

## Técnicas de detecção de fungos em sementes de Louro-pardo (*Cordia trichotoma*)

## Fungus detection techniques in brown bay laurel (*Cordia trichotoma*) seeds

### RESUMO

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar distintas técnicas para o reconhecimento de fungos através de quatro testes de sanidade nas sementes de *Cordia trichotoma*. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos, durante o ano de 2019. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos e oito repetições. Foram realizados testes com a técnica do papel filtro, papel filtro com desinfestação, meio de cultura BDA e restrição hídrica. Cada teste constituiu-se de lotes com 200 sementes cada e permaneceram armazenados em BOD com 25 °C e fotoperíodo de 12 horas por dois tempos diferentes, durante 7 dias e 15 dias. Para a avaliação foi utilizado microscópio estereoscópico, após o tempo estipulado para cada tratamento. Conclui-se que para as sementes de Louro-pardo, a melhor técnica foi o *blotter test* com 15 dias sem desinfestação.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cordia trichotoma*. Sementes. Sanidade.

### ABSTRACT

The Health Of Brown Bay Seeds Is Still Poorly Studied. Aiming To Obtain More Information About This, The Present Work Aimed To Evaluate Different Techniques For Fungal Recognition Through Four Health Tests On *Cordia Trichotoma* Seeds. The Study Was Conducted At The Plant Health Laboratory Of The Federal Technological University Of Paraná - Campus Dois Vizinhos, In 2019. A Completely Randomized Design With Eight Treatments And Eight Repetitions Was Adopted. Tests Were Performed Using The Filter Paper Technique, Disinfected Filter Paper, Bda Culture Medium And Water Restriction. Each Test Consisted Of Lots Of 200 Seeds Each And Were Stored In Bod At 25 ° C And Photoperiod Of 12 Hours For Two Different Times, For 7 Days And 15 Days. For The Evaluation, A Stereoscopic Microscope Was Used, After The Stipulated Time For Each Treatment. It Was Concluded That The Best Technique Was The 15-Day Blotter Test Without Pest Control.

**KEYWORDS:** *Cordia trichotoma*. Seeds. Sanity.

**Daniele Zago**

[dani16.zago@gmail.com](mailto:dani16.zago@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Maristela dos Santos Rey Borin**

[maristelarey@utfpr.edu.br](mailto:maristelarey@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Caliandra Bernardi**

[caliandra.bernardi@hotmail.com](mailto:caliandra.bernardi@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Recebido:** 19 ago. 2019.

**Aprovado:** 01 out. 2019.

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



## INTRODUÇÃO

O Louro-pardo (*Cordia trichotoma*) é uma espécie florestal originária do Rio Grande do Sul (MONTOVANI et al., 2001) e pertencente à família Boraginaceae (BERGHETTI et al., 2015). Segundo FICK (2007), essa espécie tem grande potencial para os reflorestamentos, devido a sua capacidade de tolerar o sombreamento em mediana intensidade ainda na fase juvenil (LORENZI, 2002).

A carência de qualidade em mudas nativas pode ser resultado da pouca sanidade de sementes, havendo assim, a necessidade imediata na identificação para facilitar o controle aos agentes causadores de doenças (BENETTI et al., 2009). VECHIATO (2010) destaca a importância de introduzir medidas sanitárias para garantir a qualidade das sementes e mudas florestais, afim de evitar a propagação de patógenos.

O objetivo do teste de sanidade é indicar a qualidade sanitária das sementes e consequentemente a condição do lote (HENNING, 2005). Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar distintas técnicas para o reconhecimento de fungos através do estudo de quatro métodos de sanidade em sementes de Louro-pardo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois vizinhos, durante o ano de 2019.

As sementes de Louro-pardo foram concedidas pelo IAP de Umuarama-PR, através de coletas realizadas na matriz florestal da espécie no município de Engenheiro Beltrão. Para esse experimento foi empregado o delineamento inteiramente casualizado com 8 tratamentos e 8 repetições.

### 1.1 TESTES DE SANIDADE

Para cada método, as sementes da espécie foram divididas em dois lotes. No primeiro, as sementes permaneceram armazenadas por 7 dias em BOD em temperatura de 25 °C e com fotoperíodo de 12 horas. Já outro lote, as sementes ficaram armazenadas nas mesmas condições, mas por um período de 15 dias.

#### 1.1.1 Teste do papel filtro

As sementes foram separadas em dois lotes, cada um continha 200 sementes. Foram realizadas oito repetições contendo 25 sementes espalhadas sobre 3 folhas de papel filtro umidificado com 7 mL de água esterilizada em caixas Gerbox. Para o primeiro lote o tempo de incubação foi de 7 dias e para o segundo 15 dias.

#### 1.1.2 Técnica com papel filtro com desinfestação

As sementes foram submetidas a um pré tratamento com uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, ficando submersas durante 1 minuto. Em seguida, foram depositadas em papel absorvente para secarem.

Logo após, as sementes foram dispostas em caixas Gerbox, onde cada lote de 200 sementes foram separados em oito caixas apresentando 25 sementes cada, dispostas sobre papel filtro umedecido com 7 mL de água esterilizada. As mesmas permaneceram armazenadas em BOD no período estabelecido para cada lote.

### 1.1.3 Técnica de sanidade em meio de cultura

Para esse método, as sementes também passaram por um pré tratamento em hipoclorito de sódio a 1% durante 1 minuto. Em seguida, a mesmas foram colocadas em placas de Petri® junto com meio BDA (batata, dextrose e ágar). Logo após, permaneceram armazenadas em BOD (temperatura de 25 °C e 12 horas de fotoperíodo) e respeitando o tempo definido para cada lote.

### 1.1.4 Técnica de sanidade por restrição hídrica

Houve distribuição das sementes em dois testes, *blotter test* e meio BDA a nível de -1Mpa NaCl.

No método *blotter test* foi realizada a pesagem do papel filtro usado nas caixas Gerbox, e o valor encontrado foi multiplicado por 2,5 para encontrar a quantia de água necessária para umedecer o papel.

No método de meio BDA, foi incorporado ao meio de cultura a solução de NaCl no momento de preparação. Para ambos os testes, o tempo de armazenamento em câmara do tipo BOD foi de 15 dias.

## 1.3 PROCESSOS ESTATÍSTICOS

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, contendo oito tratamentos e oito repetições. Com os dados encontrados, foi realizada a análise estatística por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com uso do programa Assitata® 7.7 beta (pt), afim de verificar quais fungos apresentaram ocorrência.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A tabela 1 mostra quais fungos foram encontrados nas diferentes técnicas de sanidade testadas nas sementes do Louro-pardo apresentando também a porcentagem de incidência de cada.

Tabela 1 – Incidência dos fungos nas diferentes técnicas de sanidade.

Fungos	Métodos de detecção							
	Blotter test					Meio BDA		
	7 Dias S/D	15 Dias S/D	7 Dias C/D	15 Dias C/D	15 Dias RH	7 Dias C/D	15 Dias C/D	15 Dias RH
<i>Alternaria</i> sp.	45 cd	100 b	40 bc	40 b	24 b	-	2 a	-
<i>Aspergillus</i> sp.	1 a	-	9 ab	6 a	4 a	21 ab	-	5 a
<i>Aspergillus Niger</i>	-	-	-	-	-	1 a	-	-
<i>Bipolaris</i> sp.	-	-	-	-	-	-	6 a	-
<i>Botrytis</i> sp.	20 bcd	1 a	15 ab	33 ab	11,5ab	7 a	6 a	3 a
<i>Chaetomium</i> sp.	-	-	-	-	-	100 c	-	-
<i>Cylindrocladium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	7 a	-
<i>Cladosporium</i> sp.	6 abc	1 a	-	-	-	-	13 a	6 a
<i>Colletotrichum</i> sp.	-	-	-	-	-	5 a	37 a	22 a
<i>Fusarium</i> sp.	100 b	100 b	100 c	100 b	100 b	50 bc	52 a	21ab
<i>Penicillium</i> sp.	5 ab	-	17 abc	4 a	2,5 a	2 a	3 a	4 a
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	-	-	-	1 a	-	7 a	10 a
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	1 a	-	-	-	20 a	100 b
<i>Stemphylium</i> sp.	-	-	-	-	-	15 ab	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	-	-	-	-	-	4 a	-	1 a

Fonte: Autoria própria (2019).

No método *blotter test* com 7 dias em que não houve desinfestação das sementes o fungo *Fusarium* sp. incidiu 100% das sementes, seguido por *Alternaria* sp. e *Botrytis* sp. Em trabalho realizado por SILVA e MUNIZ (2003) com sementes de Louro-pardo, também foi encontrado os fungos *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp., *Corineaspora* sp., *Phoma* sp., *Cordana* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Rhizospora* sp. e *Cladosporium* sp., utilizando o mesmo método e o mesmo tempo de incubação.

No segundo método (*blotter test*) com um período de incubação de 15 dias sem a desinfestação das sementes, os fungos *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp. contaminaram 100% das sementes, em relação ao *Botrytis* sp. e *Cladosporium* sp. que apresentaram incidência em apenas 1 % das sementes.

Para o método *blotter test* com incubação durante 7 dias contendo a desinfestação das sementes, o gênero *Fusarium* sp. incidiu em 100% das sementes, em seguida *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp. e *Rhizopus* sp. também contaminaram as sementes. PIVETA et al. (2010) analisaram sementes de *Senna multijuga* e encontraram os fungos *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. e *Cladosporium* sp.

No método *blotter test* com 15 dias de incubação havendo a desinfestação das sementes, foi encontrado a presença de cinco fungos sendo o *Fusarium* sp. em 100% das sementes, seguido de *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. Houve incidência dos fungos *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis*

sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. no trabalho desenvolvido por CAMARGO e MUNIZ (2004) com sementes de Corticeira do banhado.

No método *blotter test* contendo restrição hídrica, houve a presença de seis gêneros de fungos, se destacou o gênero *Fusarium* sp. (100%), logo em seguida *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizoctonia* sp.

No método da placa de Petri® com período de incubação de 7 dias contendo desinfestação das sementes, teve a incidência dos fungos *Chaetomium* sp. (100%), *Fusarium* sp. (50%), *Aspergillus* sp. (21%), *Stemphylium* sp. (15%), *Botrytis* sp. (7%), *Colletotrichum* sp. (5%), *Penicillium* sp. (2%) e *Aspergillus niger* (1%). No trabalho desenvolvido por FANTINEL et al. (2017) com sementes de *Acca sellowiana* (Berg) Burret (goiaba-serrana), encontraram os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Colletotrichum gloesporioides*, *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Alternaria* sp. e *Trichoderma* sp.

O método da placa de Petri® apresentando 15 dias de incubação e a desinfestação das sementes, os fungos encontrados foram *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Cylindrocladium* sp., *Bipolaris* sp., *Alternaria* sp. e *Botrytis* sp. Onde o que mais contaminou as sementes foi *Fusarium* sp. (52%), *Colletotrichum* sp. (37%) e *Rhizopus* sp. (20%). O restante teve contaminação abaixo de 15%. MAGALHÃES et al. (2008) analisou sementes de *Butia capitata* e encontrou os fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., e *Trichoderma* sp.

No último método da placa de Petri® com período de 15 dias de incubação e restrição hídrica obteve maior incidência dos fungos *Rhizopus* sp. (100%), *Colletotrichum* sp. (22%), *Fusarium* sp. (21%), sendo que *Rhizoctonia* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Botrytis* sp. e *Verticillium* sp., incidiram em menos de 10% das sementes. REGO et al (2005) encontraram incidência de *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp. e *Verticillium* sp. nos frutos e sementes de *Myrsine ferrugínea* (Capororoca).

## CONCLUSÃO

O método mais eficiente de detecção para a espécie *Cordia trichotoma* foi o *blotter teste* com 15 dias sem desinfestação.

## REFERÊNCIAS

BENETTI, S.C.; SANTOS, A. F. dos; JACCOUD FILHO, D, de S. Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação de patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.58, p. 79-83, 2009

BERGHETTI, A.L.P.; ARAUJO, M.M.; BOVOLINI, M.P.; TONETTO, T.S.; MUNIZ, M.F.B. Morfologia De Plântulas E Controle De Patógenos Em Sementes De *Cordia trichotoma*. **Floresta e Ambiente** 2015, Santa Maria, v.22, n. 1, p. 99-106

CAMARGO, R. F.; MUNIZ, M.F.B. Levantamento de fungos associados as sementes de espécies de arborização urbana de Santa Maria – RS. **Informativo Abrates**, Brasília, DF v. 13, n. 3, 2003.

MONTOVANI, N.C.; FRANCO, E. T.H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n. 2, p. 93-101, 2001

FICK, T. A. **Estabelecimento *in vitro* e propagação de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel (Louro-pardo)** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) –Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2007.

HENNING, A. A. **Patologia e Tratamento de Sementes: Noções gerais**. 2. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

LOENZI, H.; **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, H. M.; CATÃO, H. C. R. M.; SALES, N. L. P.; LIMA, N. F. L.; LOPES, P. S. N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural, Santa Maria – RS**, v. 38, n. 8, p. 2371-2374, 2008.

PIVETA, G.; MENEZES, V.O.; PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E.; WIELEWICKI, A. P. Superação de dormência na qualidade de sementes e mudas: influência na produção de *Senna multijuga* (L.C. RICH.) Irwin e Barneby. **Acta Amazonica**, v.40, n. 2, p. 281-288, 2010.

REGO, S.S.; SANTOS, A. F. dos; MEDEIROS, A. C. S. Associação de fungos com frutas e sementes de capororoca (*Myrsine ferrugínea* – Myrsinaceae). *In*: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS. 4. 2005, Colombo. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2005.

SILVA, L. T. M.; MUNIZ, M. F. B. Qualidade sanitária de sementes e mudas de espécies florestais nativas produzidas na região de Santa Maria – RS. *In*: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, 9. 2003, Nova Prata.

VECHIATO, M. H.; **Importância da qualidade sanitária de sementes florestais na produção de mudas**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/SementesFlorestais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm). Acesso em: 16 de ago. 2019.