

Fungos associados com sementes de flamboyant-mirim (*Caesalpinia pulcherrima*): incidência, efeito na germinação, transmissão e controle

José George Ferreira Medeiros¹, Bruno Brito da Silva¹, Aderson Costa Araújo Neto¹, Luciana Cordeiro do Nascimento¹

¹Universidade Federal da Paraíba, Rodovia BR 079 Km 12, CEP 58397-000, Areia, PB, Brasil

*Autor correspondente:
georgemedeiros_jp@hotmail.com

Termos para indexação:

Patógenos
Patologia de Sementes
Extrato de plantas

Index terms:

Pathogens
Seed Pathology
Plant Extract

Histórico do artigo:

Recebido em 11/12/2011
Aprovado em 16/08/2012
Publicado em 28/09/2012

doi: 10.4336/2012.pfb.32.71.303

Resumo - Patógenos que causam doenças nas plantas cultivadas podem ser transportados e transmitidos pelas sementes, com grande significado econômico. Este trabalho objetivou avaliar a incidência de patógenos nas sementes de *Caesalpinia pulcherrima* L. e seu efeito na germinação e vigor das sementes. No teste de sanidade foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e dez repetições. As sementes foram imersas em extratos de alamanda (*Allamanda cathartica* L.), melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) e em óleo de erva-doce (*Foeniculum. vulgare* mill) por cinco minutos, sendo a testemunha embebida em água destilada esterilizada. Para o teste de germinação, utilizou-se 200 sementes, sendo quatro repetições de 50 sementes. Os testes de vigor consistiram de primeira contagem e índice de velocidade de germinação. A avaliação da transmissão dos fungos foi realizada durante o teste de germinação, pela contagem dos sintomas na raiz primária, hipocótilo e epicótilo. Os tratamentos reduziram a incidência de *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp e *Pestalotia* sp. Foram encontrados associados às lesões no tegumento das sementes, fungos dos gêneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. Percentagens de germinação mais altas foram observadas com o uso do óleo extraído de *Allamanda cathartica*, *Momordica charantia* e *Foeniculum vulgare*.

Fungi associated with seeds of flamboyant-mirim (*Caesalpinia pulcherrima*): incidence, effect on germination, transmission and control

Abstract - Most pathogens that cause diseases in crops can be transported and transmitted by seeds, with great economic significance. The objective of this work was to assess the incidence of pathogens and their effect in the germination and vigor of *Caesalpinia pulcherrima* L. seeds. The seed sanity experiment was completely randomized with five treatments, and ten repetitions. The seeds were immersed in extracts of *Allamanda cathartica*, *Momordica charantia* and *Foeniculum. vulgare* for five minutes, and the control was immersed in sterile water. For the germination test, 200 seeds were used, distributed in four replicates of 50 seeds per treatment. The vigor tests consisted of the first count and germination speed index. The evaluation of fungi transmission were performed during the germination test, by counting the symptoms in the primary root, hypocotyl and epicotyl. The treatments reduced the incidence of *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp and *Pestalotia* sp.. It was also found the fungus *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. associated with the lesions in the seed integument. The treatments provided a higher percentage of germination of seedlings. Higher percentages of germination were observed when oil extracts of *Allamanda cathartica*, *Momordica charantia* and *Foeniculum vulgare* were used.

Introdução

Os ecossistemas tropicais têm sofrido grandes pressões que resultam em perdas irreparáveis da diversidade biológica. Grande parte das pesquisas sobre biodiversidade não envolve os recursos genéticos florestais, os quais são altamente demandados, tanto para fornecimento de material genético para uso em florestas de rápido crescimento, como para fornecimento de produtos, principalmente no caso de florestas nativas (IPEF, 2011).

Em consequência da ação antrópica nas formações florestais do Brasil, especialmente em locais de grande concentração populacional ou de intensas atividades agrícolas, como no caso das áreas de domínio da Mata Atlântica, verifica-se uma gradativa e acentuada redução nestas comunidades, tanto em área física quanto em termos de tamanho genético das populações das espécies que as compõem (Silva, 2010). Algumas espécies com interesse diversificado e utilizadas em programas de reflorestamento pertencem ao gênero *Caesalpinia* spp. A propagação é feita por sementes, sendo que a qualidade sanitária pode ser um entrave para a obtenção de mudas saudáveis.

Caesalpinia pulcherrima (L.) Sw. é uma espécie arbustiva nativa da África oriental. É conhecida vulgarmente por poinciana-anã, baio-de-estudante, orgulho de barbados, flor-do-paráiso e flamboyant-mirim (Lorenzi & Sousa, 2001). É uma espécie cultivada pela sua beleza, destacada principalmente pela diversidade de inflorescências. O seu pequeno porte a torna apropriada para a arborização das cidades e reflorestamento de centros urbanos, já que não atinge a fiação elétrica (CEMIG, 2011).

A associação de sementes com microrganismos constitui-se numa preocupação cada vez maior, principalmente nos países tropicais, onde condições climáticas mais diversificadas fazem com que um maior número de problemas sanitários torne-se previsível (Machado, 2000). Na área florestal brasileira, estudos foram feitos sobre a transmissão de fungos por sementes (Santos et al., 2000). Por ser um insumo biológico, sujeito a uma série de fatores, a manipulação de sementes requer cuidados especiais sob diversos aspectos.

O aumento no uso de defensivos agrícolas no controle de pragas e doenças, em todo o mundo, vem despertando a consciência para problemas como contaminação

ambiental, acumulação de resíduos nos alimentos, contaminação do operador, além do aumento dos custos de produção (Gomes et al., 2007). Vários compostos podem ser utilizados como controle alternativo podendo ser enquadrados, nesta categoria, os extratos, as caldas, os agentes de biocontrole e os óleos essenciais (Fernandes, 2000). A utilização de óleos essenciais de plantas medicinais tem mostrado resultados bastante promissores no controle de fitopatógenos (Schwan-Estrada et al., 2003, Guiraldo et al., 2004). O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de patógenos e seus efeitos na germinação e vigor em sementes de flamboyant-mirim (*Caesalpinia pulcherrima* L.), além de avaliar a eficiência de extratos de plantas no controle de patógenos.

Material e métodos

Foram empregadas sementes de flamboyant-mirim coletadas em cinco matrizes no município de João Pessoa, PB (7°7'34, 20"S 34°52'22, 58"W). Os tratamentos foram constituídos de extratos hidroalcoólicos de melão-de-são-caetano (*M. charantia*) e alamanda (*A. cathartica*), além do óleo de erva-doce (*F. vulgare*) e do fungicida Dicarboximida na dosagem recomendada pelo fabricante, como controle positivo.

Os tratamentos consistiram de T1-Testemunha (sementes não tratadas); T2 - Fungicida Captan (240 g de i.a./ 100 kg de semente); T3 - Óleo de erva-doce (2%); T4 - Extrato de melão-de-são-caetano (1.000 ppm) e T5- Extrato de alamanda (1.000 ppm). As sementes foram imersas em 20 mL dos extratos durante 5 min, a testemunha foi imersa em água destilada e esterilizada. A avaliação da incidência dos patógenos nas sementes foi feita a partir da visualização dos fungos sobre as mesmas, utilizando o método de incubação em papel-de-filtro (*Blotter test*) (Zauza et al., 2007).

Para a obtenção do extrato etanólico utilizou-se o método de extração a frio, onde o material vegetal (folhas) triturado foi colocado em um recipiente e mantido em contato com o solvente (álcool etílico) durante 72 horas. Utilizou-se 150 g do pó vegetal, imerso num recipiente contendo 500 mL de etanol absoluto durante 72 horas em temperatura ambiente (25±2 °C). Após esse intervalo, a solução foi filtrada em papel de filtro. O solvente foi extraído através de um evaporador rotativo por 2 horas a 78 °C para a obtenção do extrato bruto.

No teste de sanidade foram utilizadas 200 sementes por tratamento. As sementes foram colocadas em placas de Petri sobre uma camada dupla de papel de filtro esterilizada e umedecida com água destilada e esterilizada (ADE). As placas permaneceram em incubação durante sete dias sob temperatura de 25 ± 2 °C. A detecção e identificação dos fungos foi realizada com auxílio de microscópio ótico e estereoscópio, sendo comparadas às descrições constantes na literatura (Mathur & Kongsdal, 2003). Para a realização da leitura e identificação dos fungos utilizou-se lâminas e lâminulas.

No teste de germinação, foram utilizadas 200 sementes (quatro repetições de 50 sementes) para cada tratamento, distribuídas em papel germitest e incubadas em câmara de germinação regulada à temperatura constante de 27 °C. O volume de água destilada utilizado para embebição do papel foi equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato. As contagens de sementes germinadas e não germinadas foram realizadas no quarto e décimo segundo dia após a semeadura, e as avaliações efetuadas segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Os testes de vigor consistiram de primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG). A primeira contagem foi avaliada através da percentagem de plântulas normais determinadas no quarto dia, originadas das sementes submetidas ao teste de germinação. Para o índice de velocidade de germinação foram realizadas contagens diárias a partir da germinação da primeira plântula no teste de germinação, até a data em que o estande permaneceu constante. O IVG foi determinado pelo emprego da fórmula descrita por Nakagawa (1994).

A transmissão de fungos associados às sementes de flamboyant-mirim foi avaliada durante o teste de germinação, fazendo-se a avaliação dos principais sintomas observados.

Foram retirados fragmentos lesionados da raiz primária, hipocótilo e epicótilo e estes foram submetidos à assepsia com hipoclorito de sódio a 1%, durante três minutos, e colocados sobre papel tipo germitest previamente umedecido com água destilada, em caixas plásticas tipo gerbox. Em seguida, foram mantidos em câmara de incubação, sob temperatura de 25 ± 2 °C e luz alternada (12 horas de luz branca fluorescente/12 horas de escuro), durante sete dias, para avaliação.

Os fungos foram identificados através do exame individual feito com auxílio de microscópio estereoscópico

e ótico, observando estruturas características dos fungos desenvolvidos sobre as lesões (Menezes & Oliveira, 1993).

O delineamento utilizado no teste de sanidade foi o inteiramente casualizado (DIC), constituído de cinco tratamentos (T1: testemunha; T2: fungicida; T3: óleo de erva-doce; T4: extrato de melão-de-são-caetano e T5: extrato de alamanda) com 10 repetições de vinte sementes. No teste de germinação, o delineamento utilizado foi o DIC com os mesmos tratamentos do teste de sanidade, distribuídos em quatro repetições de 50 sementes cada. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, usando o software estatístico SAS[®] (Sas Institute, 1992).

Resultados e discussão

Os resultados referentes à composição e incidência da micoflora das sementes de flamboyant-mirim encontram-se apresentados na Figura 1. Foram observados fungos dos gêneros: *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp e *Pestalotia* sp. Micoflora semelhante foi detectada por Santos et al. (2007), estudando a qualidade sanitária das sementes de outras espécies florestais.

Em relação ao percentual de incidência de cada fungo, observou-se, nas sementes não tratadas os seguintes valores (Figura 1): *Cladosporium* sp. (15%), *Aspergillus* sp. (5%), *Rhizophus* sp. (10%), *Penicillium* sp. (7%), *Nigrospora* sp. (1%) e *Pestalotia* sp (6%).

Os dados apresentados na Figura 1 demonstram que o tratamento químico (T2) proporcionou a erradicação dos fungos detectados nas sementes de flamboyant-mirim. Efeito semelhante foi obtido usando o fungicida carbendazim no tratamento de sementes de outras espécies florestais nativas a exemplo de caixeta (*Tabebuia cassinoides* (Lam.) D.C.) e canafistula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) (Machado et al., 2004), comprovando que o tratamento químico é um método eficiente para o controle de patógenos de sementes florestais (Mertz et al., 2009).

Observou-se que o óleo essencial de erva-doce (T3) apresentou um potencial efeito fungitóxico, controlando a micoflora presente nas sementes com resultados semelhantes aos obtidos com o fungicida químico (Figura 1).

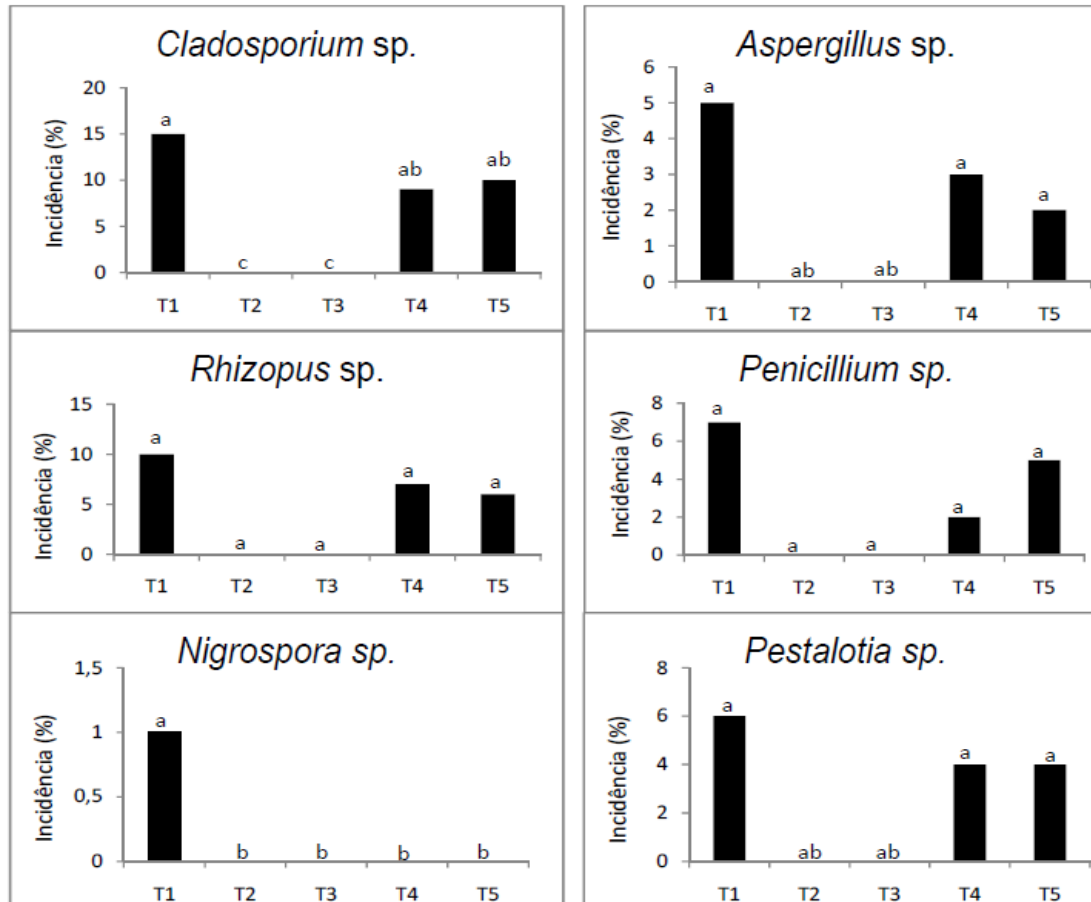


Figura 1. Incidência de fungos em sementes de *Caesalpinia pulcherrima* L., após os seguintes tratamentos: T1- testemunha; T2 - fungicida (Captan®); T3- óleo de erva-doce (2%); T4- extrato de melão de são caetano (1.000 ppm) e T5- extrato de alamanda (1.000 ppm).

Mata et al. (2009), utilizando o óleo essencial de erva-doce como controle alternativo de patógenos em sementes de *Cereus jamacaru*, obtiveram um efeito direto na redução da micoflora e no aumento da germinação das sementes.

Os extratos de melão de são caetano (T4) e alamanda (T5) apresentaram resultados semelhantes, não diferindo estatisticamente entre si (Figura 1). Ambos mostraram eficiência, reduzindo de forma generalizada a incidência dos diferentes gêneros fúngicos. De acordo com Martins et al. (2009) o extrato de melão de são caetano foi eficiente no controle de fungos em sementes de *Manihot glaziovii*, porém apresentando variações entre os diferentes gêneros.

A avaliação da qualidade sanitária das sementes com o emprego de extratos vegetais tem sido analisada por diversos autores como Souza et al.

(2002), Pereira (2006) e Mata et al. (2009), que demonstraram o efeito dos extratos sobre a redução na micoflora e do aumento do poder germinativo de sementes.

Para a avaliação da transmissão dos fungos por sementes flamboyant-mirim foram avaliadas todas as sementes germinadas. Os principais sintomas observados foram necrose e/ou manchas escuras na raiz primária, hipocótilo e epicótilo. Foram encontrados associados às lesões, fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

Na tabela 1, encontram-se os resultados do teste de germinação de sementes de flamboyant-mirim. O teor de água nas sementes encontrava-se a 6%. Após os tratamentos, observou-se que a testemunha (T1) apresentou porcentagens de germinação semelhantes ao captan® (T2). As sementes tratadas com óleo de erva-doce (T3), extrato de melão de são caetano (T4)

e alamanda (T5) obtiveram os maiores percentuais de germinação, comprovando o efeito positivo destes tratamentos sobre a germinação das sementes de flamboyant-mirim. Estes resultados evidenciaram que a utilização dos tratamentos óleo de erva-doce (T3), extrato de melão de são caetano (T4) e extrato de alamanda (T5) permitiu menor incidência de fungos e maior germinação das sementes.

Tabela 1. Valores médios de porcentagem de germinação, primeira contagem e velocidade da germinação de sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, após tratamentos com extratos vegetais, fungicida e óleo de erva-doce.

Tratamentos	Germinação	Primeira contagem	IVG
T1 - Testemunha	69 b	10,0 c	4,50a
T2 - Captan [®]	78 ab	18,8 ab	2,20b
T3 - Óleo de erva doce	83 a	19,0 ab	2,07b
T4 - Extrato MSC*	87 a	20,2 a	2,15b
T5 - Extrato de alamanda	85 a	20,0 a	3,63ab
CV (%)	8,62	4,43	15,82

Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% probabilidade.*MSC: melão de são caetano.

Nos resultados referentes ao vigor das sementes, avaliado pelo teste de primeira contagem (Tabela 1), observou-se que os tratamentos captan[®] (T2), óleo de erva doce (T3), extrato de melão de são caetano (T4) e alamanda (T5), proporcionaram maior porcentagem de plântulas, não diferindo significativamente entre si. O resultado do vigor das sementes na testemunha está relacionado com o alto índice de fungos detectados na mesma, interferindo diretamente na germinação e no vigor das plântulas.

Em relação aos resultados do índice de velocidade da germinação (Tabela 1), verificou-se que a testemunha (T1) não diferiu do tratamento com extrato de alamanda (T5). Os tratamentos captan[®] (T2), óleo de erva doce (T3) e extrato de melão de são caetano (T4) diferiram da testemunha com menor índice de velocidade da germinação (IVG).

Conclusão

- Constatou-se a incidência de *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp. e *Pestalotia* sp., em sementes de *Caesalpinia pulcherrima*;
- O óleo de erva doce (*F. vulgare*) e os extratos de melão-de-são-caetano (*M. charantia*) e alamanda (*A. blanchetti*) nas concentrações testadas foram eficientes reduzindo a microflora fúngica presentes nas sementes de *C. pulcherrima*;
- Os produtos vegetais utilizados proporcionaram um maior percentual de germinação de sementes de *C. pulcherrima*.

Referências

- CEMIG. **Manual de arborização**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2011.
- FERNANDES, M. C. A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 18, p. 110-112, 2000. Suplemento.
- GOMES, E. C. S.; PEREZ, J. O.; BARBOSA, J.; NASCIMENTO, E. F.; AGUIAR, I. F. Efeito de indutores de resistência na proteção de uva “Itália” e uva de vinho “Cabernet Sauvignon” contra o oídio e o míldio no Vale do São Francisco. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2., 2007. **Resumos...** João Pessoa: MEC : REDENET, 2007.
- GUIRALDO, N.; AMBROSANO, E. J.; MENDES, P. C. D.; ROSSI, F.; AVÉRALO, R. A. Controle de doenças em sistema agroecológicos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v. 30, p. 153-156, 2004.
- IPEF. **Melhoramento e conservação genética**. Disponível em: <www.ipef.br/mct/MCT_05.htm>. Acesso em: 10 maio 2011.
- LORENZI, H.; SOUSA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2001. 1088 p.
- MACHADO, A. A.; MUNIZ, M. F. B.; HOPPE, J. M.; CAMARGO, R. Influencia de diferentes tratamentos de sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e cerejeira (*Eugenia involucrata* DC.) sobre a incidência de fungos de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, p. 354, 2004. Suplemento.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: MEC/ESAL/ FAEPE, 2000. 106 p.
- MARTHUR, S. B.; KONGSDAL, O. **Common laboratory seed health testing methods for detectine fungi**. Basserdorf: International Seed Testing Association, 2003. 425 p.
- MARTINS, M. T. C. S.; NASCIMENTO, L. C.; ARAÚJO, E. R.; RÊGO, E. R.; FELIX, L. P. Atividade antifúngica de extrato de melão-de-são-caetano em sementes de maniçoba. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 27, n. 2, p. S1246-S1253, 2009. Suplemento.

- MATA, M. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C.; SOUZA, A. E. F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, Cactaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Areia, p.1-8, out. 2009.
- MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. **Fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1993. 277 p.
- MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 1, p. 13-18, 2009.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 49-85.
- PEREIRA, R. B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro**. 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SANTOS, A. F.; MEDEIROS, A. C. S.; SANTANA, D. L. Q. Fungos em sementes de espécies arbóreas da mata Atlântica. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 42, p. 51-60, jan./jun., 2007.
- SANTOS, A. F. dos, 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.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software: changes and enhancements, release 6.07**. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1992. (SAS. Technical Report P-229).
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. 2003. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, p. 54-56, 2003.
- SILVA, L. D. **Efeito do isolamento sobre alguns caracteres juvenis em pau-brasil (*Caesalpineia echinata* Lam)**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- SOUZA, M. A. A.; BORGES, R. S. O. S.; STARK, M. L. M.; SOUZA, S. R. Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. **Revista Universidade Rural: série ciências da vida**, v. 22, n. 2, p. 181-5, 2002. Suplemento.
- ZAUZA, E. A. V.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 23-51.