serão utilizados e a escolha deve ser baseada nos patógenos-alvo e na localização dos mesmos, que pode ser interna ou externamente à semente. No caso de pau-brasil e das demais espécies florestais, não existem produtos registrados; por isso, se faz necessário verificar o efeito de vários fungicidas no controle dos fungos presentes nas sementes e na qualidade fisiológica dessas sementes.

O presente trabalho teve por objetivos avaliar o tratamento com fungicidas em sementes de pau-brasil, verificando o controle dos fungos e possíveis efeitos prejudiciais à sua germinação e verificar os efeitos de *Cladosporium cladosporioides* e *Pestalotiopsis* sp. sementes e plântulas de pau-brasil.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

3.2.1.1 Caracterização da amostra de sementes de pau-brasil

Para todos os testes realizados neste trabalho foram utilizadas sementes de pau-brasil coletadas no Campus da ESALQ/USP, em Piracicaba (SP), após queda ao solo coletadas em dezembro de 2005.

3.2.1.2 Tratamento de sementes com fungicidas

Como não existe registro nem recomendação de fungicidas para sementes de essências florestais, as doses utilizadas foram as recomendadas para sementes de grandes culturas. A escolha dos produtos comparados foi feita observando quais eram recomendados para os fungos encontrados em sementes de pau-brasil, relatados anteriormente por Lisbôa; Moraes; Pascholati (2003a, b e c) e Lisbôa; Moraes; Menten (2004). Os produtos comparados são descritos Tabela 3.1.

Tabela 3.1- Produtos e doses de fungicidas utilizados no tratamento de sementes de pau-brasil

Produto Técnico	Produto Comercial	Dose do i.a.*/100kg de sementes	Dose do p.c.*/100kg de sementes	Formulação**
Benomil	Benlate 500	500 g	200 g	S.C.
Captam	Captan 750 TS	150 g	160 g	P.S.
Carboxim+Tiram	Vitavax+Thiram 200SC	200g + 200g	450 mL	S.C.

*i.a.: ingrediente ativo; p.c.: produto comercial

**S.C.: Suspensão concentrada; P.S.: pó seco

Sementes não tratadas foram utilizadas como testemunha. Essas sementes foram submetidas aos testes de sanidade e de germinação.

3.2.1.3 Efeito de fungicidas na incidência de fungos

As sementes de pau-brasil, assim que tratadas com os fungicidas descritos na Tabela 3.1, foram submetidas ao teste de sanidade.

O método utilizado para o teste de sanidade foi o do papel de filtro, onde 20 sementes foram dispostas em placas do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel do tipo

germitest, previamente umedecidas com água destilada até saturação. As sementes foram mantidas em câmara de incubação, com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ e luz alternada (12h de luz branca fluorescente/12h de escuro), por sete dias, quando então foi feita a observação das estruturas fúngicas com auxílio de microscópio estereoscópico e ótico e identificou-se a microbiota fúngica (BARNETT; HUNTER, 1998).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições de vinte sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2.1.4 Efeito de fungicidas na germinação e produção de mudas

Para o teste de germinação foi utilizado o método do rolo de papel descrito por Marcos Filho; Cícero; Silva (1987), que consistiu em distribuir 20 sementes sobre duas folhas de papel tipo germitest, previamente umedecidas, e cobri-las com uma terceira; em seguida, as folhas foram enroladas, e levadas para o germinador com temperatura controlada de 25°C e alta umidade. A avaliação se deu após 7 e 15 dias, contando-se o número de plântulas normais (PN), plântulas anormais infeccionadas (PAI), plântulas anormais não-infeccionadas (PA) e sementes mortas (SM). O critério adotado para caracterizar uma plântula normal foi a emissão da radícula com, no mínimo 1 cm de comprimento, conforme Barbedo; Bilia; Ribeiro (2002). Foram consideradas plântulas anormais infeccionadas aquelas que apresentaram alguma deformação na raiz, hipocótilo, cotilédone, epicótilo e primeiro par de folhas, que pudessem ser associadas a alguma espécie de fungo e, plântulas anormais não-infeccionadas aquelas que apresentaram deformações nessas estruturas, porém, que não fossem associadas aos fungos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições de vinte sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância e os resultados comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2.1.5 Transmissão de fungos pelas sementes

As sementes foram submetidas ao teste de germinação pelo método descrito anteriormente e avaliadas quanto a porcentagem de plântulas normais (PN), plântulas

anormais infeccionadas (PAI), plântulas anormais não-infeccionadas (PA) e sementes mortas (SM). O critério adotado para caracterizar essas variáveis foi descrito anteriormente.

As plântulas normais e anormais foram transplantadas para vasos com solo esterilizado, mantidas em casa de vegetação e observadas quanto ao surgimento de lesões, diariamente.

Quando as lesões estavam bem evidentes, os fragmentos de tecidos das plântulas com sintomas foram colocados em câmara úmida para a identificação dos fungos associados.

3.2.2 Resultados e Discussão

3.2.2.1 Caracterização da amostra de sementes de pau-brasil

De acordo com os dados da Tabela 3.2, os fungos encontrados nas sementes foram: *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma* sp., *Fusarium* spp., *Epicoccum* sp. e *Alternaria* spp.

Lisbôa, Moraes e Pascholati (2003a, b e c) e Lisbôa, Moraes e Menten (2004), relataram a incidência de *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Phoma* sp., *Fusarium* spp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Botryodiplodia* sp., *Phoma* sp. e *Drechslera* sp. em sementes de pau-brasil coletadas na ESLAQ/USP, em Piracicaba (SP) e na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, em Mogi-Guaçu (SP).

A amostra utilizada para a execução deste experimento apresentava qualidades fisiológicas e sanitárias adequadas, uma vez que foi possível verificar que a gama de fungos incidentes nas sementes de pau-brasil foi semelhante aos trabalhos relatados anteriormente.

3.2.2.2 Efeito de fungicidas na incidência de fungos

A Tabela 3.2 evidencia o efeito dos fungicidas aplicados às sementes na incidência dos fungos associados a elas.

Pestalotiopsis sp. foi relatado em associação com sementes de angico vermelho (*Adenantha macrocarpa*), por Dhingra; Maia; Mesquita (2002), como sendo um dos

fungos causadores de podridão de sementes e raiz, reduzindo a altura e o número de plântulas normais. Este fungo foi detectado em sementes de pau-brasil que não foram submetidas aos tratamentos com fungicidas. Todos os fungicidas comparados foram eficientes no controle do patógeno, erradicando-o das sementes.

Tabela 3.2 - Incidência (%) de fungos em sementes de pau-brasil, submetidas a tratamento com fungicidas

Tratamento	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Cladosporium</i> <i>cladosporioides</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Epicoccum</i> sp.	<i>Alternaria</i> spp.
Testemunha	38 a*	66 a	9 a	3 ab	2 a	1 a
Captam	0 b	0 c	0 b	1 ab	0 b	0 a
Benomil	0 b	19 b	0 b	0 b	0 b	0 a
Carboxim+						
Tiram	0 b	24 b	0 b	12 a	0 b	0 a
CV (%)	43,2	27,61	47,7	108,66	189,73	244,39

*Médias seguidas por letras distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

C. cladosporioides é relatado como patogênico a muitas espécies de plantas, podendo causar redução na germinação das sementes (DHINGRA; MUCHOVEJ; CRUZ FILHO, 1980; MACHADO, 1988) e definhamento de plântulas de angico vermelho (DHINGRA; MAIA; MESQUITA, 2002), quando em condições inadequadas de armazenamento. Dos tratamentos efetuados, todos diferiram estatisticamente da testemunha, sendo que captam erradicou o fungo das sementes.

Para *Phoma* sp., todos os tratamentos foram eficientes e erradicaram o fungo das sementes. Isto é importante pois, Coelho; Castro (1996) avaliaram a patogenicidade de dois isolados de *Phoma* sp. sobre sementes de ipê amarelo e angico vermelho e verificaram que os isolados reduziram a germinação das sementes.

Fusarium spp. é responsável por grandes variações existentes na germinação das sementes, sendo que, infecções e/ou contaminações causadas por este fungo ocorrem durante a formação ou maturação dos frutos (DHINGRA; MUCHOVEJ; CRUZ FILHO., 1980; CARNEIRO, 1987; MACHADO, 1988). Além disso, Degan; Aguiar; Sader; Pinto (1997) constataram que 80% de sementes de *Tabebuia* sp. eram portadoras de

fungos do gênero *Fusarium*, que foi considerado patogênico às sementes, por causar problemas na germinação e nas plântulas. Dentre os fungicidas comparados, o tratamento com carboxim+tiram mostrou aumento da incidência do fungo, diferindo estatisticamente de benomil, que erradicou o fungo das sementes. Benomil atua de forma sistêmica, translocando-se nos tecidos vegetais, porém, o espectro de ação do fungicida se restringe a fungos verdadeiros, principalmente Ascomycotas (MACHADO, 2000).

Alternaria spp. e *Epicoccum* sp. foram erradicados por todos os fungicidas testados. Os gêneros destes fungos foram relatados por Faiad; Ramos; Wetzel (2004) associados a sementes de 58 espécies florestais do cerrado, entre elas *Tabebuia* sp. Os autores relataram que estes gêneros são uns dos responsáveis por descoloração das sementes, redução da taxa de germinação, impedimento do desenvolvimento de plântulas, escurecimento das sementes provocando deteriorização do endosperma, necrose nas raízes e morte de plântulas em viveiro de modo geral.

3.2.2.3 Efeito de fungicidas na germinação das sementes e produção de mudas sadias

Em relação a germinação das sementes, não houve efeito negativo dos produtos, porém observou-se um aumento no número de sementes mortas, conforme os dados da Tabela 3.3.

A quantidade de plântulas normais não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, indicando que os fungos incidentes não estavam afetando a qualidade fisiológica das sementes.

É importante observar que a quantidade de plântulas anormais infeccionadas foi maior nas sementes não-tratadas, diferindo dos demais tratamentos. Estas plântulas estavam associadas a fungos, que provavelmente contribuíram para a sua anormalidade, conforme Figura 1A. Já o número de plântulas anormais não-infeccionadas foi maior em sementes tratadas. Estas plântulas apresentavam algumas deformações, como cotilédone deformado e raiz diminuta ou retorcida, sem que houvesse algum fungo associado a estas deformações, conforme Figura 1B. Na Figura 3, pode-se observar uma plântulas normal bem desenvolvida, com suas estruturas.

Tabela 3.3 - Porcentagem de Plântulas Normais (PN), Anormais Infeccionadas (PAI) e Anormais Não-infeccionadas (PA) e Sementes Mortas (SM) obtidas de sementes de pau-brasil, submetidas a tratamento com fungicidas

TRATAMENTO	PN	PA		SM
		Infeccionada	Não-infeccionada	
Testemunha	80 a*	19 a	0 b	0 b
Captam	79 a	0 b	6 ab	15 a
Benomil	75 a	0 b	10 a	15 a
Carboxim+Tiram	72 a	0 b	12 a	16 a
CV (%)	5,62	36,6	61,0	58,0

*Médias seguidas por letras distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Figura 1 – Plântula anormal de pau-brasil infeccionada (A); plântula anormal de pau-brasil não-infeccionada tratada com fungicidas (B)

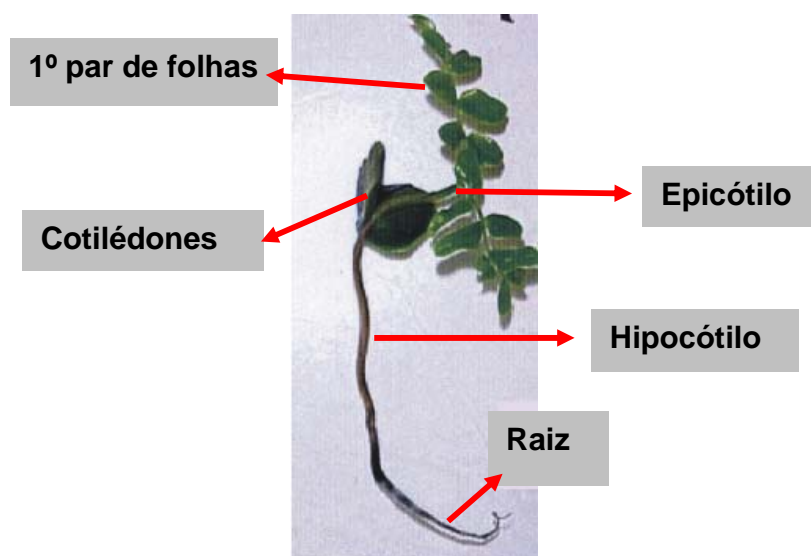


Figura 2 – Plântula normal de pau-brasil

Carboxim+tiram diferiu estatisticamente da testemunha no número de sementes mortas. A combinação entre carboxim, que é um fungicida sistêmico, e tiram, protetor, é utilizada objetivando atingir tanto os fungos externos quanto internos nas sementes, além de continuar a se translocar nas plântulas originadas. Para as sementes de pau-brasil, esta combinação não se mostrou tão eficiente, o que pode ter sido causado por um efeito de fitotoxicidade.

Captam foi o mais eficiente no controle da incidência dos fungos e manteve a germinação das sementes. Este é considerado um fungicida de amplo espectro de ação em relação ao grupo de fungos, atingindo desde a Divisão Oomycota, que não são considerados fungos verdadeiros, até os fungos verdadeiros, das Divisões Ascomycota e Basidiomycota, além de fungos Mitospóricos. (MACHADO, 2000). Além disso, é um agente protetor, ou seja, não é translocado pelos tecidos vegetais. Assim, além de atuar diretamente nos fungos, este fungicida não penetra no sistema vascular da semente e das plântulas oriundas delas, interferindo menos nos processos normais desempenhados pelas mesmas.

É preciso acertar as doses dos fungicidas testados, para que o efeito fitotóxico desapareça, prevalecendo maior porcentagem de plântulas normais.

3.2.2.4 Transmissão de fungos pelas sementes

O resultado do teste de germinação, para este experimento, evidenciou que o número de plântulas normais foi superior ao de anormais infeccionadas e não-infeccionadas, sendo 81%, 19% e 0%, respectivamente. Essas plântulas foram transplantadas para vasos com solo esterilizado e, das normais, 85% estavam sadias e 15% morreram, sendo que não apresentaram lesões que pudessem ser associadas aos fungos. As condições ambiente podem ter sido responsáveis pela perda dessa parcela de plântulas normais. Todas as plântulas anormais infeccionadas transplantadas morreram e, nas lesões originadas, foi possível identificar e isolar os fungos *Pestalotiopsis* sp. em 99% delas e *Cladosporium cladosporioides* em 1%, causando lesões em cotilédone e hipocótilo.

Cladosporium cladosporioides causou lesões no cotilédone, de formato irregular e coloração escura.

Pestalotiopsis sp. foi identificado em lesões de cotilédone, de formato irregular, com coloração escura, onde foi possível observar a presença de cirros pretos do fungo (Figura 3); e em plântulas tombadas, com lesão no hipocótilo de formato circular, pequeno e escuro, com cirros evidentes. Em plântulas com lesões no cotilédone, o primeiro par de folhas não se desenvolveu, enquanto que nas lesões no hipocótilo, próxima ao cotilédone, o primeiro par de folhas tinha se desenvolvido. Além destas lesões, em outros trabalhos, sementes mortas freqüentemente estavam associadas a *Pestalotiopsis* sp., deixando a semente com coloração enegrecida, devido principalmente, a presença dos cirros do fungo.

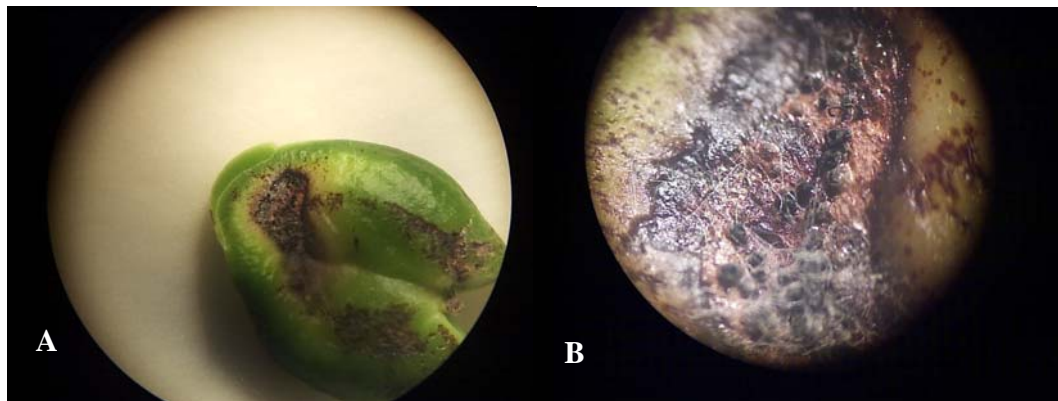


Figura 3 – Cotilédone com lesões de *Pestalotiopsis* sp. (A); cirros de *Pestalotiopsis* sp. em cotilédones de plântula de pau-brasil (B).

Com esses resultados, evidencia-se a transmissão de *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides* pelas sementes de pau-brasil, uma vez que a transmissão caracteriza-se pelo estabelecimento do patógeno transportado pela semente, proporcionando uma infecção bem sucedida, dando origem a uma planta doente onde, o único meio de inoculação foi através da associação do patógeno com a semente (Menten; Bueno, 1987).

Nenhum dos outros fungos incidentes nas sementes foi associado às lesões observadas, evidenciando que, para pau-brasil, os patógenos associados às sementes que podem causar problemas na formação de plântulas normais e, conseqüentemente, à formação de mudas saudáveis, foram *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*.

Sabe-se que estes fungos foram relatados por diversos autores em trabalhos com sementes de espécies florestais, algumas vezes, associando-os à morte de

sementes, lesões na raiz e definhamento das plântulas. Por isso, novos experimentos devem ser feitos para conhecer mais a patogenicidade desses fungos às sementes e plântulas de pau-brasil, com maior número de amostras, a fim de confirmar o método utilizado.

3.3 Considerações Finais

O tratamento com fungicidas em sementes de pau-brasil reduziu significativamente a incidência dos fungos; porém, essa redução não refletiu em aumento na porcentagem de germinação das sementes, indicando que esses fungos não estavam afetando este indicador da qualidade fisiológica das sementes.

Pestalotiopsis sp., *Phoma* sp. e *Epicoccum* sp. foram eliminados das sementes quando submetidas aos tratamentos. *Cladosporium cladosporioides* foi erradicado por captam.

Captam foi o fungicida que erradicou os fungos das sementes, inclusive *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides*; porém, a dose deve ser ajustada para que o efeito fitotóxico observado nas plântulas anormais não-infeccionadas e nas sementes mortas, possa ser reduzido, contribuindo para o aumento no número de plântulas normais.

Foi evidenciado que *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium cladosporioides* são transmitidos por sementes de pau-brasil, além de serem patogênicos a elas e às plântulas originadas, causando definhamento de plântulas, por lesão no hipocótilo e lesões irregulares nos cotilédones.

Referências

AGUIAR, F.F.A. Fenologia do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.26, n.1, p.107-112, 2001.

AGUIAR, F.F.A.; AOKI, H. Regiões de ocorrência natural do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4., 1982. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1983. p.1-5.

ARAÚJO, C.F.L.; GAMACHO, K.P.; BEZERRA, J.L. Reestudo de *Anthomyces brasiliensis* em *Caesalpinia echinata* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.5, p.510-516, 2005.

BARBEDO, J.C.; BILIA, D.A.C.; RIBEIRO, R.C.L.F. Tolerância à dessecação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo., v.25, n.4, p.431-39, 2002.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B.; **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998. 218 p.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Lei nº6607. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 dez 1978. Seção I, Parte I, p.19910.

CARNEIRO, J.S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. DA SILVA (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.17, p. 386-394.

COELHO, R.M.S.; CASTRO, H.A. Patogenicidade de *Phomopsis* e *Phoma* associados a sementes de ipê (*Tabebuia serratifolia*) e angico vermelho (*Anadenanthera peregrina*). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.22, n.3/4, p.224-227, 1996.

CUNHA, M.W.; LIMA, H.C. **Viagem à terra do Pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura, 1992. 64p.

DEGAN, P.; AGUIAR, I. B.; SADER, R.; PINTO, L. R. Composição química, sanidade, secagem e germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sand. - Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.1, p.41/47, 1997.

DHINGRA, O.D.; MAIA, C.B.; MESQUITA, J.B. Seedborne pathogenic fungi that affect seedling quality of red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) trees in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v.150, p.451-55, 2002.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes (Controle de patógenos)**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1980. p. 35.

GRANDI, R.A.; SILVA, T.V. Hyphomycetes sobre folhas em decomposição de *Caesalpinia echinata* Lam.: ocorrências novas para o Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.6, p.489-493, 2003.

FAIAD, M.G.R.; RAMOS, V.R ; WETZEL, M.M.V. Patologia de Sementes de Espécies Florestais do Cerrado: In: **VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004.247p.

IBAMA. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. (unpublished). Sociedade Botânica do Brasil. Centúria plantarum Brasiliensium extinctions minitata. Sociedade Botânica do Brasil. 1992. p.175.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Qualidade sanitária de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) no momento da coleta e após armazenamento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 376, 2003a.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Incidência de fungos em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 377, 2003b.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Fungos infectando sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 361, 2003c.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Sanidade e potencial germinativo de sementes de *Caesalpinia echinata*, Lam (pau-brasil) coletadas no campus da ESALQ/USP, em Piracicaba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004. 182 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil/ Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1992. p.375.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes**: Fundamentos e aplicações. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: PS/UFLA/FAEPE, 2000. 137p.

MARCOS FILHO, J. M.; CICERO, S. M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. p.58.

MENDES, M.A.S.; SILVA, V.L., DIANESE, J.C.; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília. EMBRAPA, 1998. 65 p.

MENTEN, J.O.M.; BUENO, J.T. Transmissão de patógenos pelas sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. DA SILVA (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.7, p. 164-189.

SOUZA, H.M. O Pau-brasil. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 fev. 1982. Suplemento Agrícola n.1386.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS

Os fungos incidentes nas sementes foram *Pestalotiopsis* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* spp., *Phoma* sp., *Epicoccum* sp. e *Alternaria* spp.

Pelos resultados obtidos, é possível verificar que a gama de fungos incidentes nas sementes de pau-brasil é semelhante, independentemente do local, forma de coleta e armazenamento.

O melhor momento para coletar as sementes de pau-brasil foi quando elas ainda estavam ligadas às árvores, com aproximadamente 65 dias pós-antese, quando foi verificado maior porcentagem de plântulas normais.

Quando armazenadas, as sementes tiveram queda na porcentagem de germinação. O armazenamento em laboratório por 15 dias foi o mais eficiente.

Não houve diferença na incidência de fungos e na porcentagem de germinação entre sementes coletadas em Piracicaba (SP) e em Mogi-Guaçu (SP).

O tratamento com fungicidas foi apresentado como forma de controle dos fungos, com o intuito de manter a germinação das sementes. Captam foi o fungicida indicado para o tratamento das sementes, porém a dose deve ser acertada para que haja redução na porcentagem de plântulas anormais não-infeccionadas e sementes mortas, por efeito fitotóxico. Isso contribuirá ainda mais para o aumento na produção de plântulas normais, que originarão mudas saudáveis.

Pestalotiopsis sp. foi o fungo mais patogênico às sementes causando lesões em plântulas, que não se desenvolveram normalmente. *Cladosporium cladosporioides* também foi associado à lesões em plântulas, porém em menor porcentagem. Este resultado foi importante, pois a morte da plântula significa em perda de mudas saudáveis, que poderiam ser levadas a campo.

Desta forma, a união entre forma de coleta, armazenamento e tratamento com fungicidas pode ser uma das alternativas para auxiliar na retirada da espécie estudada da categoria de extinção, proporcionando produção de mudas com qualidade para serem levadas a campo.

Referências

- AGUIAR, F.F.A. Comportamento ecológico de *Caesalpinia echinata* Lam, (pau-brasil), cultivado em arboreto experimental. **Revista Árvore**, Viçosa, v.16, n. 3, p.225-261, 1992.
- AGUIAR, F.F.A.; AOKI, H. Regiões de ocorrência natural do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4., 1982. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1983. p.1-5.
- AGUIAR, F.F.A.; BARBOSA, J.M. Estudo de conservação e longevidade de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.10, p.145-50,1985.
- ARAÚJO NETO, J.C.; AGUIAR, I.; FERREIRA, V.M. Efeito de temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acaccia polyuphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.249-256, jun 2003.
- ARAÚJO, C.F.L.; GAMACHO, K.P.; BEZERRA, J.L. Reestudo de *Anthomyces brasiliensis* em *Caesalpinia echinata* no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.5, p.510-516, 2005.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998. 218 p.
- BARBEDO, J.C.; BILIA, D.A.C.; RIBEIRO, R.C.L.F. Tolerância à dessecação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.4, p.431-39, 2002.
- BOOTH, E. **The genus *Fusarium***. Kew: Commonwealth Mycological Institute, s.l.,1971, 237p.
- BORGES, I.F.; GIUDICE NETO, J.D.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; BARBEDO, C.J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba, v. 48, n. 6, p. 851-861, nov. 2005.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Lei nº6607. **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 dez 1978. Seção I, Parte I, p.19910.
- CARNEIRO, J.S. Microflora associada a sementes de espécies florestais em Paraopepa, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, p.556-557, 1986.
- CARNEIRO, J.S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. DA SILVA (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill,1987. cap.17, p. 386-394.

CARVALHO, W.L.; MUCHOVEJ, J.J. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.15, n.2, p.173-178, 1991.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. p. 79.

CHEROBIN, E. A.I.; MUNIZ, M. F.B. ; HOPPE, J. M.; ÁVILA, A . L. e CAMARGO, R.F. Fungos associados às sementes de guapuruvú (*Schizolobium parahyba*) provenientes dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004, p.247.

COELHO, R.M.S.; CASTRO, H.A. Patogenicidade de *Phomopsis* e *Phoma* associados a sementes de ipê (*Tabebuia serratifolia*) e angico vermelho (*Anadenanthera peregrina*). **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.22, n.3/4, p.224-227, 1996.

CUNHA, M.W.; LIMA, H.C. **Viagem à terra do pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura, 1992. p.28.

DENSLOW, J.S.; NEWELL, E.; ELLISON, A.M. The effect of understory palms and Cyclanths on the growth and survival of Inga seedlings. **Biotropica**, Washington, v. 23, p.225-234. 1991.

DEGAN, P.; AGUIAR, I. B.; SADER, R.; PINTO, L. R. Composição química, sanidade, secagem e germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sand. - Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.1, p.41/47, 1997.

DHINGRA, O.D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n1, p. 139-145, 1985.

DHINGRA, O.D.; MAIA, C.B.; MESQUITA, J.B. Seedborne pathogenic fungi that affect seedling quality of red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) trees in Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v.150, p.451-55. 2002.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes** (Controle de patógenos). Viçosa: UFV, Imprensa Universitária. 1980. 121p.

GRANDI, R.A.; SILVA, T.V. Hyphomycetes sobre folhas em decomposição de *Caesalpinia echinata* Lam.: ocorrências novas para o Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.6, p.489-493, 2003.

FAIAD, M.G.R.; RAMOS, V.R ; WETZEL, M.M.V. Patologia de Sementes de Espécies Florestais do Cerrado: In: VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004.247p.

IBAMA. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. (unpublished). 4pp. Sociedade Botânica do Brasil. Centúria plantarum Brasiliensium extinctions minitata. Sociedade Botânica do Brasil. 1992. p.175.

LASCA, C.C.; SAMPAIO, A.S.; CINTRA, A.F. Condições fitossanitárias de sementes importadas de *Pinus* spp. **O Biológico**, Campinas, v.27, p.287-292, 1971.

LEMOS FILHO, J.P. DE; DUARTE, R.J. Germinação e longevidade das sementes de *Swietenia macrophylla* King- (Mogno) (Meliaceae). **Revista Árvore**, Viçosa – MG, v.25, n.1, p.125-130, 2001.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Incidência de fungos em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 377, 2003a.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Qualidade sanitária de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) no momento da coleta e após armazenamento. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 376, 2003b.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; PASCHOLATI, S.F. Fungos infectando sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil). **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.13, n.3, p. 361, 2003c.

LISBÔA, T.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Sanidade e potencial germinativo de sementes de *Caesalpinia echinata*, Lam (pau-brasil) coletadas no campus da ESALQ/USP, em Piracicaba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004: João Pessoa. **Palestras e Resumos**: João Pessoa, 2004. 182 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil/ Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1992. p.375.

MACHADO, J.C. Introdução à patologia de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. da SILVA (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.1,p. 3-15.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes**: Fundamentos e Aplicações. Brasília: Ministério da Educação, Lavras: ESAL/FAEP. 1988, 107 p.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: PS/UFLA/FAEPE, 2000. 137p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.341. p. 170.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 127 p.

- MELLO-FILHO, L.E. A floresta Atlântica. In: MONTEIRO, S.; KAZ, L. (Coord.) **Floresta Atlântica/textos científicos**. Rio de Janeiro: Edições Alumbramento, 1991/1992. p.17-21.
- MELO, Z.L. DE O.; VARELA, V.P. Viabilidade de sementes de táxi-vermelho (*Sclerolobium melanocarpum* Ducke). **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n.33, p.103-108, 2000.
- MENDES, M.L.; MUCHOVEJ, J.J. *Pestalotiopsis* leaf spot of Brazil Wood, *Caesalpinia echinata*. **Plant Pathology**, London, v. 40, p.635-636, 1991.
- MENDES, M.A.S.; SILVA, V.L., DIANESE, J.C.; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F.; CASTRO, C. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília. EMBRAPA, 1998. 65 p.
- MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991. 321p.
- MENTEN, J.O.M.; BUENO, J.T. Transmissão de patógenos pelas sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. DA SILVA (Eds.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.7, p. 164-189.
- MUCCI, E.S.F.; LASCA, C.C. Flora fúngica de sementes de essências florestais nativas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.2, p.352-353, 1986
- RAMALHO, R.S. **Pau-brasil *Caesalpinia echinata*, Lam.** Viçosa: 1978. UFV-MG: (Boletim de Extensão), p.65.
- SANTOS, A.F.; MEDEIROS, A.C.S.; SANTANA, D.L.Q. Fungos associados às sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica. Colombo, **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, n.42, p.51-60, jan/jun 2001.
- SANTOS, A.F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p.119-128, 2000.
- SOARES, C.M.C. **Pau-brasil: a árvore nacional**. 2 ed. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Estação Ecológica de Tapacurá, 1985. p.67.
- SOUZA, B.J. **O pau-brasil na história nacional**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1939. p.55.
- SOUZA, H.M. O Pau-brasil. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 fev. 1982. Suplemento Agrícola n.1386.
- VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 17, p 266-281.

WIELEWSKI, P.; AUER, C. G.; JUNIOR, A. G. Levantamento de doenças de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha*) em Curitiba-PR. **Revista Floresta**, Viçosa, 32(2), p.277-281, 2002.