

Levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth)¹

Survey, pathogenicity and transmissibility of fungi by “sabiá” seeds
(*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth)

Sandra Santos Mendes², Paulimara Rodrigues dos Santos³, Geórgia da Cruz Santana³,
Genésio Tâmara Ribeiro⁴ e João Basílio Mesquita⁵

RESUMO

Sementes de Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) provenientes de Estância-SE, com e sem desinfestação superficial, foram colocadas em caixas gerbox, sobre três folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada esterilizada contendo 200 ppm sulfato de estreptomicina, com a finalidade de efetuar o levantamento da microbiota associada às sementes. Foram testados também a patogenicidade e a transmissibilidade dos fungos detectados. Os gêneros detectados nas sementes sem desinfestação superficial foram: *Fusarium solani*, 28,5%, *Phomopsis* sp., 4,5%; *Pestalotiopsis* sp., 9,5%; *Colletotrichum gloeosporioides*, 6% e *Aspergillus* spp., 4%. Os mesmos gêneros apareceram nas sementes desinfestadas, porém em proporções diferentes: *Fusarium solani*, 27,5%; *Phomopsis* sp., 14%, *Colletotrichum gloeosporioides*, 9%; *Pestalotiopsis* sp., 5% e *Aspergillus* spp. 0,5%. No teste de patogenicidade, *Fusarium solani* quando inoculado por pulverização causou murcha em 10% das plântulas e *Pestalotiopsis* sp. causou manchas foliares diminutas de coloração branco acinzentado em 6% das plântulas. No teste de transmissão as sementes que não germinaram, apresentaram os fungos *Pestalotiopsis* sp., 8,5%; *Colletotrichum gloeosporioides*, 0,5%; *Fusarium solani*, 7,5% e *Phomopsis* sp., 1,5%. Os fungos detectados nas sementes não foram transmitidos para as plântulas.

Termos para indexação: sabiá, *Mimosa caesalpiniaefolia*, fungos.

ABSTRACT

Survey of fungi associated with seeds of *Mimosa caesalpiniaefolia* was carried out in gerbox with 200 ppm of streptomycin sulphate, at the Plant Pathology laboratory of Phitopathology - EMBRAPA, in Aracaju city (Brazil). Fungi isolated from surface of sterilized seeds were as follows: *Fusarium solani* 28.5%; *Phomopsis* sp. 4.5%; *Pestalotiopsis* sp. 9.5%; *Colletotrychum gloeosporioides* 6.0%; and *Aspergillus* spp. 4.0%. Seeds without surface sterilization yielded the same fungi although in different percentages: *F. solani* 27.5%; *Phomopsis* sp. 14.0%; *C. gloeosporioides* 9.0%; *Pestalotiopsis* sp. 5.0% and *Aspergillus* spp. 0.5%. Pathogenicity tests revealed that when sprayed on seedlings *F. solani* caused wilt in 10.0% of them, while *Pestalotiopsis* sp. induced small white-greyish leaf spots on 6.0% of seedlings. The following fungi were isolated from seeds that failed to germinate: *Pestalotiopsis* sp. 8.5%, *C. gloeosporioides* 0.5%; *F. solani* 7.5% and *Phomopsis* sp. 1.5%. Fungi isolated from seeds could not be transmitted to seedlings.

Index terms: sabiá, *Mimosa caesalpiniaefolia*, fungi.

¹ Recebido para publicação em 19/01/2004.

Aprovado em 07/11/2004.

² Bióloga, Departamento de Biologia/UFS - SE

³ Estudante de Graduação em Engenharia Florestal/UFS, bolsista de Iniciação Científica do CNPq.

⁴ Engenheiro Florestal, D.Sc. Professor Dep. Engenharia Agrônômica, UFS/SE. E-mail: gribeiro@ufs.br

⁵ Engenheiro Florestal, D.Sc. Professor Dep. Engenharia Agrônômica, UFS/SE. E-mail: basilio@ufs.br

Introdução

A utilização de espécies florestais para a produção de lenha, carvão, celulose, ornamentação e consórcios agrossilviculturais e silvopastoris, por iniciativa oficial ou privada, requer a cada dia maior demanda de sementes. A falta de pesquisa em produção de sementes florestais, incluindo desde identificação de espécies nativas até a estocagem, tem levado a uma queda na produção e comercialização de valiosas espécies florestais (Carneiro, 1986).

No Brasil, a maioria dos trabalhos existentes tem apenas relacionado os microrganismos que ocorrem nas sementes, sem verificar, contudo, seus efeitos sobre a germinação e desenvolvimento das plantas (Carneiro, 1990; Mendes et al., 2002; Mesquita et al., 2002). Para a obtenção de uma boa muda é necessário o controle de sanidade e de qualidade da semente utilizada, pois esta poderá servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos. Por isso, a busca pela obtenção de sementes isentas de fitopatógenos é necessária para o estabelecimento de populações florestais.

De modo geral, vários danos podem ser provocados por patógenos, associados às sementes. Dentre eles, morte em pré-emergência, podridão radicular, tombamento de mudas, manchas necróticas em folhas, caules, deformações como hipertrofias e subdesenvolvimento, descoloração de tecidos, infecções latentes, etc. (Neergaard, 1979). Em espécies florestais, estes danos podem também ocorrer, levando à redução drástica da produção de mudas em viveiros e ao aumento dos custos dos reflorestamentos (Sales, 1992).

São vários os benefícios proporcionados aos produtores rurais pela utilização do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*), especialmente no que se refere à recuperação dos solos por meio da fixação de nitrogênio e do aporte de matéria orgânica, originada da queda de suas folhas; além de representar importante fonte de alimento para o gado e, principalmente, para os caprinos que, na época da estiagem, alimentam-se das folhas que caem e entram em processo de fenação, ocasionando, assim, o aumento do valor nutritivo (Leal Júnior et al., 1999).

Por ser a qualidade das sementes fator que contribui sobremaneira para o maior rendimento das plantações e, levando-se em consideração o grande

potencial de utilização do sabiá em reflorestamentos, revegetação, ecologia e indústria madeireira, o presente trabalho teve por objetivo estudar a ocorrência de patógenos fúngicos associados às suas sementes, assim como, verificar a transmissibilidade e patogenicidade dos fungos associados às mesmas.

Material e Métodos

Levantamento da micobiota associada às sementes de sabiá

Foram utilizadas duas amostras de 200 sementes, todas provenientes do Município de Estância/SE, no levantamento da micobiota associada às sementes. Uma das amostras foi desinfestada com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2%, durante três minutos, sendo, em seguida, lavada duas vezes em água destilada esterilizada. As sementes foram distribuídas em caixas gerbox forradas com 3 camadas de papel de filtro esterilizado e pré-umedecido com água estéril, contendo 200 ppm de sulfato de estreptomicina. A outra amostra não foi desinfestada, sendo apenas imersa em água destilada e esterilizada por 3 minutos e distribuída nas caixas gerbox, conforme o procedimento da primeira amostra.

Após oito dias de incubação à temperatura ambiente ($26 \pm 3^\circ\text{C}$), sob o fotoperíodo de 12 horas, as sementes foram observadas individualmente ao microscópio estereoscópico. O exame morfológico dos fungos foi feito no microscópio ótico comum, quando necessário, para a observação dos detalhes. Na identificação dos fungos, utilizou-se a técnica de microcultura, na qual foram colocados dois discos de papel de filtro esterilizados e umedecidos em água destilada esterilizada em placas de Petri, sobre os quais foram dispostas varetas de vidro em forma de "V", como suporte para lâminas de microscópio flambadas. Sobre cada lamina foi colocado um disco de 5 mm de meio de cultura (BDA) e, com auxílio de um estilete, os fungos foram transferidos para discos de meio de cultura que foram, em seguida, cobertos com uma lamínula flambada. As placas foram mantidas a 25°C durante três dias, para permitir o crescimento do fungo em direção à lamínula e a esporulação. Após a incubação as lamínulas foram retiradas e montadas numa gota de lactofenol para observação ao microscópio.

Para cada tratamento que incluíam sementes desinfestadas e não desinfestadas superficialmente, foram empregadas dez repetições e cada repetição foi representada por uma caixa gerbox com vinte sementes.

Os fungos detectados nas sementes foram isolados em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e armazenados em geladeira para serem posteriormente testados quanto à sua patogenicidade às plântulas de sabiá.

Patogenicidade dos fungos mais frequentes associados às sementes de sabiá

Para o teste de patogenicidade foram produzidas 40 mudas a partir do lote de sementes coletadas. O teste foi dividido em quatro repetições, das quais, três correspondiam aos tratamentos e uma correspondia à testemunha. Foram utilizados tubetes de 80 cm³, contendo uma mistura de solo + esterco + areia (2:1:1) autoclavado. As sementes foram imersas por uma hora em suspensão de 10⁶ esporos/mL de *Fusarium solani*, *Phomopsis* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotiopsis* sp., obtidos a partir do estudo dos fungos associados às sementes, sendo utilizadas colônias cultivadas em BDA por 8 dias. Após a inoculação as sementes foram secas à temperatura ambiente e semeadas em tubetes que foram mantidos em casa de vegetação. A avaliação da patogenicidade foi feita após 44 dias. Foram retirados fragmentos das lesões apresentadas pelas plantas e plaqueados em BDA para verificar se os sintomas eram causados pelos fungos inoculados.

Para testar a patogenicidade dos fungos sobre a parte aérea das plântulas, 40 sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 3% durante 5 minutos, sendo, em seguida, semeadas em bandejas contendo uma mistura de solo + esterco + areia (2:1:1) autoclavada. Após 21 dias de germinadas, a parte aérea das plântulas foram pulverizadas com *Fusarium solani*, *Phomopsis* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotiopsis* sp., à uma concentração de 10⁶ esporos/mL, obtidos de colônias com 8 dias cultivadas em BDA. Após a inoculação as plantas foram colocadas em câmara úmida por 24 horas, e, em seguida, transferidas para casa de vegetação. A avaliação dos sintomas foi feita durante 25 dias.

Para testar a patogenicidade dos fungos nas raízes foram colocadas 40 sementes para germinar

em bandejas contendo areia estéril. Após 25 dias de germinadas, as plântulas em perfeito estado fitossanitário foram retiradas das bandejas, tendo suas raízes lavadas em água estéril, e imersas em suspensão de 10⁶ esporos/mL de *Fusarium solani*, *Phomopsis* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pestalotiopsis* sp., durante 20 minutos, sendo então transplantadas para os tubetes contendo terra vegetal + esterco + areia (2:1:1) esterelizada. A avaliação dos sintomas causados nas plântulas foi feita após 20 dias. Os fungos que causaram sintomas nas plântulas foram reisolados em BDA.

Transmissão dos fungos associados às sementes de sabiá

Na verificação da transmissão dos fungos associados às sementes, foram utilizadas 100 sementes infectadas naturalmente com *Fusarium solani* (28,5%), *Phomopsis* sp. (4,5%), *Colletotrichum gloeosporioides* (6,0%), *Pestalotiopsis* sp. (9,5%) e *Aspergillus* spp., as quais foram semeadas em bandejas de isopor contendo areia autoclavada durante 3 horas. Após a semeadura, as bandejas foram colocadas em casa de vegetação e irrigadas regularmente até a avaliação. Quando se observou a não emergência das plântulas, as sementes não germinadas foram desenterradas para a observação e isolamento do agente causal.

Para verificar infecção latente nas plantas, foram retiradas seções do caule, que foram previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio 2% por 1 minuto e colocadas em placas de Petri contendo meio BDA e incubadas por 10 dias à temperatura ambiente (26 ± 3°C) e sob fotoperíodo de 12 horas.

Resultados e Discussão

Levantamento da micobiota associada às sementes de sabiá

Os fungos detectados associados às sementes de sabiá encontram-se listados na Tabela 1. Observa-se que as sementes desinfestadas apresentaram maior incidência dos fungos *Phomopsis* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides* do que as sementes não desinfestadas, indicando uma maior ocorrência destes fungos nas camadas internas das sementes de sabiá.

No que se refere ao *Fusarium solani* as sementes desinfestadas e não desinfestadas apresentaram porcentagens semelhantes. Trabalhando com sanidade de sementes de *Pinus elliotti* var. *elliotti*, Homechin et al., (1986) observaram que a assepsia superficial das sementes foi suficiente para eliminar *Fusarium* sp., o que não se verificou com as sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia*, provavelmente por estas apresentarem também o fungo em seu interior.

Em estudos sobre a micobiota associada às sementes de 18 gêneros e ou espécies florestais provenientes do Amazonas, Pará, Distrito Federal, Espírito Santo e Santa Catarina, Carneiro, (1986) observou que espécies do gênero *Fusarium* foram os mais freqüentes, sendo observados em 52,3% das amostras analisadas e, na maioria das vezes, foram encontrados colonizando as sementes internamente. O mesmo autor também relatou que fungos do gênero *Pestalotiopsis*, que são tidos como patógenos fracos, também foram encontrados nas sementes da maioria das espécies estudadas. Para sementes de sabiá, estes fungos foram detectados tanto interna quanto externamente, o que está de acordo com o trabalho de Carneiro (1986), onde o gênero *Fusarium* também apresentou maior incidência.

Quanto ao gênero *Aspergillus* ter sido encontrado em menor porcentagem (0,5% e 4,0% nas sementes desinfestadas e não desinfestadas, respectivamente), provavelmente, isto deve-se ao fato de as sementes utilizadas terem sido sementes recém colhidas, já que se trata de um fungo encontrado em maior porcentagem nas sementes armazenadas. No município de Paraopeba, estado de Minas Gerais, Carneiro (1990) observou que a presença de fungos como *Aspergillus* spp., em alta porcentagem em sementes de pau-de-santo (*Cabraela multifuga* CDC.), vinhático do campo (*Plathymenia reticulata* Benth), canafístula (*Cassia ferrugínea*

Schrad) e ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* Nichols) tende a prejudicar a qualidade das sementes pela queda de viabilidade apresentada e que a presença desses fungos pode vir a refletir as condições de armazenamento das mesmas.

Patogenicidade dos fungos mais freqüentes associados às sementes de sabiá

Independente da parte da planta em que os fungos *Phomopsis* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides* foram inoculados, não foi observada nenhuma ação patogênica. *Fusarium solani*, quando inoculado, por pulverização, na parte aérea, causou murcha em 10% das plântulas. *Pestalotiopsis* sp. causou manchas foliares diminutas de coloração branco acinzentado em 6% das plântulas. Em estudos sobre a patogenicidade de fungos em plântulas de angico vermelho e de outras espécies florestais no município de Viçosa, estado de Minas Gerais, Mesquita et al., (2002) constatou que todas amostras analisadas apresentaram *Fusarium solani* e quando inoculado na parte aérea das plântulas causaram murcha seguida de morte. Resultados semelhantes também foram observados por Homechin et al. (1986) em sementes de *Pinus* sp.. Lasca et al. (1971), citando outros autores, reportaram que espécies do gênero *Pestalotiopsis* causaram seca de ponteiros e morte de mudas de diversas espécies de *Pinus*.

Transmissão dos fungos associados às sementes de sabiá

Do lote avaliado (100 sementes), 82 sementes emergiram e não apresentaram sintomas de doenças, indicando que os fungos presentes nas sementes avaliadas não foram transmitidos para as plântulas. As sementes que não germinaram, quando

Tabela 1 – Porcentagem de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) detectados pelo método de papel de filtro.

Fungos	Sementes desinfestadas	Sementes não desinfestadas
<i>Fusarium solani</i>	27,5%	28,5%
<i>Phomopsis</i> sp.	14,0%	4,5%
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	9,0%	6,0%
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	5,0%	9,5%
<i>Aspergillus</i> sp.	0,5%	4,0%

plaqueadas em meio BDA apresentaram a incidência dos fungos *Pestalotiopsis* sp., 8,5%; *Colletotrichum gloeosporioides*, 0,5%; *Fusarium solani*, 7,5% e *Phomopsis* sp., 1,5%; sugerindo que a presença destes fungos nas sementes pode estar diretamente relacionada à diminuição da taxa de germinação de sabiá.

Nas plântulas sadias, quando seccionadas e plaqueadas em meio BDA, não foi detectado nenhum patógeno latente.

Conclusões

Este foi o primeiro relato dos fungos *Aspergillus* spp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani*, *Pestalotiopsis* sp. e *Phomopsis* sp. em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth).

Fusarium solani apresentou maior incidência, independente da desinfestação das sementes de sabiá e, quando inoculado por pulverização, causou murcha em plântulas.

Comprovou-se a patogenicidade de *Fusarium solani* e *Pestalotiopsis* sp. em plântulas de sabiá.

Não houve transmissão para as plântulas dos fungos detectados nas sementes de sabiá.

Referências Bibliográficas

- CARNEIRO, J. S. Micoflora associada à sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, n.3, p.557-66, 1986.
- CARNEIRO, J. S. Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paraopeba – MG. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, n.1, p.75-7, 1990.
- HOMECHIN, M., PIZZANATO, M. A., MENTEN, J. O. M. M. Sanidade de sementes de *Pinus elliotti* var. *elliotti* e *Pinus taeda* e patogenicidade de *Fusarium oxysporum* em plântulas de *Pinus elliotti* var. *elliotti*. **Summa Plytopathologica**, v.12, n.12, p.102-12, 1986.
- LEAL JÚNIOR, G., SILVA, J. A., CAMPELLO, R. C. B. Proposta de manejo florestal sustentado do sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). Crato (CE): IBAMA, 1999. 15p. (Boletim Técnico n.3).
- LASCA, C. C., SAMPAIO, A. S., CINTRA, A. F. Condições fitossanitárias de sementes importadas de *Pinus* spp. **O Biológico**, v.37, n.11, p.287-92, 1971.
- MENDES, S. S., SANTOS, P. R., MESQUITA, J. B., LEAL, E. C. Levantamento da micobiota associada às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Minas Gerais: Resumos e Palestras. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. p.66.
- MESQUITA, J. B., MATHEUS, B. N., SANTANA, G. C. Levantamento da micobiota associada às sementes de angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* Benth.), copaiba (*Copaifera langsdorffii* Benth.) e jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* Fr. All.). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Minas Gerais: Resumos e Palestras. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. p.65.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mac Millan, 1979. v.1, 839p.
- SALES, N. L. P. **Efeito da população fúngica e do tratamento químico no desempenho de sementes de ipê amarelo, ipê roxo e barbatimão**. 1992. 89 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.