

Nota Científica

Levantamento de Fungos em Sementes de Cedro e Avaliação da Patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp.

Sílvia Cristina Benetti⁽¹⁾, Álvaro Figueredo dos Santos⁽²⁾, Antonio Carlos de Souza Medeiros⁽³⁾; David de Souza Jaccoud Filho⁽⁴⁾

⁽¹⁾Faculdades Integradas 'Espírita', Rua Tobias de Macedo Júnior, 333, Santo Inácio, CEP 82010-340, Curitiba-PR; ⁽²⁾Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 834111-000, Colombo-PR, E-mail: alvaro@cnpf.embrapa.br; ⁽³⁾Rua Jaime Balão, 444, casa 2, Hugo Lange, CEP 80040-340, Curitiba-PR, E-mail: antonio_c_medeiros@yahoo.com; ⁽⁴⁾Universidade Estadual de Ponta Grossa, Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Avenida Carlos Cavalcanti, 4748, Uvaranas, CEP 84030-900, Ponta Grossa-PR, E-mail: dj1002@brturbo.com.br

Resumo - Este trabalho teve por objetivos avaliar fungos em sementes de cedro e testar a patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. Para detecção de fungos, foram utilizados batata-dextrose-ágar e papel filtro. Para o teste de patogenicidade, utilizaram-se isolados de *Fusarium* sp. e de *Pestalotia* sp. Foi constatada a presença dos seguintes fungos nas sementes: *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Macrophomina* sp. e *Cladosporium* sp. Os fungos de maior frequência foram: *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp. e *Pestalotia* sp. Observou-se decréscimo nos valores de emergência das plântulas oriundas das sementes inoculadas com *Fusarium* sp.

Termos para indexação: Sementes florestais, *Cedrella fissilis*.

Fungi Association with Cedar's Seeds and *Fusarium* sp. and *Pestalotia* sp. Pathogenicities

Abstract - This research had as main objectives the evaluation of cedar's seeds seed-borne fungi and the *Fusarium* sp. and *Pestalotia* sp. pathogenicities. For the fungi detection Potato Dextrose and Agar medium and Blotter test methods were used. For the pathogenicity tests, isolates of *Fusarium* sp. and *Pestalotia* sp. were used. The following fungi were observed: *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Macrophomina* sp. and *Cladosporium* sp. The fungi observed in the highest frequencies were: *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp. and *Pestalotia* sp. A reduction of the germination level was observed in seedlings from cedar's seed inoculated with *Fusarium* sp.

Index terms: Forest seed, *Cedrella fissilis*.

O cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), Meliaceae, destaca-se dentre as madeiras leves pelo seu uso diversificado. A madeira de cedro é particularmente indicada para construção civil, na confecção de venezianas, rodapés, guarnições, forros, caixilhos, janelas e lambris. Em construção naval, é usada em acabamentos internos decorativos e em casco de embarcações leves; também é utilizado em partes internas de móveis finos, folhas faqueadas decorativas, contraplacados, embalagens decorativas, molduras para quadros, modelos de fundição, obras de entalhe, artigos de escritório, instrumentos musicais e cabos de vassoura (CARVALHO, 2003). Face à alta qualidade e o alto valor comercial de sua

madeira, torna-se o alvo do extrativismo e da exploração indiscriminada ainda nos dias atuais, acarretando em derrubadas desproporcionais nas formações vegetais onde ocorre naturalmente.

Atualmente, cresce a procura por sementes de cedro para reflorestamentos, entretanto, a sua disponibilidade é baixa, e se desconhece a sua qualidade sanitária. Este trabalho teve por objetivo identificar os fungos associados às sementes de cedro oriundas de diferentes locais e anos de coleta e avaliar a patogenicidade de alguns fungos isolados das sementes.

As sementes de cedro foram coletadas de árvores matrizes em diferentes locais e anos de coleta, conforme

segue: anos de 2001 e 2003 (amostra oriunda de uma mistura de sementes coletadas em vários locais do Estado do Paraná); ano de 2004 (coletas realizadas nos municípios de Bocaiúva do Sul, Borda do Campo, Colombo, Tunas, no Estado do Paraná, e Chapecó, Estado de Santa Catarina); e 2006 (Piracicaba, São Paulo). Para a detecção de fungos, foram utilizados os métodos de plaqueamento em meio batata-dextrose-ágar (BDA) e do papel de filtro (PF). Em BDA, utilizaram-se amostras de 200 sementes por lote, desinfestadas com hipoclorito de sódio 1 % por 1 minuto, distribuídas em placas de Petri contendo meio BDA, sendo cinco sementes por placa e quatro repetições. Em PF, utilizaram-se amostras de 400 sementes por lote, não desinfestadas, distribuídas em caixas plásticas do tipo gerbox para germinação de sementes, previamente desinfestados com hipoclorito de sódio 1 %. Em cada gerbox foram colocadas duas folhas de papel de filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada. Sobre estas, foram distribuídas 20 sementes em quatro repetições. O material foi incubado a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, com alternância de 12 h de luz negra e 12 h em escuro. Após sete dias, avaliou-se a incidência de fungos (%).

Para os testes de patogenicidade, foram realizados três ensaios e utilizados quatro isolados de *Fusarium* sp. e um de *Pestalotia* sp. oriundos das sementes de cedro. No primeiro ensaio, avaliou-se o isolado F1 de *Fusarium* sp. (F1) cultivado em BDA por sete dias, em ambiente de laboratório. Em seguida, foram adicionados 20 ml de água destilada e esterilizada por placa de Petri com concentração ajustada para $1,34 \times 10^7$ conídios/mL. No segundo ensaio, testaram-se os isolados F2, F3 e F4 de *Fusarium* sp. na mesma concentração anterior. No terceiro, avaliou-se o isolado P1 de *Pestalotia* sp., empregando-se a mesma metodologia e a concentração ajustada para $1,37 \times 10^6$ conídios/mL.

Na inoculação as sementes, previamente desinfestadas com álcool 70 % e hipoclorito de sódio 1 % e lavadas em água destilada e esterilizada, foram imersas na suspensão de conídios. Utilizou-se 50 sementes por tratamento. A testemunha consistiu de sementes desinfestadas e imersas em água destilada e esterilizada.

A semeadura foi feita em bandeja contendo vermiculita esterilizada e a percentagem de plântulas emergidas foi

avaliada semanalmente.

Os testes de detecção em PF e BDA constataram os seguintes fungos considerados potencialmente fitopatogênicos: *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Macrophomina* sp., *Pestalotia* sp. e *Cladosporium* sp. (Tabela 1).

As sementes do lote formado pela coleta feita em 2001 apresentaram maior frequência de *Fusarium* sp. (7,2 %), comparativamente à *Pestalotia* sp. (0,2 %). As sementes do lote formado pela coleta em 2003, apresentaram os fungos *Pestalotia* sp. (8 %) e *Phomopsis* sp. (7 %) como os mais frequentes (Tabela 1), além do *Fusarium* sp. (0,5 %).

Os lotes de sementes submetidos a períodos curtos de armazenamento que foram coletados em 2004 e 2006 nas procedências Bocaiúva do Sul, Borda do Campo, Colombo, Tunas (PR), Chapecó (SC) e Piracicaba (SP), apresentaram os fungos *Phomopsis* sp. e *Pestalotia* sp. mais frequentes. A incidência de *Phomopsis* sp. variou de 0,2 % a 20 %, em PF e BDA, enquanto que *Pestalotia* sp. variou de 0,2 % a 32 %. O fungo *Phomopsis* sp. foi encontrado em 11 das 12 amostras analisadas e *Pestalotia* sp. em todas as amostras.

Há falta de informações na literatura sobre a associação de fungos com sementes de cedro, embora vários fungos tenham sido encontrados em sementes desta espécie por Ruiz Filho et al. (2004), dos quais *Phomopsis* sp. foi o mais frequente. Moura et al. (2004) verificaram também valores elevados para *Phomopsis* sp. em sementes de cedro. Neste trabalho, o fungo *Phomopsis* sp. foi encontrado com incidência máxima de 20 %, no entanto, desconhecem-se os relatos da patogenicidade do gênero *Phomopsis* em sementes e mudas de cedro. Enquanto que Santos et al. (1997) verificaram que *Phomopsis* sp. inoculado em sementes de baru (*Dipteryx alata*) causou a redução de germinação e a presença de sintomas em plântulas.

O fungo *Colletotrichum* sp. foi encontrado em duas amostras com incidência variando de 0,7 % a 3 %, enquanto *Macrophomina* sp. foi encontrado em quatro amostras também com baixos valores. Por outro lado, os fungos *Cladosporium* sp. e *Fusarium* spp. foram encontrados em sete do total de amostras analisadas. Ruiz Filho et al. (2004) também constataram estes fungos em sementes de cedro, e Moura et al. (2004) encontraram *Cladosporium* sp. e *Fusarium* spp. em sementes de cedro coletadas na região de Lavras, MG.

Tabela 1. Incidência (%) de fungos em sementes de cedro oriundas de diferentes locais e coletadas nos anos de 2001, 2003, 2004 e 2006.

Fungos	PF											
	2001		2003		2004						2006	
	M	M1	BS	BC	C1	C2	C3	C4	T1	T2	SC	SP
<i>Penicillium</i> sp.	1	0,2	0,2	11,5	0	0	0	0	0	0,2	2,5	21
<i>Chaetomium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus</i> sp.	0,5	0	2,7	5,5	0	0	0	0	0	0	7	17
<i>Pestalotia</i> sp.	0,2	8,0	3,0	9,2	0	0,2	4,2	3,2	6,5	1,7	1,5	32
<i>Rhizopus</i> sp.	1,0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0,5	0,7	24
<i>Fusarium</i> sp.	7,2	0,5	0	0	0	0,5	0	0	0	0,7	0	0
<i>Phomopsis</i> sp.	0	7	0,2	6,2	0,2	0,2	6,3	4	3,5	4	0,5	14
<i>Colletotrichum</i> sp.	0	0,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Macrophomina</i> sp.	0	0,5	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0
<i>Trichothecium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Epicoccum</i> sp.	0	0	0	0,7	0	0	0	0	0	0,5	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	0

Fungos	BDA											
	2001		2003		2004						2006	
	M	M1	BS	BC	C1	C2	C3	C4	T1	T2	SC	SP
<i>Penicillium</i> sp.	1	0,5	11	3	0	0	0	0	0	2	2	15
<i>Chaetomium</i> sp.	1,5	0	19	0	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0
<i>Aspergillus</i> sp.	0,5	0	5,0	7,5	0,5	0	0	0	0	0,5	0,5	6
<i>Pestalotia</i> sp.	0,5	4	2	2	10	0	6,5	7	13,5	2,5	0	0
<i>Rhizopus</i> sp.	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0
<i>Phomopsis</i> sp.	0	4	8	5	16,5	17	13	16,5	20	7,5	2	20
<i>Colletotrichum</i> sp.	0	2,5	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Macrophomina</i> sp.	0	0,5	0	0	1,5	0	0	0,5	0,5	0	0	0
<i>Trichothecium</i> sp.	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,5	0	0
<i>Epicoccum</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anos 2001 e 2003: M e M1 – sementes misturadas; Ano 2004: BS – Bocaiúva do Sul; BC – Borda do Campo; C1 – Colombo; C2 – Colombo; C3 – Colombo; C4 – Colombo; T1 – Tunas; T2 – Tunas, Paraná; e SC – Chapecó, Santa Catarina; Ano 2006: Piracicaba, São Paulo.

Os fungos *Chaetomium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Trichothecium* sp. e *Epicoccum* sp. foram encontrados em algumas amostras em frequências baixas, exceto para *Penicillium* sp., que foi observado com valores de até 11,5 % (Tabela 1). Vários desses fungos foram detectados também em sementes de cedro por Cherobini et al. (2004). Deve-se ter cuidado com estes fungos durante o armazenamento, pois podem favorecer a deterioração das sementes (MACHADO, 1988).

Os substratos PF e BDA foram eficientes na recuperação dos fungos das sementes de cedro (Tabela 2), confirmando o relato de Ruiz Filho et al (2004). Moura et al. (2004) e Cherobini et al. (2004) verificaram também uma boa recuperação de fungos das sementes de cedro com o uso de PF.

Tabela 2. Número de amostras de cedro em que houve ocorrência de fungos em papel filtro (PF) e batata-dextrose-ágar (BDA), número de amostras em que houve coincidência na recuperação dos fungos nos substratos e incidência média (%) de fungos.

Fungos	Ocorrência ¹		Coincidência ²	Incidência Média ¹ (%)	
	Papel de Filtro	BDA		Papel de Filtro	BDA
<i>Penicillium</i> sp.	7	7	7	5,2	4,9
<i>Chaetomium</i> sp.	0	4	0	0	5,3
<i>Aspergillus</i> sp.	5	7	5	6,5	2,9
<i>Pestalotia</i> sp.	11	9	8	6,3	5,3
<i>Rhizopus</i> sp.	5	1	1	5,3	0,5
<i>Fusarium</i> sp.	4	2	0	4,2	0,5
<i>Phomopsis</i> sp.	11	11	11	4,2	11,7
<i>Colletotrichum</i> sp.	1	2	1	0,7	1,5
<i>Macrophomina</i> sp.	2	4	2	0,4	0,75
<i>Trichothecium</i> sp.	0	2	0	0	0,75
<i>Epicoccum</i> sp.	2	0	0	0,6	0
<i>Cladosporim</i> sp.	1	0	0	0,2	0
Média				3,3	3,4
Desvio padrão				2,5	3,5

¹Número de amostras avaliadas: 12; ²Número de vezes em que houve coincidência na recuperação dos fungos entre os dois métodos.

Observou-se decréscimo na emergência das plântulas oriundas das sementes inoculadas com os isolados de *Fusarium* sp. – F2, F3 e F4 – (Tabela 3), obtendo-se 22,5 %, 20 % e 22,5 % de plântulas emergidas para os tratamentos inoculados, respectivamente, e 52,5 % para a testemunha, aos 50 dias após a emergência. Desconhecem-se relatos anteriores da ação patogênica do gênero *Fusarium* em sementes de cedro. A microflora fúngica presente nas sementes de espécies florestais

nativas, externa ou internamente, tem recebido pouca atenção (CARNEIRO, 1986; CARVALHO; MUCHOVEJ, 1991, RUIZ FILHO et al., 2004; SANTOS et al., 1997); embora, como demonstrado neste trabalho, a contaminação de sementes por fungos pode reduzir sua germinação. Nos ensaios 1 e 3 não se verificou diferença na emergência das plântulas oriundas das sementes de cedro inoculadas e não inoculadas (Tabela 3).

Tabela 3. Percentagem de emergência em função da inoculação de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. em sementes de Cedro sobre a emergência das plântulas.

	Dias após a semeadura						
	7	14	21	28	35	43	50
Ensaio 1							
<i>Fusarium</i> sp. (F1)	0	0	28	68	74	74	(-)
Testemunha	0	2	52	72	74	74	(-)
Ensaio 2							
<i>Fusarium</i> sp. (F2)	0	0	17,5	21,3	22,5	22,5	22,5
<i>Fusarium</i> sp. (F3)	0	0	16,3	18,8	18,8	18,8	20
<i>Fusarium</i> sp. (F4)	0	0	20	22,5	22,5	22,5	22,5
Testemunha	0	11,3	50	52,5	52,5	52,5	52,5
Ensaio 3							
<i>Pestalotia</i> sp.	0	0	36	60	60	60	(-)
Testemunha	0	4	58	78	78	78	(-)

(-) não avaliado.

Este trabalho amplia a lista de fungos já relatados em sementes de cedro. Além disso, os resultados mostram a associação patogênica de *Fusarium* sp. Estes fatos evidenciam que a baixa qualidade das mudas de certas espécies florestais nativas pode estar relacionada à qualidade sanitária duvidosa das suas sementes, havendo necessidade de detecção e controle dos patógenos em sementes dessas espécies.

Referências

- CARNEIRO, J. S. Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 3, p. 557-566, 1986.
- CARVALHO, P. E. R. Cedro: *Cedrella fissilis*. In: CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. v.1 p. 385-393. (Coleção espécies arbóreas brasileiras, v.1).
- CARVALHO, W. L. DE; MUCHOVEJ, J. J. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 15, n. 2, p.173-178, 1991.
- CHEROBINI, E. A. I.; MUNIZ, M. F. B.; HOPPE, J. M.; CAMARGO, R. F. Análise da qualidade sanitária de sementes de cedro (*Cedrella fissilis*) coletadas no sul do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, Supl., p. 230, 2004.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC / ESAL / FAEPE, 1988. p. 106.
- MOURA, A. O.; SANTOS, D. M.; MENDES, S. S.; FRANCO FILHO, E.; MESQUITA, J. B. Análise patológica em sementes de cedro (*Cedrella fissilis* Vell.) armazenadas durante um ano em câmara fria. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8., 2004, João Pessoa. **Simpósio...**, 2004. p. 194.
- RUIZ FILHO, R. R.; SANTOS, A. F. dos; MEDEIROS, A. C. S.; JACCOUD FILHO, D. S. Fungos associados às sementes de cedro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 4, p. 494-496, 2004.
- SANTOS, M. de F.; RIBEIRO, W. R. C.; FAIAD, M. G. R.; SANO, S. M. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 135-139, 1997.

Recebido em 17 de novembro de 2008 e aprovado em 28 de maio de 2009

