

Detecção de *Fusarium* spp. em sementes de *Pinus taeda*

Thaís Wendhausen Ramos da Silva¹
Álvaro Figueredo dos Santos²
Celso Garcia Auer³

A área plantada com pínus no Brasil é de 1.641.892 ha e está concentrada principalmente na região Sul do País, devido à localização dos principais centros processadores da madeira dessa espécie. A região Sul detém 83% da área de plantios florestais com pínus. O estado do Paraná lidera o ranking da área plantada, com 40,1% da área total, seguido por Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que possuem 32,8% e 10%, respectivamente (ANUÁRIO..., 2012).

O consumo de madeira em tora de pínus para uso industrial, considerando todos os segmentos, foi de 49,8 milhões de m³ no ano de 2011 (ANUÁRIO..., 2012).

A indústria madeireira foi o segmento de maior consumo de madeira em tora de pínus, com 54,78%, seguida dos segmentos de celulose e papel, com 16,27%, painéis de madeira industrializada, com 15,56%, e lenha industrial, com 12,81% (ANUÁRIO..., 2012).

Em decorrência da importância da produção de madeira de *P. taeda* para o setor florestal, a

demanda por mudas vem aumentando. Com isso, os problemas fitossanitários nos viveiros onde são produzidas as mudas têm sido ampliados. Portanto, o conhecimento fitossanitário das sementes torna-se importante para a formação de mudas de qualidade em viveiro. Estas mudas, caso não cuidadas devidamente, podem originar plântulas doentes ou disseminar microrganismos para áreas ainda não infestadas (CARNEIRO, 1986; SANTOS et al., 2011).

As principais doenças que ocorrem em viveiros de pínus são o tombamento de mudas e as podridões de raízes, que podem ser causados por diversos patógenos, como *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* spp., *Cylindrocladium* sp., *Phytophthora* sp. e *Pythium* sp. (AUER et al., 2001). O ataque destes patógenos ocorre durante as fases de germinação das sementes e de mudas.

Em trabalho realizado por Grigoletti Junior e Auer (2006), mudas de *P. taeda* inoculadas com *Fusarium* sp. apresentaram sintomas a partir dos 10 dias após a inoculação. Na parte aérea ocorreu redução do crescimento da muda e descoloração

¹Engenheira-agrônoma, Mestre, tharamos@hotmail.com

²Engenheiro-agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Florestas, alvaro.santos@embrapa.br

³Engenheiro florestal, Doutor, pesquisador da Embrapa Florestas, celso.auer@embrapa.br

das acículas para um tom verde amarelado. Em seguida, a parte apical da muda começou a secar e curvar-se para baixo, provocando murcha e, conseqüentemente, morte. No sistema radicular, ocorreu redução no desenvolvimento e necrose das raízes atacadas, quando comparadas com raízes de plantas saudáveis. As fontes primárias de inóculo desses patógenos podem ser o substrato, a água de irrigação, as instalações, os materiais contaminados (estufas, tubetes) e as sementes. Algumas pesquisas com patologia de sementes já relataram a associação de *Fusarium* spp. a sementes de *P. taeda* (LASCA et al., 1971; CARNEIRO, 1986; HOMECHIN, 1986).

A detecção de fungos associados às sementes pode ser feita por diferentes métodos, sendo o mais comum o método do papel filtro, mais conhecido como *blotter test*, do meio de cultura como ágar-ágar e batata-dextrose-ágar (BDA) e meios seletivos ou semiseletivos (NEERGAARD, 1979; SANTOS et al., 2011). Particularmente, para sementes de pínus, Anderson et al. (1984) e Anderson (1986), descrevem um protocolo de detecção para *Fusarium subglutinans* baseado nos métodos do papel cartão e um meio seletivo.

O presente trabalho teve como objetivo comparar três métodos quanto à eficiência na detecção de *Fusarium* spp. de sementes de *P. taeda*.

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Patologia Florestal e de Sementes Florestais da Embrapa Florestas, Colombo, Paraná.

As sementes utilizadas nos experimentos são provenientes de seis lotes de *P. taeda*, denominados lotes 1, 2, 3, 4, 5 e 11, pertencentes ao estoque do Laboratório de Sementes Florestais da Embrapa Florestas e coletados no município de Arapoti, PR.

Para a detecção de *Fusarium* spp. nas sementes foram utilizados três diferentes métodos: *blotter test* (BT), papel cartão (PC) e meio seletivo (MS). O protocolo de detecção de *Fusarium* spp. em sementes de pínus utilizado neste experimento foi baseado em trabalhos de Anderson et al. (1984), Anderson (1986) e Santos et al. (2011), com algumas modificações.

Blotter test (BT) - As sementes de *P. taeda* não desinfestadas foram esmagadas com auxílio de um

bastão de vidro esterilizado e colocadas em caixas gerbox, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1% e forradas com papel mata-borrão esterilizado e umedecido com água destilada esterilizada. As sementes foram incubadas a 20 °C, sob luz fluorescente, em fotofase de 12 h, por sete dias.

Papel Cartão (PC) - Foi preparado um caldo nutritivo composto de 15 g de peptona, 5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g de KH_2PO_4 , 1 g de pentacloronitrobenzeno (PCNB) em 1000 mL de água destilada. Esse caldo foi vertido sobre uma folha de papel cartão de cor azul e esterilizado em quantidade suficiente para saturar a folha de papel (ANDERSON, 1986). O papel cartão de cor azul, umedecido com o caldo nutritivo, foi colocado em caixas gerbox, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1%. As sementes de pínus não desinfestadas foram individualmente esmagadas sobre uma superfície de vidro esterilizado com um bastão esterilizado. Posteriormente, as sementes foram colocadas sobre o papel cartão umedecido com o caldo nutritivo. As caixas gerbox foram incubadas a 20 °C, sob luz fluorescente, em fotofase de 12 h, por 14 dias.

Meio Seletivo (MS) - Este método implica no uso de um meio seletivo para *Fusarium* spp., preparado com 15 g de peptona, 5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g de KH_2PO_4 , 1 g de PCNB e 20 g de ágar em 1000 mL de água destilada (ANDERSON, 1986). O meio foi suplementado com soluções de cloranfenicol (40 ppm) e ampicilina (40 ppm) antes de ser vertido em placas de Petri. As sementes de pínus não desinfestadas foram esmagadas com bastão esterilizado e colocadas sobre a superfície do meio seletivo. As placas de Petri foram incubadas a 20 °C, sob luz fluorescente, em fotofase de 12 h por 14 dias.

As avaliações dos três métodos foram realizadas observando-se as colônias fúngicas crescidas sobre as sementes com auxílio de microscópio estereoscópico e, quando necessário, foram preparadas lâminas para observação em microscópio óptico e identificação com auxílio da chave de Barnett e Hunter (1998).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo três tratamentos com quatro repetições cada, totalizando 100 sementes por tratamento.

Foram observadas colônias de *Fusarium* spp. em sementes de *P. taeda* a partir dos três métodos: BT, PC e MS. Os resultados da avaliação dos métodos de detecção encontram-se na Tabela 1 e Figura 1.

Na maioria dos seis lotes de sementes, o método MS foi superior aos demais na detecção de *Fusarium* spp., exceto no lote 2, cujos métodos não diferiram entre si. No lote 5, os métodos de PC e MS não diferiram entre si, no entanto, estes dois métodos foram superiores ao BT (Tabela 1).

Nos lotes 1 e 3, os métodos BT e PC não diferiram entre si na detecção *Fusarium* spp., sendo menos sensíveis do que o método MS. Entretanto, o mesmo não foi observado nos lotes 4 e 11, cujos três tratamentos diferiram entre si. No lote 4 foi observada a maior desigualdade entre os tratamentos, pois o método MS apresentou 94% de incidência de *Fusarium* spp. nas sementes, enquanto que os métodos BT e PC apresentaram incidência de 33% e 7%, respectivamente (Tabela 1).

Em geral, o MS foi o método que apresentou maior sensibilidade para a detecção de *Fusarium* spp. em todos os lotes de sementes de *Pinus taeda*, quando comparado aos outros métodos testados (BT e PC). Anderson (1986) comparou os métodos PC e MS em pinus, e obteve resultados similares na detecção de *Fusarium subglutinans* em três lotes de sementes com diferentes incidências deste patógeno. No entanto, neste trabalho verificou-se similaridade nos resultados de MS e PC em apenas dois lotes dos oito avaliados.

Fotos: Thaisa W. R. Silva

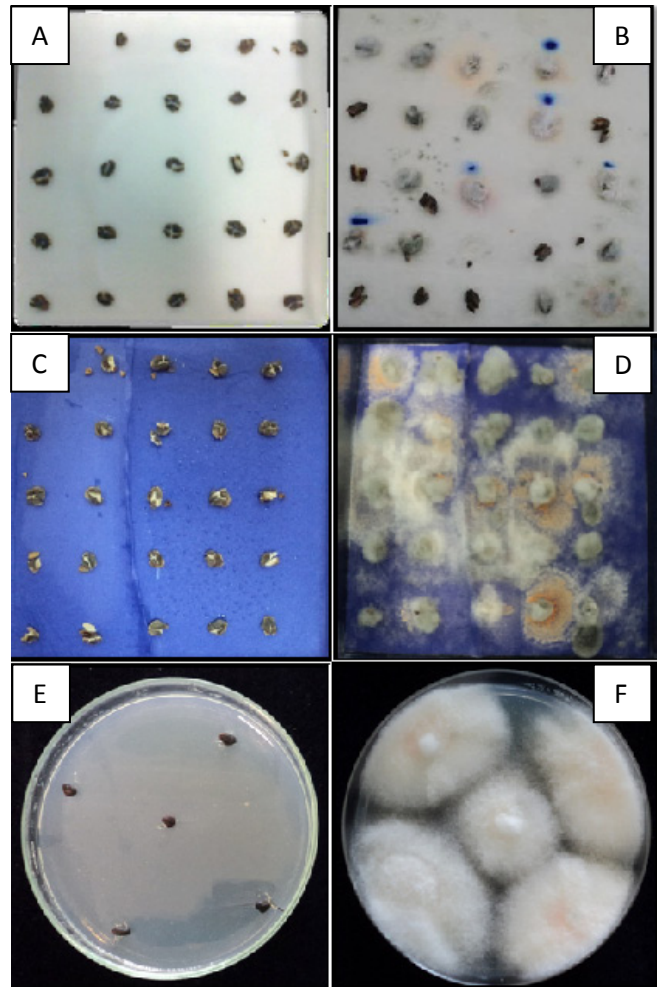


Figura 1. Métodos de detecção de *Fusarium* spp. em sementes de *Pinus taeda*. Fase de instalação: A) *Blotter test*; B) Papel cartão; C) Meio seletivo. Fase de avaliação: D) *Blotter test* (7 dias); E) Papel cartão (14 dias); F) Meio seletivo (14 dias).

Tabela 1. Incidência média (%) de *Fusarium* spp. em sementes de seis lotes de *Pinus taeda* detectados pelos métodos de *blotter test*, papel cartão e meio seletivo.

	Incidência média de <i>Fusarium</i> spp. (%)						
Tratamentos	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 11	Médias
<i>Blotter test</i>	13 B b	7 A bc	4 B c	33 B a	10 B bc	5 C c	12 B
Papel cartão	16 B bc	12 A cd	11 B cd	7 C d	30 A a	26 B a	17 B
Meio seletivo	67 A b	16 A e	34 A d	94 A a	39 A cd	48 A c	50 A

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Referências

ANUÁRIO Estatístico da ABRAF 2012: ano base 2011. Brasília, DF: ABRAF, 2012.

ANDERSON, R. L. A new method for assessing contamination of slash and loblolly pine seeds by *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, n. 5, p. 452-453, 1986.

ANDERSON, R. L.; BELCHER, E.; MILLER, T. Occurrence of seed fungi inside slash pine seeds produced in seed orchards in the United States. **Seed Science and Technology**, Zurich, n. 12, p. 795-799, 1984.

AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; SANTOS, A. F. dos. **Doenças em Pinus: identificação e controle**. Colombo: Embrapa Florestas, 2001. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 48).

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4th ed. Saint Paul: APS Press, 1998.

CARNEIRO, J. S. Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 11, p. 557-566, 1986.

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G. **Fusariose em mudas de *Pinus taeda***. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 166).

HOMECHIN, M.; PIZZINATTO, M. A.; MENTEN, J. O. M. Sanidade de sementes de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus taeda* e patogenicidade de *Fusarium oxysporum* em plântulas de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 12, p. 102-112, 1986.

LASCA, C. C.; SAMPAIO, A. S.; CINTRA, A. F. Condições fitossanitárias de sementes importadas de *Pinus* spp. **O Biológico**, São Paulo, v. 37, n. 11, p. 287-292, 1971.

NEEGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mac Millan Press, 1979. 829 p. v. 1.

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

Comunicado Técnico, 319

Embrapa Florestas
Endereço: Estrada da Ribeira Km 111, CP 319
Colombo, PR, CEP 83411-000
Fone / Fax: (0**) 41 3675-5600
E-mail: cnpf.sac@embrapa.br



1ª edição
Versão eletrônica (2013)

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: *Patrícia Póvoa de Mattos*
Secretária-Executiva: *Elisabete Marques Oaida*
Membros: *Alvaro Figueredo dos Santos, Claudia Maria Branco de Freitas Maia, Elenice Fritsons, Guilherme Schnell e Schuhli, Jorge Ribaski, Luis Claudio Maranhão Froufe, Maria Izabel Radomski, Susete do Rocio Chiarello Pentead*

Expediente

Supervisão editorial: *Patrícia Póvoa de Mattos*
Revisão de texto: *Patrícia Póvoa de Mattos*
Normalização bibliográfica: *Francisca Rasche*
Editoração eletrônica: *Rafaele Crisostomo Pereira*