

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA FLORESTAL**

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA  
QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE  
SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Rodrigo Fernandes de Camargo**

**SANTA MARIA, RS, BRASIL**

**2007**

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE  
SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE  
ESPÉCIES FLORESTAIS**

**por**

**Rodrigo Fernandes de Camargo**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de Concentração em Proteção Florestal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Florestal.**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Marlove Fátima Brião Muniz**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**Camargo, Rodrigo Fernandes de**

**C172t**

Tratamento alternativo na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de espécies florestais / por Rodrigo Fernandes de Camargo ; orientador Marlove Fátima Brião Muniz. – Santa Maria, 2007.  
75 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, RS, 2007.

1. Engenharia florestal 2. Extratos vegetais 3. Fungos 4. Bioatividade 5. Qualidade de sementes 6. Sementes florestais I. Muniz, Marlove Fátima Brião, orient. II. Título

CDU: 630.235

Ficha catalográfica elaborada por  
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria**  
**Centro de Ciências Rurais**  
**Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a  
Dissertação de Mestrado

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E  
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS**

elaborada por  
**Rodrigo Fernandes de Camargo**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Engenharia Florestal**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Marlove Fátima Brião Muniz, Dr<sup>a</sup>**  
(Presidente/Orientadora)

---

**Luciana Zago Ethur , Dr<sup>a</sup>** (UNIPAMPA)

---

**Josiane Pacheco Menezes , Dr<sup>a</sup>** (UFSM)

Santa Maria, 31 de julho de 2007.

## RESUMO

Dissertação de mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal  
Universidade Federal de Santa Maria

### TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS

AUTOR: RODRIGO FERNANDES DE CAMARGO  
ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ  
Local e data da defesa: Santa Maria, 31 de julho de 2007.

A intervenção para o controle de fungos em sementes é largamente realizada através de produtos químicos. No entanto, além do surgimento de isolados dos fitopatógenos resistentes às substâncias químicas, os resultados para a sociedade e para o meio ambiente podem se tornar negativos devido à poluição causada pelos resíduos. Um dos enfoques da atualidade é o controle alternativo de doenças em plantas, neste contexto este trabalho teve como objetivo utilizar extratos vegetais sob diferentes formas e incluir o controle biológico no controle de fungos em sementes de espécies florestais. As plantas bioativas podem se constituir, ao lado do controle biológico, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças fúngicas. Algumas espécies estudadas sob este aspecto foram: *Ateleia glazioviana*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus citriodora*, *Melyia azedarach* e *Cymbopogon winterianus*. No capítulo I podemos constatar que os tratamentos com extratos secos no armazenamento de sementes, inibiram a maioria dos fungos associados, também se constatou que a germinação das sementes tratadas, não foi alterada para maioria dos tratamentos. No capítulo II, os resultados apontaram que os óleos essenciais assim como o controle biológico (*Trichoderma* sp.), foram os mais eficientes no controle dos fungos associados às sementes.

**Palavras-Chave:** Extratos vegetais, fungos, bioatividade, qualidade.

## **ABSTRACT**

Master Thesis  
Pos-Graduation Program in  
Federal University of Santa Maria

### **ALTERNATIVE TREATMENT IN SANITARY AND PHYSIOLOGICAL SEEDS QUALITY OF FOREST SPECIES**

AUTHOR: RODRIGO FERNANDES DE CAMARGO  
ADVISER: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ  
Place and date of presentation: Santa Maria, July 31<sup>st</sup>, 2007.

The intervention for fungi control in seeds is widely made through chemical products. However, the results of this use may become negative to society and environment due to the pollution caused by the residues of those products, besides the development of isolates of phytopathogens which become, long term, resistant to these chemical substances. One of the current approaches is the alternative control of plant diseases. In this context, the aim of this work is to use vegetal extracts in different ways and to include the biological control in fungi control in forest seeds. Bioactive plants may establish, together with the biological control, one of the potencial ways of alternative control of fungi diseases. Some of the species studied under this aspect were: *Ateleia glazioviana*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus citriodora*, *Melya azedarach* and *Cymbopogon winterianus*. Analysing the results in Chapter I, it was evidenced that treatments made with dry extracts in the storage of seeds inhibited most of the associated fungi. It was also evidenced that the germination in treated seeds was not altered for most of the treatments. In Chapter II, the results showed that essential oils associated with biological control (*Trichoderma* sp.) were the most efficient in fungi control together with the seeds.

**Keywords:** plant extracts, fungi, bioactivity, quality.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1– Folhas das espécies <i>Eucalyptus citriodora</i> , utilizadas na produção de extratos vegetais como destilados e óleos essenciais.....	36
FIGURA 2 – Detalhes das folhas da espécie hortelã ( <i>Mentha piperita</i> ) utilizada na produção dos destilados e óleos essenciais.....	64

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de Timbó em sementes de pinus, durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	39
TABELA 2 - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de eucalipto em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	40
TABELA 3 - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de cinamomo em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	41
TABELA 4 - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de hoRtelã em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	42
TABELA 5 - Médias de incidência de fungos para o fator armazenamento, nas três avaliações durante os seis meses de armazenamento da espécie <i>Pinus elliotti</i> (pinus), tratadas com quatro macerados vegetais. Santa Maria – RS. 2006. ....	43
TABELA 6 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de eucalipto. Santa Maria – RS. 2006. ....	44
TABELA 7 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus) tratadas com quatro diferentes doses de macerado de timbó. Santa Maria – RS. 2006. ..	45
TABELA 8 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de cinamomo. Santa Maria – RS. 2006 .....	45



TABELA 9 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Pinus elliotti</i> (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de hortelã. Santa Maria – RS. 2006. ....	46
TABELA 10 Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de cinamomo em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	46
TABELA 11 - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de timbó em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	47
TABELA 12 - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando extrato seco de hortelã sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria-RS, 2006. ....	48
TABELA 13 - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de eucalipto em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006. ....	48
TABELA 14 – Médias em percentagem, encontradas para o fator armazenamento nos três períodos avaliados (dois meses, quatro meses e seis meses), tratadas com quatro macerados (cinamomo, eucalipto, hortelã e timbó). Santa Maria-RS, 2006. ....	49
TABELA 15 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de eucalipto. Santa Maria – RS. 2006. ....	50

TABELA 16 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de timbó. Santa Maria – RS. ....	51
TABELA 17 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de cinamomo. Santa Maria – RS. 2006. ....	51
TABELA 18 – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de grápia tratadas com quatro doses diferentes de macerados de hortelã. Santa Maria – RS. 2006. ....	52
TABELA 19 – Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (timbaúva) tratadas com extratos de três espécies vegetais. Santa Maria – RS, 2006. ....	60
TABELA 20 - Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia) tratadas com extratos de três espécies vegetais. Santa Maria – RS, 2006. ....	61
TABELA 21 - Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de <i>Pinus eliotti</i> (Pinus) tratadas com extratos de três espécies vegetais. Santa Maria – RS, 2006. ....	62
TABELA 22 – Resultado da interação (forma x espécie) para a variável <i>Penicillium</i> sp., em sementes de <i>Pinus eliotti</i> . Santa Maria – RS, 2006. ....	63
TABELA 23 - Resultados do teste de sanidade, em sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (timbaúva), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006. ....	64
TABELA 24 – Resultados em percentagem, da incidência de fitopatógenos associados às sementes de <i>Pinus eliotti</i> (pinus), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006. ....	65
TABELA 25 - Resultados em percentagem, da incidência de fitopatógenos associados às sementes de <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006. ....	66

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
<b>2.1 Qualidade sanitária de sementes florestais</b> .....	16
<b>2.2 Tratamento químico</b> .....	17
<b>2.3 Controle alternativo de doenças fúngicas</b> .....	19
<b>2.4 Controle biológico</b> .....	26
2.4.1 <i>Trichoderma</i> sp. como agente de controle biológico.....	27
<b>2.5 Óleos essenciais</b> .....	29
<b>2.6 Espécies florestais estudadas</b> .....	31
2.6.1 Grápia ( <i>Apuleia leiocarpa</i> Vog. Macbride):.....	31
2.6.2 Timbaúva ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> Mor.):.....	31
2.6.3 Pinus ( <i>Pinus elliottii</i> Engelm.):.....	32
<b>3 CAPÍTULO I: QUALIDADE DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS TRATADAS COM MACERADO SECO</b> .....	33
<b>3.1 INTRODUÇÃO</b> .....	34
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
3.2.1 Localização.....	34
3.2.2 Sementes.....	35
3.2.3 Coleta e estocagem do material vegetal e preparação dos macerados vegetais secos.....	35
3.2.4 Tratamentos:.....	37
3.2.5 Teste de sanidade .....	37
3.2.6 Teste de germinação.....	37
3.2.7 Delineamento experimental.....	38
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
3.3.1 Espécie <i>Pinus elliotti</i> (pinus).....	38
3.3.2 Espécie <i>Apuleia leiocarpa</i> (grápia).....	48
<b>3.4 CONCLUSÕES</b> .....	52

<b>4 CAPÍTULO II: DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE SANITÁRIO DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS UTILIZANDO EXTRATOS VEGETAIS SOB DIFERENTES FORMAS (EXTRATO BRUTO, MACERADO SECO, DESTILADOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS).....</b>	<b>53</b>
<b>4.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>54</b>
4.2.1 Local de realização.....	54
4.2.2 Sementes.....	55
4.2.3 Coleta e estocagem do material vegetal e preparação de extratos vegetais.....	55
4.2.4 Obtenção de óleos essenciais e destilados.....	55
4.2.5 Obtenção dos extratos brutos e macerados secos.....	56
4.2.6 Obtenção do fungo <i>Trichoderma</i> sp.....	57
4.2.7 Tratamentos das sementes.....	57
4.2.8 Avaliações .....	58
4.2.9. Delineamento experimental: .....	58
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
4.3.1 Experimento I:.....	59
4.3.2 Experimento II:.....	64
<b>4.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>67</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

São inúmeras as pesquisas que têm por objetivo encontrar alternativas para o controle de doenças em plantas, e que estas não sejam agressivas ao meio ambiente, pois os estudos têm provado que, em longo prazo, os métodos clássicos de controle de patógenos acabam sendo prejudiciais ao meio ambiente e ao homem, uma vez que os fungicidas sintéticos por serem mais persistentes no ambiente e menos seletivos, causam maiores problemas ao ecossistema, provocando alterações na biodiversidade do local, como a poluição do solo e das águas, esta problemática vem reforçando ainda mais a perspectiva de pesquisas em busca de alternativas.

Uma destas alternativas que vem sendo estudada para o controle de patógenos é a utilização de produtos de fontes naturais, como plantas e microrganismos. Em áreas onde há intervenção humana, existem interações entre os organismos e os animais, cada um adaptando-se ao longo do tempo, para garantir a sua sobrevivência. É cada vez mais evidente que a diversidade química nas plantas é fruto dessa interação com os outros organismos e até com as próprias plantas.

Se as plantas têm se defendido por tanto tempo de tantos agressores, com o recurso de produzir substâncias que afastam seus predadores, por que não utilizarmos essas plantas para a finalidade de obter uma forma mais seletiva de controle, com a vantagem de estarmos interferindo com menos agressividade no ambiente?

Mesmo as substâncias químicas isoladas de plantas, se aplicadas em grande quantidade em um determinado ambiente, poderiam provocar poluição e intoxicação. Porém, os compostos ativos de plantas costumam ser mais rapidamente

decompostos, transformando-se em moléculas menores, com menor ou sem toxicidade. Outro aspecto que se visa com pesquisas com princípios ativos naturais, é que a quantidade efetiva desses componentes não seja tão grande e que tenham ação mais seletiva nos organismos. Atualmente, se sabe que existem compostos dos mais diversos tipos, presentes em diferentes espécies de plantas. Eles podem agir como inibidores alimentares, repelentes, atraentes, tóxicos, antimicrobianos e até inibidores de germinação e do crescimento de outras plantas.

A associação de patógenos com sementes é uma preocupação antiga do ponto de vista da fitopatologia. Segundo Becker (1979), o início provável do desenvolvimento de mecanismos de transmissão de patógenos por sementes data do momento, a partir do qual, angiospermas tornaram-se a flora dominante a cerca de 130 milhões de anos e sementes tornaram-se a forma usual de reprodução das plantas (MACHADO, 1987).

Na fitopatologia, os fungos são considerados os principais agentes causais de doenças em plantas. O estudo de microorganismos em sementes de essências florestais nativas e exóticas cultivadas do Rio Grande do Sul é de grande importância, uma vez que as informações sobre a associação patógeno-semente destas espécies são escassas e pouco estudadas. As sementes de espécies florestais, devido às condições favoráveis de temperatura e umidade do ambiente, ficam vulneráveis ao ataque de microorganismos, tanto no campo como no armazenamento, principalmente por fungos. A incidência de fungos em sementes pode provocar descolorações do tegumento, deformações, redução da germinação, doenças em plântulas, manchas necróticas e apodrecimento, diminuindo assim seu poder germinativo podendo causar problemas na formação das mudas em viveiro, além de se constituir em focos primários de infecção no viveiro e no campo.

O tratamento de sementes é uma prática importante, tanto no armazenamento, como no viveiro e no campo. Pode diminuir e evitar a incidência de doenças e a introdução de novos patógenos, sabendo-se que as sementes constituem-se em um dos principais veículos disseminadores de microorganismos fitopatogênicos.

No tratamento de sementes, o controle químico é o mais utilizado, e sabendo-se dos problemas ocasionados por essas práticas, a necessidade da busca de alternativas de controle destes fitopatógenos se faz necessário. Dentre as alternativas estudadas, atualmente, destacam-se os extratos vegetais, contendo

substâncias naturais de ação inibidora e o controle biológico através de antagonistas.

As pesquisas mostram o potencial de extratos vegetais e fungos antagonistas para controlar e inibir fungos fitopatogênicos e, desta forma, verifica-se que o uso destes elementos no controle de fitopatógenos presentes em sementes, no armazenamento, no solo ou na parte aérea das plantas apresenta um futuro promissor, causando menos impacto ao meio ambiente e tornando-o mais equilibrado.

As espécies florestais nativas ou cultivadas no Rio Grande do Sul não são contempladas com trabalhos de pesquisa envolvendo a avaliação da qualidade sanitária de sementes, como os problemas de etiologia infecciosa ocasionada por patógenos no armazenamento, no viveiro e no campo. A qualidade de sementes é de suma importância e soma uma série de aspectos, como a qualidade fisiológica, qualidade sanitária, qualidade genética e qualidade física. Dentre estes aspectos, a qualidade sanitária assume fundamental importância, pois trata da associação de microorganismos patogênicos às mesmas, influenciando na viabilidade, longevidade e na transmissão para a planta resultante.

Também é grande a escassez sobre tratamento de sementes florestais e metodologia de análise de suas sementes, visando uma avaliação qualitativa das mesmas, em relação às espécies florestais, especialmente em nosso país. Há necessidade de estudar estes fatores para que sejam encontradas soluções que permitam a evolução da pesquisa neste sentido, com sementes de essências florestais nativas ou exóticas adaptadas à região.

Termos como "métodos sustentáveis" e "controle alternativo" presumem uma nova visão de mundo, estimulando a busca por novas medidas de proteção das plantas contra as doenças. Desta maneira, este trabalho teve o intuito de testar extratos vegetais de diferentes plantas (*Ateleia glazioviana*, *Eucalyptus citriodora*, *Mentha arvensis* e *Cymbopogon winterianus*) e um antagonista (fungo *Trichoderma sp.*), no controle de fungos patogênicos em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong., *Pinus elliotti* L. e *Apuleia leiocarpa* (Vogel) Macbride..

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Qualidade sanitária de sementes florestais:

Na fitopatologia, os fungos são considerados, os principais agentes causais de doenças em plantas. Nas sementes, a importância destes organismos está relacionada à frequência com que algumas espécies ocorrem associadas às mesmas, como saprófitas ou como patógenos por elas disseminados (MORAIS & SOAVE, 1987).

Uma doença é infecciosa quando é causada por agentes como fungos, bactérias, vírus e nematóides e que implique na transmissibilidade da condição enferma de um indivíduo a outro numa população considerada. Por patógeno, considera-se o agente causal da doença infecciosa e por inóculo todo ou parte do patógeno capaz de iniciar crescimento ou multiplicação. Neste sentido, o patógeno não é doença e sim um componente desta. (MACHADO, 1987).

Devido às condições favoráveis de temperatura e umidade do ambiente, a maioria das sementes de espécies florestais fica vulnerável ao ataque de fungos tanto no campo como no armazenamento. Diversos fungos podem causar deformação, redução de germinação, destruição das sementes e doenças em plântulas. Os testes de sanidade possibilitam a identificação de problemas ocorridos durante as fases de coleta e armazenamento, permitindo estabelecer métodos de controle para estes patógenos (MACHADO, 1987).

Resultados demonstraram que as associações de fungos com sementes de espécies nativas podem reduzir a germinação e emergência de plantas em



sementeiras, disseminarem os patógenos e, conseqüentemente, reduzir o estabelecimento das plantas no campo, pois ao se multiplicar sementes infectadas, simultaneamente, estão multiplicando o fungo (FAGAN et al., 2000). Faiad et al. (1995) em uma pesquisa no Cerrado, com sementes de espécies nativas analisaram os fungos que apresentaram ocorrência superior a 25%, os quais foram: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis sojae*, *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia solani* e *Verticillium* sp. Os fungos mais freqüentes foram *Penicillium* e *Aspergillus*. Estes resultados, segundo o autor, indicam que as sementes podem não ter sido armazenadas em boas condições. Outros fungos considerados saprófitas também foram detectados neste mesmo trabalho (FAIAD et al., 1995), entre eles, *Alternaria* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Nigrospora* sp. e *Rhizopus* sp. Algumas espécies fúngicas consideradas importantes patógenos para plântulas que causam o tombamento de mudas, como *Phomopsis* sp., *Fusarium spp.*, *Sphaeropsis* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Colletotrichum* sp. foram detectados nas espécies estudadas.

Segundo Lucca-Filho (1995) as condições ambientais durante o período de armazenamento e as características do lote de sementes, especialmente, o estado físico, teor de água e inóculo inicial, regulam a atividade dos fungos de armazenamento. Fungos podem reduzir a germinação das sementes, produzirem plantas jovens raquíticas, necroses no hipocótilo e raízes (CHAMBERLAIN & GRAY, 1974).

## 2.2 Tratamento químico

O uso de defensivos de forma excessiva e sem a preocupação com os efeitos adversos provocados no ambiente, foi historicamente questionado pela escritora e cientista Rachel Louise Carson em 1962, com a publicação de seu livro "Primavera Silenciosa". Este livro ainda hoje é considerado um marco divisório da postura de vários países, entre eles, os Estados Unidos, em relação ao uso de defensivos e à liberação de poluentes na natureza (PAULA et al., 2003).

Nestes tratamentos, são utilizados produtos químicos, muitas vezes causando

contaminações dos lençóis freáticos, rios, solo, animais, alimentos, intoxicação de agricultores, bem como, além promoverem o surgimento de raças de patógenos resistentes. Outro desequilíbrio que estes produtos podem causar é a eliminação de microorganismos responsáveis pela degradação de matéria orgânica ou de organismos utilizados em programas de controle biológico, causando diversos problemas no meio ambiente (CANPANHOLA & BETTIOL, 2003).

Com o tempo, verificou-se que esse modelo é insustentável, sendo observados, com freqüência, desequilíbrios ambientais. Então, a adoção de tecnologias desenvolvidas com o objetivo de alcançar altas produtividades, sem que sejam considerados seus impactos sobre os ecossistemas e a organização social e a cultura das comunidades locais, tem promovido, entre outras conseqüências negativas, o desequilíbrio na regulação biótica dos agroecossistemas, e conseqüentemente, o aumento exacerbado na incidência e na severidade das doenças das plantas cultivadas (DAL SOGLIO, 2004). O uso contínuo e exclusivo de defensivos agrícolas, por exemplo, tem resultado na ocorrência de pragas e patógenos resistentes a determinados produtos, que nem sempre é diagnosticada (GHINI & KIMATI, 2000). Assim, esses produtos continuam a ser aplicados, mesmo tendo sua eficiência comprometida pela ocorrência de resistência no organismo-alvo e esta forma de controle convencional passou a representar uma ameaça aos diversos agroecossistemas (BETTIOL & GHINI, 2003).

O uso de produtos derivados da indústria química no controle das doenças e pragas na agricultura moderna tem sido questionado pela sociedade, como conseqüência de seus efeitos negativos adversos causados (BARRETO, 1985), dentre os quais é possível enumerar a poluição da água e do ar, a contaminação de alimentos, o aumento da resistência dos patógenos aos fungicidas e os efeitos desses produtos nas plantas, nos animais e no homem (SOUZA, 1998).

O desenvolvimento de produtos sintéticos para controlar as doenças de plantas é trabalhoso e caro, em decorrência de testes requeridos, como eficácia, seletividade, toxicologia e impacto ao ambiente (McLAREN, 1986).

### 2.3 Controle alternativo de doenças fúngicas

Em torno de 60 a 70% das doenças de plantas cultivadas são causadas por fungos. A introdução de compostos sintéticos, exógenos no ecossistema, pode trazer conseqüências indesejáveis ao ambiente. Atualmente, há preocupação crescente com o uso excessivo de produtos tóxicos. Questões como a contaminação dos recursos naturais e trabalhadores afligem a todos (MAFFIA & MIZUBUTI, 2005).

Assim, é crucial o uso de alternativas para reduzir o uso de fungicidas ou, preferencialmente, evitar seu uso. Como conseqüência do desenvolvimento da fitopatologia, avanços consideráveis na geração e no aperfeiçoamento de métodos alternativos ao uso de fungicidas estão sendo testados. Visando minimizar os efeitos negativos do uso de substâncias químicas sintetizadas, têm-se buscado novas medidas de proteção de plantas contra doenças, que preconizam o uso do controle alternativo de doenças de plantas, que inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (BETTIOL, 1991). Devido a todos estes riscos ao meio ambiente e a saúde humana, estão utilizando métodos alternativos de controle, assim tem-se realizado pesquisas de extratos brutos de plantas medicinais no controle de fitopatógenos (SALVADORI et al., 2003). Neste contexto, o controle alternativo pelo uso de extratos de plantas medicinais e o controle biológico tem demonstrado resultados eficientes no controle de patógenos transmitidos por sementes (MISSIO et al., 2003).

Como exemplo da eficiência do controle de patógenos através do uso dos extratos vegetais se tem o controle da mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker) em trigo, usando extrato aquoso de *Artemisia camphorata* Vill. (cânfora) (FRANZENER et al., 2003), do oídio (*Oidium lycopersici* Cooke & Masee) do tomateiro pelo óleo emulsionável de *Azadirachta indica* A. Juss (CARNEIRO, 2003), da antracnose (*Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst.) em pepino, pelo extrato de *Eucalyptus citriodora* Hooker (BONALDO et al., 2004) e do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) em alface por *Zingiber officinale* Roscoe (RODRIGUES, 2004).

Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais já foram testados no controle de *Phytophthora infestans*. Avaliaram-se extratos de 88 espécies de plantas, e 19 deles inibiram a formação de zoósporos e o crescimento de *P.*

*infestans in vitro* (WANG et al., 2001). Extrato de alho (*Allium sativum* L.) inibiu completamente a formação de zoósporos (KE-QUIANG & VAN BRUGGEN, 2001; WANG et al., 2001) e a formação de colônias de *P. infestans* (KE-QUIANG & VAN BRUGGEN, 2001). O extrato de pimenta longa (*Piper longum* L.) reduziu em 60% a mortalidade de tomateiros inoculados com *P. infestans* (LEE et al., 2001). Em experimento semelhante, todos os tomateiros tratados com curcumina, produto derivado do rizoma de açafrão-da-índia (*Curcuma longa* L.), sobreviveram depois de inoculados com *P. infestans*, resultados semelhantes ao obtido com o fungicida clorotalonil (KIM et al., 2003). O óleo e o extrato da folha de nim (*Azadirachta indica* L.) foram efetivos no controle de pragas, nematóides e de alguns fungos (GOVINDACHARI et al.; 1998, CONVENTRY & ALLAN, 2001). Porém, os efeitos do óleo de nim sobre *P. infestans* ainda não são bem conhecidos.

Trabalhos mostram o potencial das plantas medicinais no controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, e pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas (SCHWAN-ESTRADA et al., 1997; STANGARLIN et al., 1999).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais podem se constituir, ao lado da indução da resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003)

Com o objetivo de verificar o efeito dos extratos brutos das plantas medicinais *Laurus nobilis* (louro) e *Zingiber officinale* (gengibre) no crescimento micelial dos fitopatógenos *Alternaria solani*, *A. steviae* e *A. alternata*, folhas e rizomas triturados de ambas as plantas, respectivamente, foram incorporados em meio batata-dextrose-ágar, para obter concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 50 %, e então autoclavadas. Através da medição diária do tamanho das colônias em placas de Petri, pode-se observar a ação fungitóxica de ambos os extratos, sob diferentes concentrações, *Z. officinale* apresentou cinco vezes mais atividade tóxica aos fungos testados do que *L. nobilis* (FAGAN et al., 2000).

O efeito tóxico de plantas medicinais sobre fungos fitopatogênicos tem sido demonstrado na literatura, como é o caso do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatógenos, e do bálsamo de copaíba no controle de *Fusarium moniliforme* e *Alternaria* sp. (FAGAN et al., 2000).

Na natureza, a maioria das plantas, especialmente aquelas com potencialidades medicinais, dispõe de mecanismos secundários de interesses diversos. Partindo deste princípio, Silva (2000) pesquisou cinco plantas de ação medicamentosa sendo elas: *Thunbergia alata*, *Oxalys hirsutissima*, *Waltheria indica*, *Baccharis dracunculifolia* e *Pyrostegia venusta* que foram submetidas à extração química, visando uma aplicação no controle biológico como um antifúngico natural, sem causar danos ao meio ambiente. Os extratos foram obtidos a partir dos caules e das folhas de cada planta em estudo, através de extrações químicas a frio, e submetidos a um processo de extração líquido-líquido, com solventes de polaridades crescente. Também se avaliou a germinação de esporos dos fungos utilizando os extratos brutos de *Thunbergia alata* e *Oxalys hirsutissima*. O crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum dematium* foi inibido pelos extratos brutos das cinco plantas. Entretanto, *Thunbergia alata* e *Oxalys hirsutissima* apresentaram uma redução micelial significativa entre as demais plantas. A germinação de esporos foi inibida em 100% nas concentrações de 10, 50, 100 e 500 ppm para folha e caule de *Thunbergia alata* no extrato.

Estudos realizados por Cruz et al. (1998) mostraram que o tratamento de sementes de soja (*Glycine max*) com extrato aquoso de manjerição (*Ocimum basilicum*), lavea (*Laveula officinalis*), capim-limão (*Cytrus citratus*) e eucalipto (*Eucaliptus citriodora*), reduziu significativamente a incidência de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Ferracine et al.(1990) verificaram que a maioria dos extratos de plantas apresenta propriedades antifúngicas.

Essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgão utilizado, idade e estágio vegetativo. Fatores do ambiente, como o pH do solo, bem como, a estação do ano e diferentes tipos de estresse também devem ser observados. A eficiência do produto também depende da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na revisão bibliográfica, obtenção e manipulação do extrato (SILVA et al.,2005).

A produção florestal se caracteriza por grandes extensões de áreas plantadas por monocultivos, produções estas, abastecidas por viveiros florestais. Estas características de manejo têm por conseqüência, a perda das características naturais de rusticidade das plantas que implicam em maior suscetibilidade a estresses nutricionais e hídricos e menor resistência a microrganismos e a doenças,

uma vez que, na maioria das vezes, as condições ideais para o crescimento das plantas são as mesmas para o crescimento e desenvolvimento dos patógenos. (PAULA et al., 2005).

As ações técnicas caminham no sentido de identificar tecnologias adaptadas e adequadas, gerando métodos alternativos de controle de doenças que possam substituir ou atuar conjuntamente com o sistema de controle convencional.

A demanda por produtos obtidos sem o uso de agrotóxicos representa uma nova oportunidade de mercado no mundo e, em particular, para os países em desenvolvimento, que esperam quebrar as barreiras impostas pelos países industrializados. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) divulgou nota informando que esse tipo de manejo na agricultura já representa uma faixa significativa de 10% do total dos alimentos produzidos em vários países europeus, como Áustria, Suíça e França, ao passo que em países como os Estados Unidos, Japão e Singapura, a percentagem é superior, atingindo o índice de 20% da produção.

Um conjunto de métodos de controle que vem crescendo a cada ano e merecendo a atenção dos pesquisadores, é o uso de metabólitos de plantas (BENINI et al. ; 1999; CRUZ et al., 1999). Porém, trata-se de uma área ainda pouco explorada e que necessita de aprofundamento em estudos científicos. Metabólitos secundários de plantas, considerados os produtos finais do metabolismo ou escórias, têm importância para as plantas que os sintetizam. Uma das funções dessas substâncias é fornecer proteção contra o ataque de organismos patogênicos (TAIZ & ZEIGER, 1991). Vários autores, como Alfenas et al. (1982), Tewari & Dath (1984), Ismail et al. (1989) e Ferracine et al.(1990) verificaram que a maioria dos extratos de plantas apresenta propriedades antifúngicas. Essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgão utilizado, idade e estágio vegetativo. Fatores do ambiente, como o pH do solo, bem como a estação do ano e diferentes tipos de estresse também devem ser observados. A eficiência do produto também depende da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato.

Belém et al. (2003) testaram o potencial antifúngico de várias espécies e destacaram os resultados obtidos com *Cymbopogon citratus*, *Peumus boldus* e *Caryophyllus afomutius*. Outras pesquisas apresentam uma listagem de plantas

provenientes da flora brasileira que foram pesquisadas e apresentaram alguma ação no controle de doenças, seja por atividade fungitóxica ou como indutoras da produção de fitoalexinas. A partir destes estudos foram listadas plantas, como arruda (*Ruta graveolens*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), cânfora (*Artemisia canphorata*), carqueja (*Baccharis trimera*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*C. nardus*), cúrcuma (*Curcuma longa*), gengibre (*Zingiber officinalis*), dentre outras. Em estudos realizados por Cruz et al. (1998), observou-se que o tratamento de sementes de soja (*Glycine max*) com extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*), lavea (*Laveula officinalis*), capim-limão (*C. citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), reduziu significativamente a incidência de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.. Silva et al. (1999) demonstraram também a atividade nematocida do extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre o nematóide-das-galhas do cafeeiro (*Meloydogine exigua*). Alguns metabólitos isolados ou frações de extratos também têm exibido atividade antifúngica. O óleo essencial de *Lantana aculeata* (Verbenaceae) apresentou atividade contra *Aspergillus flavus*, *A. fulviginatus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *Microsporum gypsum*, *Penicillium digitatum*, *P. notatum* e *Rhizopus stolonifer* (SAXENA & SHARMA, 1999). Tetranortriterpenóides isolados de *Toona ciliata* (Meliaceae), *Azadiracht indica* (Meliaceae) e *Citrus medica* (Rutaceae) apresentaram atividade contra *Puccinia arachidis* (GOVINDACHARI et al., 2000).

Mari et al. (1993) testaram derivados de glucosinolatos (GLSs) no controle de alguns patógenos incidentes em pós-colheita de frutos e obtiveram controle significativo de *Botrytis cinerea*, *Monilina taxa*, *Penicillium expansur*, *Mucor piriformis* e *Rhizopus stolonifer*. Viana (2003) estudou o potencial de extratos de plantas no controle *in vitro* de fungos causadores da podridão pós-colheita em banana e mamão e obteve controle de até 90% com o uso de extrato etanólico de *Coleus barbatus*.

Observando a literatura científica nacional e internacional nos últimos dez anos Silva et al. (2005), constatou que é possível encontrar vários trabalhos evidenciando o potencial de diferentes extratos de plantas no controle dos mais variados tipos de patógenos como *Botrytis cinerea*, *Plasmopora viticola*, *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, *Venturia inaequalis*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp., *Alternaria alternata*, *Hemileia vastatrix*, *Colletorichum gloesporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Os trabalhos, geralmente,

apontam para o potencial *in vitro* dos diferentes extratos no controle de doenças de plantas, com o uso de extratos brutos ou óleos essenciais. Alguns trabalhos isolam e avaliam a atividade de frações dos óleos (STANGARLIN et al., 1999). Poucos trabalhos são feitos em condições mais controladas e procuram conhecer melhor os fenômenos químicos envolvidos nas atividades estudadas. Mari et al. (2002) apresentaram resultados da atividade do vapor de alil-isotiocianato (AITC) proveniente da hidrólise de glucosinolatos presentes em plantas da família das crucíferas sobre o bolor-azul em pêra, causado por *Penicillium expansum*. O trabalho foi conduzido *in vivo* e os resultados mostraram que, nas plantas tratadas com o AITC, o controle da doença foi de 90%, com isolados do patógeno resistentes a fungicidas da classe dos tiabendazóis.

Além das plantas benéficas, foram descobertas as nocivas, capazes de matar e produzir alucinações (TEIXEIRA, 1994 ; MIGUEL & MIGUEL, 1999). Atualmente, estudos envolvendo plantas medicinais tem sido tema de inúmeras análises nos mais variados tipos de eventos. Entretanto, apesar de discutido há décadas, o tema ainda é polêmico especialmente na escolha de estratégias a serem empregadas nesse tipo de estudo, bem como tipos de extratos a serem preparadas, modelos e testes utilizados. As pesquisas nessa área têm sido conduzidas com o propósito de determinar a identidade botânica das diferentes plantas, a composição química desses vegetais, a obtenção, a identificação e a análise de princípios ativos, bem como, a determinação da ação farmacológica e de propriedades tóxicas (SIMÕES et al., 1999).

Os princípios ativos de plantas bioativas são metabólicos secundários, isto é, a planta não utiliza essas substâncias para sua nutrição, desenvolvimento ou economia direta (WILLIAMS et al., 1989). Essas substâncias são produzidas pela planta para melhorar suas condições de sobrevivência e permitir sua adaptação ao meio ambiente, exercendo grande importância na preservação das espécies e na organização de comunidades (WHITTAKER & FEENY, 1971). Com algumas propriedades específicas, esses metabólitos secundários agem, por exemplo, na defesa da planta contra diversos patógenos e pragas e na atração ou repulsão diante de outros organismos. Carneiro & Fernandes (1996) citam que, em ambientes adversos, as plantas "escolhem" onde aplicar mais sua energia e seus recursos, seja na reprodução, no crescimento ou na produção de compostos químicos de defesa. Assim, solos pobres, alterações climáticas freqüentes,



patógenos e pragas, entre outros fatores, fariam com essas substâncias fossem biossinteticamente produzidas pelo vegetal. Conseqüentemente, ao colher-se uma planta bioativa deve-se estar ciente de que fatores de ordem genética, ambiental e técnica influenciam a síntese de princípios ativos, podendo ocorrer variações tanto na qualidade como na quantidade de complexos químicos. Plantas da mesma espécie, cultivadas em diferentes localidades, normalmente, possuem os mesmos componentes, mas as porcentagens em que estão presentes podem diferir (ROBBER et al., 1997). Portanto, a obtenção de resultados promissores em ensaios com plantas bioativas depende de vários fatores, como forma de colheita e preparo, método de aplicação e concentração do princípio ativo.

Um composto é considerado biologicamente ativo quando exerce ação específica sobre determinado ser vivo, seja ele animal, vegetal ou microrganismo. Uma vasta gama de compostos orgânicos de origem vegetal é biologicamente ativa, isto é, tem ação tranqüilizante, analgésica, antiinflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, fungicida, inseticida, etc. Tais substâncias podem ser óleos essenciais, resinas, alcalóides, flavonóides, taninos, entre outros. Esses compostos se encontram nas plantas sob a forma de complexos, cujos componentes se completam e reforçam sua ação sobre o organismo. Dentre os fitocompostos, os óleos essenciais encontram maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos, o que representa uma extensão do próprio papel que exercem nas plantas, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos (JANSSEN et al., 1987).

O estudo químico de plantas (fitoquímica) está diretamente relacionado à utilização e ao desenvolvimento de técnicas rápidas e precisas, que permitem o isolamento de compostos de interesse, normalmente presentes em pequenas quantidades, concomitantemente com constituintes químicos já conhecidos e de grande ocorrência em plantas.

Para escolher um determinado método de extração vai depender da textura e do conteúdo de água presente no material a ser extraído, bem como, do tipo de substância que se deseja isolar. O procedimento clássico para a obtenção de extratos orgânicos de material proveniente de planta seca e triturada é a extração por solventes de polaridade crescente, como hexano, clorofórmio ou éter (para separar compostos apolares) e etanol (para complexos polares).

Várias propriedades bioativas são atribuídas aos compostos obtidos de

plantas, entretanto, a avaliação desses compostos com finalidade de controle de microorganismos patogênicos de plantas cultivadas é recente. Estudos químicos aprofundados e a elaboração de produtos naturais seguros e com controle de qualidade são necessários para que o Brasil possa fazer uso de forma consistente de sua rica biodiversidade, atualmente, menos de 1 % da flora com potencial bioativo é estudada em profundidade.

## 2.4 Controle Biológico

O controle biológico pode ser definido como controle de um microrganismo através da ação direta de outro organismo antagônico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (COOK & BAKER, 1983), reduzindo a densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença, através de um ou mais organismos.

No Brasil, o tratamento biológico de sementes está sendo pesquisado apenas para sementes de espécies agronômicas, como o soja, sorgo entre outras espécies, apresentando apenas resultados preliminares, utilizando espécies de *Trichoderma* spp., e visa o controle de fungos patogênicos como *Phomopsis sojae* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Os principais agentes usados na microbiolização das sementes são os fungos antagonistas que incluem principalmente os filamentosos, tais como: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Gliocladium* e *Chaetomium* (NEUMAIER, 1989).

Segundo Michereff (2003), o tratamento de sementes, mudas ou outros órgãos de propagação com antagonistas pode promover proteção durante a germinação, emergência, emissão de raízes e brotos. O sucesso do controle biológico através da microbiolização de órgãos de propagação depende do estabelecimento e da manutenção de um limiar populacional dos antagonistas sobre sementes raízes ou solo. O tratamento de sementes com microrganismos antagônicos, denominado microbiolização de sementes, pode proporcionar o controle de patógenos habitantes da superfície das sementes e de patógenos veiculados pelo solo. A ocorrência de doenças de plantas causadas por patógenos habitantes do solo indica a existência de um desequilíbrio biológico no solo. Assim

para obter um resultado satisfatório dessas doenças, há necessidade de conhecer as interações existentes neste ambiente (MICHEREFF, 2003)

Santos (2003), testando o efeito biológico de *Trichoderma viride* e *Trichoderma harzianum* no tratamento de sementes da espécie florestal *Astronium urundeuva*, estudou, sob condições controladas, aspectos relacionados ao controle biológico de fungos associados às sementes desta espécie, as sementes foram tratadas com compostos biológicos a base dos respectivos fungos utilizados nos tratamentos. Observou-se que o tratamento biológico das sementes controlou praticamente todos os fungos, com exceção de *Aspergillus* sp. , mesmo assim a sua incidência foi reduzida de 69.0% para 6.75% e aumentou o percentual de germinação das sementes.

#### 2.4.1 *Trichoderma* sp. como agente de controle biológico

*Trichoderma* sp. pertence a classe Deuteromicetos, sub-classe hifomiceto, da ordem Moniales, e família Moniliaceae. Este fungo caracteriza-se pela grande produção de conídios (esporos), a partir de conidióforos que se originam diretamente das hifas. Dentre os muitos agentes potenciais de biocontrole, *Trichoderma* sp. tem sido um dos mais estudados, dado suas características peculiares de antagonismo (MELO, 1998).

Diversos produtos à base de *Trichoderma* têm sido comercializados no Brasil para uso em substrato de produção de mudas, especialmente em hortaliças e ornamentais. A recomendação geral é a adição do fungo via líquida (irrigação) ou sólida (incorporação de substrato contendo esporos e micélio do fungo) após a desinfestação ou esterilização do substrato e alguns dias antes da semeadura ou transplântio. A produção do antagonista é realizada em grãos de arroz. Após a transferência do inóculo para o arroz, são necessários 30 dias para a obtenção do produto final, passando pelas fases de incubação, secagem e empacotamento (SILVA et al., 2005).

Esse antagonista atua por parasitismo no controle dos principais fungos causadores de doenças nas mudas. A utilização deste fungo passou a ser adotada visando a redução do uso de agrotóxicos na cultura, com conseqüente redução de

riscos para produtores e consumidores. O uso da prática possibilitou a substituição do brometo de metila, contribuindo para a proteção do ambiente. Alguns produtos à base de *Trichoderma*, ainda em processo de registro, são comercializados com essa finalidade.

No caso do fumo, o tombamento causado pelos fungos de solo *Pythium* sp., *Sclerotinia* sp. e *Rhizoctonia* sp. é muito importante nas áreas de cultivo no sul do país. Esses fungos podem ser controlados com produtos biológicos à base de *Trichoderma*. Esse antagonista atua por parasitismo no controle dos principais fungos causadores de doenças nas mudas. A utilização do produto é simples: no sistema float, o produto é misturado ao substrato na proporção de 100 g do produto para 100 kg de substrato. Esse volume é suficiente para completar 200 bandejas com 200 células. No sistema de produção de mudas em canteiros, o produto é dissolvido na água e aplicado no canteiro após a semeadura. Uma aplicação, tanto no substrato, quanto nos canteiros, sempre na semeadura, é suficiente para o controle efetivo da doença. *Trichoderma* é utilizado isoladamente, não havendo necessidade de mistura com outros produtos ou agentes. A técnica passou a ser adotada visando a redução do uso de agrotóxicos na cultura, com conseqüente redução de riscos para produtores e consumidores. O uso da prática possibilitou a substituição do brometo de metila, contribuindo para a proteção do ambiente. Alguns produtos à base de *Trichoderma*, ainda em processo de registro, como o Trichodermil PM (Itaforte BioProdutos) e o Agrotrich PM (Agri Haus do Brasil) são comercializados com essa finalidade (SILVA et al., 2005).

Além da incorporação em substrato, o fungo *Trichoderma* é utilizado no tratamento de sementes e na irrigação via pivô em grandes culturas na região central do país. As doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* e *F. solani* são de grande importância para as culturas de feijão, soja, algodão e milho cultivadas no sistema irrigado. Esses patógenos, além de reduzirem a produtividade, muitas vezes inviabilizam totalmente a área para agricultura. Para estes, o controle por meio de fungicidas tem eficiência baixa. O bioagente é aplicado via tratamento de semente, no plantio, e também pela água de irrigação nos pivôs centrais, com dose em torno de 20 a 30 kg/ha de *Trichoderma*. O custo do controle biológico nessa situação é de aproximadamente um terço do controle com fungicidas. Empresas privadas também comercializam o fungo *Trichoderma* para uso nesse sistema (SILVA et al., 2005).

O tratamento em covas ou sulcos de plantio com o antagonista também vem sendo realizado em diversas culturas. Um exemplo é o uso de *Trichoderma viride* no cultivo da maçã no sul do Brasil. O fungo *Phytophthora cactorum* causa podridão das raízes da macieira. No replantio, utiliza-se tradicionalmente o brometo de metila para a desinfestação das covas, que pode ser substituído com o uso associado de dose baixa de formaldeído (3%), esterilizante que não polui o solo, com propágulos de *T. viride*, organismo altamente competitivo no solo e antagônico à *P. cactorum*. Neste caso o agente de controle biológico utilizado foi obtido de raízes de macieiras com podridões, na região de Vacaria, RS (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991).

## 2.5 Óleos essenciais

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências, são definidos pela International Standard Organization (ISO) como produtos obtidos de partes das plantas, através da destilação por arraste com vapor d'água, bem como produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES & SPITZER, 1999). As denominações dadas a estes óleos são devidas às suas características físico-químicas.

São considerados óleos por serem, geralmente, líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente; por apresentarem volatilidade, recebem ainda o nome óleos voláteis; e são chamados de essências, devido ao aroma agradável e intenso da maioria de seus representantes. A denominação óleos etéreos é referente ao fato dos mesmos serem solúveis em solventes orgânicos apolares, como o éter. Outras características que podem ser identificadas nos óleos essenciais são: sabor: geralmente acre (ácido) e picante; cor: quando recentemente extraídos, os óleos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; poucos são aqueles que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila, que tem coloração azulada; estabilidade: normalmente os óleos essenciais são instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais; a maioria dos óleos essenciais possui índice de refração e são opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle da qualidade. Uma gama bastante ampla de constituintes

químicos pode ser identificada nos óleos essenciais, havendo referências da presença de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, etc (VITTI & BRITO, 2003).

Entre os constituintes do óleo essencial, alguns apresentam maior concentração, e são conhecidos como componentes principais. Aqueles que se apresentam em baixíssimas concentrações são conhecidos por componente traço. Como exemplo, temos o 1,8-cineol ou eucaliptol, que é o componente principal do óleo de *Eucalyptus globulus*, apresentando concentração média de 80 %. No entanto, este componente também está presente no óleo de bergamota como componente traço, com concentração em torno de 0,002 %. O componente principal é o constituinte desejado e o fator pelo qual ocorre a exploração econômica das plantas produtoras de óleo. Os óleos das folhas de eucalipto são formados por uma complexa mistura de componentes, envolvendo de 50 a 100 ou até mais compostos orgânicos voláteis, dentre os quais se destacam hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres (DORAN, 1991).

De acordo com Simões & Spitzer (1999), os óleos essenciais são geralmente produzidos por estruturas secretoras especializadas, tais como: pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas específicas. Tais estruturas podem estar localizadas em algumas partes específicas ou em toda a planta. Assim, podemos encontrar os óleos essenciais: na parte aérea, como na menta; nas flores, como é o caso da rosa e do jasmim; nas folhas, como ocorre nos eucaliptos e no capim limão; nos frutos, como na laranja e no limão; na madeira, como no sândalo e no pau-rosa; nas cascas do caule, como ocorre nas canelas; nas raízes, como se observa no vetiver; nos rizomas, como no gengibre; nas sementes, como na noz moscada. Os autores comentam ainda que os óleos essenciais obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, caracteres físico-químicos e odores distintos. Os óleos essenciais provenientes do eucalipto ocorrem, principalmente, nas folhas, onde são produzidos em pequenas cavidades globulares, chamadas glândulas. Estas se encontram distribuídas em todo parênquima foliar da maioria das espécies de eucalipto. Em algumas espécies, estas glândulas podem ser visualizadas como pequenos pontos translúcidos quando a folha é observada contra a luz. A origem biossintética dos óleos essenciais de eucalipto relaciona-se com o seu metabolismo secundário, que não é considerado

como fundamental para a manutenção da vida do organismo, porém, confere às plantas a capacidade de adaptação às condições do meio em que vive. No caso dos eucaliptos, especificamente, as referências são as de que a ocorrência do óleo essencial estaria relacionada com a defesa da planta contra insetos, resistência ao frio quando no estágio de plântulas, ao efeito alelopático e à redução da perda de água, resultados estes que dependem ainda da realização de estudos mais comprobatórios (DORAN, 1991).

## **2.6 Espécies florestais estudadas**

### **2.6.1 Grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride):**

É uma planta florestal nobre com variada utilidade. É uma espécie que apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro, porém atualmente se acha bastante descontínua, devido à devastação intensa das matas e à falta de reposição através do reflorestamento (MATTOS & GUARANHA, 1983). Segundo Reitz et al. (1988), face às suas múltiplas aplicações, a grápia deve ser considerada como uma das mais valiosas madeiras do Rio Grande do Sul e, conseqüentemente, merece uma atenção especial nos estudos sobre a viabilidade de seu reflorestamento em larga escala.

### **2.6.2 Timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum* Mor.):**

Conhecida vulgarmente como timbaúva, tamboril, orelha-de-macaco, pau-de-sabão, entre outros. Ocorre no Pará, Maranhão, Piauí até Mato Grosso do Sul, assim como no Rio Grande do Sul (LORENZI, 2002). Suas flores apresentam importância apícola, a estética de sua copa lhe confere uso paisagístico e sua madeira é utilizada para diversos fins. Espécie recomendada para reflorestamentos

e recuperação ambiental, pois a dispersão de suas sementes por roedores, como pacas e cutias, facilita sua disseminação (CARVALHO, 2003).

### 2.6.3 Pinus (*Pinus elliottii* Engelm.):

As duas principais espécies do gênero pinus plantadas na região sul do Brasil, *P. elliottii* Engelm. e *P. taeda* L., tiveram excelente adaptabilidade às condições edafoclimáticas. Com relação à adaptabilidade e comportamento dessas espécies, Ziller (2000) considera que, dentre as espécies do gênero pinus já comprovadas como altamente invasoras em outros países, está pinus *elliottii*, conforme declaração oficial da África do Sul (HENDERSOM, 1995).

Entretanto, o uso e aplicação da madeira do gênero pinus nas últimas três décadas cresceu substancialmente transformando-a em matéria-prima fundamental para movimentar um setor produtivo de relevante importância para a economia brasileira. Segundo Siqueira (2003), as florestas plantadas no Brasil atingem 4,9 milhões de hectares, o que corresponde a 0,9% da cobertura florestal total do país. Na região Sul do Brasil, a área plantada com o gênero pinus é de 1.060.050 hectares, correspondendo a 57,6% da área total, desse gênero, plantada no país (SIQUEIRA, 2003).



### **3 CAPITULO I**

## **QUALIDADE DE SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS TRATADAS COM MACERADO SECO**

### **3.1 INTRODUÇÃO**

Segundo Netto & Faiad (1995) a qualidade sanitária para sementes de espécies florestais é um fator importante na germinação, pois causa perdas através da deterioração, anormalidades e lesões em plântulas. Os fungos são os agentes causais mais importantes, os quais são disseminados através de sementes, e os mesmos permanecendo viáveis por períodos prolongados de tempo, constituem uma fonte primária de inóculo favorecendo a infecção precoce das plântulas. O emprego de tratamento em sementes é bem definido para culturas comerciais principalmente, para as espécies agrônômicas, mas para sementes de espécies florestais arbóreas há necessidade de mais estudos. Fatores como qualidade inicial do lote e as condições do ambiente durante o período do armazenamento influenciam na qualidade sanitária e fisiológica das sementes.

Diversas plantas medicinais foram caracterizadas como fontes naturais de substâncias com potenciais antimicrobianos e fungitóxicos, as quais podem ser utilizadas no controle de fitopatógenos. A importância de se identificar novos agentes de origem vegetal com efeitos fungitóxicos consiste não somente na eficácia dos extratos, que apresentam efeito inibitório significativo sobre o crescimento de fitopatógenos, como também no efeito inofensivo destes agentes ao homem e ao meio ambiente. Neste sentido, este trabalho pode vir a construir uma estratégia alternativa e de baixo custo para o controle de doenças em plantas. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade sanitária e fisiológica das sementes de grápia e pinus, tratadas com macerados secos e armazenadas por 180 dias, sendo avaliadas em três períodos de armazenamento (dois meses, quatro meses e seis meses).

### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.2.1 Local de realização**

O trabalho foi conduzido nas instalações da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) Florestas de Santa Maria/RS, as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca, e as avaliações foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria.

### 3.2.2 Sementes

As sementes utilizadas neste trabalho são provenientes do banco de sementes da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) Florestas, e foram utilizadas duas espécies: grápia (*Apuleia leiocarpa*), safra 2005 e Pinus (*Pinus elliotti*), safra 2006.

### 3.2.3 Coleta e estocagem do material vegetal e preparação dos macerados vegetais secos

Para este experimento foram utilizadas quatro espécies vegetais na produção dos macerados secos, sendo elas: timbó (*Ateleia glazioviana*), hortelã (*Mentha piperita*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) (Figura 1) e cinamomo (*Meleia azedarach*). As folhas dessas espécies foram coletadas e secas em estufa com temperatura média de 30° C, por um período de cinco dias. Após este período foram trituradas em liquidificador até ficarem em forma de pó, permitindo assim a aderência às sementes (quanto menores as partículas melhor a aderência às sementes). Depois de triturados, os macerados secos foram embalados e condicionados em geladeira. As embalagens usadas foram de material escuro, evitando a passagem de luz, o que pode ocasionar a degradação e oxidação do material.



**Figura 1** – Folhas das espécies *Eucalyptus citriodora*, utilizadas na produção de extratos vegetais como destilados, óleos essenciais e macerados secos.

### 3.2.4 Tratamentos

As sementes das diferentes espécies foram submetidas ao tratamento com os macerados secos, em quatro doses diferentes: Dose 1 - sem extrato; Dose 2 – 1,5g de extrato/Kg de semente; dose 3 – 2,0g de extrato/Kg de semente; e Dose 4 – 2,5 g de extrato/Kg de semente. Após os tratamentos, as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca (15°C e 50% UR) e avaliadas aos dois, quatro e seis meses.

Após os períodos de armazenamento as sementes foram submetidas a testes de qualidade fisiológica (germinação) e sanitária (sanidade).

### 3.2.5 Teste de Sanidade

As sementes tratadas e as que não receberam tratamentos com os macerados foram analisadas quanto a sanidade durante o período de armazenamento através do “blotter Test”, onde foram distribuídas em caixas “gerbox” contendo três folhas de papel filtro esterilizado, umedecido em água destilada e esterilizada permanecendo incubadas a 25 °C por sete dias, para o teste foram utilizadas quatro “gerbox” para cada tratamento, contemplando as quatro repetições de 25 sementes.

Após o período de incubação, as sementes foram analisadas quanto á percentagem de colônias de fungos presentes por semente de cada repetição, para este procedimento utilizou-se microscópios estereoscópio e ótico, possibilitando a visualização das estruturas morfológicas (esporos, micélios e hifas) e sua identificação.

### 3.2.6 Teste de Germinação

Para verificar a ação dos extratos nas sementes tratadas durante o período de armazenamento foi realizado o teste de germinação das sementes das duas espécies. Esse teste foi composto de quatro repetições de 25 sementes, totalizando 100 sementes. O teste realizado foi em rolo de papel (RP), composto de três folhas de papel-filtro de 28 x 38 cm, duas debaixo das sementes e uma cobrindo-as, umedecido com água destilada equivalente à 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 1992). As avaliações foram feitas através da contagem das variáveis : plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

### 3.2.7 Delineamento experimental

O experimento seguiu o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), feitos em esquema fatorial, com quatro repetições, 4x3 (4 doses de macerado seco x 3 tempos de armazenagem). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% ( $P \leq 0,05$ ) de significância. O programa estatístico utilizado foi o SANEST (Versão 3.0).

## 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise dos dados foi utilizado um fatorial com dois fatores (armazenamento e doses), como não houve interação significativa para a maioria das variáveis, os dois fatores foram analisados separadamente por comparação de médias, para as duas espécies (pinus e grápia).

### 3.3.1 Espécie *Pinus elliotti*

Incidência de um patógeno num teste de sanidade é a quantidade de sementes infectadas por ele do total de sementes observadas em cada repetição, as

tabelas a seguir mostram, em percentagem, a incidência de cada patógeno, onde os resultados de cada dose referem-se à média das três avaliações nos períodos de armazenamento (dois meses, quatro meses e seis meses).

**Tabela 1** - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de Timbó em sementes de *Pinus elliotti* (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
-----%-----					
D1	99.83 a	1.74 a	0.83 a	1.67 a	4.30 a*
D2	26.27 b	0.66 b	0.33 ab	0.91 a	0.00 b
D3	21.73 c	0.33 b	0.00 b	0.34 a	0.00 b
D4	19.24 c	0.16 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
CV%	1,38	1,46	0,41	0,26	1,14

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Quando observamos a Tabela 1 podemos conferir as médias encontradas para doses utilizando o tratamento com pó de timbó, na primeira coluna contra-se o fungo *Penicillium* sp. , que ocorreu em maior percentagem. Faiad et al (1995) em uma pesquisa no Cerrado, com sementes de espécies nativas foram analisados os fungos que apresentaram ocorrência superior a 25%, os quais foram: *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis sojae*, *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia solani* e *Verticillium* sp. Neste trabalho, *Penicillium* sp. ocorreu em maior incidência (99.832 %) como podemos observar no tratamento testemunha que não recebeu o pó de timbó obtendo diferença significativa dos demais tratamentos. A segunda dose controlou consideravelmente o fungo reduzindo para 26 % de incidência, as doses 3 e 4 não obtiveram diferenças significativas entre elas mas seu controle foi mais eficiente que a dose 2. Os fungos *Fusarium* sp. , *Cladosporium* sp. , *Alternaria* sp. e *Rhizopus* sp. ocorreram em baixa incidência, sendo que todos eles foram controlados razoavelmente pelo pó de timbó. No caso do *Rhizopus* sp.,o controle foi de 100% e no caso de *Alternaria* apenas a dose 4 foi significativa, as outras doses se equivaleram à testemunha que não recebeu tratamento. Santos & Pascholati (1996), utilizando folhas secas de *Lippia alba* em contato com suspensão de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* inibiram a formação de apressórios do fungo.

**Tabela 2** - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de eucalipto em sementes de *Pinus elliotti* (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
-----%-----					
D1	100.00 a	2.08 a	0.99 a	0.91 a	4.13 a*
D2	97.02 a	0.83 b	0.08 b	0.83 ab	0.24 b
D3	61.98 b	0.33 b	0.00 b	0.08 bc	0,00 b
D4	56.22 b	0.16 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b
CV%	8,52	0,41	0,38	0,36	1,08

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Na Tabela 2, onde as sementes foram tratadas com macerado de eucalipto, observamos que o controle foi menos significativo no controle do *Penicillium* sp. comparado ao tratamento anterior com macerado de timbó, na Tabela 1, sendo que com extrato de eucalipto não houve diferença significativa entre o tratamento testemunha e a primeira dose. Já as doses 3 e 4 foram significativas, não havendo diferenças entre elas. Os demais fungos ocorreram em baixa incidência, no caso do *Fusarium* sp. que houve uma redução de 50% em comparação a testemunha, no controle de *Fusarium* sp. as doses 2, 3 e 4 não diferiram entre si, apenas diferiram da dose 1 (tratamento testemunha). Para os demais fungos, mesmo ocorrendo com baixa incidência, o extrato não diferiu quanto as suas doses, mas diferiu significativamente do tratamento testemunha sem a ação do extrato. Dentre os gêneros que podem se comportar como fitopatogênicos, estão as espécies de *Fusarium* sp. (CARVALHO & MUCHOVEJ, 1991). Patógenos como estes podem ser responsáveis por grande variação existente na germinação de sementes (MACHADO, 1988).



**Tabela 3** - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de cinamomo em sementes de *Pinus elliotti* (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
-----%-----					
D1	100.00 a	2.16 a	1.41 a	1.16 a	3.46 a*
D2	23.07 b	1.83 ab	0.08 b	0.00 b	0.00 b
D3	22.41 b	0.83 bc	0.08 b	0.00 b	0.00 b
D4	22.32 b	0.58 c	0.00 b	0.00 b	0.00 b
CV%	0,74	0,50	0,28	0,17	1,01

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

O tratamento com macerado de cinamomo, foi eficiente no controle de todos os fungos, controlando com grande eficiência *Penicillium* sp., o qual ocorreu em 100% das sementes que não receberam tratamento com extrato (dose 1). Com a utilização do extrato de cinamomo, praticamente, não houve diferença significativa no que se refere as doses, com exceção no controle de *Fusarium* sp. onde as doses 2, 3 e 4 diferiram entre si (Tabela 3). Algumas espécies fúngicas como *Epicoccum purpurences*, *Rhizopus* sp., *Chaetomium* sp., *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. podem ser isoladas a partir de qualquer tipo de semente, sejam de árvores ou de plantas agrônomicas (SANTOS et al., 2000). O gênero *Rhizopus* sp. ocorreu apenas no tratamento testemunha, e o extrato de cinamomo foi eficiente no seu controle. Este gênero é problemático quando ocorre nos testes de sementes em laboratório, em razão do seu rápido crescimento (CARVALHO & MUCHOVEJ, 1991), enquanto os demais fungos ficam localizados sobre as sementes, esse fungo se espalha, podendo, portanto, mascarar a presença de outros fungos.

**Tabela 4** - Médias de incidência de fungos para o fator doses, utilizando macerado seco de hortelã em sementes de *Pinus elliotti* (pinus), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
-----%-----					
D1	99.66 a	1.91 a	1.16 a	1.49 a	3.88 a*
D2	17.49 c	0.83 b	0.00 b	0.16 b	0.00 b
D3	80.20 b	0.74 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
D4	99.16 ab	0.66 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
CV%	4,78	0,48	0,26	0,13	0,91

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Os resultados obtidos do tratamento com macerado seco de Hortelã foram semelhantes para a maioria dos fungos, todas as doses foram significativas em relação a dose 1 (sem tratamento com extrato), mesmo não diferenciando-se entre si.

A exceção ocorreu no controle de *Penicillium* sp. o qual apresentou maior incidência nas sementes na maior dose utilizada onde podemos observar na Tabela 4, pois neste caso o resultado foi inverso a todos os outros tratamentos e doses, mesmo comparando-o com os tratamentos das tabelas anteriores, pois para *Penicillium* sp. o melhor tratamento foi com a menor dose de extrato e o menos eficiente com a dose 4, sendo a maior dosagem. A contaminação de sementes por espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* ocorre após a colheita das sementes. Enquanto de acordo com Dhingra et al, (1980), as contaminações com *Fusarium* e *Spharopsis* ocorrem durante a formação ou maturação do fruto. Assim, a contaminação por muitos fungos pode ser diminuída mediante cuidados na colheita e no manuseio das sementes.

**Tabela 5** – Médias de incidência de fungos para o fator armazenamento, nas três avaliações durante os seis meses de armazenamento da espécie *Pinus ellioti* (pinus), tratadas com quatro macerados vegetais. Santa Maria – RS. 2006.

Macerado seco de Eucalipto					
Períodos de armazen.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Rhizopus</i> sp.
2 meses	82.94 a	0.80 a	0.24 a	0.24 a	0.97 a*
4 meses	75.38 a	0.93 a	0.24 a	0.43 a	1.11 a
6 meses	76.51 a	0.81 a	0.31 a	0.68 a	1.17 a
CV%	1,38	1,46	0,41	0,26	1,14
Macerado seco de cinamomo					
2 meses	40.09 a	1.30 a	0.18 a	0.18 a	0.10a
4 meses	40.36 a	1.37 a	0.43 a	0.12 a	1.07 a
6 meses	40.06 a	1.32 a	0.56 a	0.56 b	0.37 a
Cv%	0,741	0,50	0,28	0,17	1,01
Macerado seco de Timbó					
2 meses	40.06 a	0.80 a	0.24 a	0.18 a	1,11 a
4 meses	39.73 a	0.68 a	0.31 a	1.69 a	1,20 a
6 meses	40.16 a	0.65 a	0.31 a	0.31 a	0,79 a
Cv%	1,38	1,46	0,41	0,26	1,14
Macerado seco de hortelã					
2 meses	72.20 a	0.87 a	0.24 a	0.18 a	1,10 a
4 meses	74.26 a	0.81 a	0.37 a	0.31 a	0,62 a
6 meses	70.45 a	1.43 a	0.62 a	0.37 a	1,16 a
Cv%	4,78	0,48	0,26	0,13	0,91

Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Quanto ao fator armazenamento, como observamos na Tabela 5, não houve diferença significativa entre os períodos de armazenamento para praticamente nenhum dos macerados. Assim, podemos constatar que neste caso, o tempo de armazenamento não influenciou quanto ao aumento ou diminuição da incidência de fungos encontrados nas sementes de *Pinus ellioti*. Segundo Lucca-filho (1995) as

condições ambientais durante o período de armazenamento e as características do lote de sementes, especialmente o estado físico, teor de água e inóculo inicial, regulam a atividade dos fungos de armazenamento. Neste trabalho apenas *Alternaria* sp. teve a incidência aumentada gradativamente ao passar o período de armazenagem, diferenciando-se significativamente para os outros dois períodos (dois meses e 4 meses) de armazenamento, no tratamento com extrato de cinamomo. Fungos podem reduzir a germinação das sementes, produzirem plantas jovens raquíticas, manchas no hipocótilo e raízes (CHAMBERLAIN & GRAY, 1974).

Os resultados das variáveis de qualidade fisiológica das sementes de *Pinus* tratadas com diferentes macerados secos encontram-se nas Tabelas 6, 7, 8 e 9.

As análises quanto ao fator tempo (períodos de armazenamento) não foram discutidas, pois não houve diferença significativa entre as variáveis das espécies estudadas.

**Tabela 6** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Pinus elliotti* (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de eucalipto. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
D1	44.53 <sup>a</sup>	2.96 c	0.0 a*
D2	39.01 <sup>a</sup>	16.98 a	0.0 a
D3	46.90 <sup>a</sup>	7.79 bc	0.0 a
D4	48.23 <sup>a</sup>	9.15 b	0.0 a
CV%	4.53	2.39	0.0

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\* plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

As doses de eucalipto não interferiram na germinação das plântulas normais como podemos observar na Tabela 6, onde as médias não diferiram significativamente, o que não ocorreu para as plântulas anormais onde as doses diferiram significativamente da Dose 1, onde não havia tratamento. Também ocorreu diferença para a germinação total, a Dose 1, obteve a menor taxa de germinação. Podemos dizer que as doses dos tratamentos não inibiram a germinação das sementes de *Pinus*, ao contrário, mesmo as três doses (D2, D3 e D4) não diferiram entre si, as mesmas aumentaram o percentual de germinação. Não houve ocorrência de sementes mortas com o tratamento com extrato de eucalipto.

**Tabela 7** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Pinus elliotti* (pinus) tratadas com quatro diferentes doses de macerado de timbó. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	44.52 a	0.66 b	1.65 a*
D2	31.85 a	8.56 a	0.99 a
D3	43.58 a	10.93 a	0.99 a
D4	43.01 a	2.30 b	1.31 a
CV%	5.55	2.3 8	1.19

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

Os tratamentos com extrato de timbó não interferiram na germinação das sementes de pinus, como observamos na Tabela 7, onde apenas plântulas anormais obtiveram uma pequena diferença da dose 1, onde não havia tratamento com o extrato. Na germinação total não ocorreu nenhuma diferença significativa. Neste caso, ocorreu a incidência de sementes mortas em pequena percentagem, como nas tabelas anteriores, onde podemos observar que a maior variação ocorre pra as plântulas anormais. Nesta tabela, as Doses 2 e 3 de extrato de timbó para plântulas anormais, apresentam uma razoável percentagem, em comparação a Dose 1 (sem extrato), chegando a 10% na Dose 3.

**Tabela 8** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Pinus elliotti* (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de cinamomo. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	46.94 <sup>a</sup>	2.304b	0.33b*
D2	37.76 <sup>a</sup>	20.20a	0.33b
D3	39.51 <sup>a</sup>	9.28b	1.99 <sup>a</sup>
D4	43.4 <sup>a</sup>	8.56b	0.33b
CV%	5.804	4.380	0.717

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

As sementes de pinus tratadas com extrato de cinamomo não diferiram significativamente para variável PN (plântulas normais), para esta variável não houve diferença quanto ao fator dose, em PA a germinação, ocorreu uma pequena diferença, como já havia ocorrido para as doses de extratos anteriores, para as

plântulas anormais, que mais uma vez as doses interferiram significativamente como mostra a Tabela 8 , onde a Dose 2 obteve uma taxa de 20% de plântula anormais.

**Tabela 9** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Pinus elliotti* (pinus) tratadas com quatro doses diferentes de macerado de hortelã. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	42.02 a	0.66 a	0.98 a*
D2	45.22 a	8.43 a	0.33 a
D3	47.80 a	7.52 a	0.99 a
D4	54.80 a	7.92 a	0.00 a
CV%	4.323	3.571	0.819

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

O macerado de hortelã não interferiu nas variáveis, plântulas normais, anormais e mortas das sementes de pinus, como mostra a Tabela 9 apenas a germinação total foi afetada, as doses 2, 3 e 4 pouco diferiram entre si, contudo diferiram das sementes que receberam a dose 1 (sem extrato), esta com menor percentagem de germinação. Neste caso as sementes que receberam extrato obtiveram maior percentagem de germinação.

### 3.3.2 Espécie *Apuleia leiocarpa* (grápia)

**Tabela 10** - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de cinamomo em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Trichoderma sp.</i>
	-----%-----				
D1	48.63 a	21.31 a	10.63 a	10.32 a	22.26 a*
D2	20.65 b	8.98 c	3.99 b	1.32 b	0.00 b
D3	7.98 c	8.65 c	5.56 ab	1.16 b	0.00 b
D4	11.98 c	16.31 b	1.99 b	1.32 b	0.00 b
CV%	0.69	0.53	0.58	0.40	0.73

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

*Penicillium* sp. foi o fungo que ocorreu em maior percentagem como podemos observar na Tabela 10, na dosagem 1 (dose 0), seguido do *Aspergillus* sp. Os fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. também foram verificados em sementes de outras essências florestais no Brasil (CARNEIRO, 1987; PIÑA-RODRIGUES, 1988). De acordo com Oliveira et al., (1997) estes fungos quando associados às sementes de milho além de aumentarem sua incidência com período de armazenamento, também podem causar redução no percentual de germinação. As doses 3 e 4 foram eficientes no controle de *Penicillium* sp. não diferindo estatisticamente. O macerado seco de cinamomo foi eficiente no controle de todos os fungos, para todas as doses testadas a incidência foi reduzida em mais de 50 % para a maioria dos fungos. A Dose 3 foi a mais eficiente no controle dos principais fungos associados as sementes de grápia.

**Tabela 11** - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de timbó em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
	-----%-----				
D1	22.99 a	47.60 a	12.96 a	11.29 a	5.12 a*
D2	10.64 b	23.58 b	5.32 b	2.98 b	2.66 b
D3	9.64 bc	12.30 c	3.66 b	0.00 b	1.32 b
D4	5.66 c	10.32 c	4.98 b	0.00 b	0.00 b
CV%	0.50	1.02	0.56	0.60	1.23

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Os fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. incidiram em maior percentagem, e foram controlados pelas maiores doses (3 e 4) como mostra na Tabela 11. O extrato de timbó foi eficiente para o controle de todos os fungos associados as sementes de grápia. Todas as doses (2, 3 e 4) diferiram estatisticamente da dose 1 que não recebeu tratamento com extrato de timbó.

Os fungos que atacam as sementes de espécies florestais não têm recebido a devida atenção ao longo dos anos, conseqüentemente, há desconhecimento sobre os mecanismos de transmissão, método de penetração na semente, modos de ação e danos causados pelos mesmos (SINGH, 1997).

**Tabela 12** - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de hortelã sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
-----&-----					
%					
D1	99 a	1.3 a	1.97 a	28 a	16 a*
D2	98 b	.3 c	.98 b	28 b	.00 b
D3	40 a	30 b	.65 b	56 b	.00 b
D4	98 b	30 bc	.32 b	28 b	.00 b
CV%	.42	.82	0.58	51	1.24

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

É reconhecido que hortelã e plantas do gênero *Capsicum*, o mesmo da pimenta, apresentam propriedades antimicrobianas (Wilson et al., 1997). Podemos conferir a eficiência do extrato de hortelã quando observamos a Tabela 12, onde o extrato controla a maioria dos fungos, no controle de *Aspergillus* sp. mesmo a dose 2 (menor dose) não difere estatisticamente da dose 4(maior dose) no controle do fungo *Aspergillus* sp. No trabalho conduzido por Wilson et al. (1997) com o fungo *Botrytis cinerea* foi demonstrado que os extratos obtidos de plantas do gênero *Capsicum* foram aqueles que apresentaram os maiores índices de atividade antifúngica. Neste mesmo trabalho, o extrato de hortelã também foi apontado como tendo efeito inibitório moderado sobre a germinação de esporos deste mesmo fungo.

**Tabela 13** - Médias em percentagem encontradas para o fator doses, utilizando macerado seco de eucalipto em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia), durante as avaliações nos seis meses de armazenamento. Santa Maria - RS, 2006.

Doses	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
-----&-----					
D1	22.65 a	49.60 a	11.64 a	8.98 a	21.55 a*
D2	12.62 b	39.62 ab	5.27 ab	4.98 ab	5.32 b
D3	9.64 b	33.28 bc	3.65 b	3.65 b	3.31 b
D4	7.32 b	29.23 c	3.32 b	2.66 b	1.98b
CV%	0.71	1.05	0.84	0.54	1.06

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Observamos que o *Penicillium* sp. (Tabela 13), apresentou maior percentual de incidência em relação ao tratamento testemunha (dose 1). Segundo Christensen



(1973), o *Penicillium* sp. é considerado fungo de armazenamento e a sua incidência pode aumentar durante o mesmo. O extrato de eucalipto não foi muito eficiente no controle de *Penicillium*, mesmo as doses diferirem estatisticamente, a incidência continuou alta. O mesmo não aconteceu para o controle de *Aspergillus* sp. onde o macerado seco de eucalipto foi eficiente, também podemos observar que suas doses não diferiram entre si .

**Tabelas 14** – Médias em porcentagem, encontradas para o fator armazenamento nos três períodos avaliados (dois meses, quatro meses e seis meses), tratadas com quatro macerados (cinamomo, eucalipto, hortelã e timbó). Santa Maria-RS, 2006.

Macerado de Cinamomo					
Armaz.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
2meses	14.21 a	21.34 a	3.98 a	6.20 a	6.16 a*
4meses	13.22 a	22.07 a	4.73 a	4.48 a	5.43 a
6meses	13.97 a	22.72 a	4.48 a	6.37 a	5.28 a
Cv%	0.69	0.53	0.58	0.40	0.73
Macerado de timbó					
2meses	13.26 a	20.86 a	9.7 a	4.20 a	5.94 a
4meses	11.44ab	22.22 a	5.73 b	3.20 a	7.11 a
6meses	10.68 b	26.86 a	4.74 b	3.45 a	6.17 a
Cv%	0.50	1.02	0.56	0.60	1.23
Macerado de hortelã					
2meses	12.20 a	25.63 a	6.47 a	3.48 a	4.74 a
4meses	15.96 a	24.24 a	5.84 a	7.96 a	6.00 a
6meses	15.96 a	27.63 a	7.22 a	6.21 a	4.74 a
Cv%	0.42	0.82	0.58	0.61	1.24
Macerado de eucalipto					
2meses	13.35 a	40.92 a	5.72 a	4.232 a	10.19 a
4meses	13.20 a	37.32 a	7.44 a	5.732 a	5.92 a
6meses	12.96 a	34.08 a	4.72 a	5.236 a	7.85 a
Cv%	0.71	1.05	0.84	0.54	1.06

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Para o fator período de armazenamento, não houve diferença significativa entre os tratamentos para a maioria das variáveis, ou seja, o tempo de armazenamento não interferiu no percentual de fungos associados às sementes, conforme dados da Tabela 14. Os fitopatógenos podem estar associados às sementes na sua superfície, no seu interior ou em mistura. Eles se apresentam nas mais variadas formas de propagação, desde o esporo até estruturas de resistência

(os escleródios), micélios, e outras estruturas específicas dos diversos grupos de fungos, bactérias, nematóides e vírus (CAMPACCI & PESSANHA, 1970).

Os resultados das variáveis referentes à qualidade fisiológica das sementes de grápia, submetidas à tratamentos com diferentes macerados secos e armazenados por seis meses encontram-se nas tabelas à seguir:

As análises quanto ao fator tempo (períodos de armazenamento) não foram discutidas, pois não houve diferença significativa entre as variáveis das espécies estudadas.

**Tabela 15** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de eucalipto. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	22.28 ab	0.99 a	29.84 a*
D2	19.78 b	0.66 a	17.53 b
D3	32.03 a	0.99 a	18.51 b
D4	21.82 ab	1.32 a	22.82 ab
CV%	3.785	0.958	3.907

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

A maioria dos tratamentos com extrato de eucalipto não interferiram na germinação das sementes de grápia. Para plantas normais o tratamento D3 destacou-se por obter uma percentagem superior de germinação em comparação aos outros tratamentos, como vemos na Tabela 15. A interferência dos patógenos associados às sementes no armazenamento, pode promover redução da população de plantas, debilitação das plantas e desenvolvimento de epidemias, se os fungos não forem eliminados durante a armazenagem (MENTEN, 1991).

**Tabela 16** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de timbó. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	22.36 a	0.00 a	30.45 a*
D2	23.52 a	0.00 a	32.34 a
D3	24.50 a	0.00 a	31.22 a
D4	26.44 a	0.00 a	24.17 a
CV%	4.43	0.00	4.11

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

Na Tabela 11, podemos observar que as doses com extratos de timbó não diferiram significativamente em nenhuma variável estudada, ou seja, nenhum tratamento interferiu na germinação das sementes de grápia.

Todavia, o sucesso do armazenamento de sementes depende do conhecimento sobre o comportamento destas durante este processo, o que possibilita a utilização de condições adequadas para a manutenção da viabilidade (HONG & ELLIS, 1996).

**Tabela 17** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia) tratadas com quatro doses diferentes de macerados secos de cinamomo. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	22.57 a	0,33 a	34.55 a*
D2	29.10 a	0,00 a	31.39 ab
D3	25.87 a	0,00 a	30.39 ab
D4	27.48 a	4.70 a	19.73 b
CV%	3.934	2.872	5.36

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

A germinação das sementes de grápia como consta na Tabela 17, não teve interferência pelas doses do macerado seco de cinamomo, apenas as sementes mortas deferiram significativamente. Chama a atenção para a grande percentagem de sementes mortas, superando até mesmo a GT (germinação total), existem sementes sensíveis à dessecação, que não sobrevivem com baixos níveis de

umidade, o que impede o seu armazenamento por longo prazo (ROBERTS, 1973). O que poderia causar uma porcentagem elevada de sementes mortas.

**Tabela 18** – Média das variáveis de qualidade fisiológica obtidas para o fator dose, durante os seis meses de armazenamento em sementes de grápia tratadas com quatro doses diferentes de macerados de hortelã. Santa Maria – RS. 2006.

DOSES	PN	PA	PM**
	-----%-----		
D1	21.25 b	1.31 ab	33.10 a*
D2	18.18 b	2.97 a	33.49 a
D3	24.58 b	0.0 b	21.54 b
D4	35.93 a	1.32 ab	23.19 ab
CV%	2.69	1.25	4.06

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

\*\*plantas normais(PN), plantas anormais(PA) e plantas mortas(PM).

A Tabela 18 descreve os resultados obtidos pelas doses de extrato de hortelã, para plântulas normais. Apenas a Dose quatro interferiu na germinação, obtendo a maior taxa de germinação (35.93%). Santos et al. (1997) observaram a presença dos fungos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Chaetomium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp. em sementes, e que os mesmos interferiram na germinação sendo que o *Phomopsis* sp. causou maiores perdas na germinação.

### 3.4 CONCLUSÕES

- O uso do macerado seco, de uma forma geral, reduz a incidência de fungos em sementes de espécies florestais;
- A maioria dos tratamentos com extratos secos não interferiram na germinação das sementes das espécies estudadas;
- O tempo de armazenamento não interferiu na qualidade das sementes das espécies testadas.

## **4 CAPÍTULO II**

**DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE SANITÁRIO DE  
SEMENTES DE ESPÉCIES FLORESTAIS UTILIZANDO EXTRATOS  
VEGETAIS SOB DIFERENTES FORMAS (EXTRATO BRUTO,  
MACERADO SECO, DESTILADOS E ÓLEOS ESSENCIAIS  
DE PLANTAS).**

## 4.1 INTRODUÇÃO

Os fungos em sementes florestais são responsáveis por consideráveis perdas como: apodrecimento, morte de plântulas, diminuição da germinação entre outros problemas de importância. Para reduzir os prejuízos, métodos físicos, químicos e biológicos vêm sendo empregados, visando o controle deste grupo de doenças. Os métodos físico e biológico se constituem em alternativas viáveis e desejáveis em relação ao químico tradicional, principalmente em função de não deixarem resíduos tóxicos nas sementes tratadas. Ainda, o emprego dos chamados fungicidas naturais aparecem como mais uma opção ao uso dos fungicidas sintéticos, em termos de eficiência de controle. Atualmente uma das alternativas pesquisadas envolve o uso de extratos vegetais, buscando explorar suas propriedades fungitóxicas. A literatura tem registrado a eficiência de extratos, obtidos de uma gama enorme de espécies botânicas, em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica. Tendo em vista a propriedade inibitória de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos patogênicos e a importância destes fungos como agentes produtores de doenças, o presente trabalho teve por objetivo avaliar “*in vitro*”, através de testes de sanidade, o efeito de três extratos de plantas sob diferentes formas de extração e de um bioprotetor sobre o crescimento de fungos em sementes, como uma possível alternativa para o controle destes fungos.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Local de realização

O trabalho foi conduzido nas instalações do Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria.

#### 4.2.2 Sementes

As sementes utilizadas neste trabalho foram obtidas do banco de sementes da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) Florestas de Santa Maria/RS, foram utilizadas duas espécies nativas: grápia (*Apuleia leiocarpa*) e timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*) e uma exótica: Pinus (*Pinus elliotti*).

#### 4.2.3 Coleta e estocagem do material vegetal e preparação de extratos vegetais

As coletas foram efetuadas durante todo o período de realização dos experimentos visando utilização imediata dos extratos vegetais. Em função dos objetivos do projeto, foram utilizadas plantas frescas, utilizando-se apenas a parte foliar. Estas foram imediatamente processadas ou estocadas em congelador, quando não foi possível a utilização imediata. Folhas frescas, colhidas entre 12 e 15 horas, foram descontaminadas com 0,5% de hipoclorito de sódio por um minuto e após, lavadas abundantemente em água potável.

Para a utilização imediata, folhas frescas foram moídas em liquidificador doméstico, por dois minutos e coadas em tecido de algodão esterilizado. Para estocagem, o material intacto foi congelado, visando diminuir o processo de oxidação, provavelmente facilitado em material moído.

Da moagem e material imediatamente coado, resultaram os extratos vegetais brutos, estes foram, respectivamente, estocados no escuro, a 20°C, e no refrigerador a + 3°C, quando, no máximo, uma semana antes da utilização.

#### 4.2.4 Obtenção de óleos essenciais e destilados

Os óleos essenciais e os destilados foram obtidos a partir de destilação, a qual foi realizada a partir da montagem de um destilador, utilizando-se material

alternativo, combinados com mangueiras especiais, resistentes ao calor, acopladas a um condensador de vidro. Assim, o conjunto destilador, constituiu-se numa panela de pressão doméstica de cinco litros (balão receptor), uma mangueira condutora do vapor, um condensador, mangueiras condutoras de água para resfriamento do condensador e um balão coletor de vidro de 1000 mL.

O método de destilação empregado foi então uma combinação de destilação a vapor com hidrodestilação. Na panela, de pressão foram colocadas 750 gramas de folhas frescas, com 1,5 litros de água. Como as folhas preenchem totalmente o recipiente, a água entra em contato apenas parcialmente (aproximadamente 1/2), *com as folhas, combinando então os dois métodos de destilação. Os óleos essenciais foram obtidos, resgatando-se material sobrenadante e os destilados do restante da destilação. Em média para cada 750 gramas de material vivo (folhas), extraia-se 2 ml de óleo, os quais eram retirados com pipetas.*

#### 4.2.5 Obtenção dos extratos brutos e macerados secos

Para a obtenção dos extratos brutos, foram utilizadas folhas das três espécies selecionadas para *produzir os extratos: citronela (Cymbopogon winterianus), eucalipto (Eucalyptus citriodora) e hortelã (Mentha piperita), as quais serão trituradas (por 2 minutos no liquidificador) e maceradas. Os homogenatos foram filtrados em funil de vidro com papel filtro, após a filtração foram colocados em Erlenmeyers e vedados com papel ceda e papel alumínio, permaneceram condicionados sob refrigeração à 4°C por no máximo uma semana.*

Para a preparação dos macerados vegetais secos foram utilizadas três espécies vegetais na produção dos extratos, sendo elas: citronela (*Cymbopogon winterianus*), eucalipto (*eucalyptus citriodora*) e hortelã (*Mentha piperita*). As folhas dessas espécies foram coletadas e secas em estufa com temperatura média de 30° C, por um período de cinco dias. Após este período foram trituradas em liquidificador até ficarem em forma de pó, permitindo assim a aderência às sementes (quanto menores as partículas melhor a aderência às sementes). Depois de triturados os extratos foram embalados e mantidos em geladeira. As embalagens usadas foram de material escuro, evitando a passagem de luz, o que pode ocasionar a



degradação e oxidação do material.

#### 4.2.6 Obtenção do fungo *Trichoderma* sp.

O fungo foi utilizado em forma de pó e na forma líquida, utilizando marcas disponíveis no mercado. Utilizou-se a dose recomendada pelo fabricante de 250g/60Kg de semente. No formulado em pó, a concentração é de  $10^6$  esporos/g de *Trichoderma* spp, enquanto que no formulado líquido a concentração é de  $10^9$  esporos/ml de formulado.

#### 4.2.7 Tratamentos das sementes

Para cada tratamento foram utilizadas 100 sementes de cada espécie, contendo quatro repetições de 25 sementes cada. As sementes foram colocadas em placas de Petri, onde receberam os tratamentos com os extratos e misturadas homogeneamente para que todas as sementes recebam o tratamento. Foram estipulados tempos de exposição uniforme para todas as sementes, tempos estes suficientes para absorverem os extratos uniformemente, o tempo estipulado foi cinco minutos, e no caso dos extratos secos, até que estes tenham recoberto toda a espermosfera.

Foram utilizadas três espécies vegetais para os tratamentos: citronela (*Cymbopogon winterianus*); eucalipto (*Eucalyptus citriodora*); e hortelã (*Mentha piperita*), para os dois experimentos.

No experimento I, as sementes das três espécies foram submetidas aos tratamentos com extratos vegetais obtidos: eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), hortelã (*Mentha piperita*), e citronela (*Cymbopogon winterianos*). De cada espécie foi extraído o extrato bruto, extrato seco, destilado e óleo essencial.

No experimento II, as sementes das três espécies foram submetidas aos seguintes tratamentos: extratos vegetais obtidos de três espécies vegetais (eucalipto (*eucalyptus citriodora*), hortelã (*Mentha piperita*), e citronela (*Cymbopogon*

*winterianos*) sob duas formas de extração (destilado e óleo essencial); controle biológico através do fungo *Trichoderma* spp. sob duas formas (pó e líquido); e o controle químico com Thiran. %. Os extratos em forma líquida foram utilizados com doses de 3 mL/1Kg de sementes. Os macerados secos e o *Trichoderma* em forma de pó foram utilizados com 2,0g/1Kg de semente. Os destilados e óleos foram utilizados como foram extraídos, sem diluição.

#### 4.2.8 Avaliações

As sementes tratadas foram testadas e analisadas quanto a sanidade através do “Blotter-Test”, onde foram distribuídas em caixas “gerbox” contendo três folhas de papel filtro(esterilizado) umedecido em água destilada e esterilizada permanecendo incubadas a 25 °C por sete dias, para o teste serão utilizadas quatro “gerbox” para cada tratamento, contemplando as quatro repetições de 25 sementes.

Após o período de incubação, as sementes foram analisadas quanto á percentagem de colônias de fungos presentes por semente de cada repetição, para este procedimento é necessário microscópio estereoscópio e ótico, possibilitando a visualização das estruturas morfológicas dos fungos (esporos, micélios e hifas) e sua identificação.

#### 4.2.9 Delineamento experimental

-Experimento I: O experimento seguiu o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), feitos em esquema bifatorial, com quatro repetições, 5x3 (5 formas de extração x 3 espécies de fungos). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% ( $P \leq 0,05$ ) de significância. O programa estatístico utilizado foi o SANEST (Versão 3.0).

-Experimento II: O experimento seguiu o delineamento blocos ao acaso (dcc), feitos em esquema unifatorial com apenas um fator (produtos utilizados nos tratamentos).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o SANEST (Versão 3.0).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 Experimento I:

Para a maioria das variáveis das três espécies florestais, não houve interação significativa entre os dois fatores, portanto, cada efeito foi analisado por comparação de médias.

As tabelas referidas ao fator espécie não serão descritas, pois não houve interação significativa para as variáveis das espécies Timbaúva e Grápia, com exceção na espécie *Pinus elliotti*, onde houve interação significativa para a variável representada pelo fungo *Penicillium* sp., entre os fatores.

Entre os patógenos fúngicos que atacam sementes, predominam os deuteromicetos, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Diplodia* e *Cladosporium*. Esses fungos são favorecidos quando o teor de umidade da semente está em torno de 25% (BEDENDO, 1995).

**Tabela 19** – Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (timbaúva) tratadas com extratos de três espécies vegetais. Santa Maria – RS, 2006.

Forma	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
	-----%-----		
Controle	25.35 a	21.45 a	29.50 a*
Pó	20.48 a	12.22 ab	11.96 b
Destilado	16.63 a	5.98 bc	12.24 b
Bruto	12.24 ab	8.96 bc	14.26 b
Óleo	0.65 b	0.0 c	2.29 c
Cv%	5.32	4.02	2.87

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Na Tabela 19, é notável a eficiência dos óleos essenciais comparados às outras formas, mesmo que para os fungos *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. as outras formas tenham apresentado resultados eficientes comparados ao tratamento controle, o qual não recebeu nenhuma forma de extrato. Wang et al. (2001) testaram 88 plantas bioativas utilizadas na medicina chinesa e, dentre elas, 31 espécies inibiram completamente a germinação dos esporângios de *P. infestans*, 32 espécies inibiram 100% o crescimento micelial deste fungo. Entre as espécies testadas, estavam: hortelã, erva-doce, pega-pega, onze-horas e outras. Nota-se que a variável *Fusarium* sp. foi controlada em 100% pelos óleos essenciais. Entre os patógenos fúngicos que atacam sementes, predominam os deuteromicetos, principalmente as espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Diplodia* e *Cladosporium*. Esses fungos são favorecidos quando o teor de umidade da semente está em torno de 25% (BEDENDO, 1995).

**Tabela 20** - Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia) tratadas com extratos de três espécies vegetais, sob quatro formas de extrato. Santa Maria – RS, 2006.

Forma	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rizhopus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
Controle	18.78 ab	9.65 a	17.92a	39.92 a*
Pó	24.84 a	9.70 a	0.00 b	14.46 bc
Destilado	25.34 a	6.94 a	0.00 b	14.94 b
Bruto	11.98 b	6.30 a	0.00 b	16.29 b
Óleo	10.41 b	0.66 b	0.00 b	8.95 c
CV%	3.66	2.87	5.26	2.15

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

As sementes de grápia foram colonizadas por quatro patógenos, sendo que o fungo *Rizhopus* sp. ocorreu apenas no tratamento controle. Na Tabela 20, pode-se observar que as maiores colonizações foram dos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., porém os mesmos foram controlados pelos óleos essenciais. Bernardo et al. (1998) verificaram que houve inibição de 100% na germinação e no crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola* na presença dos óleos essenciais de manjeriço, carqueja e arruda.

Em estudos realizados por Stein et al. (1997) para identificação de fungos associados às sementes de 17 espécies florestais nativas da Amazônia, foram detectados, com maior frequência, os fungos *Botryodiplodia* sp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., em mogno (*Swietenia macrophylla*); *Botryodiplodia* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., e *Pestalotia* sp.. Algumas espécies de *Fusarium* têm sido relatadas causando tombamento em pré ou pós-emergência de plântulas de espécies florestais, sendo problema comum em sementes dessas espécies (FERREIRA, 1989). *Fusarium moniliforme* afeta também, tanto as sementes como as plântulas recém emergidas de algaroba (*Prosopis juliflora*) e timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), conforme Maschio et al. (1990).

**Tabela 21** - Resultados em percentagem pelo fator forma, de incidência de patógenos fúngicos em sementes de *Pinus elliotti* (pinus) tratadas com extratos de três espécies vegetais. Santa Maria – RS, 2006.

Forma do extrato	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
	------(%)-----			
Controle	3.98 a	4.97 a	9.31 a	100.0 a*
Pó	0.00 b	0.00 b	6.31 ab	20.58 c
Destilado	0.00 b	0.00 b	2.63 cd	19.97 c
Bruto	0.00 b	0.00 b	5.63 bc	30.86 b
Óleo	0.00 b	0.00 b	0.00 d	4.59 d
Cv%	0.460	0.749	12.48	2.102

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

Em relação ao tratamento testemunha, todas as formas de extrato foram eficientes, pois todas diferiram significativamente da mesma. O fungo *Penicillium* sp. como pode-se observar na Tabela 21, ocorreu com maior incidência, sendo controlado por todas as formas de extratos. O melhor resultado de controle foi obtido com os óleos essenciais onde controlou com grande êxito todos os patógenos. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais já foram testados no controle de *P. infestans*. Avaliaram-se extratos de 88 espécies de plantas, e 19 deles inibiram a formação de zoósporos e o crescimento de *P. infestans in vitro* (WANG et al., 2001).

Com relação à ocorrência do *Cladosporium* sp., na literatura, existem poucas citações sobre a incidência deste patógeno em sementes de espécies florestais, porém, Faiad et al. (1997) relataram 61% de incidência deste fungo nas sementes de imburana (*Commiphora leptophloeos*).

**Tabela 22** – Resultado da interação (forma x espécie) para a variável *Penicillium* sp., em sementes de *Pinus elliotti* (pinus). Santa Maria – RS, 2006.

Forma/espécie	Hortelã	Eucalipto	Citronela	Médias
	------(%)-----			
Testemunha	100.00	100.00	100.0	100.00 a
Ex. Bruto	27.84	28.88	35.92	30.86 b
Ex. em pó	17.95	17.95	25.92	20.58 c
Destilado	18.97	19.98	20.97	19.97 c
Óleo	0.00	9.95	3.94	4.59 d
Médias	30.95 b	33.66 ab	35.50 a	

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.

O fungo *Penicillium* sp. ocorreu em 100% das sementes da espécie de *Pinus elliotti*, sendo este o patógeno mais importante deste lote, o qual foi controlado em com grande eficiência chegando a 100% de controle pelo óleo essencial de hortelã. Este óleo essencial de hortelã foi a melhor forma e também a espécie hortelã foi a melhor comparada as outras espécies, como mostra a Tabela 22.

Vários trabalhos têm mostrado a utilização de óleos essenciais e que os mesmos têm apresentado efeitos sobre fitopatógenos *in vitro* (GUIRALDO et al., 2004; SCHWAN-ESTRADA et al., 2003; ZAMBONELLI et al., 1996), porém, poucos trabalhos haviam mostrado o efeito destes sobre sementes florestais. E, em outro trabalho com óleos essenciais e o extrato da folha de nim (*Azadirachta indica* L.), foram efetivos no controle de pragas, nematóides e de alguns fungos (GOVINDACHARI et al., 1998; CONVENTRY & ALLAN, 2001).



Figura 2 – Detalhes das folhas da espécie hortelã (*Mentha piperita*) utilizada na produção dos destilados e óleos essenciais.

#### 4.3.2 Experimento II:

**Tabela 23** - Resultados do teste de sanidade, em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (timbaúva), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006.

Tratamentos	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rizhopus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
.....(%).....					
Testemunha	6.61 a	25.09	21.45 a	4.97 a	30.87 a*
Dest. citro.	0.99 b	18.95 a	12.92 ab	0.99 b	10.97 bc
Dest. euca.	0.99 b	16.94 abc	9.95 ab	0.0 b	13.92 b
Dest. hort.	0.0 b	16.99 abc	5.99 ab	0.0 b	13.99 b
Óleo citro.	0.0 b	0.99 bc	0.99 b	0.0 b	2.97 bc
Óleo euca.	0.0 b	2.97 bc	0.0 b	0.0 b	4.93 bc
Óleo hort	0.0 b	0.99 bc	0.0 b	0.0 b	1.99 c
Tricho. pó	0.0 b	0.99 bc	0.0 b	0.0 b	4.99 bc
Tricho.	0.0 b	0.0 c	0.0 b	0.0 b	4.99 bc
líqui.					
Thiran	0.0 b	0.0 c	0.99 b	0.0 b	4.97
CV%	1.12	3.60	2.14	0.66	2.45

Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey.



Entre os produtos utilizados e suas formas neste experimento, destacaram-se os óleos essenciais, o controle biológico através do fungo *Trichoderma* spp. e o controle químico, podemos constatar esta afirmação na Tabela 23, onde muitos desses produtos controlaram em 100% a presença de fungos. Um fungo patogênico causador de tombamento de mudas, que foi constatado, é *Fusarium* sp., que afeta tanto as sementes como as plântulas recém emergidas, e este foi observado nas espécies de algaroba (*Prosopis juliflora*) e timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), conforme Maschio et al. (1990).

**Tabela 24** - Resultados em percentagem, da incidência de fitopatógenos associados às sementes de *Pinus elliotti* (pinus), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006.

Tratamentos	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
	.....(%).....			
Testemunha	2.99 a	4.97 a	7.98 a	98.99 a*
Dest. citro.	0.0 a	0.0 a	0.99 b	20.97 b
Dest. euca.	0.0 a	0.0 a	2.97 b	18.99 b
Dest. hort.	0.0 a	0.0 a	0.99 b	18.97 b
Óleo citro.	0.0 a	0.0 a	0.24 b	3.98 c
Óleo euca.	0.0 a	0.0 a	0.99 b	3.98 c
Óleo hort	0.0 a	0.0 a	0.24 b	2.99 c
Tricho. pó	0.0 a	0.0 a	0.99 b	3.99 c
Tricho. líqui.	0.0 a	0.0 a	0.24 b	2.97 c
Thiran	0.0 a	0.0 a	0.00 b	0.99 c
CV%	0.39	0.63	0.90	1.24

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey

As sementes de pinus foram colonizadas, principalmente, por *Penicillium* sp. numa percentagem de 98% na testemunha (sem tratamento), todos os produtos foram eficientes em relação à testemunha, onde os destilados controlaram satisfatoriamente a presença deste fungo apodrecedor. Os óleos essenciais, as duas formas de *Trichoderma*, e o controle químico não diferiram estatisticamente, mas obtiveram os melhores resultados quanto ao controle dos fungos associados às sementes de pinus. A associação de sementes com fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, geralmente ocorre após a colheita, durante o beneficiamento e

armazenamento das sementes (MACHADO, 1988). No controle dos fungos *Alternaria* sp. *Cladosporium* SP. e *Fusarium* sp., os tratamentos não diferiram significativamente.

**Tabela 25** - Resultados em percentagem, da incidência de fitopatógenos associados às sementes de *Apuleia leiocarpa* (grápia), tratadas com diferentes produtos. Santa Maria – RS, 2006.

Tratamentos	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Rizhopus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
.....(%).....				
Testemunha	18.68 ab	9.99 a	18.98 a	39.92 a*
Dest. citro.	30.88 a	3.98 bc	0.0 a	11.98 b
Dest. euca.	31.98 a	5.99 ab	0.0 a	12.97 b
Dest. hort.	29.89 a	1.99 bc	0.0 a	14.97 b
Óleo citro.	13.95 bc	2.97 bc	0.0 a	6.77 b
Óleo euca.	11.98 bc	2.97 bc	0.0 a	5.95 b
Óleo hort	12.94 bc	0.99 bc	0.0 a	5.95 b
Tricho. pó	7.98 bc	0.99 bc	0.0 a	7.98 b
Tricho. líqui.	4.97 bc	0.0 c	0.0 a	8.97 b
Thiran	3.99 c	0.0 c	0.0 a	3.98 b
CV%	2.64	1.18	3.61	2.48

\*Letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste Tukey

Os fungos *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. predominaram percentualmente nas sementes de grápia. Os resultados ilustrados na Tabela 25, mostram o quanto o fungo *Penicillium* foi controlado satisfatoriamente pelos extratos, pelo controle biológico e controle químico. Nenhum tratamento diferiu significativamente do outro, apenas diferiram da testemunha, isto não ocorreu no controle de *Aspergillus* sp., ao contrário, os destilados apresentaram um percentual superior ao da testemunha a qual não havia recebido nenhum tratamento. O controle químico foi o mais eficiente no controle de *Aspergillus* sp., assim como os óleos e as duas formas do *Trichoderma* sp. que não diferiram significativamente. O estudo da associação de fungos encontrados em maior número e frequência sobre sementes e avaliação do seu potencial patogênico é de fundamental importância, pois pode fornecer subsídios para modelos epidemiológicos, produção de mudas e armazenamento de sementes (SANTOS et al., 1997).

#### **4.4 CONCLUSÕES**

- Os diferentes tratamentos, de forma geral, reduzem a incidência de fungos;
- O óleo essencial é a melhor forma de extrato no controle de fitopatógenos, independente das três espécies utilizadas para a sua extração;
- O produto biológico apresenta a mesma eficiência do produto químico.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.; HUBBES, C.; COUTO, L. Effect of phenolic compounds from *Eucalyptus* on the mycelial growth and conidial germination of *Chiphonectria cubensis*. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, n.1, p. 2535-2541, 1982.

BACKER, K. F. Seed Pathology- Concepts and methods of control. **Journal of seed technology**. Mass, v.34, n.2, 67p. 1979.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do sul**: Guia de identificação & interesse ecológico. Santa Cruz do Sul: Instituto Souza Cruz, 154p. 1992.

BAKER, R. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 97-105, 1988.

BARRETO, S. C. **Prática em agricultura orgânica**. 2ed. São Paulo: Ícone, 200p. 1985.

BECKER, A. et al. Controle alternativo das doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.2, p.163-167, 2004.

BEDENDO, I.P. "Damping off". In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p.820-828, 1995.

BELEM, L. F. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais "in vitro" contra cepas de *Malassezia furfur*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.3, p. 77-88, 2003.

BENINI, P.C. et al. Ação do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum* sp., coletados em distintas épocas do ano, sobre *Phytophthora* sp. e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.2, p. 267-271, 1999.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 388p.

BETTIOL, W. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. **Crop Protection**, v.18,n.2, p.489-492.1999.

BETTIOL, W. GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, K. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p.80-96.

BONALDO, S.M. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.5, p.128-134. 2004.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- BRENARDO, R. et al. Fungitoxidade de alguns óleos essenciais contra fungos patogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v. 23, n.3, p.227-232, 1998.
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle de fitopatógenos**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 165p.
- CARNEIRO, J.S. Microflora associada a sementes de essências florestais. *Fitopatologia Brasileira*, v. 11, n.2, p. 557-566, 1986.
- CARNEIRO, J.S. qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paraopeba, MG. *Fitopatologia Brasileira*, v15, n.1, p 75-76, 1990.
- CARNEIRO, J.S. Teste de sanidade em essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.386-394.
- CARNEIRO, S.M.T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nin sobre o oídio do tomateiro. *Summa Phytopathologica*, v. 29, n.3, p.262-265. 2003.
- CARVALHO, N.C.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. 326 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. v.1, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 1039p.
- CARVALHO, W.L.; MUCHOVEJ, J.J. Fungos associados as sementes de essências florestais. *Revista Árvore*, v.15, n.2, p.173-178, 1991.
- CHAMBERLAIN, D. W. ; GRAY, L.E. Germination, seed treatment, and microorganisms in soybean seed produced en Illinois. *Plant Disease Reporter*, v. 58, n.1, p. 50-54, 1974.
- CHRISTENSEN, C. M. Loss of viability in storage microflora. *Seed Science and Technology*, v.1, n.3, p.547-562, 1973.
- CONVENTRY, E. ; ALLAN, E.J. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: new data on antimicrobial activity. *Phytoparasitica*, v. 29, n.3, p.1-10. 2001.
- COOK, R. J. ; BACKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American Phythopatological Society, 1983.539p.
- CRUZ, M. E. S. ; BATISTA, M. A. Eficácia das plantas medicinais *Ocimum basilicum*, *Lavanda officinalis*, *Cymbogom citratus* e *Eucaliptus citriodora* no controle de fungos em sementes. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15. São Paulo, 1998. **Anais...**São Paulo, 1998, p.210-214.

CRUZ, M. E. S. et al. Tratamento de sementes de trigo com plantas medicinais. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.1, p.278.1999.

DAL SOGLIO, F. K. Manejo de doenças na perspectiva da transição agroecológica. In: STADINIK, M. J., TALAMINI (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. 1.ed., Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p. 1-16.

DHINGRA, O. D. et al. Essential oil of mustard to control *Rhizotonia solani* causing seedling damping off and seedling blight in nursery. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.3, p. 683-686, 2004.

DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. **Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing**. 3. ed., Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, H. An intermediate category of seed storage behaviour. **Journal of Experimental Botany**, v.41, n.230, p.1167-1174, 1990.

FAGAN, C. et al. Efeito do extrato bruto de *Laurus nobilis* e *Zingiber officinale* no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.2, p.128-134, 2004.

FAIAD, M., G., R. ; NETTO., D., A., M. Viabilidade e sanidade de sementes de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.17, n. 1, p.75-80, 1995.

FERRACINE, V. L.; MELO, I.S. ; FRIGHETO, R. T. S. Influência de extratos de *Chenopodium ambrosioides* no crescimento micelial e germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n.1, p.149, 1990.

FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F.O. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.440-442. 2003.

FRANZENER, G. et al. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**, v. 25, n.3, p.503-507. 2003.

GHINI, R. ; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GOVINDACHARI, T.R. et al. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**, v. 26, n.2, p.109-116, 1998.

GUIRALDO, N. et al. Controle de doenças em sistema agroecológicos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 153-156, 2004.

HENDERSON, L. **Plant invaders of South Africa – a pocket field guide to the identification of 161 of the most important and potentially important alien species**. Pretoria: Agricultural Research Council, 1995. 177p.

HONG, T.D. ; ELLIS, R.H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55p.

ISMAIL, I. M. K. et al. Bioassay of *Eucalyptus rostrata* leaf extractives on *Sclerotium cepivorum* Berk. **Egypty Journal of Botany**, v.3, n.6, p.109-126, 1989.

JANSSEN, A. M. ; SCHEFFER, J. J. C. ; SVENDSEN, A. B. Antimicrobials activities of essential oils. **Pharmacy Weekb**, v. 9, n.5, p.193-197, 1987.

KE-QIANG, C. ; VAN BRUGGEN, A.H.C. Inhibitory efficacy of several plant extracts and plant products on *Phytophthora infestans*. **Journal of Agricultural University of Hebei**, v.24, n.12, p.108-116. 2001.

KIM, M.K. ; CHOI, G.J. ; LEE, H.S. Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v.51, n. 2, p.1578-1581. 2003.

KIMATI , H ; BERGAMIM FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIM FILHO, A. ; KIMATI, H. ; AMORIN, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos** v1. São Paulo: Ed.Ceres, 1995. p. 692-709.

KIMATI, H.et al. **Guia de fungicidas agrícolas- recomendações por cultura**, v. 1, 2 ed., Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 225p.1997.

KURITA, N. et al. Antifungal activity of components of essential oils. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.45, n.5, p.945-952, 1981.

LEE, S.E. et al. Fungicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, v. 20, n.1, 523-528. 2001.

LUCCA-FILHO, O. A. **Curso de tecnologia de sementes**. Brasília: ABEAS, 1995.53p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 368p.

MACHADO, J. da C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília, Ministério da Educação. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107p.

MENTEN, J.O.M. ; BUENO, J.B. Transmissão de patógenos pelas sementes. In: SOAVE, J. **Patologia de sementes**, Campinas: Fundação Cargill,1987. p.164-89.

MAPA. Portaria do Ministério da Agricultura nº 07, de 17 de maio de 1999. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília DF. n. 94:11-14 Seção 1. 1999.

MARI, M. et al. T. Antifungal vapour-phase activity of allyl-isothiocyanete against *Penicillium expansum* on pears. **Plant Pathology**, v. 51, n.3, p. 231-236, 2002.

MARI, M. et al. **In vitro activity of glucosinolat-derived isothiocinates against postharvest fruit pathogens**. Annals of Applied Biology, v.123, n.12, p.155-164, 1993.

MASCHIO, L. M. de A. ; GAIAD, S.; ANDRADE, F. M. de. **Sobrevivência de fungos endomicorrízicos em solos degradados**. Colombo: Embrapa Florestas, 1997. 36p.

MCLAREN, J.S. **Biologically active substances from higher plants: status end future potential**. Pesticides Science, v.17, n.5, p.559-578, 1986.

MATTOS, N.F. ; GUARANHA, J. **Contribuição ao estudo da grápia (*Apuleia leiocarpa*)**. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis, 1983. 25p.

MELO, I. S. ; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico.v.1**, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente,1998. 264p.

MICHEREFF, S.,J. **Controle biológico de doenças em plantas**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2003, 32p.

MIGUEL, M.D. ; MIGUEL,O.G. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. São Paulo: Probe Editorial, 1999. 116 p.

MISSIO, V. C. et al. Avaliação do potencial fungitóxico do extrato bruto da planta medicinal citronela (*Cymbopogum nordus*) no tratamento de sementes de feijoeiro. **Informativo Abrates**, v.13, n.3, 2003. p.72

MAFFIA,L.A ; MIZOBUTI,E. S.G.. Aplicações de princípios de controle no manejo ecológicos de doenças de plantas. **Informe Agropecuario**, v. 22, n.212, p.9-18, 2001.

MORAIS, S. A. ; SOAVE, J. **Patologia de sementes**. Fundação Cargill: Campinas, 1987, 480p.

NEUMAIER, N. **Tratamento biológico das sementes**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente,1989. 26p.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

PASINI, C. et al. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. **Crop Protection**, v. 16, n.3, p.251-256. 1997.

PINÃ-RODRIGUES, F.C.M. **Manual de Análise de Sementes Florestais**. Fundação Cargill: Campinas, 1986, 225p.



REITZ, R. ; KLEIN, R.M. ; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : Corag, 1988. 525p.

ROBBERS, J. E. ; SPEEDIE, M. K. ; TYLER, V. E. **Farmacognosia-Farmacobiotecnologia**. 1.ed., São Paulo: Editorial Premier,1997, 223p.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technololy**, v.1, n.3, p.499-514, 1973.

RODRIGUES, E. **Atividade antimicrobiana *in vitro*, indução de peroxidase e controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface cultivado organicamente pelo uso de extrato de gengibre**. 2004, 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

SALVADORI, R.K.et al. Atividade antifúngica dos extratos brutos de *Corymbia citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, 2003. p.420 -425.

SANTOS, G. J. C. Potencial de *Trichoderma harzianum* e *T. viride* no controle de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* variabile em sementes de Aroeira do Sertão. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2003, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: Universidade Estadual do Sudoeste Baiano, 2003. p.152

SANTOS, M.M.F.B. & PASCHOLATI, S.F. Efeito de metabólitos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado *Citrus* sp. **Fitopatologia Brasileira**, v.21, n1, 1996, p.323-326.

SCHMIDT, L. F. **Efeito de extratos naturais de origem vegetal sobre esporos de *Desulfotomoculum nigrificans***, 1994, 128 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade de Campinas, Campinas.

SCHWAN, K. R. F. et al. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, 2003, p.324-328.

SCHWAN, K. R. F.et al. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p.346.1997.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. ; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.554-556. 2003.

SILVA, L.H.C.P. **Resistência sistêmica ativada pelo acibenzolar-S-metil contra doenças em tomateiro**.2002, 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, R. A et al. Plantas daninhas medicamentosas de ação fungicida. In: ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 13., São João del Rei. 1999. **Anais...** São João Del Rei, SBQ, 1999. p.225-235.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 1 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS,1999. p.387-416.

SIQUEIRA, J. P. D. **Os conflitos institucionais da gestão florestal no Brasil - um benchmarking entre os principais produtores florestais internacionais**. 2003, 182 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SINGH, G.; SINGH, O.P. ; MAURYA, S. Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian Curcuma species. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v.45, n.1, p.75-81, 2002.

SOAVE, J. ; MORAES, S.A. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V.S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p.192-259.

SOUZA, J. L. **Agricultura orgânica** – Tecnologias para produção de alimentos saudáveis. v.1, Vitória: EMCAPA, 1998. 178p.

STANGARLIN, J. R. Efeito do extrato bruto de *Laurus nobilis* e *Zingiber officinale* no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.3, p.128-134. 2004.

STANGARLIN, J.R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência**, v.11, n.3, p.16-21,1999.

STEIN, R.L.B. ; LEÃO, N.V.M.; CARVALHO, J.E.U. Health testes on native Amazon Forest tree seeds. **ISTA Tree Seed Pathology** , Zurich: ISTA, 1997, 226p

TAIZ, L. ; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 345p.

TEIXEIRA, P. C. **Do herbalismo tribal aos remédios florais do Dr. Bach**. São José do Rio Preto: São José, 1994. 33p.

TEWARI, S.N. ; DATH, A.P. Effect of leaf extract media of some plants on the growth of three fungal pathogens of rice. **Indian Phytopathology**, v. 37, n.6, p. 458-461,1984.

VALARINI,P.J. ; FRIGHENTTO,R.T.S. ; SPADOTTO,C.A. Potencial da erva medicinal *Cymbopogon citratus* no controle de fitopatógenos do feijoeiro. **Revista de Agricultura**, v.69, n.4, p.139-150, 1994.

VALDEBENITO-SANHUESA, R.M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa meio Ambiente, p.303-305,1991.

VITTI, A.M.S. **Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora***. Piracicaba: USP,1999. 65p.

WANG, S et al. Screening of Chinese herbs for the fungitoxicity against *Phytophthora infestans*. **Journal of Agricultural University of Hebei**, v. 24, n.12, p.101-107. 2001.

WHITTAKER, R. W.; FEENY, P. P. Allelochemicals: chemical interactions between species. **Science**, v. 171, n. 39, p. 757-769, 1971.

WILSON, C.L.et al. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, v.81, n.6, p.204-210, 1997.

WILSON, C.L. ; WISNIEWSKI, M.E. **Biological control of postharvest plant diseases of fruits and vegetables**: theory and practice. Boca Raton: CRC Press, 1994. 465p.

ZAMBONELLI, A. et al. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 144, n. 3, p. 491-494, 1996.

ZILLER, S. R. **A Estepe gramineo-lenhosa no segundo planalto do Paraná: diagnóstico ambiental com ênfase a contaminação biológica**. 2000, 177 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.