

DESINFESTAÇÃO E QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Acacia mearnsii* DE WILD**DESINFESTATION AND BREAK OF DORMANCY OF SEEDS OF *Acacia mearnsii* DE WILD**Maisa Pimentel Martins-Corder¹ Norton Borges Junior²**RESUMO**

A dormência e a presença de microrganismos são importantes fatores que podem reduzir o vigor germinativo de sementes de *Acacia mearnsii*. A presença de fungos e bactérias junto às sementes empregadas em testes de laboratório podem fornecer explantes contaminados quando utilizados nas culturas *in vitro*. Assim, os objetivos do presente estudo foram determinar uma metodologia adequada para a quebra de dormência de sementes da acácia-negra e indicar um método eficiente para desinfestação das sementes. Sementes de acácia negra foram autoclavadas durante diferentes períodos: 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos. As testemunhas usadas sofreram quebra de dormência com água quente (80°C) por três minutos, e foram tratadas com: fungicida Benomyl, produto comercial Hipoclorito de sodio e/ou álcool a 70%. O ensaio foi conduzido em sala de incubação com temperatura de 25°C (± 3) e fotoperíodo de 12 horas de luz fluorescente. Os resultados mostraram que a autoclavagem das sementes durante 20 e 25 minutos foram suficientes para quebrar a dormência e simultaneamente, promover a desinfestação de sementes de acácia-negra. Períodos de autoclavagem inferiores a 20 minutos, não foram eficientes na desinfestação de sementes de acácia-negra, embora tivessem propiciado elevados percentuais de germinação. A exposição de sementes à autoclavagem, por 30 minutos, promoveu a desinfestação das sementes, porém levou o embrião à morte.

Palavras-chave: quebra de dormência, desinfestação, sementes, *Acacia*..

ABSTRACT

Seed dormancy and the presence microrganism are important factors that can reduce the germinative vigorousness of seeds of *Acacia mearnsii*. The presence of fungi and bacteria in the seeds used in laboratory tests can infest explantes used in micropropagation. The objectives of the present study were to determine a methodology the break tho dormency of the seeds of the *Acacia mearnsii*, and desinfest the seeds. Seeds of *Acacia mearnsii* were autoclaved for: 5, 10, 15, 20, 25 or 30 minutes. The control was treated with hot water (80°C) for three minutes with: Benlate at 6%, hypochloride sodium at 10% and or alcohol at 70%. The assay was

1. Engenheira Florestal, Dr^a., Professora Adjunto do Departamento de Ciências Florestais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP: 97105-900, Santa Maria. (RS).

2. Acadêmico do Curso de Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP: 97105-900, Santa Maria. (RS).

conducted in an incubation room at 25°C (± 3) and 12 hours with fluorescent light. Autoclaving of the seeds for 20 and 25 minutes were enough to break the seeds dormancy and simultaneously, to promote the black-wattle desinfestation. Periods inferior to 20 minutes were not efficient in the desinfestation of the seeds, although they have promoted high rote of seeds germination. The seeds exposition to the autoclaving for 30 minutes has promoted the seeds desinfestation, but it also killed the embryo.

Key words: dormancy break, desinfestation, seeds, Acacia.

INTRODUÇÃO

As sementes de acácia negra apresentam dormência tegumentar, sendo impermeáveis à entrada de água, característica típica das espécies do gênero *Acacia* (HARTMANN & KESTER, 1978).

A exposição de sementes que apresentam dormência tegumentar a temperaturas elevadas é um meio eficiente para promover a sua germinação (HARTMANN & KESTER 1978). A imersão das sementes em água quente tem sido usada para promover a germinação de *Acacia mangium* (SILVA & SILVA, 1993; LIMA & GARCIA, 1996), *Acacia senegal* (TORRES & SANTOS, 1994) e *Acacia mearnsii* (RECH *et al.*, 1980; BIANCHETTI & RAMOS, 1982).

Além da dormência, outro fator que pode reduzir o vigor germinativo das sementes, além de promover a formação de plântulas anormais ou sua morte, é a presença de microrganismos, dentre os quais fungos e bactérias são os mais comuns (HEYDECKER, 1972; HARTMANN & KESTER, 1978; PATRICIO *et al.* 1995). Tratamento de sementes com o emprego de água quente (52°C por 20 minutos), normalmente não eliminaram as infestações causadas por bactérias, porém reduziram consideravelmente o número de sementes infectadas (AGRIOS, 1997).

A presença de patógenos junto a sementes utilizadas em testes de laboratório podem fornecer explantes contaminados quando utilizados na micropropagação. Para desinfestação das sementes foram indicados o hipoclorito de cálcio (HARTMANN & KESTER, 1978) e o Hipoclorito de sódio (AGRIOS, 1997; FAIAD *et al.*, 1997) como eficientes produtos para eliminação de fungos e bactérias. A utilização de fungicidas como Benomyl (HEYDECKER, 1972; SOAVE & WETZEEL, 1987), Captan em uso individual ou em conjunto com Benomyl (HEYDECKER, 1972; SOAVE & WETZEEL, 1987; CASTELLANI, 1996) e Rhoudiauran (CASTELLANI, 1996) têm apresentado resultados satisfatórios, promovendo um expressivo aumento no total de plântulas germinadas a partir de sementes previamente tratadas. Temperaturas elevadas são importantes meios para a quebra de dormência tegumentar e, concomitantemente, podem promover a desinfestação de materiais contaminados com fungos e/ou bactérias.

Desse modo, o presente estudo teve como objetivo determinar o período de tempo ideal para a desinfestação e, ao mesmo tempo, para promover a quebra de dormência de sementes de acácia-negra, visando fornecer fontes de explantes para a técnica de micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes utilizadas provieram de uma população localizada no município de Butiá (RS) pertencente à Empresa Agroseta S.A..

Os tratamentos empregados foram sementes autoclavadas por: (i) 5 minutos; (ii) 10 minutos; (iii) 15 minutos; (iv) 20 minutos; (v) 25 minutos; (vi) 30 minutos. Esses tratamentos foram comparados com três testemunhas: (i) sementes imersas em água quente (80°C) por 3 minutos, e tratadas com hipoclorito de sódio (comercial) a 10% por 10 minutos, seguido de imersão em Benomyl 0,6 g/l por 10 minutos (T1); (ii) sementes imersas em água quente (80°C) por 3 minutos, e tratadas com hipoclorito de sódio (comercial) a 10% por 10 minutos, após imersão em álcool 70% por 40 segundos, seguido de três lavagens com água destilada (T2); (iii) sementes imersas em água quente (80°C) por 3 minutos, e em hipoclorito de sódio (comercial) a 10%, por 30 minutos, após imersão em álcool 70%, por 40 segundos, seguido de três lavagens (T3). A temperatura média de autoclavagem das sementes foi de 100°C, em autoclave hospitalar, modelo 140.

Foram utilizados tubos de ensaio, contendo meio de água e ágar, a 12%, e em cada tubo de ensaio adicionou-se uma semente. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições por tratamento.

A incubação das sementes foi a temperatura de 25°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) e em fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente. As avaliações foram tomadas aos 21 dias, após a semeadura, conforme as RAS (BRASIL, 1992). Os critérios utilizados na avaliação foram percentagem de: sementes germinadas, plântulas normais e anormais, sementes contaminadas, e de sementes que não germinaram. Considerou-se com plântula normal aquela que apresentava todas as estruturas essenciais como: radícula, caulículo, cotilédones e primeiros folíolos, com boa formação, podendo serem utilizadas como fonte de explante. Os dados foram transformados por meio da fórmula $\text{sen}\sqrt{\%}$.

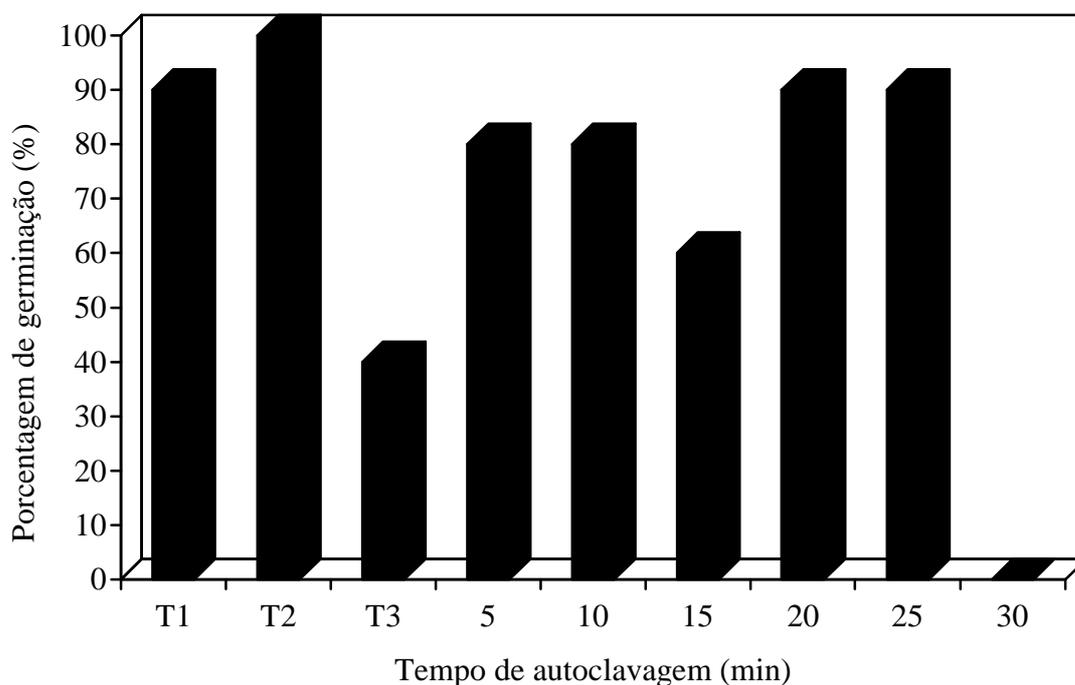
O ensaio foi repetido duas vezes no tempo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a maioria dos tratamentos (períodos de autoclavagem) apresentou elevados índices de sementes germinadas, com exceção, apenas, do tratamento em que as sementes foram submetidas à autoclavagem por 30 minutos. Dessa forma, tanto a imersão das sementes em água quente (80°C) por 3 minutos (que é o método mais freqüentemente empregado) quanto a autoclavagem das sementes por períodos de 5 a 25 minutos permitem a quebra de dormência de sementes de acácia-negra.

Os resultados relativos a percentuais totais de plântulas germinadas foram ilustrados na Figura 1. Observou-se que a exposição de sementes à autoclavagem durante 20 e 25 minutos promoveu uma germinação de 90%. A exposição de sementes a tempos de autoclavagem inferiores, promoveu um percentual de germinação reduzido. Dentre as três testemunhas, a T2 (testemunha 2

refere-se à imersão de sementes em água quente a 80°C por 3 minutos, e tratados com hipoclorito de sódio comercial a 10% por 10 minutos, após imersão em álcool 70% por 40 segundos, seguido de três lavagens com água destilada) apresentou 100% de sementes germinadas. A autoclavagem das sementes por 30 minutos promoveu a morte do embrião o que foi manifestado pela ausência de emissão de radícula.



Onde: T1 = Testemunha 1: refere-se à imersão das sementes em água quente por, 3 minutos, seguido de desinfestação com Benomyl, a 6%, por 10 minutos e hipoclorito de sódio comercial, a 10%, por 10 minutos; T2 = Testemunha 2: refere-se à imersão das sementes em água quente, por 3 minutos, seguido de desinfestação com hipoclorito de sódio, a 10%, por 10 minutos e álcool 70%, por 40 segundos; e T3 = Testemunha 3: refere-se à imersão das sementes em água quente, por 3 minutos, seguido de desinfestação com hipoclorito de sódio comercial, a 10%, por 30 minutos e álcool 70%, por 40 segundos.

FIGURA 1: Porcentagem de sementes germinadas, aos 21 dias, em diversos períodos de autoclavagem.

Dentre as sementes que germinaram, verificou-se a presença de plântulas normais e anormais (Tabela 1). A maioria das plântulas anormais surgiu principalmente em virtude da ação de agentes patogênicos que impediram seu desenvolvimento. As sementes contaminadas não germinaram em nenhuma circunstância (Tabela 1). Constatou-se que a autoclavagem de sementes, por 20 minutos, apresentou ausência de plântulas anormais e de sementes contaminadas. Na autoclavagem por 25 minutos, verificou-se que houve 20% de plântulas anormais, porém as sementes não mostraram qualquer contaminação. Esses dois tratamentos foram os mais eficientes em

promover a quebra de dormência e, simultaneamente, em promover a desinfestação de sementes de acácia-negra. A partir de 25 minutos de autoclavagem ocorreu a morte de 100% dos embriões das sementes.

Podemos notar na Tabela 1 que a T2 (testemunha 2 refere-se à imersão de sementes em água quente a 80°C por 3 minutos, e tratados com hipoclorito de sódio comercial a 10% por 10 minutos, após imersão em álcool 70% por 40 segundos, seguido de três lavagens com água destilada) apresentou 100% de germinação porém, 50% dessas plântulas se mostraram anormais.

TABELA 1: Percentuais de plântulas normais, anormais, sementes contaminadas e sementes não-germinadas de acácia negra, após 21 dias.

Tratamentos	Plântulas normais	Plântulas anormais	Sementes contaminadas	Sementes não-germinadas
Testemunha 1 (T1)*	70 ab**	20 ab	10 ab	0 a
Testemunha 2 (T2)	50 bc	50 c	0 a	0 a
Testemunha 3 (T3)	20 cd	20 ab	60 c	0 a
Autoclavagem por 5 minutos	60 abc	20 ab	20 ab	0 a
Autoclavagem por 10 minutos	70 ab	10 a	20 ab	0 a
Autoclavagem por 15 minutos	30 bcd	30 bc	30 b	10 a
Autoclavagem por 20 minutos	90 a	0 a	0 a	10 a
Autoclavagem por 25 minutos	70 ab	20 ab	0 a	10 a
Autoclavagem por 30 minutos	0 d	0 a	0 a	100 b

Onde: T1 = Testemunha 1: refere-se à imersão das sementes em água quente por, 3 minutos, seguido de desinfestação com Benomyl, a 6%, por 10 minutos e Hipoclorito de sódio comercial, a 10%, por 10 minutos; T2 = Testemunha 2: refere-se à imersão das sementes em água quente, por 3 minutos, seguido de desinfestação com Hipoclorito de sódio, a 10%, por 10 minutos e álcool 70%, por 40 segundos; e T3 = Testemunha 3: refere-se à imersão das sementes em água quente, por 3 minutos, seguido de desinfestação com Hipoclorito de sódio comercial, a 10%, por 30 minutos e álcool 70%, por 40 segundos. Médias seguidas por letras diferentes, na vertical, diferem entre si, pelos testes de Duncan a 5% de probabilidade.

A presença de fungos e bactérias junto às sementes deve ter sido a principal causa da ausência de sua germinação. Conforme MAUDE (1972), os fungos patogênicos de solo, as bactérias e os vírus são freqüentemente os principais agentes causadores de doenças em plântulas, quando estão em associações com as sementes. De acordo com FAIAD *et al.* (1997), os fungos associados às sementes podem deteriorá-las e ocasionar sua morte. Esses autores consideram ainda que os testes de germinação e a formação de mudas podem ficar comprometidos por causa da ação de agentes patogênicos conduzidos pelas sementes. Freqüentemente, os fungos encontrados sobre as sementes desenvolvem-se rapidamente, por meio de uma elevada velocidade de crescimento micelial e de esporulação (FERREIRA, 1989). A contaminação das sementes de essências florestais ocorre predominantemente no solo onde os frutos e sementes podem ser colonizados por diversos gêneros de fungos, tais como: *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Cylindrocladium*, dentre outros, comentou o autor.

Convém ressaltar que a importância da autoclavagem de sementes de acácia-negra, deve ser considerada não somente com a finalidade de utilização dos explantes para a técnica de culturas de tecidos. Como as sementes ainda são coletadas no chão, após a deiscência das vagens, existe a

possibilidade de inóculo de diversos fungos patogênicos de solo se agregarem a elas. Assim, poderá ocorrer a transferência do patógeno da semente para a plântula. Certamente, que isso causará sérios prejuízos à acacicultura, pois pode propiciar o ataque de patógenos às plântulas produzidas em viveiro ou às mudas em desenvolvimento oriundas de plantios diretos, em condições de campo.

CONCLUSÕES

É possível adotar a autoclavagem de sementes por 20 e 25 minutos, como um método para ocasionar a quebra de dormência e, simultaneamente, para promover a desinfestação de sementes de acácia-negra. No entanto, períodos de autoclavagem superiores a 25 minutos ocasionaram a morte do embrião das sementes de acácia-negra.

BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS, G. N., **Plant pathology**, Academic Press, University of Florida, 1997, 635 p.
- BIANCHETTI, A., RAMOS, A. Comparação de tratamentos para superar a dormência de sementes de Acácia Negra (*Acacia mearnsii* de Wild), **Boletim de Pesquisa Florestal**, Curitiba, (4),. 1982. p.101-111.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, **Regras para análise de sementes**. Brasília, SNAD, DNDV, CLAV, 1992. 365p.
- CASTENALLI, E. D., SILVA, A., BARRETO, M. & AGUIAR, I. B., Influência do tratamento químico na população de fungos e na germinação de sementes de *Bauhinia variegata* L. VAR. *Variegata*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 18 (1): 41-44, 1996.
- FAIAD, M. G.R., SALOMÃO, A. N., CUNHA, R. & PADILHA, L. S., Efeito do hipoclorito de sódio sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 19 (1): 14-17, 1997.
- FERREIRA, F.A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa, Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.
- HARTMANN, H. T. & KESTER, D. E., **Propagación de planta: principios y prácticas**, Continental S.A., México, 1978. 810 p.
- HEYDECKER, W. **Seed ecology**, London: The Pennsylvania State University Press, 1972, 578 p.
- LIMA, D. & GARCIA, L. C., Avaliação de métodos para teste de germinação de sementes de *Acacia mangium* Willd. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 18 (2): 180-185, 1996.
- MAUDE, R.B. Seed-borne diseases and their control. In *Seed Ecology*. (Ed. Heydecker, W.) pp. 325-337, 1972.

- PATRICIO, F.R.A.; BORIN, R.B.R.G.; ORTOLANI, D.B. Patógenos associados a sementes que reduzem a germinação e vigor. In Patógenos em Sementes: Detecção, Danos e Controle Químico. (Ed. J.O.M. Menten) pp. 137-160, 1995.
- RECH, B., GONÇALVES, A., B. & FREITAS, A.,J. P.. Determinação de tratamentos pré-germinativos para sementes de acacia-negra (*Acacia mearnsii* de Wild). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 4, 1980, Nova Prata. **Anais....** Nova Prata: Prefeitura Municipal de Nova Prata. 300p. p. 71-75.
- SILVA, F. P. & SILVA, J. G., Quebra de dormência de sementes de *Acacia mangium*. In: 1º CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO e 7º CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 1993, Curitiba. **Anais....** [S.l.:s.n.], 396p. p. 300-302.
- SOAVE, J. & WETZEL, M. M. V. S., **Patologia de sementes**, Campinas, Fundação Cargill, 1987. 480p.
- TORRES, S. B. & SANTOS, D. S. B., Superação de dormência em sementes de *Acacia senegal* Willd. e *Parkinsonia aculeata* (L.) **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 16 (1): 54-57, 1994.