

Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais

Carlos Garrido Pinheiro¹, Marília Lazarotto², Marlove Fatima Brião Muniz¹, Cristina Gouvêa Redin¹, Mateus Velho dos Santos³

¹Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

³Universidade Federal da Fronteira Sul, Av. Jacó Reinaldo Haypenthal, CEP 97900-000, Cerro Largo, RS, Brasil

*Autor correspondente:
marilia.lazarotto@ufrgs.br

Termos para indexação:

Semente florestal
Sanidade florestal
Plântulas

Index terms:

Forest seed
Forest health
Seedlings

Histórico do artigo:

Recebido em 20/04/2016
Aprovado em 12/08/2016
Publicado em 30/09/2016

doi: 10.4336/2016.pfb.36.87.1234

Resumo - O objetivo deste estudo foi testar tratamentos de assepsia e sua influência na germinação e sanidade de sementes de quatro espécies florestais: *Bauhinia forficata*, *Cedrela fissilis*, *Parapiptadenia rigida* e *Senegalia bonariensis*. As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos: controle (T0); NaClO 1% por 3 min (T1); NaClO 2% por 1 min + 1 enxágue com água destilada (T2); álcool 70% por 1 min + triplo enxágue em água destilada + NaClO 0,5% por 1 min + triplo enxágue com água destilada (T3); Lysoform® por 1 min (T4); e álcool 70% por 1 min + NaClO 1% por 1 min + 1 enxágue com água destilada por 1 min (T5). Após, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, sendo registrado comprimento, massa fresca e massa seca de plântulas, e teste de sanidade. Para *B. forficata* recomenda-se o tratamento T2, com aumento do potencial germinativo e comprimento de plântulas, sendo o mesmo recomendado para *C. fissilis* para aumento da germinação e redução da incidência de *Fusarium* sp.; todos os tratamentos de assepsia reduzem a incidência de fungos de armazenamento em *P. rigida*, porém não há influência sobre a germinação; e para *S. bonariensis* não há necessidade de assepsia. Os tratamentos de assepsia recomendados podem ser utilizados rotineiramente em sementes das espécies florestais estudadas.

Surface sterilization effect on germination and seeds incidence of fungi of forest species

Abstract - The aim of this study was to test treatments for sterilization and its influence on germination and health of seeds and seedlings of four forest species: *Bauhinia forficata*, *Cedrela fissilis*, *Parapiptadenia rigida* and *Senegalia bonariensis*. The seeds were subjected to the following treatments: control without treatment (T0); sodium hypochlorite 1% for 3 min (T1); sodium hypochlorite 2% for 1 min + one rinse with distilled water (T2); alcohol 70% for 1 min + triple rinse with distilled water + sodium hypochlorite 0.5% for 1 min + triple rinse with distilled water (T3); Lysoform® for 1 min (T4); alcohol 70% for 1 min + sodium hypochlorite 1% for 1 min + one rinse with distilled water for 1 min (T5). Seeds were subjected to germination tests and we evaluate length of seedlings, fresh and dry weight, and sanity test. T2 is recommended for *B. forficata* presenting increase on germination potential and on seedling length; the same treatment is recommended for *C. fissilis* to increase germination and reduction of *Fusarium* sp. incidence; all aseptic treatments reduced incidence of *P. rigida* storage pathogen, however, there was no influence on germination; and seeds of *S. bonariensis* do not need to be sterilized. The recommended surface sterilization treatments could be routinely used in seeds of the studied species.

Introdução

Estudos que visem o aperfeiçoamento de técnicas sobre desenvolvimento e produção de espécies florestais são de fundamental importância, especialmente para a silvicultura brasileira em função da grande diversidade de espécies florestais nativas com potencial, tanto para exploração madeireira quanto para outros fins (óleos essenciais, extrativos, princípios medicinais ou frutos). Destaca-se a qualidade das sementes como determinante para o sucesso na produção de mudas, sendo a assepsia de sementes florestais uma etapa a ser utilizada rotineiramente.

A assepsia em sementes é uma das medidas mais simples e eficientes no controle de doenças, sendo geralmente de baixo custo, fácil aplicação, além de agir diretamente na fonte de inóculo do patógeno (Menten, 1995). Esta técnica tem como principais objetivos, a proteção da semente contra a ação de patógenos, bem como proteger a semente e a plântula contra os micro-organismos presentes no solo (Machado, 1988). Durante o período de armazenamento, quando a umidade relativa do ar, a umidade da semente e a temperatura se elevam, ocorrem condições favoráveis para a aceleração dos processos bioquímicos, os quais exercem efeito na ação de microrganismos (Zorato et al., 2001). Assim, muitos deles são beneficiados, principalmente os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, os quais são considerados fungos de armazenamento.

Recomendações de métodos de assepsia mais eficazes para sementes de espécies florestais nativas praticamente inexistem, à exceção daqueles apresentados na Instrução Normativa nº 44, de 23 de dezembro de 2010 (Brasil, 2010), onde alguns procedimentos para análise de sementes de 50 espécies foram validados, incluindo tratamentos assépticos para *Cedrela fissilis* Vell. e *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan. Porém, poucos estudos relacionam a assepsia com a germinação e a sanidade das sementes, demonstrando potencial de redução de inóculo de patógenos e fungos de armazenamento. Segundo Souza et al. (2013), frequentemente estas sementes são coletadas após sua dispersão natural, o que pode fazer com que fiquem no solo em contato com micro-organismos cuja atividade é favorecida em regiões tropicais, devido à alta umidade e temperatura.

Dentre os produtos utilizados para assepsia, destaca-se o hipoclorito de sódio (NaClO), comumente usado em diferentes concentrações e períodos de tempo para

eliminar contaminantes superficiais de material vegetal e ambientes, assim como no controle de organismos patogênicos (Coutinho et al., 2000). Porém, há necessidade de realização de estudos com este e demais produtos disponíveis com relação à concentração e tempo de exposição das sementes.

Diante da importância do tema e da escassez de informações sobre tratamentos de assepsia para sementes florestais, o presente trabalho objetivou testar diferentes concentrações e combinações de produtos assépticos nas sementes de *Bauhinia forficata* Link., *C. fissilis*, *P. rigida* e *Senegalia bonariensis* (Gillies ex Hook. & Arn.) Seigler & Ebinger, a fim de analisar seus possíveis efeitos no desenvolvimento das plântulas e na sanidade das sementes.

Material e métodos

Foram utilizadas sementes das espécies florestais *Bauhinia forficata*, *Cedrela fissilis*, *Parapiptadenia rigida* e *Senegalia bonariensis*, procedentes de diferentes municípios do estado do Rio Grande do Sul. Estas foram coletadas entre os meses de junho e julho de 2009 e armazenadas sob condições de câmara fria (8–10 °C e umidade relativa em torno de 80%) até o início da realização dos testes, que ocorreu em outubro de 2009. Todas as amostras foram cedidas pela Bolsa de Sementes do Laboratório de Silvicultura Juarez Martins Hoppe da UFSM e os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi do Centro de Ciências Rurais, UFSM. Após a submissão aos tratamentos de assepsia descritos na Tabela 1, as sementes foram avaliadas através de testes de germinação e sanidade.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos de assepsia utilizados para as sementes de espécies florestais.

Tratamento	Descrição
T ₀	Controle – sem qualquer tipo de tratamento
T ₁	NaClO 1% por 3 min
T ₂	NaClO 2% por 1 min + 1 enxágue com água destilada
T ₃	Álcool 70% por 1 min + triplo enxágue com água destilada + NaClO 0,5% por 1 min + triplo enxágue com água destilada
T ₄ *	Lysoform® por 1 min
T ₅	Álcool 70% por 1 min + NaClO 1% por 1 min + 1 enxágue com água destilada por 1 min

* Lysoform® componente ativo: 0,45% de cloreto de cocobenzil alquil dimetil amônio e cloreto de didecil dimetil amônio.

Teste de germinação: foi realizado utilizando-se 100 sementes de cada espécie, divididas em quatro repetições de 25 e dispostas em caixas plásticas (Gerbox®), previamente desinfestadas com NaClO a 1%, forradas com papel-filtro umedecido com água destilada esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel (Brasil, 2009b). A incubação ocorreu sob temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 h de luz branca. A avaliação do número de plântulas normais variou de acordo com a espécie e ocorreu quando houve estabilização da germinação, sendo no 4º, 7º, 14º e 21º dia para *S. bonariensis*, *P. rigida*, *B. forficata* e *C. fissilis*, respectivamente.

Avaliação das plântulas: as plântulas normais, oriundas dos testes de germinação, foram avaliadas quanto ao comprimento, massa fresca e massa seca, onde: a) comprimento total: obtido de 10 plântulas normais, as quais foram medidas com auxílio de régua graduada e os resultados médios expressos em cm plântula⁻¹; b) massa fresca: obtida por pesagem de 10 plântulas normais, em balança analítica de 0,01 g de precisão, sendo os resultados expressos em g plântula⁻¹; c) massa seca: as plântulas utilizadas na avaliação da massa fresca foram colocadas em estufa a 80 °C por 24 h (Nakagawa, 1999) para serem posteriormente pesadas em balança analítica com 0,01 g de precisão, sendo também expressa em g plântula⁻¹.

Teste de sanidade: foi realizado em 100 sementes de cada espécie e tratamento, sendo divididas em quatro repetições de 25 sementes. Estas foram colocadas em caixas Gerbox® previamente desinfestadas com NaClO a 1%, forradas com papel-filtro umedecido com água destilada esterilizada e incubadas sob temperatura de 20 °C ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h de luz branca pelo método “Blotter-test” conforme Manual de Análises Sanitárias (Brasil, 2009a). A avaliação da incidência de fungos foi realizada aos sete dias após a instalação dos testes, quando as sementes foram observadas individualmente sob microscópio estereoscópico e com preparação de lâminas visualizadas em microscópio de luz para comparação das estruturas fúngicas com descrições contidas em Barnett & Hunter (1998). Também foi computada a porcentagem de sementes sadias nas quais não eram observadas estruturas fúngicas.

Procedimento estatístico: o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento. Para a análise de variância, os dados em porcentagem (germinação e

sanidade) foram submetidos ao teste de normalidade. Em caso de dados não-normais, os mesmos foram transformados segundo arc sen $\sqrt{x}/100$. Os dados expressos em g plântula⁻¹ (comprimento, massa fresca e massa seca) foram analisados sem transformação. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o Sistema de Análise Estatística, SANEST (Zonta & Machado, 1986). As comparações entre germinação, sanidade e desempenho de plântulas após submissão aos tratamentos foram realizadas separadamente para cada espécie.

Resultados e discussão

Analisando-se a germinação das sementes de *B. forficata* (Tabela 2), pode-se inferir que apenas o tratamento à base de NaClO a 2% por 1 min (T₂) foi eficiente, chegando a aumentar a germinação em 43%, quando comparado ao tratamento controle, provavelmente devido à redução de incidência de fungos, o que será discutido posteriormente. Em relação ao comprimento das plântulas, o T₂ também apresentou resultado significativamente superior aos demais, o que demonstra, além da promoção da germinação, o maior vigor de plântulas. Para as variáveis massa fresca e massa seca, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos assépticos, com valores observados entre 0,31 e 0,37 g plântula⁻¹ para massa fresca entre 0,08 e 0,15 g plântula⁻¹ para massa seca.

Dentre os patógenos encontrados em sementes de *B. forficata*, *Aspergillus* sp. foi o que apresentou maior incidência nos tratamentos T₃, T₄ e T₅. A maior redução da incidência de *Aspergillus* sp. ocorreu no tratamento T₂. Para *Penicillium* sp., os tratamentos T₁ e T₂ reduziram significativamente sua incidência; e para *Fusarium* sp. foi observada maior incidência em T₂, porém, neste tratamento também foi observado maior número de sementes sadias, superando em 58% o tratamento controle.

Desta forma, T₂ reduziu a incidência de fungos deterioradores de sementes (*Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.) e elevou a incidência de *Fusarium* sp. para *B. forficata*, o que provavelmente ocorreu pela eliminação dos demais gêneros fúngicos que poderiam estar competindo por alimento com este último patógeno. Esse tratamento simples de assepsia poderá ser utilizado rotineiramente para a espécie, quando aplicado anteriormente à sua semeadura.

Tabela 2. Germinação, comprimento total de plântulas, sementes sadias e incidência de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. para diferentes tratamentos em sementes de *Bauhinia forficata*.

Trat	G (%)	CP (cm)	SS (%)	<i>Aspergillus</i> sp. (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)	<i>Fusarium</i> sp. (%)
T ₀	44 bc*	4,1 b	8 b	54 b	31 a	7 b
T ₁	57 b	3,9 b	47 a	50 b	9 b	0 c
T ₂	87 a	5,6 a	66 a	27 c	7 b	16 a
T ₃	41 bc	3,3 bc	9 b	84 a	15 ab	0 c
T ₅	40 c	4,2 b	0 b	92 a	13 ab	0 c
T ₅	33 c	2,6 c	5 b	92 a	13 ab	0 c
CV (%)	9,2	12,2	35,7	8,5	30,6	10,2

*Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Em que: G: germinação; CP: comprimento de plântulas; CV: coeficiente de variação; SS: sementes sadias; Trat: tratamentos; T₀ – controle; T₁ – NaClO 1% por 3 min; T₂ – NaClO 2% (1 min) + simples enxague com água destilada; T₃ – álcool 70% (1 min) + triplo enxágue com água destilada + NaClO 0,5% (1 min) + triplo enxágue com água destilada; T₄ – Lysoform; T₅ – álcool 70% (1min) + NaClO 1% (1min) + simples enxague com água destilada (1 min).

Seneme et al. (2006) estudaram a sanidade de sementes de *Allophylus edulis* e encontraram diversos gêneros fúngicos associados à estas, dentre eles, *Aspergillus* que, segundo os autores, pode atuar na deterioração das sementes durante o armazenamento e culminar com a perda da capacidade germinativa. Dessa forma, tratamentos assépticos, visando diminuir a incidência de alguns patógenos em sementes, podem ser testados utilizando NaClO em diferentes concentrações e períodos de tempo.

A utilização de álcool 70% antes do NaClO em tratamentos assépticos é indicada por alguns autores, a exemplo de Rego et al. (2012), que utilizaram a assepsia de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* com álcool 70%, seguido de NaClO a 1%, ambos por 30 s, seguido de lavagem em água destilada e esterilizada para posterior avaliação de sanidade em meio BDA (batata-dextrose-ágar). Diversos tratamentos assépticos podem ser testados visando melhor desempenho de sementes e plântulas. Analisando a germinação de sementes e emergência de plântulas de *Oenocarpus minor*; Silva et al. (2006) realizaram a assepsia das sementes da espécie por meio de benomyl a 0,1% durante 10 min, seguido de lavagem com água corrente por 5 min como tratamento asséptico padrão, realizado anteriormente ao teste de germinação a fim de reduzir a incidência de fungos superficiais.

Kikuti et al. (2005) testaram a assepsia de sementes de pimentão (*Capsicum annuum*) com NaClO a 1% por 3 min, sendo possível observar que houve

diminuição da incidência de *Aspergillus* spp., quando realizada antes da incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado. Muniz et al. (2007) utilizaram a assepsia com NaClO a 1% por 5 min com posterior lavagem com água esterilizada em sementes de *Cassia multijuga*, *Parapiptadenia rigida*, *Peltophorum dubium*, *Mimosa bimucronata* e *Entereolobium contortisiliquum*, verificando efeito positivo da assepsia na qualidade sanitária das sementes e na fase inicial do desenvolvimento das mudas. Pacheco et al. (2006), em estudos com sementes de *Myracrodruon urundeuva*, recomendaram a utilização de NaClO a 5% durante 5 min, seguido de lavagem com água destilada.

Com relação a *Fusarium* sp., é recomendado que se verifique sua patogenicidade, pois este gênero tem sido constantemente relatado em associação com sementes de espécies florestais. Tal fato foi relatado por Maciel et al. (2013), com a associação de *Fusarium sambucinum* em sementes de *Pinus elliottii*, causando tombamento de plântulas, e em estudo conduzido por Lazarotto et al. (2014), com *Fusarium equiseti* associado a sementes de *Carya illinoensis*, em que foram observados, após inoculação em sementes, sintomas de necrose foliar, murcha e podridão de raízes em mudas da espécie.

Em relação à avaliação de sementes de *C. fissilis* (Tabela 3), verificou-se nos resultados de germinação, que os tratamentos apresentaram diferenças significativas, onde valores superiores foram observados nos tratamentos T₁ e T₂. Germinação muito baixa (21%) foi observada no tratamento T₄. Quanto ao comprimento de plântulas, T₁

apresentou significativamente o maior valor, comparado aos demais tratamentos, e T_4 o menor. Em relação às variáveis massa fresca e massa seca, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos assépticos, com valores variando entre 0,11 e 0,14 g plântula⁻¹ para massa fresca entre 0,01 e 0,02 g plântula⁻¹ para massa seca.

Foi constatada a presença dos fungos *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. nas sementes de *C. fissilis* (Tabela 3). Verificou-se alta incidência de *Penicillium* sp. no tratamento controle, sendo reduzida para todos os outros tratamentos. O tratamento T_2 foi o mais eficiente na redução da incidência de *Fusarium* sp., com valor significativamente inferior aos demais, sendo observada também a maior porcentagem de sementes sadias. Nos tratamentos T_4 e T_5 a incidência de *Fusarium* sp. foi elevada, o que pode estar associado a um possível efeito fitotóxico para a espécie, considerando que este tratamento também prejudicou a germinação e o comprimento das plântulas. *Fusarium* sp. é responsável por tombamento de pré e pós emergência em sementes de outras espécies florestais e foi anteriormente relatado em sementes de *C. fissilis* causando danos em raízes, com posterior tombamento de plântulas (Lazarotto et al., 2012), indicando a importância em se definir tratamentos eficientes para o controle desses fungos patogênicos.

Tabela 3. Germinação, comprimento total de plântula, sementes sadias e incidências de *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. para diferentes tratamentos em sementes de *Cedrela fissilis*.

Trat	G (%)	CP (cm)	SS (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)	<i>Fusarium</i> sp. (%)
T_0	71 ab*	6,8 ab	41 cd	43 a	21 b
T_1	80 a	7,7 a	69 ab	8 b	23 b
T_2	86 a	5,9 b	84 a	6 b	10 c
T_3	71 ab	5,6 b	44 cd	0 b	23 b
T_4	21 c	1,4 d	33 d	17 b	50 a
T_5	59 b	3,1 c	50 c	12 b	41 a
CV (%)	10,1	14,6	33,8	35,4	26,5

*Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Em que: G: germinação; CP: comprimento de plântula; CV: coeficiente de variação; SS: sementes sadias; Trat: tratamentos; T_0 – controle; T_1 – NaClO 1% por 3 min; T_2 – NaClO 2% (1 min) + enxágue simples com água destilada; T_3 – álcool 70% (1 min) + triplo enxágue com água destilada + NaClO 0,5% (1min) + triplo enxágue com água destilada; T_4 – Lysoform; T_5 – álcool 70% (1min) + NaClO 1% (1min) + enxágue simples com água destilada (1min).

Os produtos NaClO, Q-boa®, Brilhante®, Agrotensil® e Lysoform® nas concentrações de 1%, 2%, 3%, 5% e 10%, por períodos de dois, cinco e

10 min na assepsia de sementes de soja, foram testados por Zorato et al. (2001). Os autores constataram que o Lysoform® a 10% por 10 min eliminou os fungos *Aspergillus flavus* e *Rhizopus* spp., porém, propiciou o desenvolvimento de bactérias. Tal qual para a espécie agrícola testada no estudo anteriormente citado em que houve redução da incidência de alguns fungos e aumento da incidência de bactérias, para *C. fissilis*, apesar da redução da incidência de *Penicillium* sp., houve aumento da incidência de *Fusarium* sp. em sementes, o que pode ter sido mais prejudicial para a viabilidade das mesmas.

Novos métodos de desinfestação em sementes de espécies florestais são importantes, visando melhores desempenhos na germinação e diminuição na contaminação. Souza et al. (2011) testaram diferentes concentrações de NaClO na desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.). Os autores iniciaram com imersão das sementes em etanol 70% por 1 min, seguido de solução de NaClO nas concentrações de 0; 2; 4; 6 e 8% e observaram que a solução de NaClO de 4 a 6% de cloro ativo foi eficiente na melhoria da qualidade sanitária e não prejudicou a germinação.

Para *P. rigida*, a germinação não apresentou diferenças significativas nos tratamentos testados, demonstrando que a assepsia das sementes não alterou a germinação (Tabela 4). Para o comprimento de plântula, o tratamento controle apresentou valor significativamente superior aos demais tratamentos. Em relação às variáveis massa fresca e massa seca, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, com valores variando entre 0,11 e 0,15 g plântula⁻¹ para massa fresca e 0,01 e 0,02 g plântula⁻¹ para massa seca.

Na avaliação da sanidade das sementes de *P. rigida* (Tabela 4), foi constatada a presença dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Para ambos os gêneros, os tratamentos apresentaram diferenças significativas, onde *Aspergillus* sp. teve a incidência favorecida no tratamento T_3 . *Penicillium* sp. apresentou maior incidência no tratamento controle, com 100% das sementes infestadas, interferindo direta e negativamente na porcentagem de sementes sadias. Apesar da incidência elevada de *Penicillium* sp. no T_0 e de *Aspergillus* sp. no T_3 , não foi observada influência na germinação das sementes. Entretanto, cuidados com estes microrganismos devem ser tomados, especialmente no armazenamento de sementes.

Tabela 4. Germinação, comprimento total de plântula, sementes sadias e incidências de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. para diferentes tratamentos em sementes de *Parapiptadenia rigida*.

Trat	G (%)	CP (cm)	SS (%)	<i>Aspergillus</i> sp. (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)
T ₀	100 a*	7,3 a	0 b	0 b	100 a
T ₁	98 a	6,3 b	61 a	8 ab	36 b
T ₂	99 a	6,3 b	49 a	0 b	51 b
T ₃	98 a	5,8 bc	60 a	22 a	35 b
T ₄	98 a	4,4 d	68 a	0 b	32 b
T ₅	98 a	5,0 cd	54 a	0 b	46 b
CV(%)	6,9	6,6	15,9	14,3	13,5

*Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p < 0,05). Em que: G: germinação; CP: comprimento de plântula; CV: coeficiente de variação; SS: sementes sadias; Trat: tratamentos; T₀ – controle; T₁ – NaClO 1% por 3 min; T₂ – NaClO 2% (1 min) + simples enxágue com água destilada; T₃ – álcool 70% (1 min) + triplo enxágue com água destilada + NaClO 0,5% (1min) + triplo enxágue com água destilada; T₄ – Lysoform; T₅ – álcool 70% (1 min) + NaClO 1% (1min) + simples enxágue com água destilada (1min).

Para Christensen (1973), *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. são considerados fungos de armazenamento, pois a incidência pode aumentar por longos períodos em condições inadequadas, o que pode ocasionar perdas na qualidade das sementes.

Os resultados indicaram que a incidência do patógeno não inibiu a germinação de *P. rigida*. Nascimento et al. (2007), em estudo de desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de *P. rigida*, testaram diferentes métodos de desinfestação, constatando que as maiores porcentagens de germinação ocorram quando as sementes foram tratadas a 2,5 e 5,0% de NaClO durante 30 e 15 min, respectivamente.

Analisando a germinação de *S. bonariensis* (Tabela 5), observou-se diferença significativa entre os tratamentos, sendo que o T₀ apresentou valor significativamente superior e inferior aos demais tratamentos.

Em relação ao comprimento de plântulas, os tratamentos T₀ e T₂ apresentaram os valores superiores, diferindo estatisticamente dos demais, sendo que o T₄ apresentou menor comprimento de plântulas. Em relação às variáveis massa fresca e massa seca, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas, com os valores variando entre 0,30 e 0,32 g plântula⁻¹ para massa fresca entre 0,05 e 0,09 g plântula⁻¹ para massa seca.

No teste de sanidade, em sementes de *S. bonariensis*, foi observada a ocorrência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (Tabela 5). Excluindo-se o T₀, todos os

demais tratamentos revelaram a presença de *Penicillium* sp. Neste caso, a maior percentagem de sementes sadias foi observada no tratamento controle, sugerindo que a assepsia não foi benéfica para a eliminação de patógenos associados às sementes desta espécie, confirmando os resultados do teste de germinação, onde *Aspergillus* sp. foi observado em maior incidência em T₅.

Tabela 5. Germinação, comprimento de plântula, sementes sadias e incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. para diferentes tratamentos em sementes de *Senegalia bonariensis*.

Trat	G (%)	CP (cm)	SS (%)	<i>Aspergillus</i> sp. (%)	<i>Penicillium</i> sp. (%)
T ₀	96 a*	7,1 a	100 a	0 b	0 C
T ₁	85 ab	6,3 ab	67 bc	0 b	33 ab
T ₂	95 ab	7,5 a	85 b	4 b	12 b
T ₃	87 ab	5,4 b	76 bc	2 b	22 ab
T ₄	89 ab	3,5 c	65 bc	0 b	35 a
T ₅	78 b	5,4 b	52 c	17 a	31 ab
CV(%)	9,6	9,7	10,9	9,8	25,5

*Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). Em que: G: germinação; CP: comprimento de plântula; CV: coeficiente de variação; SS: sementes sadias; Trat: tratamentos; T₀ – controle absoluta; T₁ – NaClO 1% por 3 min; T₂ – NaClO 2% (1 min) + enxágue simples com água destilada; T₃ – álcool 70% (1 min) + triplo enxágue com água destilada + NaClO 0,5% (1min) + triplo enxágue com água destilada; T₄ – Lysoform; T₅ – álcool 70% (1min) + NaClO 1% (1min) + água destilada (1min).

Conforme Oliveira et al. (1997), *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., quando associados às sementes de milho, têm sua incidência maximizada com o período de armazenamento e ainda podem causar redução no percentual de germinação. Além disso, estes fungos são comumente encontrados associados a sementes florestais, como em estudo de Botelho et al. (2008), onde foram detectados *Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp. e *Phomopsis* sp. em sementes de ipê-amarelo e ipê-roxo; nos estudos de Santos et al. (2001) foram observados os gêneros *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Chaetomium*, em sementes de espécies florestais nativas da Mata Atlântica; e Nascimento et al. (2006), relataram que a maior ocorrência em sementes de *Pterogyne nitens* foi de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Entretanto, para *S. bonariensis*, os tratamentos assépticos não se justificam, pois a germinação foi máxima no tratamento controle, onde estes fungos não foram observados.

Conclusões

Recomenda-se o uso de NaClO a 2% por 1 min, seguido de enxágue simples com água destilada em sementes de *Bauhinia forficata*, por proporcionar aumento do potencial germinativo e comprimento de plântulas, e em sementes de *Cedrela fissilis*, por promover a germinação e reduzir a incidência de *Fusarium* sp.

Os tratamentos com assepsia podem ser utilizados em sementes de *Parapiptadenia rigida* para redução da incidência de *Penicillium* spp., porém não há necessidade de assepsia para promoção da germinação de sementes.

Não foi observada necessidade de assepsia de sementes de *Senegalia bonariensis*. Entretanto, o uso da assepsia com NaClO a 2% por 1 min, seguido de enxágue simples com água destilada, aumentou o comprimento de plântulas.

Nenhum dos tratamentos de assepsia apresentou influência sobre a massa fresca ou seca de plântulas das espécies estudadas.

Referências

- Barnett, H. L. & Hunter, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. St. Paul: APS Press, 1998. 218 p.
- Botelho, L. S. et al. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 343-348, 2008. DOI: 10.1590/S0100-54052008000400008
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 44 de 23 de dezembro de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 246, p. 2, 24 dez. 2010.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Manual de análises sanitárias de sementes**. Brasília, DF, 2009a. 200 p.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009b. 399 p.
- Christensen, C. M. Loss of viability in storage microflora. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 3, p. 547-562, 1973.
- Coutinho, W. M. et al. Efeito de hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 552-555, 2000.
- Kikuti, A. L. P. et al. Interferência da assepsia em sementes de pimentão submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 44-49, 2005. DOI: 10.1590/S0101-31222005000200007.
- Lazarotto, M. et al. First report of *Fusarium equiseti* associated on Pecan (*Carya illinoensis*) seeds in Brazil. **Plant Disease**, v. 98, n. 6, p. 847, 2014. DOI: 10.1094/PDIS-09-13-0976-PDN.
- Lazarotto, M. et al. Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 493-503, 2012. DOI: 10.5902/198050986617.
- Machado, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: Ministério da Educação/ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.
- Macieli, C. G. et al. First report of *Fusarium sambucinum* associated on *Pinus elliottii* seeds in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 995, 2013. DOI: 10.1094/PDIS-11-12-1045-PDN.
- Menten, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1995. 312 p.
- Muniz, M. F. B. et al. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 140-146, 2007. DOI: 10.1590/S0101-31222007000100019.
- Nakagawa, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski, F. C. et al. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-20.
- Nascimento, P. K. V. et al. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de *Parapiptadenia rigida* Benth (Brenam). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 141-143, 2007.
- Nascimento, W. M. O. et al. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae- Caesalpinoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 149-153, 2006. DOI: 10.1590/S0101-31222006000100021.
- Oliveira, J. A. et al. Comportamento de sementes de milho tratadas com fungicidas antes e após o armazenamento convencional. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 207-212, 1997. DOI: 10.17801/0101-3122/rbs.v19n2p208-213.
- Pacheco, M. V. et al. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006. DOI: 10.1590/S0100-67622006000300006.
- Rego, S. S. et al. DETECTION, transmission and pathogenicity of fungi on *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 9-13, 2012. DOI: 10.1590/S0101-31222012000100001.
- Santos, A. F. et al. Fungos associados às sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 42, p. 57-70, 2001.
- Seneme, A. M. et al. Germinação e sanidade de sementes de vacum (*Allophylus edulis*). **Ceres**, v. 53, n. 305, p. 1-6. 2006.
- Silva, B. M. S. et al. Germinação de sementes e emergência de plântulas de *Oenocarpus minor* Mart. (Arecaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 289-292, 2006. DOI: 10.1590/S0100-29452006000200030.
- Souza, L. S. et al. Desinfestação de sementes e multiplicação in vitro de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O.Berg) D. Legrand. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011. DOI: 10.1590/S0100-29452011005000081.

Souza, L. M. S. et al. Qualidade sanitária e germinação de sementes de copaíba. **Bioscience Journal**, v. 29, supl. 1, p. 1524-1531, 2013.

Zonta, E. P. & Machado, A. A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores**: SANEST. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150 p.

Zorato, M. F. et al. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 159-166, 2001.