

MÉTODOS PARA DETECÇÃO DE FUNGOS E ASSEPSIA DE SEMENTES DE *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae)

METHODS TO DETECTION OF FUNGI AND ASEPSIS OF *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae) SEEDS

Jakson Domingos de OLIVEIRA¹; Josué Bispo da SILVA²; Eleandro Candido DAPONT¹; Lívia Maria Sampaio de SOUZA³; Sandra Albuquerque Lima RIBEIRO⁴

1. Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre - UFAC, Rio Branco, AC, Brasil; 2. Engenheiro Agrônomo, Professor Adjunto, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza - CCBN, UFAC, Rio Branco, AC, Brasil. josuebispo@bol.com.br; 3. Engenheira Florestal, UFAC, Rio Branco, AC, Brasil. 4. Bióloga, Mestre em Biologia de Fungos, Laboratório de Fitopatologia, CCBN/UFAC, Rio Branco, AC, Brasil.

RESUMO: As sementes constituem-se insumos biológicos extremamente importantes para a propagação vegetal e, conseqüentemente, a qualidade sanitária destas assume grande relevância. O objetivo do presente trabalho foi comparar os métodos do papel de filtro e do meio BDA na incubação de sementes para avaliar a qualidade sanitária e a influência da assepsia das sementes sobre o teste de sanidade, emergência e desenvolvimento de plântulas de *Schizolobium amazonicum*. Foram testados os métodos do papel de filtro (*blotter test*) e do meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), com e sem assepsia das sementes. A influência da assepsia foi avaliada por meio dos testes de emergência de plântulas, velocidade de emergência e desenvolvimento de plântulas (comprimento, matéria fresca e matéria seca da raiz e da parte aérea). *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. podem se associar com sementes de paricá; o meio de cultura BDA é adequado para o desenvolvimento dos fungos nas sementes dessa espécie; a assepsia das sementes reduz a população de microrganismos contaminantes, favorece o teste de sanidade, não influencia a emergência das plântulas, podendo ser benéfica ao estabelecimento das mudas.

PALAVRAS-CHAVE: Patógenos. Semente de paricá. Assepsia.

INTRODUÇÃO

Dentre as inúmeras espécies florestais encontradas na Amazônia Sul Ocidental destaca-se *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae), também conhecido como paricá. O significativo potencial econômico dessa espécie está incentivando seu cultivo por grandes empresas e pequenos e médios agricultores na Região Amazonica, exigindo programas consolidados de formação de mudas.

Não obstante essa significativa demanda por sementes, poucos foram os experimentos conduzidos até o momento com sementes de paricá, em especial em relação à patologia. Souza et al. (2005) recomendam cuidados no transporte dos frutos contendo as sementes para evitar excesso de umidade, aquecimento e, conseqüentemente, proliferação de microrganismos. Carvalho (2007) salienta que o manejo de sementes dessa espécie é difícil devido, entre outros fatores, à susceptibilidade ao ataque de fungos. Mesmo assim, as pesquisas sobre sanidade de sementes de paricá são incipientes.

Conforme a literatura, dentre a microbiota associada a sementes de espécies florestais, estão fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia* e *Trichoderma* em acácia (*Acacia*

mearnsii) (PISSININ et al., 2008) e *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Phoma* sp. e *Phomopsis* sp. em ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*) (BOTELHO et al., 2008), *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp. e *Pestalotiopsis* sp. em paineira (*Ceiba speciosa*) (LAZAROTTO et al., 2012) e *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Macrophomina* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp. em murta (*Blepharocalyx salicifolius*) (REGO et al., 2012).

O potencial germinativo das sementes, avaliado pelo teste de germinação, também pode ser afetado pela presença de microrganismos (FERRAZ; CALVI, 2010), uma vez que esse teste é conduzido em câmaras que fornecem condições ideais ao desenvolvimento não apenas das sementes, mas também de fungos e bactérias, permitindo, muitas vezes, que lotes sejam eliminados por não atingirem índices satisfatórios de germinação, o que diminui a oferta de sementes. Assim, a análise de sanidade de sementes é uma medida que assume grande importância, pois revela ao agricultor que as sementes podem ser veículo de disseminação de inóculo primário, o que previne perdas diretas e indiretas no campo, bem como para introdução de novos patógenos em áreas indenadas. Por fim,

esclarece ao produtor, muitas vezes, que baixo potencial germinativo é devido a associação dos patógenos com a semente (BRASIL, 2009b), principalmente em relação às sementes florestais, uma vez que determinadas espécies apresentam periodicidade de produção de sementes, produzindo grande quantidade em um ano e pequena no ano seguinte. Torna-se necessário, portanto, conhecer os agentes e as conseqüências decorrentes da contaminação por microrganismos.

Os procedimentos de incubação mais empregados no teste de sanidade de sementes são os métodos do papel de filtro, também chamado *blotter test*, e o método de incubação das sementes em meio nutritivo com ágar, conhecido como meio BDA (batata-dextrose-ágar). Esse meio de cultura é eficaz porque é capaz de detectar a presença de hifas, corpos de frutificação e esporos, independentemente de estarem localizados na superfície ou no interior das sementes. O método do papel de filtro pode ser utilizado para todos os tipos de sementes, com a vantagem de detectar um grande número de fungos (LUCCA FILHO, 2006), enquanto o que utiliza o meio de cultura BDA, embora as condições de incubação sejam as mesmas do método do papel de filtro, apresenta limitações para fungos de crescimento muito lento e transmitidos internamente (REGO, 2005).

Em sementes florestais, o teste de sanidade já foi realizado, com sucesso, por meio do método do papel de filtro, em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) (SANTOS et al., 2001), pau-cigarra (*Senna multijuga*) (SCHULTZ et al., 2003), pata-de-vaca (*Bauhinia variegata*) (MARTINELLI-SENEME et al., 2006) e cedro (*Cedrela fissilis*) (CHEROBINI et al., 2008). Já com o método de incubação em meio BDA, resultados satisfatórios já foram observados em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) (SANTOS et al., 2001), guaçatonga (*Casearia sylvestris*) (BITTENCOURT; HOMECHIN, 1998), pau-cigarra (*Senna multijuga*) (SCHULTZ et al., 2003), copaíba (*Copaifera langsdorffii*) (SOUZA; SILVA, 2009) e maçaranduba (*Manilkara huberi*) (DAPONT et al., 2010).

A avaliação do teste de sanidade pode ser influenciada pela presença de microrganismos que colonizam superficialmente as sementes e, embora sejam considerados de importância secundária, dificultam ou impedem o desenvolvimento de fungos potencialmente causadores de problemas ao embrião e às plântulas. Isto se deve, em grande parte, à presença de sementes imaturas e/ou com maturidade desuniforme ou com danos mecânicos ou fisiológicos, os quais podem favorecer a

penetração e o desenvolvimento de microrganismos saprófitos, que competirão com os patógenos, levando a resultados que não representam a qualidade sanitária da semente. Quando a quantidade de contaminantes ou saprófitos é alta, faz-se necessário a assepsia ou desinfestação das sementes, considerando o crescimento rápido e vigoroso dos fungos oportunistas sobre as sementes, o que dificulta o desenvolvimento e até mesmo a identificação dos microrganismos patogênicos (LUCCA FILHO, 2006).

Nesse contexto, a assepsia superficial das sementes é adotada previamente à instalação do teste de sanidade, pois permite a identificação correta de microrganismos associados às sementes florestais, como já observado em testes de sanidade com sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*), maricá (*Mimosa bimucronata*) e timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*) (MUNIZ et al., 2007). Em geral, para a assepsia de sementes de espécies florestais nativas do Brasil tem sido recomendado, entre outros produtos, o hipoclorito de sódio nas concentrações de 1 a 2% por dois minutos (FERRAZ; CALVI, 2010).

Metodologias para o teste de sanidade em sementes podem apresentar resultados controversos, mesmo entre espécies, realidade que requer estudos adicionais no sentido de aperfeiçoar os referidos métodos de incubação. Portanto, o uso de procedimentos eficazes para o conhecimento da qualidade sanitária de sementes de *Schizolobium amazonicum* assume considerável importância, uma vez que isto pode ser uma ferramenta auxiliar na subsequente realização de testes de germinação e de vigor em laboratório.

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi identificar um procedimento seguro para avaliar a qualidade sanitária e a influência da assepsia de sementes sobre o teste de sanidade e de emergência de plântulas de *Schizolobium amazonicum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Acre e no Viveiro Florestal da Fundação de Tecnologia do Acre, município de Rio Branco, AC (9° 58' 29" S e 67° 48' 36" W), de agosto a outubro de 2009, com sementes coletadas de diversas matrizes na Floresta Estadual do Antimary em agosto de 2008 e armazenadas em câmara fria (10 °C e 70% UR) até o início dos experimentos.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa (105 ± 3 °C por 24 horas) (BRASIL, 2009a), por meio de duas

repetições de 15 g de sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem.

No teste de sanidade, foram utilizadas 200 sementes, sendo que 100 sementes foram desinfestadas por meio de imersão em solução de hipoclorito de sódio (1,5%) durante cinco minutos, para isolamento de fungos endofíticos, e 100 sementes foram mantidas sem desinfestação.

Na detecção de microrganismos pelo método do papel de filtro (*Blotter test*), foram utilizadas 20 caixas de acrílico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm), previamente desinfestadas com solução de álcool a 70%. Nessas caixas foram colocadas duas folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada, esterilizadas em autoclave (120 °C e 1 atm por 30 minutos). Posteriormente, foram levadas para o interior de uma câmara de fluxo laminar, na qual 50 sementes previamente desinfestadas foram dispostas sobre o papel de filtro, em dez caixas (cinco sementes por caixa). Tal procedimento também foi efetuado com 50 sementes não desinfestadas. As caixas foram vedadas com filme transparente de PVC e mantidas em BOD a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas (lâmpada fluorescente), durante sete dias. Com o auxílio de uma lupa foram realizadas análises visuais para verificar a presença ou ausência de colônias de fungos em desenvolvimento. Ao final, fragmentos das estruturas fúngicas foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio BDA, visando sua observação e classificação em microscópio óptico. Os resultados foram expressos em porcentagem de caixas contaminadas.

Na utilização do método de incubação das sementes em meio BDA, adotou-se o mesmo protocolo descrito anteriormente, exceto que as caixas com papel de filtro foram substituídas por placas de Petri com 9 cm de diâmetro, previamente esterilizadas em autoclave, contendo meio BDA, nas quais foram dispostas cinco sementes por placa.

Para avaliar a influência da assepsia no desempenho das sementes, uma amostra de 200 sementes teve a porção lateral levemente escarificada por dois segundos com o auxílio de um esmeril elétrico, para superação da dormência. Na sequência, 100 sementes foram tratadas com hipoclorito de sódio (1,5%) durante cinco minutos, com base nas recomendações de Brasil (2009b). As outras sementes não receberam tratamento para efeito de testemunha. Em seguida, foi realizado o teste de emergência de plântulas (EP), com quatro subamostras de 25 sementes em caixas plásticas (40 x 30 x 10 cm) contendo areia e Plantmax® (1:1), previamente esterilizados a 120 °C por duas horas. As sementes foram semeadas a 3 cm de

profundidade e, após a irrigação, as caixas foram mantidas à sombra por 30 dias. As avaliações ocorreram do 1º ao 30º dia, quando foram computadas as plântulas normais (BRASIL, 2009a). O resultado foi expresso em porcentagem. O índice de velocidade de emergência foi conduzido paralelamente ao teste de emergência de plântulas, somando-se o número de plântulas emergidas a cada dia, divididas pelo respectivo número de dias transcorridos (NAKAGAWA, 1999).

Ao final do teste de EP, dez plântulas de cada repetição foram aleatoriamente selecionadas para a determinação do comprimento da parte aérea e da raiz, e os resultados expressos em centímetros. Após a avaliação do comprimento, a parte aérea e a raiz foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e sua massa determinada em balança analítica (precisão 0,0001 g), com os resultados expressos em gramas. Após a avaliação da matéria fresca, a parte aérea e as raízes foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C para a determinação da matéria seca. Os resultados foram expressos em gramas.

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, em arranjo simples. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de sanidade foram identificados os fungos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. (Tabela 1).

Embora o teor de água das sementes estivesse ao redor de 5,2%, esse valor é considerado baixo e inadequado ao desenvolvimento da maioria das espécies de fungos. Para Dhingra (1985a), no entanto, quando já estão estabelecidos nas sementes, esses fungos ainda podem se desenvolver, mesmo que a umidade esteja inferior àquela necessária ao metabolismo das sementes.

Em outros trabalhos semelhantes, *Aspergillus* sp., *A. flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. também foram detectados em sementes de aroeira (MEDEIROS et al., 1992) e baru (SANTOS et al., 1997). Já Carneiro (1990) verificou alta incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. em sementes de pau-santo, vinhático-do-campo, canafístula e ipê. Para esse último autor, a associação desses fungos com sementes de espécies nativas prejudica a qualidade destas, podendo causar queda de sua viabilidade e, dessa forma, reduzir a germinação e emergência de

plantas em sementeiras, disseminar os patógenos e, conseqüentemente, reduzir o estabelecimento das

plantas no campo.

Tabela 1. Incidência de fungos detectados através dos métodos do papel de filtro e do meio de cultura BDA em sementes de *Schizolobium amazonicum* com assepsia (SA) e sem assepsia (SNA).

Fungos	Papel de filtro		Meio de cultura BDA	
	SA ¹	SNA	SA	SNA
 %			
<i>Aspergillus flavus</i>	10	20	10	30
<i>Aspergillus Niger</i>	0	20	20	40
<i>Penicillium griseofulvum</i>	0	10	0	30
<i>Penicillium</i> sp.	10	20	10	20
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	0	0	10	10

¹ SA: sementes assépticas; SNA: sementes não assépticas.

Tanto *Aspergillus* sp. como *Penicillium* sp. são fungos associados à deterioração de sementes em condições de armazenamento inadequado, mas a contaminação pode ocorrer logo após a colheita (MACHADO, 1988). Entretanto, além do potencial de fungos fitopatogênicos para induzir doenças e causar prejuízos aos produtores, Mendonça et al. (2009) explicam que espécies micotoxigênicas podem ser encontradas nos principais grupos de fungos, com destaque para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Apesar das sementes não serem comestíveis, esses fungos podem causar outros tipos de toxidez ao serem manuseadas.

O fungo *Pestalotiopsis* sp. foi verificado colonizando sementes de espécies florestais como acácia-negra (SANTOS et al., 2001) e baguaçu (REGO et al., 2008), mas pode também ser transmitido para a plântula, como em pau-brasil (*Caesalpinia echinata*), causando lesões nos cotilédones e/ou no hipocótilo, ocasionando o tombamento (LISBOA-PADULHA et al., 2009).

Em relação à incubação das sementes e analisando em conjunto sementes que foram submetidas ou não à assepsia, foi verificado que apenas *Penicillium* sp. manifestou-se de modo semelhante nos procedimentos estudados, ou seja, houve 30% de incidência do fungo nos dois métodos de incubação. Para os outros fungos, o método do papel de filtro permitiu desenvolvimento menos expressivo dos fungos em comparação ao meio BDA (Tabela 1). Resultado contraditório foi verificado por Schultz et al. (2003), que constataram superioridade do método do papel de filtro em relação ao meio BDA para determinação da

microbiota presente em sementes de pau-cigarra (*Senna multijuga*). Entretanto, Rego (2005) considera que o papel de filtro apresenta limitações para a detecção de fungos de crescimento muito lento e localizados internamente.

Os fungos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum* e *Pestalotiopsis* sp. foram verificados, respectivamente, em 30, 20, 10 e 0% das caixas que continham papel de filtro, ao passo que no meio de cultura BDA, incidências de 40, 60, 30 e 20% foram observadas. Santos et al. (1998), avaliando a qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba, observaram maior incidência de *Aspergillus niger* (19%) e *A. flavus* (30%) no método de plaqueamento em BDA em relação à incubação em papel filtro, as quais foram de 9,5 e 1,5%, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por Santos et al. (2001) em sementes de acácia-negra.

Nos trabalhos de Souza e Silva (2009) com sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*), ocorreu contaminação em 50% das caixas que continham como substrato o papel de filtro, ao passo com que o uso do meio BDA houve 100% de contaminação. Conforme esse autores, o BDA permitiu não somente o desenvolvimento mais intenso dos fungos *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., mas também em maior velocidade, comparado ao desenvolvimento verificado em papel de filtro. Da mesma forma, Dapont et al. (2010) observaram que 70% das caixas usadas no método do papel de filtro mostraram contaminação por fungos, enquanto no meio BDA 90% apresentaram-se contaminadas, evidenciando

que esse último método foi mais eficaz para o desenvolvimento de microrganismos em sementes de maçaranduba (*Manilkara huberi*), os quais também encontraram *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp.. A superioridade do meio BDA deve-se, em grande parte, ao fato de se tratar de um substrato rico em nutrientes (MAGALHÃES et al., 2008), característica que pode favorecer o desenvolvimento dos fungos em maior intensidade e velocidade.

Na desinfestação das sementes previamente ao teste de sanidade (Tabela 1), o índice de contaminação foi maior nas sementes não submetidas à assepsia, tanto no método do papel de filtro como no meio BDA, com exceção do fungo *Pestalotiopsis* sp., cuja contaminação dentro de cada método de incubação foi igual, com e sem assepsia, dentro de cada método avaliado.

Os fungos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum* e *Penicillium* sp. desenvolveram-se, respectivamente, em 10%, 0%, 0% e 10% das caixas com papel de filtro contendo sementes tratadas, respectivamente, enquanto que nas sementes não-tratadas, houve incidência de 20%, 20%, 10% e 20%, respectivamente. Essa mesma diferença entre sementes que foram ou não assepsiadas foi verificada em meio de cultura BDA, ou seja, 10%, 20%, 0% e 10% das placas com sementes tratadas estavam contaminadas com esses fungos respectivamente, ao passo que nas sementes não-tratadas os valores de incidência assumidos foram de 30%, 40%, 30% e 20%.

Neste trabalho, pode-se verificar que, mesmo com a assepsia das sementes houve o desenvolvimento de fungos. A eliminação completa

de fungos de determinadas espécies pode depender de vários fatores, entre eles a localização na semente (BOTELHO et al., 2008), sendo que a maior concentração está no exterior das sementes (NEVES et al., 2009). A assepsia, portanto, reduziu a incidência dos fungos, e isso é explicado pela diferença encontrada entre sementes desinfestadas e não desinfestadas. Do mesmo modo, Pissinin et al. (2008) verificaram que a assepsia prévia de sementes de acácia reduziu significativamente a incidência da maioria dos fungos detectados. Condições benéficas aos fungos, como as verificadas em locais de clima quente e úmido, típicos da Região Amazônica, exigem cuidados constantes no sentido de se reduzir ou eliminar decréscimos na qualidade sanitária das sementes. Para isso, é fundamental avaliar precisamente o estado sanitário das sementes, a fim de evitar a subestimação do potencial de germinação de um lote de sementes, o que pode levar ao seu descarte, ou superestimar, resultado que permitirá a liberação de sementes para formação de mudas e, conseqüentemente, o transporte de patógenos para o viveiro ou campo. Entretanto, uma avaliação precisa somente será possível se realizada com metodologia adequada.

Os resultados dos testes baseados na emergência e no desenvolvimento das plântulas (Tabela 2) vão ao encontro dos resultados do teste de sanidade. A desinfestação das sementes não eliminou completamente a microbiota presente, mas reduziu sua incidência e influência, conforme a ausência de diferença observada entre a testemunha e as sementes desinfestadas, exceto para a matéria seca de raiz.

Tabela 2. Emergência (EP), velocidade de emergência (IVE), comprimento de raiz (CR) e da parte aérea (CPA), matéria fresca de raiz (MFR) e da parte aérea (MFPA), matéria seca de raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA) de plântulas originadas de sementes de *Schizolobium amazonicum* desinfestadas ou não com hipoclorito de sódio.

Tratamentos	EP	IVE	CR	CPA	MFR	MFPA	MSR	MSPA
	(%)		(cm)	(cm)	(g)	(g)	(g)	(g)
Testemunha	83 a	1,07 a a0	10,5 a	14,2 a	7,2 a	17,8 a	4,3 b	6,0 a
NaClO (1,5%/5')	90 a	1,09 a	11,7 a	15,0 a	8,8 a	20,3 a	4,5 a	6,3 a
C.V. (%)	11,90	12,02	16,00	4,85	20,6	17,39	2,05	7,31

Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey (5%).

Os valores de emergência de plântulas provenientes da testemunha e das sementes desinfestadas foram de 83 e 90%, respectivamente. Em relação a sementes de paricá, ao se adotar métodos para eliminação da dormência, é desejável

valores a partir de 75% de germinação (SOUSA et al., 2005). Portanto, as sementes de paricá, mesmo quando não desinfestadas, apresentaram germinação satisfatória.

Avaliando a influência da desinfestação de sementes de vacum (*Allophylus edulis*) com NaClO (2%) por 5, 10 e 20 minutos, Martinelli-Seneme et al. (2006) também verificaram que não houve diferença entre os tratamentos e a testemunha sobre a germinação e a velocidade com que ela ocorre, embora tenham sido detectados os fungos *Fusarium moniliforme*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, *Nigrospora* sp., *Trichoderma* sp. e *Penicillium* sp. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2003) com sementes de canafístula, os quais comentam que nem sempre a associação de fungos com sementes acarreta doença ou queda na qualidade fisiológica, porém afirmam que esta associação pode favorecer a sobrevivência do fungo e sua disseminação.

A desinfestação das sementes também não influenciou o comprimento e a matéria fresca de raiz e da parte aérea e a matéria seca da parte aérea. Esses resultados diferem dos encontrados por Souza e Silva (2009), pois estes verificaram que sementes de copaíba tratadas com NaClO por 0, 5, 10, 15 e 20 minutos produziram plântulas com sistema radicular maior nos três últimos períodos, mostrando influência positiva da assepsia.

Nos trabalhos de Muniz et al. (2007), a desinfestação das sementes influenciou positivamente a matéria fresca de plântulas de canafístula, timbaúva e maricá, mas não diferiu das sementes não-assépticas em angico-vermelho e acácia, ao mesmo tempo em que não influenciou a matéria seca em canafístula, acácia, angico-vermelho e timbaúva, mas aumentou em maricá. Por outro lado, em sementes de barbatimão e ipê-amarelo a assepsia de sementes reduziu a matéria fresca de plântulas (SALES, 1994).

Nesse sentido, Harmon e Pflieger (1974) observaram que *Aspergillus* sp. inoculados em sementes de trigo, tomate, ervilha e abóbora não foram eliminados, mesmo após imersão em NaClO (1,75%) por um, três, cinco e dez minutos, uma vez que estes podem estar localizados na forma de micélio, tanto na superfície como no interior da semente. Já Dhingra (1985b) explica que o contato superficial das sementes com o produto utilizado pode não eliminar fungos dos gêneros *Rizhopus*, *Aspergillus* e *Penicillium*, porque estes se localizam, preferencialmente, no embrião.

Do mesmo modo, a baixa umidade das sementes pode ser um dos fatores pelo qual não houve diferença entre os diferentes tratamentos e a testemunha, ou seja, os microrganismos estavam presentes, de acordo com o teste de sanidade efetuado, mas em incidência que não chegou a interferir negativamente sobre o desenvolvimento do eixo embrionário. Cherobini et al. (2008) explicam que os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* têm a capacidade de reduzir a germinação da semente e causar a morte do embrião, mas quando estas estão com baixos teores de água, próximos ao limite mínimo para o crescimento dos fungos, o ataque é lento; entretanto, à medida que a umidade da semente se eleva, torna-se mais rápida a perda de germinação, em virtude do rápido crescimento do fungo.

Até o momento, são escassos trabalhos que revelam a exata localização dos fungos detectados no interior de sementes. Entretanto, considerando que a maioria tem sua incidência apenas reduzida pela assepsia, pode-se inferir que se localizam tanto na superfície como no interior das sementes. Ainda, convém salientar que a intenção da assepsia é eliminar apenas fungos associados superficialmente às sementes, como os saprófitas, os quais dificultam ou impedem o desenvolvimento de fungos potencialmente patogênicos, interferindo nos resultados do teste de sanidade, levando a resultados imprecisos quanto a qualidade sanitária do lote de sementes.

CONCLUSÕES

Os fungos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. podem associar-se com sementes de *Schizolobium amazonicum*.

O método do plaqueamento em meio de cultura BDA é adequado para a realização do teste de sanidade em sementes desta espécie.

A assepsia prévia das sementes com hipoclorito de sódio a 1,5% por cinco minutos reduz a contaminação fúngica, favorece a avaliação do teste de sanidade, não influencia a emergência das plântulas, e portanto, isso é benéfico ao estabelecimento das mudas.

ABSTRACT: Seeds are essential components for vegetal propagation and, in this way, seed sanitary quality assumes fundamental importance. The aim was to compare the blotter test and BDA methods to incubate seeds to evaluate sanitary quality, the influence of seed disinfection on sanitary test, emergence and seedling development of *Schizolobium amazonicum*. For determination of microorganisms associated with seeds were tested the methods of paper filter (*blotter*)

test) and medium Potato Dextrose Agar (PDA), with aseptic and non-aseptic seeds. The influence of asepsi were evaluated trough seedling emergence test, speed of seedling emergence and seedling development (length, fresh matter and dry matter of root and shoot). *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium* sp. and *Pestalotiopsis* sp. can be associated with parica seeds; PDA method is the most suitable to fungi development on this seeds specie; surface sterilization of seeds reduce microorganisms, assist the sanitary test, not affect seed germination and seedling development, but can be benefic to seedling establishment.

KEYWORDS: Pathogens. Parica seeds. Asepsis.

REFERÊNCIAS

- BITTENCOURT, L. F.; HOMECHIN, M. Avaliação da qualidade sanitária de sementes de guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz - FLACOURTIACEAE) por três métodos de incubação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 233-236, 1998.
- BOTELHO, L. S.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 343-348, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009a. 399p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: SDA/CGAL, 2009b. 202p.
- CARNEIRO, J. S. Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paraopeba, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 1, p. 75-77, 1990.
- CARVALHO, P. E. R. **Paricá (*Schizolobium amazonicum*)**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 8p. (Circular técnica, 142).
- CHEROBINI, E. A. L.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 65-73, 2008.
- DAPONT, E. C.; SILVA, J. B.; GOMES, N. S. B. Fungos associados a sementes de maçaranduba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 43., 2010, Cuiabá. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2010. p.264.
- DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-145, 1985a.
- DHINGRA, O. D. Importância e perspectivas do tratamento de sementes no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 133-138, 1985b.
- FERRAZ, I. D. K.; CALVI, D. P. Teste de Germinação. In: LIMA JUNIOR, M. J. V. (Ed.). **Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais**. Manaus: UFAM, 2010. p. 55-110.
- HARMON, G. G.; PFLEGER, F. L. Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 64, p. 1339-1344, 1974.
- LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; SANTOS, A. F. Detecção, transmissão, patogenicidade e controle químico de fungos em sementes de paineira (*Ceiba speciosa*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 134-139, 2010.

- LISBOA-PADULHA, T.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M.; BARBEDO, C. Tratamento de sementes de pau-brasil com fungicidas: efeito na incidência de fungos, germinação e transmissão de fungos pelas sementes. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 2, p. 148-150, 2009.
- LUCCA FILHO, O. A. Patologia de sementes. In: PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A.; BARROS, A. C. S. A. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 2 ed. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, 2006. p. 259-330.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1988. 107p.
- MAGALHÃES, H. M., CATÃO, H. C. R. M.; SALES, N. L. P.; LIMA, N. F.; LOPES, P. S. N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2371-2374, 2008.
- MARTINELLI-SENEME, A.; POSSAMAI, E.; SCHUTA, L. R.; VANZOLINI, S. Germinação e sanidade de sementes de *Bauhinia variegata*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 719-724, 2006.
- MEDEIROS, A. C. S.; MENDES, M. A. S.; FERREIRA, M. A. S. V.; ARAGÃO, F. J. L. Avaliação quali-quantitativa de fungos associados a sementes de aroeira (*Astronium urundeuva*). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 51-55, 1992.
- MENDONÇA, M. B.; HIDALGO, A. F.; CHAVES, F. C. M. Isolamento e identificação de fungos com potencial patogênico para a saúde humana em material vegetal de uso medicinal comercializado em Manaus. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 1208-1214, 2009.
- MUNIZ, M. F. B.; SILVA, M. L.; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 140-146, 2007.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho de plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.
- NEVES, W. S.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, P. A.; LOPES, E. A. Avaliação fitossanitária de sementes de pinhão-manso provenientes dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. **Revista Tropica**, Chapadinha, v. 3, n. 2, p. 17-23, 2009.
- OLIVEIRA, L. M.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, M. L. M. Avaliação de métodos para quebra de dormência e desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorium dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 597-603, 2003.
- PISSININ, L. Z.; BARBIERI, J.; BONACINA, D. M.; MUNIZ, M. B. Tratamento de sementes e tipos de substrato na produção de mudas de *Acacia mearnsii*. **Cernea**, Lavras, v. 14, n. 2, p. 170-176, 2008.
- REGO, A. M. Análise sanitária na produção de sementes de grandes culturas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed). **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. p. 267-294.
- REGO, S. S.; SANTOS, A. F.; MEDEIROS, A. C. S.; FILHO, D. S. J. Fungos associados às sementes de bagueçu. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 379, 2008.
- REGO, S. S.; SANTOS, A. F.; NOGUEIRA, A. C.; KUNIYISHI, Y. S. Detection, transmission and pathogenicity of fungi on *Blepharocalyx salicifolius* (H. B. K.) Berg. seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 9-13, 2012.

SALES, N. L. P.; CASTRO, H. A. Efeito da população fúngica sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. e barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Couville). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 83-89, 1994.

SANTOS, F. E. M.; SOBROSA, R. C.; COSTA, I. F. D.; CORDER, M. P. M. Detecção de fungos patogênicos em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Ciência Florestal**, Viçosa, v. 11, n. 1, p. 13-20, 2001.

SANTOS, M. F.; RIBEIRO, W. R. C.; FAIAD, M. G. R.; SALOMÃO, A. N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 1-6, 1998.

SANTOS, M. F.; RIBEIRO, W. R. C.; FAIAD, M. G. R.; SANO, S. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 135-139, 1997.

SCHULTZ, V. S.; SANTOS, A. F.; MEDEIROS, A. C. S. Qualidade sanitária de sementes de pau-cigarra (*Senna multijuga*). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 47, p. 123-128, 2003.

SOUZA, L. M. S.; SILVA, J. B. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Copaifera langsdorffii*. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18, 2009. Rio Branco. **Anais...** Rio Branco, Universidade Federal do Acre, 2009. CR-ROM

SOUSA, D. B.; CARVALHO, G. S.; RAMOS, E. J. A. Paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex. Ducke). **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, Manaus, n. 13, p. 1-2, 2005.