

SANIDADE DE SEMENTES E PATOGENICIDADE DE *Fusarium* sp. EM *Bauhinia forficata* Link¹

SEED SANITY AND PATHOGENICITY OF *Fusarium* sp. IN *Bauhinia forficata* Link

Caciara Gonzatto MACIEL^{2,3}; Andressa TORRES²

RESUMO - A *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) pertence à família Fabaceae. É uma espécie nativa da Mata Atlântica de grande valor ecológico e econômico, com potencial para recomposição de áreas degradadas. O presente trabalho estudou a incidência, transmissão e patogenicidade de fungos associados a sementes de pata-de-vaca de distintas procedências. Para isso, utilizaram-se quatro amostras de sementes, com as quais realizaram-se testes de germinação, sanidade (blotter test), transmissão; e patogenicidade de *Fusarium* sp. A germinação das sementes de pata-de-vaca variou de 4 a 76%. Os gêneros fúngicos identificados foram: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium*. Sendo que *Fusarium* sp. foi detectado em todas as amostras e verificada sua transmissão via sementes para plântulas, causando má formação do sistema radicular e dos cotilédones; tombamento de pré e pós-emergência. Sua patogenicidade foi confirmada.

Palavras-chave: sementes florestais; germinação; patologia de sementes.

ABSTRACT - *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) belongs to the Fabaceae family. It is a native species of the Atlantic Forest of great ecological and economic value, with potential for recomposition of degraded areas. The present work studied the incidence, transmission and pathogenicity of fungi associated with pata-de-vaca seeds from different sources. For this, four seed samples were used, with which germination tests were carried out, sanity (blotter test), transmission; and pathogenicity of *Fusarium* sp. The germination of pata-de-vaca seeds ranged from 4 to 76%. The fungal genera identified were: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* and *Fusarium*. *Fusarium* sp. was detected in all samples and its transmission via seeds to seedlings was verified, causing malformation of the root system and cotyledons; and damping-off.

Keywords: forest seeds; germination; seed pathology.

¹ Recebido para análise em 22.03.2023. Aceito para publicação em 30.05.2023. Publicado em 20.06.2023.

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

³ Autor para correspondência: caciara.maciel@ufrgs.br

1 INTRODUÇÃO

A *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) pertence à família Fabaceae. É uma espécie nativa da Mata Atlântica de grande valor ecológico e econômico, com potencial para recomposição de áreas degradadas, paisagismo, uso apícola e medicinal (Carvalho, 2003). As espécies do gênero *Bauhinia* tem importante emprego paisagístico pela beleza de suas flores, sendo recomendadas para arborização de ruas estreitas e sob a rede elétrica (Carvalho, 2014), além de suas folhas, flores e casca apresentarem reconhecido potencial terapêutico (Trojan-Rodrigues et al., 2012). A produção de mudas dessa espécie é feita preferencialmente através de sementes, aumentando a exigência com os lotes que são utilizados. Conforme Oliveira et al. (2018) os materiais utilizados para a propagação seminal variam expressivamente entre lotes, quanto aos diversos atributos (genético, físico, fisiológico e sanitário), consequentemente, o conhecimento do material genético e a análise de sementes são informações importantes, capazes de regular o mercado de sementes florestais.

O teste de germinação é essencial para a determinação da qualidade das sementes produzidas, pois além de possibilitar a avaliação do máximo potencial de germinação das sementes pode, também, juntamente com outras ferramentas, ser indicador de possíveis falhas ocorridas no processo de produção (Figliolia, 2015). Segundo Costa et al. (2013), o potencial produtivo das sementes de *Bauhinia forficata* pode ser reduzido por alguns fatores, tais como a dormência, que corresponde ao período em que a semente é incapaz de realizar o processo de germinação. Deste modo, a superação de dormência é de extrema importância para a propagação e desenvolvimento da espécie, sendo assim analisado através de testes de germinação.

A detecção dos agentes patogênicos associados às sementes irá refletir nos índices de produção de

mudas e armazenamento das sementes. A análise da sanidade de sementes é uma medida que assume grande importância, pois revela ao agricultor se as sementes podem ser veículo de disseminação de inóculo primário (Oliveira et al., 2012), evitando o transporte de sementes contaminadas por fitopatógenos para novas áreas (Carmo et al., 2017), consequentemente, minimizando os riscos de perdas na produção de mudas. A busca pelo desenvolvimento de estratégias de controle que visem à redução dos patógenos e melhorias na produção de mudas vem aumentando constantemente, para isso é fundamental a identificação adequada do patógeno e os danos ocasionados.

Parisi et al. (2019) reforçam que poucas pesquisas têm sido desenvolvidas na área de sanidade de sementes florestais, direcionadas à identificação de fungos, e à participação destes no processo de deterioração das sementes. Para os autores a grande diversidade de espécies demanda esforços ainda maiores para que se possa obter sucesso na identificação e controle dos principais patógenos associados às sementes.

Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a germinação, sanidade e patogenicidade de *Fusarium* sp. associado a lotes de sementes de *Bauhinia forficata*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Bauhinia forficata* utilizadas são oriundas do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA), sendo coletadas de diferentes matrizes, em anos distintos, desde 2016 até 2020. Após serem recebidos, os lotes foram armazenados na geladeira em temperatura entre 1 e 7°C, para preservar a integridade fisiológica das sementes. As procedências, época de coleta e grau de umidade (GU) estão identificadas na Tabela 1.

Tabela 1. Procedência, data de coleta, lote e grau de umidade (GU) das sementes de *Bauhinia forficata* utilizadas no estudo.

Table 1. Origin, collection date, samples and moisture content of *Bauhinia forficata* seeds used in the study.

Procedência	Data de coleta	Lote	GU (%)
Santa Maria – RS	24/05/2016	26/16	12
Distrito Boca do Monte - RS	05/05/2017	20/17	10,5
Santa Maria – RS	23/04/2019	17/19	12,7
Distrito Boca do Monte - RS	18/05/2020	17/20	9,5

Os testes de grau de umidade, germinação, sanidade e patogenicidade foram desenvolvidos no Laboratório de Sementes e em casa de vegetação do Departamento de Horticultura e Silvicultura, nas dependências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

2.1 Localização e caracterização da área de estudo

A determinação do grau de umidade foi feita com 100 sementes de cada amostra. Estas foram pesadas e então acondicionadas em placas de Petri. Logo, foram levadas para a estufa a 105°C por 24 horas, e novamente efetuou-se a pesagem, para determinar assim, o peso seco das sementes. A diferença de peso resultou no grau de umidade das sementes (Brasil, 2009).

2.2 Germinação

Para o teste de germinação foram utilizadas 100 sementes de cada amostra, divididas em quatro repetições de 25 sementes cada. Previamente à instalação do teste de germinação, realizou-se a superação de dormência da semente, através da escarificação mecânica, realizada com uma lixa n° 100, através do desgaste do tegumento (Alves et al., 2007).

A semeadura foi realizada em substrato papel germitest, umedecido com água autoclavada na quantidade de 2,5 vezes a massa do papel não hidratado, e posteriormente armazenadas em sacos de polietileno. O material foi acondicionado em um germinador com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A primeira contagem de germinação (plântulas normais) foi realizada sete dias após a instalação do teste, considerando radícula superior à 2 cm. Aos 14 dias contabilizou-se a germinação, sementes duras e mortas. A metodologia utilizada para o teste de germinação foi adaptada de Brasil (2013).

2.3 Sanidade em papel-filtro

Para detecção dos fungos presentes nas sementes em papel-filtro (PF) foram utilizadas 100 sementes de cada amostra, divididas em quatro repetições de 25 sementes. As sementes, não desinfestadas, foram colocadas em caixas transparente do tipo "gerbox", previamente desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) e álcool (70%). Utilizou-se como substrato duas folhas de papel-filtro esterilizadas, umedecidas com água destilada esterilizada.

O material foi incubado a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo 12 horas de luz negra/12 horas de escuro por sete dias. A verificação da ocorrência de fungos foi feita com auxílio de microscópio estereoscópico, onde as sementes foram observadas individualmente. Quando encontrada alguma estrutura fúngica, esta foi transferida para lâminas com corante (lactofenol com azul de metileno) e analisadas com auxílio do microscópio óptico. A identificação dos fungos em nível de gênero foi realizada conforme descrições de Barnett e Hunter (1999) e Santos et al. (2011).

2.4 Patogenicidade

Fusarium sp. isolado no teste de sanidade, considerado potencialmente patogênico, foi crescido em placas de Petri com meio batata-dextrose-água (BDA), ampicilina (100 ppm), posteriormente incubado, por sete dias, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas de luz, para produção de inóculo. Testou-se um isolado de *Fusarium* sp. (F1), oriundo do teste de sanidade do Lote 17/19.

Neste teste, as sementes de *B. forficata* utilizadas pertenciam ao Lote 17/20, esse lote foi escolhido, pois apresentou elevado potencial de germinação e ocorrência de *Fusarium* sp. (F1). No desenvolvimento do teste de patogenicidade, utilizaram-se 100 sementes divididas em quatro repetições de 25. Inicialmente, foi realizada assepsia das sementes (imersão em álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% por 30 segundos e lavagem em água destilada esterilizada). Na sequência, as sementes, foram colocadas em contato com a cultura fúngica em meio BDA por 48 horas. A testemunha passou pelo mesmo procedimento, porém foi mantida em contato com o meio BDA, sem o inóculo fúngico.

A semeadura foi realizada em bandejas de isopor (uma semente por célula) com substrato vermiculita autoclavada. O material permaneceu em estufa de nebulização com umidade média de 90% e temperatura média de 25°C, irrigadas a cada dois dias.

As avaliações foram realizadas aos sete, 14 e 21 dias após a instalação do teste, e nestas foram contadas o número de plântulas emergentes. Após os 21 dias, as sementes que não germinaram foram retiradas, e juntamente com as plântulas anormais permaneceram em câmara úmida, para a verificação da presença de *Fusarium* sp. e seu posterior re-isolamento, completando os postulados de Koch.

2.5 Delineamento e Análise estatística

Para todas as análises, utilizou-se o Sistema de Análise Estatística SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, colocando-se os dados em percentagem e, em seguida efetuando-se a transformação das observações segundo $\sqrt{(x+k)}$, onde o valor de k é igual a 100. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são apresentados os resultados referentes a germinação de diferentes lotes de sementes de *B. forficata*. A germinação variou entre 4 e 76%, sendo o valor superior associado ao lote coletado em 2017. Verteiro et al. (2022) afirmam que as sementes de *B. forficata* podem ser

armazenadas por longos períodos em refrigeração. Estes autores encontraram 100% de germinação, mesmo após 173 dias de armazenamento.

O Lote 17/19 apresentou menor germinação (4%) e maior incidência de fungos classificados como potencialmente patogênicos, como *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. (Tabela 3), consequentemente esse lote apresentou alto percentual de sementes mortas (96%). A presença desses patógenos pode interferir diretamente o desempenho das sementes a campo, causando apodrecimento e tombamento de plântulas.

O percentual de sementes duras variou de 0 a 2 % (Tabela 2), esse resultado baixo deve-se à utilização de métodos de superação de dormência com as sementes de *B. forficata*. A superação de dormência é fundamental para aquelas sementes com tegumento rígido, pois garante uma germinação mais rápida e uniforme.

Tabela 2. Germinação (G), sementes duras (SD) e sementes mortas (SM) de diferentes lotes de *Bauhinia forficata*.

Table 2. Germination, hard seeds and dead seeds of different samples of *Bauhinia forficata*.

Lote	G	SD	SM
	(%)		
17/20	57 b*	1 ns	42 b
17/19	4 c	0	96 c
20/17	76 a	2	22 a
26/16	54 b	1	45 b
C.V. (%)	15,63	> 100	13,28

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância. ns: não significativo pelo teste de Tukey a 5 % de significância. C.V.: Coeficiente de Variação.

* Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% significance. ns: not significant by Tukey's test at 5% significance. C.V.: Coefficient of Variation.

A incidência de fungos identificados associados as sementes de *B. forficata* é apresentada na Tabela 3. Foram identificados os fungos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium*. A presença de *Penicillium* sp. foi superior nos lotes 20/16 e 20/17, esse fungo é classificado como de armazenamento (Santos et al. 2011) e sua presença pode estar relacionada ao ano de coleta das sementes, superior aos demais.

Martinele-Seneme et al. (2006) identificaram os seguintes fungos associados as sementes de *Bauhinia variegata*: *Trichothecium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. A análise foi realizada logo após a coleta das sementes e segundo os autores a presença dos patógenos não interferiu no potencial germinativo e vigor das sementes.

Pinheiro et al. (2016) avaliando a eficiência de tratamentos de assepsia de sementes florestais, identificaram *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. associados a sementes de *Bauhinia forficata*. De acordo com os resultados encontrados pelos autores, o tratamento das sementes com NaClO a 2% por 1 min antes da semeadura aumentou a germinação (de 44 para 87 %) e reduziu a incidência fúngica (*Aspergillus* sp. (de 54 para 27%) e *Penicillium* sp. (de 31 para 7%), exceto para *Fusarium* sp. Desde os primeiros registros de patologia de sementes florestais, Ferreira (1989) afirma que algumas espécies de *Fusarium* têm sido relatadas causando tombamento em pré ou pós-emergência de plântulas de espécies florestais, sendo problema comum em sementes. No presente trabalho a presença de *Fusarium* foi verificada em todos os lotes, alcançando 80 % no Lote 17/19 (Tabela 3), nesse mesmo Lote o

desempenho fisiológico das sementes foi baixo, com 96 % de sementes mortas (Tabela 4).

Santos et al. (2001) identificaram outros gêneros fúngicos em sementes de *B. forficata* e reforçam que *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp. podem se comportar como fitopatogênicos à

espécie. A ação patogênica dos fungos pode ser potencializada por condições fisiológicas da semente, cuidados durante a coleta e beneficiamento, dessa maneira é fundamental a preconização do uso de sementes com boa procedência.

Tabela 3. Gêneros fúngicos (%) identificados associados a diferentes lotes de sementes de *Bauhinia forficata*.

Table 3. Fungal genera (%) identified associated with different seeds samples of *Bauhinia forficata*.

Lote	Gêneros fúngicos (%)			
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
17/20	22 ^{ns}	7 a*	21 a	45 ab
17/19	14	29 b	80 b	32 a
20/17	7	6 a	30 a	60 bc
26/16	10	4 a	37 a	75 c
C.V. (%)	56,31	65,46	22,42	23,01

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância. ns: não significativo pelo teste de Tukey a 5 % de significância. C.V.: Coeficiente de Variação.

* Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% significance. ns: not significant by Tukey's test at 5% significance. C.V.: Coefficient of Variation.

Quando inoculado nas sementes de *B. forficata* o isolado de *Fusarium* sp. mostrou-se patogênico, reduzindo significativamente o percentual de emergência. Os danos observados foram podridão

das sementes, tombamento (*damping-off*), em pós-emergência e necrose dos tecidos jovens das plântulas (Figura 1).



Figura 1. Sintomas causados por *Fusarium* sp. no teste de patogenicidade com sementes de *Bauhinia forficata*.

Figure 1. Symptoms caused by *Fusarium* sp. in the pathogenicity test with *Bauhinia forficata* seeds.

Não há relatos na literatura da patogenicidade de *Fusarium* sp. associado a sementes de *B. forficata*. Parisi et al. (2019) reforçam que novas pesquisas abordando a patogenicidade e os danos causados por patógenos às plântulas de espécies florestais são essenciais para o conhecimento e controle das doenças e para a conservação de

sementes. A patogenicidade de *Fusarium* foi verificada em outras espécies florestais, *Ceiba speciosa* (Lazarotto et al., 2010), *Parapiptadenia rigida* (Maciel et al., 2012), *Pinus taeda* (Silva et al., 2017) e *Pinus elliottii* (Maciel et al., 2013).

Tabela 4. Emergência (E) e sementes não germinadas (SNG) de *Bauhinia forficata* (Lote 17/20) após o teste de patogenicidade realizado com inoculação de *Fusarium* sp.

Table 4. Emergence of seedlings and non-germinated seeds of *Bauhinia forficata* (Sample 17/20) after the pathogenicity with *Fusarium* sp.

Tratamento	E	SNG
	(%)	
Testemunha	55 a*	45 a
<i>Fusarium</i> sp.	28 b	72 b
C.V. (%)	37,49	26,59

* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância. ns: não significativo pelo teste de Tukey a 5 % de significância. C.V.: Coeficiente de Variação.

* Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% significance. ns: not significant by Tukey's test at 5% significance. C.V.: Coefficient of Variation.

4 CONCLUSÕES

A germinação das sementes de *Bauhinia forficata* variou entre 4 a 76%. Os gêneros fúngicos identificados foram: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Fusarium*. A patogenicidade de *Fusarium* sp. foi confirmada para o Lote 17/20.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3. ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1999. 241 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, ACS, 2009. 399 p.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: MAPA, 2013. 98p.

CARMO, A.L.M. et al. Associação de Fungos com Sementes de Espécies Florestais Nativas. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 3, p. 246-247, 2017.

CARVALHO, P.E.R. Pata-de-vaca. *Bauhinia forficata* In: CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas. v. 1, p. 711-716.

_____. Pata-de-vaca. *Bauhinia unguolata* In: CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa, 2014. v. 5, p. 369-378.

COSTA, E.S. et al. Dormência de sementes e efeito da temperatura na germinação de sementes de mororó. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 56, n. 1, p. 19-24, 2013.

FERREIRA, F.A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-114, 2014.

FIGLIOLIA, M.B. Análise de sementes. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. **Sementes Florestais Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina: ABRATES, 2015. p. 286-359.

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**, v.36, p.105-112, 2010.

MACIEL, C.G. et al. Detecção, transmissão e patogenicidade de fungos em sementes de *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho). **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 323-328, 2012.

_____. et al. First Report of *Fusarium sambucinum* Associated on *Pinus elliottii* Seeds in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 995-995, 2013.

MARTINELLI-SENEME, A. et al. Germinação e Sanidade de Sementes de *Bauhinia variegata*. **Revista Árvore**, v.30, n. 5, p. 719-724, 2006.

OLIVEIRA, J.D. et al. Métodos para detecção de fungos e assepsia de sementes de *Schizolobium amazonicum* (Caesalpinioideae). **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 945-953, 2012.

OLIVEIRA, L.M. de et al. Análise da qualidade física, fisiológica, e sanitária de sementes florestais. In.: ARAÚJO, M.M.; NAVROSKI, M.C.; LAURI, A.S. **Produção de Sementes e Mudas - um enfoque à Silvicultura**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2018. p. 121-144.

PARISI, J.J.D. et al. Patologia de Sementes Florestais: Danos, Detecção e Controle, uma revisão. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 129-133, 2019.

PINHEIRO, C.G. et al. Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 36, n. 87, p. 253-260, 2016.

SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O.M. (Ed.). **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. 1ª ed., 236 p.

SILVA, T.W.R. et al. Métodos de detecção, transmissão e patogenicidade de *Fusarium* spp. em sementes de *Pinus taeda*. **Ciência Florestal**, v.27, n.1, p.73-84, 2017.

TROJAN-RODRIGUES, M.; ALVES, T.L.; SOARES, G.L.; RITTER, M.R. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 155-163, 2012.

VERTEIRO, L. et al. Viabilidade de Sementes de *Bauhinia forficata* Link. In: 9º Congresso Florestal Brasileiro, 2022, Brasília. **Anais...** Brasília: SBS, 2022, v. 1, p. 539-542.