

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

**MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA:  
QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA E  
TRANSMISSÃO DE *Alternaria alternata* EM  
SEMENTES DE *Lithrea molleoides* E *Senna  
macranthera***

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Graziela Piveta**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2009**

**INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DA  
DORMÊNCIA: QUALIDADE FISIOLÓGICA, SANITÁRIA E  
TRANSMISSÃO DE *Alternaria alternata* EM SEMENTES DE  
*Lithrea molleoides* E *Senna macranthera***

por

**Graziela Piveta**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marlove Fátima Brião Muniz

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**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

**INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA:  
QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA E TRANSMISSÃO DE  
*Alternaria alternata* EM SEMENTES DE *Lithrea molleoides* E *Senna  
macranthera***

elaborada por  
**Graziela Piveta**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Engenharia Florestal.**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

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

**Lia Rejane Silveira Reiniger, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**

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

Santa Maria, 5 de março de 2009.

## DEDICATÓRIA

*À minha família, com muito amor.*

## AGRADECIMENTOS

*A vida é cheia de momentos especiais, momentos estes que só tem esse caráter pelas pessoas inseridas nesse contexto e que dão sentido a uma caminhada. Essas pessoas merecem meu reconhecimento e apreço, em momentos tão especiais de minha vida...*

*Agradeço, primeiramente a Deus que me deu saúde e sabedoria para concluir mais uma etapa importante em minha vida.*

*Aos meus pais, CECÍLIA e QUINTINO, por serem meu alicerce, pela vida que me deram e por me ensinarem a viver com dignidade e honestidade.*

*Ao meu namorado André César Goltz, pelo carinho e apoio indispensável em todos os momentos.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria, pela possibilidade de estudo.*

*A minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> MARLOVE DE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ, pela paciência, disponibilidade e horas cedidas ao meu aprendizado. Aprendizado, este, que levo comigo para toda a vida.*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Floresta, e seus professores, pelo ensino e dedicação para minha formação de Mestre em Engenharia Florestal.*

*Aos meus amigos, ANGELINA TAÍS MIETH, CACIARA GONZATTO MACIEL, CLEIDIONARA PACHECO, JHONATHAN RODRIGUES e MARÍLIA LAZAROTTO, pela valiosa contribuição técnica na montagem dos experimentos e pelas horas de satisfação que me proporcionaram durante todo o curso.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo que me manteve, nesta longa jornada da pesquisa.*

*Enfim, agradeço a todos que me ajudaram, direta ou indiretamente e torceram para que eu pudesse estar concluindo mais esta etapa da vida. Não esquecendo, jamais, que o aprendizado ocorre durante toda a vida e que não sabemos muito, sabemos apenas o suficiente para procurarmos sempre saber mais.*

*“Que sorte tem os atores! Cabe a eles escolher se querem participar de uma tragédia ou de uma comédia, se querem sofrer ou regozijar-se, rir ou derramar lágrimas; isto não acontece na vida real. Quase todos os homens e mulheres são forçados a desempenhar papéis pelos quais não tem a menor propensão. O mundo é um palco, mas os papéis foram mal distribuídos”.*

Oscar Wilde

*“O que parece ruim torna-se uma dádiva... a força interior faz com que as coisas mudem e se adequem a realidade”.*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **MÉTODOS DE SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA: QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA E TRANSMISSÃO DE *Alternaria alternata* EM SEMENTES DE *Lithrea molleoides* E *Senna macranthera*.**

AUTORA: GRAZIELA PIVETA  
ORIENTADORA: MARLOVE DE FÁTIMA BRIÃO MINIZ  
DATA E LOCAL DA DEFESA: SANTA MARIA, 5 DE MARÇO DE 2009.

O presente trabalho, realizado com sementes de *Lithrea molleoides* e *Senna macranthera*, teve o objetivo de determinar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes, através de diferentes testes, e de avaliar a transmissão de *Alternaria alternata* e a sua influência na qualidade sanitária e fisiológica das sementes, após submissão dos métodos de superação da dormência. Foram realizadas avaliações de sanidade, germinação, crescimento de plântulas, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e teste de tetrazólio. As sementes foram submetidas à superação da dormência, por: escarificação ácida por 10, 15, 20 e 25 minutos; imersão em água quente, com temperatura de 70, 80 e 90<sup>o</sup>C, até resfriar por 24 horas; imersão em ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) na concentração de 250 e 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 e 48 horas; imersão em nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), na concentração de 0,2%, por 24 e 48 horas. Foi inoculado nas sementes *A. alternata* pelo método de suspensão de esporos. A suspensão de esporos foi padronizada em 10<sup>4</sup> esporos/ml, com auxílio de câmara de Neubauer. A inoculação das sementes foi realizada através de imersão, por três períodos de tempo (24, 48 e 72 horas). Em seguidas, foram realizados: sanidade, germinação e crescimento de plântulas; no viveiro foi avaliado o índice de velocidade de emergência e a sanidade das mudas. *L. molleoides* apresentou maior percentagem de germinação, quando foi submetida à escarificação ácida, por 20 minutos, e água quente a 70<sup>o</sup>C, e *S. macranthera*, quando utilizou escarificação ácida, por 15 e 20 minutos, e imersão em GA<sub>3</sub> 250 e KNO<sub>3</sub>, por 48 horas. A ocorrência de *A. alternata* nas plântulas indica que esta espécie fúngica pode ser transmitida por sementes para ambas as espécies.

**Palavras-chave:** Inoculação em sementes, Espécies florestais, Fungos.

## ABSTRACT

Master of Science Dissertation  
Graduate Program in Forest Engineering  
Universidade Federal de Santa Maria – RS, Brazil

### **METHODS OF BREAK DORMANCY: PHYSIOLOGICAL QUALITY AND HEALTH AND TRANSMISSION OF *Alternaria alternata* THE SEEDS *Lithrea molleoides* AND *Senna macranthera***

AUTHOR: GRAZIELA PIVETA

ADVISER: MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

LOCATION AND DATE OF PRESENTATION: SANTA MARIA, MARCH, 5 TH, 2009.

*This work was carried out with seeds of *Senna macranthera* and *Lithrea molleoides* objective was to determine the health and physiological quality of seed through different tests and to evaluate the transmission of *Alternaria alternata* and its influence on health and physiological quality of seeds after submission of methods to overcome dormancy. Evaluations of health, germination, seedling growth, accelerated aging, electrical conductivity and tetrazolium test, seeds were submitted to overcome dormancy, by: acid scarification for 10, 15.20 and 25 minutes, soaking in hot water, with temperatures of 70, 80 and 90<sup>0</sup>C to cool for 24 hours, soaking in gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) at concentrations of 250 and 500 mg / l for 24 and 48 hours, immersion in potassium nitrate (KNO<sub>3</sub>), the concentration of 0,2% for 24 and 48 hours. Seed was inoculated in *A. alternata* by the method of suspension of spores. The suspension of spores was standardized at 10<sup>4</sup> spores/ml using a Neubauer chamber. The inoculation of seeds was performed by immersion for three time periods (24, 48 and 72 hours). Then were made: health, germination and growth of seedlings, the nursery was evaluated the rate of speed of emergence and seedling health. *L. molleoides* showed higher percentage of germination when it was subjected to scarification acid for 20 minutes and hot water at 70<sup>0</sup>C, and when used *S. macranthera* acid scarification for 15 and 20 minutes and soaking in GA<sub>3</sub> 250 and KNO<sub>3</sub> for 48 hours. The occurrence of *A. alternata* in seedlings, indicates that this fungus can be transmitted by seed for both species.*

**Keywords:** Inoculation of seeds, Forest, Fungi.



## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Incidência de fungos associados às sementes de *Lithrea molleoides* submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e tempo de inoculação; Testemunha (A); água quente a 70°C (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas (E); imersão em nitrato de potássio por 24 horas (F); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (G)..... 62
- FIGURA 2** Gráficos representativos das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Lithrea molleoides* submetidas à métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação; Testemunha (A); água quente a 70°C (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas (E); imersão em nitrato de potássio por 24 horas (F); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (G)..... 66
- FIGURA 3** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* na testemunha e diferentes tempos de inoculação..... 71
- FIGURA 4** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência escarificação ácida por 20 minutos e diferentes tempos de inoculação..... 72
- FIGURA 5** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência água quente a 70°C e diferentes tempos de inoculação..... 73
- FIGURA 6** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas e diferentes tempos de inoculação..... 74
- FIGURA 7** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas e diferentes tempos de inoculação..... 75
- FIGURA 8** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 24 horas e diferentes tempos de inoculação..... 76
- FIGURA 9** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 48 horas e diferentes tempos de inoculação..... 77
- FIGURA 10** Gráficos representativos da incidência de fungos associados às sementes de *Senna macranthera* submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e tempo de inoculação: Testemunha (A); escarificação ácida por 15 minutos (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (E)..... 80

<b>FIGURA 11</b> Gráficos representativos das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas à métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação: Testemunha (A); escarificação ácida por 15 minutos (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l <sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (E).....	83
<b>FIGURA 12</b> Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> nas plântulas de <i>Senna macranthera</i> na Testemunha e diferentes tempos de inoculação.....	88
<b>FIGURA 13</b> Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> nas plântulas de <i>Senna macranthera</i> submetidas ao métodos de superação de dormência escarificação ácida por 15 minutos e diferentes tempos de inoculação.....	89
<b>FIGURA 14</b> Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> nas plântulas de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência escarificação ácida por 20 minutos e diferentes tempos de inoculação.....	90
<b>FIGURA 15</b> Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> nas plântulas de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l <sup>-1</sup> por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.....	91
<b>FIGURA 16</b> Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> nas plântulas de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.....	92

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> Incidência de fungos associados às sementes de <i>Lithrea molleoides</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	34
<b>TABELA 2</b> Percentagem de plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de <i>Lithrea molleoides</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	37
<b>TABELA 3</b> Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de <i>Lithrea molleoides</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	39
<b>TABELA 4</b> Incidência de fungos associados às sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação da dormência.....	41
<b>TABELA 5</b> Percentagem de plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	43
<b>TABELA 6</b> Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	45
<b>TABELA 7</b> Categorias de viabilidade do teste de tetrazólio de sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.....	48
<b>TABELA 8</b> Notas atribuídas aos graus de severidade dos sintomas causados por <i>Alternaria alternata</i> em mudas de <i>Lithrea molleoides</i> e <i>Senna macranthera</i> .....	57
<b>TABELA 9</b> Equações representativas do teste de sanidade das sementes de <i>Lithrea molleoides</i> .....	63
<b>TABELA 10</b> Equações representativas das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de <i>Lithrea molleoides</i> submetidas a métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação.....	67
<b>TABELA 11</b> Valores médios obtidos no índice de velocidade de emergência (IVE) no viveiro para sementes de <i>Lithrea molleoides</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência e tempos de inoculação de <i>Alternaria alternata</i> .....	68
<b>TABELA 12</b> Equações da análise de regressão do teste de sanidade das sementes de <i>Senna macranthera</i> .....	81
<b>TABELA 13</b> Equações da análise de regressão do teste de germinação das sementes de <i>Senna macranthera</i> .....	84
<b>TABELA 14</b> Valores médios obtidos no teste de índice de velocidade de emergência (IVE) no viveiro para sementes de <i>Senna macranthera</i> submetidas a diferentes métodos de superação de dormência e tempos de inoculação de <i>Alternaria alternata</i> .....	85

## LISTA DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE 1</b> Plântulas normais de <i>Lithrea molleoides</i> do teste de germinação <b>(A)</b> ; teste de Envelhecimento acelerado de <i>Senna macranthera</i> <b>(B)</b> ; plântulas anormais de <i>Senna macranthera</i> ocasionada pelo ataque de insetos <b>(C)</b> ; teste de germinação de <i>Senna macranthera</i> <b>(D)</b> ; plântulas anormais de <i>Senna macranthera</i> <b>(E)</b> ; teste de condutividade elétrica <b>(F)</b> .....	106
<b>APÊNDICE 2</b> Teste de tetrazólio em <i>Senna macranthera</i> ; Semente intermediária <b>(A)</b> ; Semente viável <b>(B)</b> ; Semente Viável <b>(C)</b> ; semente inviável <b>(D)</b> ; Semente inviável <b>(E)</b> ; Semente inviável <b>(F)</b> .....	107
<b>APÊNDICE 3</b> Plântulas com sintomas de <i>Alternaria alternata</i> : <i>L. molleoides</i> com sintomas de <i>Alternaria alternata</i> <b>(A)</b> ; teste de patogenicidade em mudas de <i>L. molleoides</i> <b>(B)</b> ; <i>S. macranthera</i> com sintomas de <i>Alternaria alternata</i> <b>(C)</b> ; teste de patogenicidade em mudas de <i>S. macranthera</i> <b>(D)</b> ; <i>Alternaria alternata</i> <b>(E e F)</b> .....	108

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
2.1 Espécies estudadas.....	15
2.1.1 <i>Lithrea molleoides</i> (Aroeira-preta).....	15
2.1.2 <i>Senna macranthera</i> (Manduirana).....	15
2.2 Qualidades de sementes.....	16
2.2.1 Dormência.....	16
2.2.2 Qualidade fisiológica de sementes.....	17
2.2.3 Teste de germinação.....	17
2.2.4 Teste de vigor.....	18
2.2.5 Teste de tetrazólio.....	19
2.2.6 Teste de condutividade elétrica.....	20
2.2.7 Teste de envelhecimento acelerado.....	21
2.2.8 Qualidade sanitária.....	21
2.2.9 Inoculação de fungos em sementes.....	22
2.2.10 Associação e transmissão de fungos via sementes de espécies florestais	23
<b>3 CAPÍTULO I: QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE <i>Lithrea molleoides</i> March. (Aroeira-preta) e <i>Senna macranthera</i> (Dc.ex Collad.) H. S. Irwin &amp; Barneby (Manduirana) QUANDO SUBMETIDAS À SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA.....</b>	<b>25</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
3.2.1 Local de realização.....	28
3.2.2 Sementes.....	28
3.2.3 Métodos de superação de dormência.....	29
3.2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes.....	29
3.2.4.1 Teste de sanidade.....	29
3.2.5 Avaliação da qualidade fisiologica de sementes.....	30
3.2.5.1 Teste de germinação.....	30
3.2.5.2 Crescimento de plântulas normais.....	30
3.2.5.3 Envelhecimento acelerado.....	31
3.2.5.4 Condutividade elétrica.....	31

3.2.5.5 Teste de tetrazólio.....	31
3.2.6 Delineamento experimental.....	32
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
3.3.1 <i>Lithrea molleoides</i> (Aroeira-preta).....	32
3.3.2 <i>Senna macranthera</i> (Manduirana).....	39
<b>3.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>49</b>
<b>4 CAPÍTULO II: TRANSMISSÃO DE <i>Alternaria alternata</i> EM SEMENTES DE <i>Lithrea molleoides</i> E <i>Senna macranthera</i> (Dc.ex Collad.) H. S. Irwin &amp; Barneby QUANDO SUBMETIDAS À SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA.....</b>	<b>50</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>50</b>
<b>4.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>52</b>
4.2.1 Local de realização.....	52
4.2.2 Métodos de superação da dormência.....	53
4.2.3 Inoculação de <i>Alternaria alternata</i> nas sementes.....	53
4.2.4 Avaliação da qualidade sanitária das sementes.....	54
4.2.4.1 Teste de sanidade.....	54
4.2.5 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes.....	55
4.2.5.1 Teste de germinação.....	55
4.2.5.2 Crescimento de plântulas.....	55
4.2.6 Avaliação da transmissão de fungo via semente.....	55
4.2.6.1 Índice de velocidade de emergência.....	56
4.2.6.2 Sanidade de mudas.....	56
4.2.7 Delineamento experimental.....	57
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
4.3.1 <i>Lithrea molleoides</i> (Aroeira-preta).....	59
4.3.2 <i>Senna macranthera</i> (Manduirana).....	78
<b>4.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>93</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>94</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>105</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de espécies florestais nativas, para recuperação ambiental, é limitado devido à falta de informações sobre o comportamento fitossanitário e exigências ecológicas, bem como pela carência de reservas florestais de produção de sementes, que sejam manejadas de forma adequada. Uma das principais causas da perda da viabilidade das sementes é a falta de informação a respeito da qualidade sanitária e fisiológica destas, quando são levadas para o campo.

Pesquisas visando obter informações sobre a biologia e a utilização agrônômica e florestal de espécies vegetais são fundamentais, pois estão diretamente relacionadas às estratégias de estabelecimento das espécies em suas áreas de ocorrência e são imprescindíveis para a formação de mudas em viveiros.

A principal característica da semente a ser estudada é o seu potencial germinativo, visto que muitas espécies são limitadas pela ocorrência de dormência nas sementes, retardando a sua germinação. Na condução de testes de germinação em laboratórios de análise de sementes, é imprescindível o conhecimento sobre as melhores condições para a germinação das sementes de uma determinada espécie.

A dormência de sementes constitui um mecanismo de sobrevivência das espécies, assegurando sua viabilidade, até que as condições sejam adequadas para o estabelecimento e crescimento da plântula. Embora seja um mecanismo eficiente para garantir a perpetuação da espécie, a dormência se constitui num fator limitante à sua propagação, tendo em vista que apenas pequenas percentagens das sementes germinam em condições naturais.

Outro fator importante nos estudos sobre sementes é a qualidade sanitária, uma vez que patógenos podem estar associados às mesmas e causar danos, tanto para as sementes, reduzindo o poder germinativo, como a morte das plântulas. No entanto, pouco se sabe sobre os danos causados por patógenos de sementes em espécies florestais, o que pode causar grandes perdas na produção de mudas por falta de conhecimento sobre a sua qualidade sanitária. Aliado a isso, vem o fato de que as sementes são via de transmissão de patógenos que podem prejudicar, posteriormente, as plântulas ou as plantas em desenvolvimento, comprometendo, assim, a instalação de povoamentos florestais.

O presente trabalho, realizado com sementes de *Lithrea molleoides* e *Senna macranthera*, teve os seguintes objetivos: 1) determinar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes, após submissão a métodos de superação da dormência, através de diferentes testes; 2) avaliar a transmissão de *Alternaria alternata* e a sua influência na qualidade sanitária e fisiológica das sementes, após submissão dos métodos de superação da dormência.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Espécies estudadas

#### 2.1.1 *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta)

Pertencente a família *Anacardiaceae*, podendo atingir aproximadamente 15 metros de altura e 40 cm de diâmetro a altura do peito (DAP), *Lithrea molleoides* apresenta ocorrência natural de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (CARVALHO, 2006).

É uma espécie produtora de carvão e de lenha de grande poder calorífico. Sua madeira é útil para postes, construção civil, marcenaria, dormentes e mourões. A casca é rica em tanino, o que a torna resistente à putrefação, além de fornecer material tintorial. As flores da *L. molleoides* são melíferas, produzem pólen e néctar. As folhas são aromáticas e medicinais. Essa espécie é considerada extremamente cáustica, porque causa severas reações alérgicas a pessoas pré-dispostas. O simples cheiro da planta ou o óleo volátil, a seiva ou a madeira seca, ou mesmo a terra em que crescem suas raízes, podem causar infecção cutânea, edemas de pele ou eritema. O cozimento da casca é indicado no combate à diarreia, à disenteria e afecção das vias urinárias e respiratória. Possui propriedade estimulante e diurética (CARVALHO, 2006).

#### 2.1.2 *Senna macranthera* (Manduirana)

*Senna macranthera*, mais conhecida como manduirana, pertence à família das *Caesalpinaceae*, ocorre de forma natural no estado do Paraná até o Rio Grande do Norte. É uma espécie pioneira, característica de formação secundária. Essa espécie é ideal para a recomposição de plantios de áreas degradadas de preservação permanente, devido ao seu rápido crescimento (CARVALHO, 2006).

Segundo Backes; Irgang (2004), a espécie é de pequeno porte, de até 18 metros de altura. Fuste de até 30 centímetros de diâmetro (ou mais). A espécie é

utilizada para paisagismo urbano em pequenos espaços, jardins, ruas e estradas. Apresenta madeira mole de uso restrito em caixotaria, brinquedos e lenha.

## **2.2 Qualidade de sementes**

### **2.2.1 Dormência**

Segundo Carvalho (2003), o fenômeno de dormência é tido como um recurso pelo qual a natureza distribui a germinação no tempo. Como tipos de dormência temos: dormência exógena, relacionada com a impermeabilidade do tegumento ou do pericarpo à água; dormência endógena, que ocorre devido ao embrião imaturo ou à presença de mecanismos de inibição fisiológica e a dormência combinada, que se dá com a combinação dos dois tipos de dormência citados, ou seja, apresenta a dormência endógena e a exógena (CARVALHO, 2003). Os principais tratamentos utilizados para a superação de dormência exógena podem ser: escarificação ácida, escarificação mecânica, imersão em água quente ou fria. Para superação de dormência endógena: estratificação a frio, estratificação quente e fria. (ZAIDAN; BARBEDO, 2004)

Cardoso (2004) relata que a dormência ocorre quando algumas sementes não germinam, mesmo quando colocadas em condições ambientais aparentemente favoráveis. Apesar da riqueza, quanto à diversidade de espécies, são relativamente recentes os estudos sobre os mecanismos e as modalidades de dormência em espécies tropicais.

Para Carvalho; Nakagawa (1988), dormência é o fenômeno pelo qual sementes de uma determinada espécie, mesmo sendo viáveis e tendo todas as condições ambientais para tanto, deixam de germinar. O estado de dormência não se confunde com o de quiescência, que é um estado de repouso em que, estando viável a semente, ele é facilmente superável com o fornecimento das condições ambientais necessárias.

### **2.2.2 Qualidade fisiológica de sementes**

Para Carvalho; Nakagawa (1988), o termo qualidade refere-se às características relativas às propriedades genéticas, físicas, fisiológicas e sanitárias das sementes.

A obtenção de sementes de alta qualidade representa a meta prioritária, dentro do processo de produção e certificação, pois de um modo geral, a germinação e a emergência das plântulas são reflexos da qualidade fisiológica. A causa das falhas de germinação, ou mesmo da redução da velocidade de emergência, freqüentemente é atribuída ao baixo vigor associado ao processo de deterioração (ROSSETTO, 1997).

A qualidade das sementes é particularmente importante pelo alto custo de produção que, freqüentemente, envolve vultosos investimentos, cujo retorno depende, em grande parte, da qualidade das sementes utilizadas (RODO et al., 2001).

A qualidade fisiológica das sementes é avaliada por meio de parâmetros fundamentais, como a viabilidade e o vigor. Os testes de vigor têm sido utilizados para identificar diferenças na qualidade fisiológica de lotes que apresentem poder germinativo semelhante e têm sido utilizados para complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988).

Há vários testes que determinam a qualidade das sementes, como o teste de germinação sob condições controladas, o qual é muito útil para avaliar a capacidade de germinação, bem como fornecer informações sobre o vigor das sementes (POPINIGIS, 1985).

### **2.2.3 Teste de germinação**

A utilização do teste de germinação é fundamental para o monitoramento da viabilidade das sementes em banco de germoplasma. Todavia, o conhecimento atual sobre as técnicas de monitoramento é limitado, concentrando-se, principalmente, em plantas de interesse agrícola. Pouco se conhece acerca das condições para germinação da maioria das espécies florestais (SMIDERLE; SOUSA, 2003).

Nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), existem prescrições para a condução do teste de germinação de um grande número de espécies cultivadas. No entanto, as espécies florestais nativas ainda são pouco pesquisadas, representando menos de 0,1% (OLIVEIRA et al., 1987).

O teste de germinação é eficiente em pelo menos dois aspectos: fornece informações sobre o potencial de uma amostra para germinar sob condições ótimas de ambiente e, além disso, é considerado como padronizado, com ampla possibilidade de repetição dos resultados, dentro de níveis razoáveis de tolerância, desde que sejam seguidas as instruções estabelecidas em Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), tanto nacional como internacional, estabelecida pela ISTA (1993).

O teste de germinação é empregado rotineiramente para avaliar a qualidade de sementes, sendo que a percentagem de plântulas normais obtidas nesses testes representa o máximo que a amostra pode oferecer, em condições ótimas, artificiais e padronizadas para cada espécie avaliada. Este teste, conduzido em laboratório sob condições controladas e por meio de métodos padronizados que visam, principalmente, avaliar o valor das sementes para a semeadura e comparar a qualidade de diferentes lotes, serve como base para a comercialização das sementes (MARCOS FILHO et al., 1987).

#### **2.2.4 Teste de vigor**

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada em toda a sua vida, desde a fertilização até o momento da semeadura. Em ordem cronológica, os principais fatores que afetam a qualidade são: genótipo, condições ambientais durante o desenvolvimento das sementes, posição da semente na planta mãe, época e técnicas de colheita, condições de armazenamento e tratamentos pré-semeadura (BASU, 1995). Portanto, a qualidade fisiológica é adquirida durante os processos de desenvolvimento e pode ser perdida por processos deteriorativos, que podem iniciar ainda nessa fase. Quando as sementes deterioram, elas perdem vigor progressivamente, apresentando redução na velocidade e desuniformidade de emergência, menor resistência a condições adversas, decréscimo na proporção de

plântulas normais e, finalmente, perdem a viabilidade ou capacidade de germinar (HALMER; BEWLEY, 1984).

O vigor de sementes é definido pela AOSA (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS, 1983) como uma propriedade das sementes que determina seu potencial para emergência rápida e uniforme, com o desenvolvimento de plântulas normais, em uma ampla faixa de condições ambientais (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

Os métodos de avaliação do vigor podem ser classificados em diretos, quando realizados no campo ou, em condições de laboratório, que simulem fatores adversos de campo; ou indiretos, quando realizados em laboratório, mas avaliando as características físicas, fisiológicas e bioquímicas que expressem a qualidade das sementes (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

### **2.2.5 Teste de tetrazólio**

Segundo Krzyzanowski et al. (1999), no sistema de controle de qualidade de sementes, o teste de tetrazólio tem assumido uma posição de destaque para algumas culturas, devido, principalmente, ao grande número de informações fornecidas pelo teste. Além da viabilidade, o mesmo propicia informações valiosas sobre o vigor, além de possibilitar o diagnóstico dos principais problemas que podem afetar a qualidade das sementes.

O teste de tetrazólio fundamenta-se na avaliação da viabilidade das sementes, com base na alteração da coloração dos tecidos em presença de sal de tetrazólio, o qual é reduzido pela enzima desidrogenase dos tecidos vivos, resultando num composto chamado Formazam, de coloração vermelho carmim, tecidos mortos ou muito deteriorados se apresentam descoloridos. Os padrões de coloração dos tecidos podem ser utilizados para identificar sementes viáveis e não viáveis, dentro da categoria das viáveis, as de alto e baixo vigor (ROCHA, 1976).

O teste de tetrazólio é um dos testes mais tradicionais na avaliação da qualidade e do vigor das sementes. O mesmo é vantajoso pela rapidez com que fornece resultados confiáveis sobre as sementes, além de não ser afetado pela presença de fungos e bactérias, que constantemente mascaram os resultados dos testes de germinação (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

Rocha (1976) comenta sobre a importância da utilização do teste de Tetrazólio como uma alternativa complementar para a avaliação da germinação e do vigor das sementes, principalmente naquelas que têm apresentado sérios problemas na interpretação dos resultados desses testes, nos quais grandes discrepâncias têm ocorrido em função, principalmente, da presença de fungos.

A utilização do teste de tetrazólio, em nosso país, repercute não apenas em relação aos aspectos quantitativos, mas, principalmente, quanto aos qualitativos, pois quando realizado em conjunto com outros testes, tem proporcionado a comercialização dos lotes que efetivamente apresentam bons padrões de qualidade. Isto tem resultado num sistema de controle de qualidade de alta confiabilidade, assegurando maiores lucros, através da produção de sementes de alta qualidade a menor custo (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

#### **2.2.6 Teste de condutividade elétrica**

O teste de condutividade elétrica é um meio rápido e prático de determinar o vigor de sementes. Esse teste é realizado através da avaliação da quantidade de lixiviados liberados da parte interna da semente para a solução de embebição, em função do grau de deterioração em que ela se encontra, e, desse modo, inferir sobre o nível de vigor daquela semente, do lote ou, pelo menos, sobre o possível uso e manejo das mesmas (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

A perda da integridade das membranas celulares é a primeira manifestação de redução, ou perda de qualidade das sementes, e está diretamente associada ao mecanismo de envelhecimento. A permeabilidade das membranas, relacionada diretamente com a sua integridade, contribui para detectar diferentes graus de deterioração e a conseqüente perda da viabilidade e vigor (BEWLEY; BLACK, 1994). Sementes deterioradas liberam maiores quantidades de substâncias, como açúcares e íons, quando comparadas às menos deterioradas, por ocasião da embebição dessas sementes, indicando uma maior ou menor permeabilidade das membranas (TOLEDO; MARCOS-FILHO, 1977).

Para as espécies florestais, esse teste apresenta dificuldade devido à necessidade de padronização do volume de água no qual as sementes serão imersas, uma vez que muitas têm tamanho grande, em que apenas 75 ml,

recomendados para esse teste, não são suficientes para manter as sementes imersas (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

### **2.2.7 Teste de envelhecimento acelerado**

O teste de envelhecimento acelerado é um método indireto que simula condições de estresse nas sementes, gerando uma alta taxa de respiração, consumo de reservas e aceleração dos processos metabólicos que levam a sua deterioração (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

O teste tem a finalidade de comparar lotes, identificando aqueles que apresentam melhor comportamento germinativo após serem submetidos às condições de envelhecimento acelerado (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

Verifica-se que amostras de baixo vigor apresentam maior queda de viabilidade, quando submetidas ao envelhecimento acelerado. Portanto, as sementes mais vigorosas, geralmente, são menos afetadas em sua capacidade de produzir plântulas normais e apresentam germinação mais elevada, após serem submetidas ao “envelhecimento” (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Normalmente, as sementes mais vigorosas retêm a capacidade de produzir plântulas normais e apresentam germinação mais elevada, após serem submetidas ao envelhecimento acelerado. Enquanto que, as de baixo vigor, caracterizam-se por apresentar maior redução de viabilidade. Esta técnica, além de ter utilidade como teste de vigor, também pode ser utilizada como meio para avaliar a eficácia da conservação *ex sito* de sementes de espécies florestais (GARCIA et al., 2004).

### **2.2.8 Qualidade sanitária**

A sanidade da semente refere-se, primariamente, à presença ou ausência de agentes patogênicos, tais como fungos, bactérias, vírus e nematóides. Entretanto, pode também estar relacionada a anomalias decorrentes de alterações nutricionais e condições climáticas adversas, ocorridas no campo, no processamento ou no armazenamento (BRASIL, 1992).

Entre os organismos presentes nas sementes e que podem ser transmitidos para plântulas, o grupo dos fungos é o mais numeroso, seguido das bactérias, vírus e alguns nematóides (MACHADO, 1988).

A associação de fungos em sementes de espécies nativas pode 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 se multiplicando fungos (CARNEIRO, 1986).

Atualmente, poucos trabalhos publicados tem apenas relacionado os microrganismos que ocorrem nas sementes de espécies florestais, sem avaliar, contudo, os seus efeitos sobre a germinação e desenvolvimento das plantas. Para a obtenção de uma boa muda é necessário o controle da qualidade sanitária das sementes utilizadas, pois estas poderão servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos, capazes de dizimar plantações inteiras de agroecossistemas (MACHADO, 1988).

Os fungos encontrados sobre as sementes apresentam alta velocidade de crescimento micelial e de esporulação, o que pode facilitar a contaminação de outras sementes durante o período de armazenamento das mesmas (FERREIRA, 1989) sendo, portanto, importante o conhecimento da sanidade das sementes.

### **2.2.9 Inoculação de fungos em sementes**

Patógenos causadores de podridão de sementes, morte de plântulas e podridão de colmos são considerados importantes, pois podem interferir, diretamente, no estande, vigor e produtividade final das plantas.

O patógeno é transmitido por sementes contaminadas e/ou infectadas, representando risco de introdução em áreas onde o patógeno ainda não foi introduzido (LIMA et al., 1985). As sementes portadoras do patógeno constituem a principal fonte de inóculo e as lesões de plantas infectadas representam importante fonte de inóculo secundário. Dependendo das condições ambientais, as doenças foliares podem causar epidemia, devido à disseminação do patógeno ser favorecida por respingos de chuva e ventos.



A inoculação de fungos em sementes é uma prática útil em patologia de sementes para a condução de experimentos e entendimento de certos aspectos que envolvam a interação patógeno-hospedeiro.

A inoculação de fungos fitopatogênicos, visa o estabelecimento artificial de uma doença na planta. Busca também, provar a patogenicidade do organismo isolado, em cultura pura, para verificar se ele é o patógeno, ou seja, o agente causal da doença (ALFENAS; FERREIRA, 2007).

A inoculação de fungo fitopatogênico consiste na transferência de quaisquer estruturas infectivas do patógeno (inóculo) do local onde são produzidos (fonte de inóculo) para os órgãos a serem inoculados (campo de infecção). Vários tipos de inóculo, como esporos, escleródios, microescleródios, clamidósporos ou fragmentos de micélios, podem ser usados nas inoculações, dependendo do patógeno e do órgão a ser inoculado (ALFENAS; FERREIRA, 2007).

#### **2.2.10 Associação e transmissão de fungos via sementes de espécies florestais**

As sementes são atacadas por microrganismos no campo e/ou por eles contaminadas nas operações de colheita, secagem, beneficiamento, o que afeta a qualidade e reduz a capacidade germinativa, bem como causa tombamento de plântulas recém emergidas (CARNEIRO, 1995). A interferência dos patógenos, associados às sementes, pode promover redução da população de plantas, afetar o vigor das mudas e causar desenvolvimento de epidemias (MENTEN, 1995).

Sabe-se que sementes de baixa qualidade fisiológica e sanitária são capazes de comprometer a sustentabilidade do plantio, causando prejuízos, muitas vezes, irreparáveis aos agroecossistemas, por serem portadoras de grande variedade fúngica. Por essa razão, torna-se importante conhecer a sanidade das sementes para auxiliar na execução dos testes de germinação em laboratório e na formação de mudas em viveiro (FERREIRA, 1989).

A associação de patógenos com semente é uma das maneiras que favorecem a sobrevivência e disseminação destes agentes, uma vez que as sementes são propágulos que apresentam um maior potencial de viabilidade no tempo em comparação com outras partes vegetais de propagação (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988).

Os maiores problemas relacionados com a transmissão de fungos por sementes, ocorrem na fase de germinação e de formação de mudas, onde muitas doenças como “damping-off” e “die-back” manifestam-se nas plântulas. Alguns gêneros de fungos estão associados a “damping-off” como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytium*, *Cylindrocladium*, *Sclerotium* e, eventualmente, *Botrytis* e *Curvularia*, principalmente em coníferas; “die-back”, causada por *Cerastocystis fimbriata* ocorre principalmente em *Eucalyptus* (CARNEIRO, 1986). Muitos danos causados por doenças como estas, levam à redução drástica da produção de mudas em viveiros e ao aumento dos custos dos reflorestamentos (SALES, 1992).

### 3 CAPÍTULO I

#### **QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Lithrea molleoides* March. (Aroeira-preta) e *Senna macranthera* (Dc.ex Collad.) H. S. Irwin & Barneby (Manduirana) SUBMETIDAS À SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA**

#### **RESUMO**

Com o objetivo de determinar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de *Lithrea molleoides* e de *Senna macranthera*, após submissão a superação da dormência pela escarificação ácida por 10, 15, 20 e 25 minutos; imersão em água quente, com temperatura de 70, 80 e 90<sup>0</sup>C, até resfriar por 24 horas; imersão em ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) na concentração de 250 e 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 e 48 horas; imersão em nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), na concentração de 0,2%, por 24 e 48 horas, foram realizadas avaliações de sanidade, germinação, crescimento de plântulas, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e teste de tetrazólio. No teste de sanidade, foram encontrados os fungos *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., que causam apodrecimento de sementes. *L. molleoides* apresentou maior percentagem de germinação, quando foi submetida à escarificação ácida por 20 minutos e água quente a 70<sup>0</sup>C, e *S. macranthera*, quando se utilizou escarificação ácida por 15 e 20 minutos, e imersão em GA<sub>3</sub> 250 mg.l<sup>-1</sup> e KNO<sub>3</sub>, por 48 horas. O teste de condutividade elétrica, assim como o teste de envelhecimento acelerado, não representou a real condição de viabilidade das sementes.

**Palavras-chave:** Espécies florestais nativas; Sanidade; Vigor.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A atividade florestal instalou-se no país nos primeiros anos após seu descobrimento, por meio da exploração do pau-brasil que, por muito tempo, constituiu-se na principal atividade econômica. Com o desenvolvimento da agricultura, a atividade florestal foi sendo relegada ao segundo plano na economia brasileira, mas sempre esteve a participar, de forma efetiva, na pauta de exploração de floresta nativa. Na década de 60, com o auxílio dos incentivos fiscais, o reflorestamento tornou-se uma atividade de larga escala, devido à necessidade de abastecimento da indústria de base florestal.

A preocupação pela busca de espécies com potencial para a produção madeireira, que podem ser cultivadas em povoamentos mistos ou puros, visando à produção ordenada, iniciou devido à redução de madeira de floresta nativa.

O uso de espécies para reflorestamento é limitado, devido à falta de informações sobre o comportamento fitossanitário e exigências ecológicas, bem como pela carência de reservas florestais de produção de sementes que sejam manejadas de forma adequada. Uma das principais causas da perda de viabilidade das sementes é a falta de informação a respeito da qualidade sanitária e fisiológica destas, quando são levadas para o campo.

Pesquisas visando obter informações sobre a biologia e a utilização de espécies florestais são fundamentais, pois estão diretamente relacionadas às estratégias de estabelecimento das espécies em suas áreas de ocorrência e são imprescindíveis para a formação de mudas em viveiros. Dentre os fatores que atingem diretamente a produção de mudas, o principal é o processo de dormência das sementes.

A dormência de sementes é um processo caracterizado pelo atraso da germinação, ou seja, mesmo em condições favoráveis (umidade, temperatura, luz e oxigênio) não germinam. Cerca de dois terços das espécies arbóreas, possuem algum tipo de dormência, cujo fenômeno é comum tanto em espécies de clima temperado (regiões frias), quanto em plantas de clima tropical e subtropical. O fenômeno de dormência em sementes advém de uma adaptação da espécie às condições ambientais onde ela se reproduz, podendo ser de muita ou pouca umidade,

incidência direta de luz, baixa temperatura, entre outros aspectos. É um recurso utilizado pelas plantas para germinarem na estação mais propícia ao seu desenvolvimento, buscando, através disto, a perpetuação da espécie ou colonização de novas áreas.

Os estudos com germinação de sementes são geralmente realizados com o objetivo de ampliar os conhecimentos fisiológicos, verificando as respostas de germinação a fatores ambientais, causas de dormência e métodos de superação da dormência, conhecimentos morfológicos, acompanhando o desenvolvimento do embrião e da plântula. E também para verificar o estágio de maturação das sementes e do efeito do processamento e armazenamento sobre a qualidade de sementes.

O objetivo principal dos testes de germinação é o fornecimento de informações sobre a qualidade das sementes, que podem ser usadas na seleção de lotes para armazenamento, comercialização e semeadura. Sementes de alta qualidade apresentam maior potencial de armazenamento, formam mudas mais vigorosas e têm melhor estabelecimento no campo. Na condução do teste de germinação, dois princípios básicos devem ser observados – condições ideais para a germinação das sementes e a padronização da metodologia.

A qualidade de sementes é constituída pelo somatório de uma serie de aspectos, tais como a qualidade fisiológica, a qualidade sanitária, a qualidade genética e a qualidade física. Dentre estes aspectos, a qualidade sanitária assume fundamental importância, pois trata da associação de microorganismos patogênicos às sementes, influenciando na viabilidade, longevidade e na transmissão para a planta resultante.

Quanto à qualidade sanitária de sementes sabe-se que os fungos são considerados os principais agentes causais de doenças em plantas. O estudo de microrganismos em sementes de essências florestais, nativas do Rio Grande do Sul, é de grande importância, uma vez que as informações sobre a associação patógeno-semente das espécies nativas são escassas. 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, deterioração das sementes e doenças em plântulas.

A avaliação da qualidade das sementes é um dos mais importantes aspectos, quando se pensa na produção de mudas capazes de originar plantas vigorosas e

resistentes às condições adversas do ambiente. Nesse contexto, a qualidade sanitária é de fundamental importância, pois sementes saudáveis originarão plantas também saudáveis e, conseqüentemente, sementes contaminadas por fungos irão interferir na capacidade de sobrevivência no seu ambiente natural.

O objetivo deste trabalho foi determinar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta) e de *Senna macranthera* (Manduirana), após submissão dos métodos de superação da dormência, através de diferentes testes.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Local de realização**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria.

### **3.2.2 Sementes**

As sementes utilizadas foram procedentes da FEPAGRO – Florestas, colhidas em 2007, na região de Boca-do-Monte.

Foram utilizadas sementes de duas espécies florestais, que ocorrem na região, e que apresentam dificuldade de germinação e uma alta incidência de patógenos. As espécies selecionadas foram: *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta) e *Senna macranthera* (Manduirana).

### 3.2.3 Métodos de superação de dormência

Para a realização dos diferentes testes, as sementes foram submetidas aos seguintes métodos de superação de dormência, descritos pelos diferentes autores que utilizaram estes métodos para o estudo de outras espécies.

- Escarificação ácida: as sementes foram colocadas em cadinhos e imersas em ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 90%, por 10, 15, 20 e 25 minutos (MEDEIROS, 2001).
- Imersão em água fervente: as sementes foram imersas em água e com auxílio de ebulidor, a água foi aquecida até as temperatura de 70, 80 e 90°C, medidas com o termômetro, e colocadas para resfriar por 24 horas, em temperatura de 25°C (MEDEIROS, 2001).
- Ácido giberélico ( $GA_3$ ): as sementes foram esscarificadas em ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 90%, por 15 minutos e, logo após, imersas em solução de ácido giberélico na concentração de 250 e 500 mg.l<sup>-1</sup>, por um período de 24 e 48 horas com a temperatura de 25° C. (FRANCO; FERREIRA, 2002).
- Nitrato de potássio ( $KNO_3$ ): as sementes foram esscarificadas em ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 90%, por 15 minutos e, logo após, imersas na solução de nitrato de potássio na concentração de 0,2 %, por 24 e 48 horas, com temperatura de 25° C (LULA et al., 2000).

### 3.2.4 Avaliação da qualidade sanitária de sementes

#### 3.2.4.1 Teste de sanidade

O teste de sanidade foi realizado por meio do método “Blotter test”, onde amostras de 100 sementes, divididas em 4 subamostras, foram colocadas em caixas de plástico tipo “Gerbox”, sobre três folhas de papel tipo germitest (papel-filtro), esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada. Logo após, foram encubadas em estufa, à temperatura aproximada de 25°C, em regime de 12 horas de iluminação com lâmpadas fluorescentes, alternadas com 12 horas de escuro, durante sete dias. Após este período, foram avaliados os microrganismo presentes nas

sementes, com auxílio de microscópio esterescópico e ótico. A identificação dos fungos foi realizada conforme descrição de Barnett; Hunter (1972).

### **3.2.5 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes**

#### **3.2.5.1 Teste de germinação**

Esta avaliação foi composta de quatro repetições de 25 sementes, em substrato de rolo de papel; onde foram utilizadas 3 folhas de papel tipo germitest (papel-filtro), colocadas duas abaixo e uma acima das sementes, as quais foram umedecidas com água destilada, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, conforme RAS (BRASIL, 1992).

As sementes foram mantidas sob fotoperíodo de 12 horas de luz direta e temperatura constante de 25°C. As avaliações foram realizadas semanalmente; as sementes de *L. molleoides* por um período de 160 dias e, as de *S. macranthera*, por 30 dias.

Foram avaliadas as plântulas normais, que se apresentavam bem desenvolvidas e morfológicamente perfeitas, sem rachaduras ou lesões. As plântulas que não apresentavam os critérios estabelecidos para plântulas normais, foram classificadas como plântulas anormais e as sementes, como mortas e duras. Para *L. molleoides* não houve contagem de sementes duras, visto que, a espécie não apresentou sementes duras no final da contagem.

#### **3.2.5.2 Crescimento de plântulas normais**

Este teste foi realizado juntamente com o teste de germinação. As plântulas normais foram retiradas e medidas com auxílio de um escalímetro, o comprimento da parte aérea, incluindo folhas cotiledonares, no caso de *S. macranthera* e, o comprimento da radícula (KRZYZANOWSKI et al., 1999). Os resultados foram expressos em centímetros.



### 3.2.5.3 Envelhecimento acelerado

Para este teste, foi utilizado o método de gerbox, no qual as sementes foram colocadas em caixas tipo “gerbox”, onde adaptou-se, no seu interior, uma tela de alumínio, na qual foram distribuídas, homoganeamente, as sementes e, abaixo da qual, foram adicionados 40 mL de água, conforme descrito por Krzyzanowski et al. (1999).

Foram realizados testes prévios para determinar o período de envelhecimento acelerado para separar os lotes em maior número de níveis de vigor. A temperatura utilizada foi de 42°C, variando o tempo de exposição das sementes.

As sementes foram distribuídas sob a tela de alumínio e incubadas a 42°C e 100% de umidade relativa do ar, durante 48, 72 e 96 horas. Decorrido este período, as sementes foram postas para germinar, seguindo metodologia de Brasil (1992). Foram realizadas, semanalmente, avaliações da germinação e do comprimento de plântulas (comprimento de plântulas normais); as sementes de *L. Molleoides*, por um período de 160 dias e as de *S. macranthera*, por 15 dias. Para as sementes das espécies em estudo, foi necessário 48 horas para diferenciar os lotes.

### 3.2.5.4 Condutividade elétrica

Este teste foi realizado com quatro repetições de 25 sementes, as quais foram pesadas e colocadas em frascos de vidro fechados. Para cada espécie, seguiu-se uma metodologia, de acordo com testes realizados previamente: *S. macranthera* foi embebida por 24 horas e *L. molleoides* foi embebida por 48 horas, em 75 ml de água destilada em câmara de 25°C, de acordo com Viera; Krzyzanowski et al., 1999. Após cada período, a condutividade foi medida por meio de leitura em condutivímetro DIGIMED, modelo 21, com os resultados expressos em  $\mu\text{s}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$  (Microns).

### 3.2.5.5 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio, para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, foi realizado apenas para a espécie *S. macranthera*, visto que para *L. molleoides*, não

foi possível adequar uma metodologia para a retirada do tegumento para posterior realização do teste.

As sementes foram submetidas aos métodos de superação de dormência, citados anteriormente e, logo após, as sementes foram embebidas em água destilada por 24 horas, a 25°C. Decorrido este período, as sementes foram colocadas na solução de tetrazólio a 0,1% e mantidas no escuro à temperatura de 35°C, por 3 horas. Logo após, as sementes foram lavadas com água destilada e cortadas longitudinalmente. As avaliações foram feitas com auxílio de lupa, tendo sido elaborado um padrão de classificação, como viáveis (embrião completamente colorido), intermediárias (as áreas coloridas representam a área mínima do embrião necessário para germinação normal) e inviáveis (embrião não-colorido). O teste foi realizado com quatro repetições de 25 sementes cada, totalizando 100 sementes.

### **3.2.6 Delineamento experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado com quatro repetições. Os dados em percentagem foram transformados em  $\arcsin \sqrt{x/100}$  e submetidos à análise de variância. A comparação de médias entre os diferentes tratamentos de superação da dormência das sementes foi conduzido através do Teste de Tukey, a 5% de significância. Foram utilizados testes de correlações simples entre as diferentes variáveis e utilizou-se o pacote estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984 ).

## **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.3.1 *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta)**

Na avaliação sanitária das sementes de *Lithrea molleoides* (Tabela 1), foram detectados 13 gêneros de fungos, sendo três com maior incidência e, os com menor incidência, agrupados como “outros”.

Quando se utilizou ácido giberélico, verificou-se que *Pencillium* spp. apresentou uma alta incidência quando as sementes foram imersas na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>

independente do tempo de imersão. Este resultado pode ter ocorrido devido à alteração na população da espermosfera, causada pela utilização do ácido giberélico. Para os outros tratamentos de superação da dormência, não ocorreu diferença significativa. Provavelmente, os tratamentos como escarificação ácida, água quente e nitrato de potássio não favorecem o desenvolvimento de *Penicillium* spp.

Bettiol; Ghini (1995) relatam que a utilização de hormônios interfere na ocorrência de doenças, pois há uma redução da população microbiana saprofítica, surgindo oportunidade de desenvolvimento de outro patógeno que tinha inicialmente, uma importância secundária.

Na Tabela 1, observou-se que não houve diferença significativa para os métodos de superação da dormência, quando se avaliou a incidência de *Aspergillus* spp. Porém, quando utilizou-se escarificação ácida, verificou-se que *Aspergillus* spp. aumentou sua incidência com a utilização da escarificação ácida por 20 minutos. Provavelmente, *Aspergillus* spp. estava localizado nos tecidos internos das sementes e quando as sementes foram escarificadas, parte do tegumento foi retirado, e conseqüentemente *Aspergillus* spp. foi liberando dos tecidos internos das sementes para a espermosfera. O método água quente, constatou-se a redução do gênero *Aspergillus*, resultado semelhante também foi verificado quando se utilizou ácido giberélico.

Segundo Christensen (1973), *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. são considerados fungos de armazenamento e sua incidência pode aumentar com o decorrer do período.

Observou-se, na Tabela 1, que não ocorreu diferença significativa entre os métodos de superação da dormência para *Alternaria* spp. Porém, quando utilizou-se imersão em ácido, esse fungo apresentou maior incidência quando as sementes de *L. molleoides* foram submetidas a escarificação ácida por 20 minutos. Possivelmente, *Alternaria* spp. estava sobrevivendo nos tecidos internos da sementes, ou seja, o micélio do fungo inativo poderia estar localizado no embrião e, quando se utilizou a escarificação ácida, desencadeou sua atividade.

Observou-se, na Tabela 1, que os fungos agrupados como outros (*Rhizoctonia* spp., *Rhizopus* spp., *Chaetomium* spp., *Phoma* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Botrytis* spp., *Trichoderma* spp., *Epicocum* spp. e *Mucor* spp.) obtiveram um aumento na sua percentagem quando utilizou-se água quente a 70°C. Esse resultado

pode ter ocorrido devido a redução do gênero *Aspergillus* spp. que, segundo Bettiol; Ghini (1995), é utilizado para tratamento de sementes como controle biológico.

**TABELA 1** Incidência de fungos associados às sementes de *Lithrea molleoides* submetidas os diferentes métodos de superação de dormência.

	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Alternaria</i> spp.	Outros
TESTEMUNHA	8,81	12,84	1,99	44,56 a
Escarificação ácida por 10 min	0,00	3,44	0,00	17,43 b
Escarificação ácida por 15 min	1,99	0,99	3,94	3,49 b
Escarificação ácida por 20 min	2,97	14,99	7,93	13,60 b
Escarificação ácida por 25 min	0,99	8,81	0,00	11,78 b
CV%	2,46	5,93	1,91	3,82
TESTEMUNHA	8,81	12,84	1,99	44,57 a
Água 70°C por 24 horas	0,00	0,00	0,00	64,41 a
Água 80°C por 24 horas	0,00	0,00	0,00	0,00 b
Água 90°C por 24 horas	5,95	0,00	0,00	14,80 b
CV %	2,73	6,13	0,57	5,03
TESTEMUNHA	8,81 c	12,84	1,99	44,57 a
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	100 a	0,00	1,97	2,94 b
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	81,91 a	0,00	0,00	0,50 b
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	54,93 b	0,00	0,00	0,99 b
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	0,00 c	0,00	0,00	0,99 b
CV %	2,54	5,50	1,01	2,54
TESTEMUNHA	8,81	12,84	1,99	44,57 a
KNO <sub>3</sub> por 24 horas	3,98	1,00	0,00	20,90 b
KNO <sub>3</sub> por 48 horas	0,00	0,00	0,00	0,00 c
CV%	3,00	7,05	0,75	3,26

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

Nobre et al. (2007) avaliando a qualidade sanitária de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira-verdadeira), pertencente, também, à família *Anacardiaceae*, encontraram *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., e *Phoma* spp. presentes nas sementes. Muniz et al. (2003) observaram a presença de *Alternaria* spp., *Monochaetia* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp. e *Penicillium* spp. associados às sementes de *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha).

A maioria dos fungos que estão presentes, externa ou internamente, nas sementes são da subdivisão Deuteromycotina. Os fungos detectados, até então, na

maioria das espécies florestais, têm sido identificados somente em nível de gênero (ANDERSON, 1986; CARNEIRO, 1990).

Na Tabela 2, estão presentes os dados de plântulas normais, comprimento médio, plântulas anormais e sementes duras do teste de germinação. A utilização da escarificação ácida é eficiente para superar a dormência de varias espécies florestais. Verificou-se que para *L. molleoides* a utilização do ácido por 20 minutos obteve maior porcentagem de plântulas normais. Bastos et al. (1992) constataram que a espécie algaroba (*Prosopis juliflora*) obteve um aumento da porcentagem de germinação, quando as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico por 10 minutos. Segundo Copeland (1976), fatores diversos interferem na formação do tegumento durante o desenvolvimento da semente, propiciando variações quanto ao tempo de imersão em ácido sulfúrico.

Quando se utilizou o método água quente, nas temperaturas de 70 e 80°C seguida do resfriamento em temperatura ambiente, por 24 horas, superou a dormência de *L. molleoides*. Este resultado confirma a dormência tegumentar parcial e indica a provável presença de substâncias inibidoras no tegumento, removidas pela imersão em água sob alta temperatura.

O tratamento com água quente apresenta várias vantagens como o aumentou da porcentagem de plântulas normais e redução da incidência de *Penicillium* spp. e *Alternarias* spp. avaliados no teste de sanidade (Tabela 1). Verificou-se também que à medida que aumenta a temperatura da água utilizada, também reduz a viabilidade das sementes. Portanto, a água quente em baixa temperatura pode ser utilizada para aumentar a porcentagem de germinação e na assepsia das sementes em estudo. Este resultado também foi verificado por Oliveira et al. (2003), em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*).

Bruno et al. (2001) observaram que o tratamento das sementes com água quente é muito utilizado em várias espécies florestais, tendo sido comprovada a sua eficiência na superação da dormência de várias espécies, como *Mimosa scabrella*, *Acacia* spp., *Acacia mearnsii* e *Parkinsonia aculeata*. Entretanto, apesar de ser um método vantajoso, de baixo custo e eficiente para superar a dormência de sementes, pode ter pouca eficiência, ou até inibir a germinação de algumas espécies de leguminosas, como *Copaifera langsdorfii*, *Enterolobium contorsiliquum* e *Mimosa caesalpiniaefolia* (MARTINS et al. ,1992).

Observou-se que o uso do ácido giberélico obteve melhor resultado quando utilizou-se na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas de embebição, na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas também apresentou alta porcentagem de plântulas normais. Portanto, baixas concentrações de ácido giberélico necessita de maior tempo de embebição e quando utilizou-se maior concentração de ácido giberélico, pequeno tempo de embebição e suficiente para incrementar a germinação.

Lula et al. (2000), em estudos com sementes de *Paspalum paniculatum*. Scalon et al. (2005), observaram que os tratamentos com giberelina não proporcionaram aumento na emergência das sementes de *Enterolobium contortisiliquum*. Blank et al. (1997) e Clemente Filha (1996), também não encontraram efeito positivo na utilização de giberelina em casaqueira (*Campomanesia rufa*) e pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*). Porém, no estudo realizado com sementes de *Smilax japecanga*, foi observado que a utilização de ácido giberélico superou a dormência da espécie (SANTOS et al., 2003).

Quando utilizou-se nitrato de potássio, observou-se que a porcentagem de germinação aumentou com aumento de tempo de contato das sementes com a solução de nitrato de potássio.

Na Tabela 2 pode-se observar uma alta porcentagem de sementes duras para todos os métodos de superação da dormência utilizados. Esse resultado se deve ao fato das sementes de *L. molleoides* apresentou baixa germinação. A baixa germinação dessa espécie também foi constatada por Carvalho (2006). O autor verificou que *L. molleoides* apresentou uma germinação máxima de 45%. Rosa et al. (2003), estudando a germinação de *Schinus terebinthifolius*, pertencente à família *Anacardiaceae*, observaram uma variação de 0,99 a 73,99%.

Para o comprimento de plântulas observou-se, na Tabela 2, que a utilização do GA<sub>3</sub> 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas, proporcionou um aumento no comprimento médio das plântulas, assim como um incremento na porcentagem de plântulas normais. O ácido giberélico é utilizado com o objetivo de promover superação da dormência assim como alongamento de plântulas. Para os demais tratamentos de superação de dormência, não ocorreu diferença significativa. Segundo Nakagawa (1999) a determinação do comprimento médio das plântulas normais, ou das partes destas, é realizada tendo em vista que as amostras que apresentam os maiores valores médios são as mais vigorosas.

**TABELA 2** Percentagem de plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Lithrea molleoides* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.

	Plântulas Normais (%)	Comprimento (cm)	Plântulas Anormais (%)	Sementes Duras (%)
TESTEMUNHA	10,23 b	4,00	1,99	88,96 a
Escarificação ácida por 10 min	14,92 b	5,00	1,99	79,97 a
Escarificação ácida por 15 min	14,98 b	4,25	1,99	83,97 a
Escarificação ácida por 20 min	42,98 a	4,50	1,97	54,98 b
Escarificação ácida por 25 min	19,78 b	4,25	1,99	78,83 a
CV%	2,83	22,35	1,33	2,10
TESTEMUNHA	9,80 c	4,00	1,99	88,96 a
Água 70°C por 24 horas	43,38 a	3,50	0,00	53,85 c
Água 80°C por 24 horas	32,94 ab	3,50	0,99	76,98 ab
Água 90°C por 24 horas	26,41 b	3,75	1,99	71,48 b
CV %	3,96	20,34	0,94	2,10
TESTEMUNHA	9,97 cd	4,00 ab	1,99	88,96 ab
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	3,90 d	2,00 b	0,00	95,98 a
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	33,97 a	4,75 a	1,99	63,99 d
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	29,43 ab	4,25 ab	1,99	68,46 cd
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	18,87 bc	2,75 ab	0,99	79,90 bc
CV %	2,57	32,73	0,98	1,75
TESTEMUNHA	9,97 b	4,00	1,99	88,96 a
KNO <sub>3</sub> por 24 horas	17,96 b	5,00	1,97	77,95 ab
KNO <sub>3</sub> por 48 horas	27,96 a	4,25	0,99	68,95 b
CV%	1,98	22,33	1,42	1,84

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

As diferenças que ocorreram na variável plântulas normais, observadas em todos os métodos de superação da dormência, não se confirmaram com o teste de condutividade elétrica (Tabela 3). Todas as sementes escarificadas com ácido apresentaram uma alta condutividade elétrica, independente do tempo, esses resultados nos mostram que o teste não representa a real condição de viabilidade das sementes de *L. molleoides*. Este resultado pode ter ocorrido devido à morte do tecido presente nas sementes, durante a escarificação. A escarificação ácida afeta a integridade das membranas, aumentando a quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes. Resultados semelhantes foram encontrados por Caldeira (2007), ao avaliar a qualidade das sementes de *Myracrodruon urundeuva*. Porém, Marques et al. (2002), utilizando o teste de condutividade elétrica na diferenciação de lotes de sementes de *Dalbergia nigra*, verificaram que este teste mostrou-se eficiente, apresentando alta associação com a germinação.

Santos; Paula (2007), ao estudar o teste de condutividade elétrica em sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana*), obtiveram variações nos valores da condutividade de elétrica de 34,5 a 192,3  $\mu\text{s cm}^{-1}\text{g}^{-1}$  e concluíram que, a medida que aumenta o período de embebição, aumentam os valores de condutividade elétrica proporcionando uma melhor diferenciação entre lotes.

Os resultados do teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3) demonstraram que a maior parte dos tratamentos utilizados para superação da dormência não se diferenciaram estaticamente. Mas verificou-se, que a utilização do ácido por 10 e 20 minutos, resultou em alta percentagem de plântulas normais, de 24 a 21%, respectivamente. Também, observou-se que a utilização da água quente proporcionou um aumento na percentagem de plântulas normais, à medida que aumentou a temperatura. Resultado semelhante também foi observado quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas.

Quando foi avaliada a percentagem de plântulas normais do teste de envelhecimento acelerado, verificou-se que há diferença significativa entre os tratamentos de superação da dormência com o emprego de imersão em nitrato de potássio. Observou-se que há um aumento na percentagem de plântulas normais com a elevação do tempo de imersão das sementes em nitrato de potássio.

Garcia et al. (2004), também observaram que as sementes de *Anadenanthera colubrina*, quando submetidas ao envelhecimento acelerado, apresentaram uma redução drástica da viabilidade, provocando alta taxa de deterioração e baixa percentagem de plântulas normais. Ferreira et al. (2004), relataram que o envelhecimento artificial, a partir de 48 horas, afetou a qualidade fisiológica de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*), promovendo redução da viabilidade e do vigor. O período de 48 horas de envelhecimento acelerado é crítico para vários parâmetros de vigor avaliados nas espécies *Phoenix reclinata* e *Roystonea oleracea* (NEGREIROS; PEREZ, 2004). No estudo com *Pterogyne nitens*, Biruel et al. (2007), concluíram que houve diminuição da germinação e do vigor das sementes, após a realização do teste de envelhecimento acelerado por 48 horas.



**TABELA 3** Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de *Lithrea molleoides* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.

	Envelhecimento acelerado		Condutividade Elétrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ )
	Plântulas normais (%)	Comprimento (cm)	
TESTEMUNHA	4,97	3,00	406,50
Escarificação ácida por 10 min	23,72	5,50	369,75
Escarificação ácida por 15 min	13,89	4,25	482,75
Escarificação ácida por 20 min	20,83	5,00	561,0
Escarificação ácida por 25 min	15,80	5,50	564,25
CV%	4,27	29,77	22,33
TESTEMUNHA	4,97	3,00	406,50
Água 70°C por 24 horas	12,94	4,25	367,25
Água 80°C por 24 horas	18,72	5,00	386,50
Água 90°C por 24 horas	18,93	4,25	392,75
CV%	3,48	29,28	6,16
TESTEMUNHA	4,97	3,00	406,50 a
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	14,99	5,00	138,25 b
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	13,92	3,75	85,25 b
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	9,99	5,00	103,00 b
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	19,93	4,50	87,50 b
CV %	10,62	34,23	19,34
TESTEMUNHA	4,97 b	3,00	406,50 a
KNO <sub>3</sub> por 24 horas	15,88 ab	4,75	74,25 b
KNO <sub>3</sub> por 48 horas	22,89 a	5,00	184,75 b
CV%	3,11	39,02	42,03

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

Segundo Marcos Filho (1999), o teste de envelhecimento acelerado baseia-se no aumento da taxa de deterioração das sementes, pela sua exposição a fatores ambientais de maior influência na intensidade e velocidade de germinação, como níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar. Assim, são consideradas mais vigorosas as sementes que se deterioram mais lentamente, após serem submetidas ao envelhecimento acelerado, e que podem suportar melhor as condições adversas no campo e armazenamento.

### 3.3.2 *Senna macranthera* (Manduirana)

Na Tabela 4, estão apresentados os resultados da avaliação sanitária das sementes de *S. macranthera*. Observou-se que quando as sementes foram imersas em ácido giberélico e nitrato de potássio por 48 horas, bem como em água quente

90°C, ocorreu um aumento na porcentagem de *Penicillium* spp., e inibição de *Aspergillus* spp.

Segundo Machado (1988), a associação de sementes com fungos dos gêneros *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., ocorre após a colheita, durante o beneficiamento e armazenamento. Estes gêneros estão associados à deterioração de sementes e já foram relatados em associação com outras espécies florestais (MARTHINS, 1991).

Fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicilium*, *Rhizopus* e *Trichoderma* são encontrados usualmente em sementes florestais, transportados diretamente do local de colheita para o laboratório (PIÑA-RODRIGUES; VIEIRA, 1988). Gêneros como *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Rhizopus* estão associados à deterioração das sementes e sua ação é dependente das condições físicas e fisiológicas das mesmas, por ocasião do início da armazenagem, e dos fatores ambientais predominantes no decorrer desse período (DUARTE et al., 2008).

Verificou-se, na Tabela 4, que *Rhizopus* spp. não foi alterado quando utilizou-se ácido giberélico. A presença de *Trichoderma* spp. não apresentou diferença significativa entre os diferentes métodos de superação de dormência utilizados nas sementes de *S. macranthera*.

*Alternaria* spp. (Tabela 4) foi alterada pela utilização do ácido giberélico em qualquer concentração e tempo de imersão, ou seja, o método de imersão em ácido giberélico pode reduzir a incidência de *Alternaria* spp. Para os outros tratamentos, não houve diferença significativa, assim como para os fungos classificados como “outros”.

Quando se utilizou escarificação ácida, observou-se que *Rhizoctonia* spp. aumentou com o aumento do tempo de imersão das sementes em ácido sulfúrico, sendo que, o tempo de 25 minutos de imersão foi reduzida a zero. Resultados semelhantes foram encontrado quando utilizou-se água quente, ou seja, a medida que aumentou a temperatura da água, aumentou a incidência de *Rhizopus* spp.

Verificou-se que a utilização do ácido giberélico em qualquer concentração e no tempo de 24 horas de imersão foi suficiente para o desenvolvimento de *Rhizopus* spp. Observou-se que quando se utilizou nitrato de potássio *Rhizoctonia* spp. foi reduzida com o aumento do tempo de imersão das sementes em nitrato de potássio.

**TABELA 4** Incidência de fungos associados às sementes de *Senna macranthera* submetidas os diferentes métodos de superação da dormência.

	1	2	3	4	5	6	7
TESTEMUNHA	48,30 a	54,40 a	0,00 c	100 a	0,00	12,80	5,84
Escarificação ácida por 10 min	8,92 b	1,99 b	8,97 bc	0,00 b	1,97	15,08	4,69
Escarificação ácida por 15 min	18,87 b	8,97 bc	17,99	71,78 a	0,00	7,98	1,99
Escarificação ácida por 20 min	22,74 ab	0,99 b	26,65 a	0,99 b	11,66	0,00	2,48
Escarificação ácida por 25 min	20,62 ab	1,99 b	0,00 c	37,98 ab	7,84	5,97	5,97
CV%	5,79	3,65	3,01	11,05	3,69	4,03	2,61
TESTEMUNHA	48,30 b	54,49 a	0,00 b	100 a	--	--	--
Água 70°C por 24 horas	3,94 c	19,67 b	4,95 b	0,00 b	--	--	--
Água 80°C por 24 horas	10,87 c	4,95 b	8,00 b	4,83 b	--	--	--
Água 90°C por 24 horas	86,91 a	0,00 b	9,92 a	0,00 b	--	--	--
CV %	5,15	4,94	1,98	2,15			
TESTEMUNHA	48,30 b	54,49 a	0,00 b	100	0,00	12,80 a	5,85
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	11,84 c	9,90 b	16,96 a	21,78	14,00	0,00 b	0,00
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	100 a	6,85 b	0,00 b	45,71	0,00	0,00 b	0,00
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	64,62 b	8,92 b	10,69 ab	21,78	0,00	0,00 b	2,48
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	100 a	30,61 ab	0,00 b	100	0,00	0,99 b	0,00
CV %	4,50	5,18	2,97	13,54	6,36	2,34	2,12
TESTEMUNHA	48,30 b	54,49 a	0,00 b	100 a	0,00	12,80	5,85
KNO <sub>3</sub> por 24 horas	30,73 b	3,98 b	17,92 a	7,58 b	14,93	6,39	6,39
KNO <sub>3</sub> por 48 horas	100 a	38,70 a	0,00 b	100 a	0,00	0,00	0,00
CV%	5,22	5,30	1,81	3,34	6,73	6,14	3,34

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

1: *Penicillium* spp.; 2: *Aspergillus* spp.; 3: *Rhizoctonia* spp.; 4: *Rhizopus* spp.; 5: *Trichoderma* spp.; 6: *Alternaria* spp.; 7: Outros.

Na Tabela 5, estão presentes os resultados da avaliação do teste de germinação, Verificou-se que a utilização da escarificação ácida obteve alta porcentagem de plântulas normais quando as sementes foram escarificadas por 15 e 20 minutos respectivamente

Eira et al. (1993), concluíram que o tratamento com ácido sulfúrico superou a dormência das sementes de *Enterolobium contortisiliquum*, promovendo maior uniformidade e velocidade de germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Barbosa et al. (2004), em estudo da superação da dormência de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus*).

Quando se utilizou o método de superação da dormência água quente, observou-se redução da viabilidade das sementes de *S. macranthera* a medida que aumenta a temperatura da água. Provavelmente, a utilização da água quente pode causar mortalidade dos embriões. Fowler et al. (2006) também constataram a morte do embrião das sementes quando utilizaram água quente a 80°C em *Albizia hassleri*.

Quando se utilizou ácido giberélico observou-se que pra ambas as concentrações utilizadas do ácido giberélico que, quanto maior o tempo de imersão das sementes, maior e a porcentagem de plântulas normais de *S. macranthera*. Verificou-se alta porcentagem (63%) de plântulas normais, quando utilizou-se giberilina na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, com as sementes imersas por 48 horas. Scalon et al. (2006) também observaram que a utilização de giberilina proporcionou um aumento na porcentagem de germinação de Jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia*). Resultados semelhantes foram encontrados por Franco e Ferreira (2002), ao estudar os tratamentos pré - germinativos em sementes de *Didymopanax morototoni*.

Ferreira et al. (2001) consideraram, porém, que o emprego dos fitorreguladores em *Annona cherimola* e *A. squamosa* não eleva a porcentagem de emissão da radícula. Vieira; Gusmão (2006), concluíram que o ácido giberélico não estimula a germinação de *Genipa americana*.

O uso de reguladores de crescimento estimula a germinação de sementes de algumas espécies vegetais nativas. Nesse contexto, o emprego da giberelina tem sido fundamental, pois está relacionado com a síntese de enzimas hidrolíticas que degradam reservas como amido e proteínas, que são usadas no desenvolvimento do embrião e também no alongamento da radícula. O baixo índice de germinação e heterogeneidade das plântulas emergidas pode ser resultado do balanço entre promotores e inibidores de crescimento. Assim, pode ser empregado o ácido

giberélico na promoção da germinação, pois este promove, dentre outros, aumento do alongamento celular (TAIZ; ZEIGER, 1991; SALISBURY; ROSS, 1992). Pesquisas comprovam que o uso do ácido giberélico, em sementes de diversas espécies arbóreas, estimula a germinação e têm apresentado resultados satisfatórios (CASTRO et al., 1999; FERREIRA et al., 2001). McNeil; Duran (1991) relatam que a utilização do ácido giberélico contribuiu para promover a germinação de *Plantago ovata* e aumentou a sobrevivência das plântulas no campo

Verificou-se um incremento na germinação a medida que aumenta o tempo de imersão das sementes em nitrato de potássio. Portanto, o tratamento imersão em nitrato de potássio por 48 horas, obteve uma alta percentagem de plântulas normais.(Tabela 5)

**TABELA 5** Percentagem de plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.

	Plântulas Normais (%)	Comprimento (cm)	Plântulas Anormais (%)	Sementes Duras (%)	Sementes Mortas (%)
TESTEMUNHA	7,91 c	7,50	9,95	55,54 a	25,37 a
Escarificação ácida por 10 min	35,72 ab	6,75	11,96	0,00 b	57,80 a
Escarificação ácida por 15 min	53,77 a	11,75	7,87	0,00 b	37,93 ab
Escarificação ácida por 20 min	51,88 a	7,75	6,95	0,00 b	40,88 ab
Escarificação ácida por 25 min	18,82 bc	8,75	7,83	0,00 b	70,58 a
CV%	4,24	30,10	3,20	3,42	5,14
TESTEMUNHA	7,91 b	7,50	9,95 a	55,54 a	25,37 b
Água 70°C por 24 horas	28,92 a	8,50	1,99 b	36,93 ab	31,78 ab
Água 80°C por 24 horas	24,23 ab	6,75	4,97 ab	27,72 b	38,04 ab
Água 90°C por 24 horas	12,10 ab	4,00	1,99 b	13,95 b	69,83 a
CV %	4,10	40,67	1,71	4,60	6,87
TESTEMUNHA	7,91 c	7,50	9,95	55,54 a	25,37
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	19,85 bc	3,25	6,97	19,95 b	52,71
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	62,97 a	8,00	6,95	7,83 b	30,89
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	26,51 bc	6,50	15,80	7,83 b	48,49
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	33,98 b	7,50	2,99	0,00 b	54,94
CV %	4,01	45,93	2,82	4,36	5,48
TESTEMUNHA	7,91 b	7,50	9,95	55,54 a	25,37 b
KNO <sub>3</sub> por 24 horas	16,89 b	3,50	0,99	0,00 b	79,92 a
KNO <sub>3</sub> por 48 horas	43,96 a	6,75	8,82	2,97 b	43,56 b
CV%	2,99	50,00	3,15	4,26	5,82

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância

Para comprimento de plântulas normais (Tabela 5), não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha. Porém, observou-se que quando se utilizou escarificação por ácido por 15 minutos, promoveu aumento no comprimento das plântulas de 7,5 para 11,75 cm.

A exposição das sementes a valores elevados de temperatura e umidade provoca alterações degenerativas no metabolismo pela desestruturação e perda da integridade do sistema de membranas celulares, determinando a redução na viabilidade da semente (CARNEIRO; GUEDES, 2002).

Quando se realizou a análise de correlação simples entre os dados do teste de germinação e sanidade não foi verificada correlação significativa. Portanto, a alta porcentagem de sementes mortas do teste de germinação pode não ter ocorrido devido a incidência da micoflora presente nas sementes de *S. macranthera*, mas devido à baixa viabilidade das sementes, que pode ter sido causada pelo intenso ataque de insetos, que ocorreu no período de maturação das sementes.

Na Tabela 6 estão presentes os dados referentes ao teste de condutividade elétrica. Observou-se que os tratamentos de escarificação ácida apresentaram altos valores de condutividade elétrica, e esses resultados demonstram que a utilização desse método de superação da dormência não é adequada para a realização do teste de condutividade elétrica. A escarificação ácida danifica os tecidos externos da semente e acaba mascarando o teste. Com a deterioração do tegumento das sementes, ocorre uma maior liberação de exsudados e íons para o meio líquido, facilitando a passagem da corrente elétrica. Dessa forma, ocorre um aumento no valor da condutividade, em relação às sementes que não foram submetidas à escarificação ácida.

Evidências comprovam que os eventos que caracterizam o processo de deterioração estão, normalmente, associados ao aumento ou perda na atividade de um determinado grupo de enzimas, que eliminam os radicais livres produzidos durante o processo de deterioração, além de alterações em componentes de reservas como diminuição na síntese e conteúdo de proteínas, variações na disponibilidade e na estrutura de carboidratos, diminuição no conteúdo total de lipídios e aumento dos ácidos graxos livres. Há também alterações na respiração, na síntese e degradação de DNA, bem como acúmulo de produtos tóxicos (Mc DONALD, 2000).

Medeiros (2001) observou que a escarificação ácida degrada o tegumento, mas não danifica o embrião, quando utilizado o tempo adequado para a espécie em estudo. Assim, a escarificação ácida é eficiente para superar a dormência de espécies que apresentam tegumento rígido. Torres e Santos (1996) também observaram para sementes de *Parkinsonia aculeata* que a utilização de ácido sulfúrico causa corrosão no tegumento das sementes, mas não danifica o embrião.

Dutra et al. (2007) verificaram que, os valores de condutividade elétrica de *Senna siamea*, variaram de 129,9 a 226,1  $\mu\text{s cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ , e o teste mostrou-se eficiente para diferenciação de lotes das mesmas. Em sementes de *Cedrela fissilis* (CHEROBINI et al. 2008), com o uso do teste de condutividade elétrica, foram distinguidos os lotes, apresentando alta correlação com o teste de germinação, em condições de laboratório e de viveiro.

**TABELA 6** Valores médios obtidos nos testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.

	Envelhecimento acelerado		Condutividade Elétrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ )
	Plântulas Normais (%)	Comprimento (cm)	
TESTEMUNHA	2,99	4,25	138,00 b
Escarificação ácida por 10 min	5,92	2,50	909,00 ab
Escarificação ácida por 15 min	5,97	4,75	1043,00 a
Escarificação ácida por 20 min	5,97	2,50	927,00 ab
Escarificação ácida por 25 min	3,94	2,00	1092,75 a
CV%	2,27	64,30	47,26
TESTEMUNHA	2,99	4,25	138,00
Água 70°C por 24horas	3,94	2,25	202,50
Água 80°C por 24horas	2,97	2,50	161,50
Água 90°C por 24horas	3,94	2,50	143,50
CV%	2,18	104,11	24,48
TESTEMUNHA	2,99 ab	4,25 ab	138,00
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	0,99 ab	1,50 b	87,00
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	0,00 b	0,00 b	788,00
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	7,98 a	7,00 a	375,00
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	4,94 ab	2,00 b	241,25
CV %	1,58	77,18	104,30
TESTEMUNHA	2,99	4,25	138,00 b
KNO <sub>3</sub> por 24horas	1,99	4,25	1169,25 a
KNO <sub>3</sub> por 48horas	0,00	0,00	409,50 b
CV%	0,87	116,18	32,25

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

Na Tabela 6, pode-se verificar que não ocorreu diferença estatística para a maioria dos métodos de superação da dormência no teste de envelhecimento acelerado. Apenas quando se utilizou ácido giberélico, houve diferença estatística, sendo que GA<sub>3</sub> 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas, obteve a maior percentagem de plântulas normais e comprimento médio das plântulas normais. Para os demais tratamentos, verificou-se uma redução nos valores dessas variáveis, demonstrando que as sementes de *S. macranthera*, quando submetidas ao teste de envelhecimento acelerado, apresentaram redução da germinação e vigor.

Nogueira et al. (2001), em estudo com *Anadenanthera colubrina*, concluíram que o envelhecimento acelerado provocou a perda da viabilidade e um declínio na velocidade de germinação das sementes estudadas. Em sementes de *Cedrela fissilis*, submetidas ao envelhecimento acelerado à temperatura 40°C e 100% de UR, Borges et al. (1991) encontraram resultados semelhantes. Para esses autores, a redução da viabilidade e da velocidade de germinação ocorreu em função do aumento do tempo de exposição das sementes ao envelhecimento.

Os resultados da avaliação da qualidade fisiológica das sementes de *S. macranthera*, avaliada através do teste de tetrazólio, são apresentados na Tabela 7. O teste de tetrazólio é um teste rápido e se baseia na coloração dos tecidos vivos das sementes em função das alterações na atividade respiratória. O uso do teste de tetrazólio possibilitou diferenciar os métodos de superação de dormência, correspondendo aos resultados obtidos pelos demais testes.

Observou-se que o uso da escarificação ácida, por 20 e 25 minutos, resultou em uma alta percentagem de sementes viáveis no teste de tetrazólio (61,73 e 62,87 %), sendo que no teste de germinação (Tabela 5), o tempo de 20 minutos, obteve melhor resultado.

Na Tabela 7, pode-se verificar que para as sementes classificadas como intermediárias, no teste de tetrazólio, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos de superação da dormência.

Quando utilizou-se o ácido giberélico, não ocorreu diferença significativa entre as diferentes concentrações e tempo de imersão das sementes. O método água quente a 90°C obteve a maior percentagem de sementes inviáveis e a utilização da água quente a 70°C, proporcionou uma maior percentagem de sementes viáveis no teste de tetrazólio. Provavelmente, esse resultado ocorreu devido a morte dos embriões, provocada pela alta temperatura da água.



Ao utilizar o ácido giberélico, observou-se que a imersão das sementes na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 horas, foi suficiente para elevar a percentagem de sementes viáveis para 54%, e a utilização da concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 horas, ocorreu um aumento das sementes inviáveis.

As sementes, classificadas como inviáveis, apresentaram alta incidência (43%), quando se utilizou nitrato de potássio por 24 horas e, a percentagem de sementes inviáveis foi reduzida para 29%, quando o tempo foi de 48 horas. Portanto, o aumento do tempo de exposição das sementes em nitrato de potássio aumenta a viabilidade das sementes de *S. macranthera* no teste de tetrazólio.

Amaral; Alcalay (1997) indicaram que o teste de tetrazólio é uma alternativa rápida e precisa para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes das espécies florestais *Aleurites fordii* (tungue), *Cedrela fissilis* (cedro), *Jacaranda micrantha* (caroba), *Leuhea divaricata* (açoita-cavalo), e *Hovenia dulcis* (uva-do-Japão).

O uso do teste de tetrazólio mostrou-se pouco eficiente para *S. macranthera*, uma vez que ocorreu uma superestimação do vigor das sementes, quando submetidas a diferentes métodos de superação de dormência, com relação ao teste de germinação. Portanto, a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de espécies florestais deve basear-se num conjunto de resultados de diferentes testes, para se obter uma maior segurança nas informações.

Segundo Rocha (1976), grandes discrepâncias entre os resultados dos testes de tetrazólio e germinação, necessariamente, não significam que o teste de tetrazólio esteja errado, mas pode ser devido a presença de fungos nas sementes.

Ao realizar o teste de correlação simples entre os dados do teste de germinação com os do tetrazólio, verificou-se que a maioria dos coeficientes de correlação não foi significativa. Observou-se correlação negativa ( $r=-1,0$ ) e significativa entre as variáveis sementes intermediárias e plântulas anormais, quando utilizada a água quente a 90<sup>o</sup>C. Esse resultado nos mostra que, quando aumenta a percentagem de plântulas anormais, e reduzida a percentagem de sementes intermediárias do teste de tetrazólio, indicando que o teste de tetrazólio não foi representativo na ausência da viabilidade das sementes.

Para sementes mortas, houve correlação positiva e significativa ( $r= 0,96$ ) com sementes inviáveis, quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas, indicando que para estas variáveis, o teste de tetrazólio representa a real condição da viabilidade das sementes *S. macranthera*. Segundo Krzyzanowski

et al. (1999), a escolha de metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio deve se basear na facilidade para a diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar a qualidade fisiológica de sementes. Portanto, o teste de tetrazólio pode ser usado como um complemento ao teste de germinação em sementes

**TABELA 7** Categorias de viabilidade do teste de tetrazólio de sementes de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência.

	Viáveis (%)	Intermediárias (%)	Inviáveis (%)
Escarificação ácida por 10 min	29,67 b	14,86	61,78 a
Escarificação ácida por 15 min	26,95 b	11,88	60,84 a
Escarificação ácida por 20 min	61,73 a	8,97	28,84 b
Escarificação ácida por 25 min	62,87 a	23,92	12,94 b
CV%	4,26	3,28	3,94
Água 70°C por 24 horas	61,67	17,62	19,83
Água 80°C por 24 horas	51,56	20,83	26,85
Água 90°C por 24 horas	41,82	25,99	31,85
CV%	5,29	4,54	4,05
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	53,98	13,96	31,96
GA <sub>3</sub> 250 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	42,71	10,87	45,71
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 24 horas	39,85	13,96	45,91
GA <sub>3</sub> 500 mg. l <sup>-1</sup> por 48 horas	42,98	12,98	43,99
CV%	3,33	2,70	3,19
KNO <sub>3</sub> por 24horas	35,12	20,65	42,90 a
KNO <sub>3</sub> por 48horas	59,46	11,86	28,98 b
CV%	6,47	5,30	2,41

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey, à 5% de significância.

### 3.4 CONCLUSÕES

- Os principais gêneros de fungos associados às sementes das espécies estudadas são: *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp.
- Entre os tratamentos testados para superar a dormência de *Lithrea molleoides*, destacou-se a escarificação ácida, por 20 minutos, e água quente, a 70°C, com posterior resfriamento por 24 horas, em temperatura ambiente. Para *Senna macranthera*, escarificação ácida por 15, e 20 minutos, imersão em GA<sub>3</sub> 250 mg.l<sup>-1</sup> e KNO<sub>3</sub> por 48 horas.
- Da forma como foram conduzidos os testes de condutividade elétrica e envelhecimento acelerado não são adequados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de *L. molleoides* e *S. macranthera*.
- O uso de testes rápidos, como o teste de tetrazólio, mostraram-se pouco eficiente, uma vez que ocorreu uma superestimação do vigor das sementes, quando submetidas a diferentes métodos de superação de dormência, com relação ao teste de germinação.

## 4 CAPITULO II

### **TRANSMISSÃO DE *Alternaria alternata* EM SEMENTES DE *Lithrea molleoides* March. (Aroeira-preta) E *Senna macranthera* (Dc.ex Collad.) H. S. Irwin & Barneby (Manduirana) QUANDO SUBMETIDAS À SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA.**

#### **Resumo**

O presente trabalho foi realizado com objetivo de avaliar a transmissão de *Alternaria alternata* e sua influência na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta) e de *Senna macranthera* (Manduirana), após submissão da superação da dormência. As sementes de *L. molleoides* foram submetidas à superação da dormência, através de: escarificação ácida por 20 minutos; imersão em água quente, com temperatura de 70°C, até esfriar por 24 horas; imersão em ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas, e 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 horas; imersão em nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), na concentração de 0,2%, por 24 e 48 horas. Para as sementes de *S. macranthera*, foram utilizadas: escarificação ácida por 15 e 20 minutos; imersão em ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas; imersão em nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>), na concentração de 0,2%, por 48 horas. Após desinfestação foi realizada a inoculação de *A. alternata* nas sementes pelo método de suspensão de esporos. A suspensão de esporos foi padronizada em 10<sup>4</sup> esporos/ml com auxílio da câmara de Neubauer. A inoculação nas sementes foi realizada através de imersão, por três períodos de tempo (24, 48 e 72 horas). Em seguida, foram realizados os diferentes testes em laboratório: sanidade, germinação e crescimento de plântulas. No viveiro, foi avaliado o índice de velocidade de emergência e a sanidade das mudas. No teste de sanidade, foram encontrados além de *A. alternata*, *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. A inoculação de *A. alternata* reduziu o vigor das sementes de *L. molleoides* e *S. macranthera*, independente do método de superação da dormência utilizado nas sementes. Observou-se a ocorrência de *A. alternata* nas plântulas e, este resultado, indica que esta espécie fúngica pode ser transmitida por sementes para ambas as espécies.

**Palavras-chave:** Inoculação; Sanidade; Manduirana; Aroeira-preta; Espécies florestais.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A produção de mudas de espécies florestais tem se mostrado uma atividade fundamental na cadeia produtiva, para a qual devem ser destinados cuidados na germinação, qualidade sanitária, redução de choques de transplante e no procedimento de condução das mudas, visando um melhor aproveitamento de seu potencial. Porém, a produção de mudas florestais, em qualidade e quantidade, é uma das fases mais importantes para o estabelecimento de bons povoamentos florestais com espécies nativas.

Para avaliação da qualidade fisiológica, são realizados testes de germinação e vigor. Os testes de germinação têm por objetivo verificar o potencial germinativo de um determinado lote, avaliando a qualidade fisiológica das sementes para fins de semeadura e produção de mudas.

A dormência é um mecanismo das espécies florestais para distribuir a germinação no tempo, garantindo, assim, a viabilidade das sementes. Por outro lado, para os produtores, o mecanismo de dormência é uma desvantagem, pois induz grande desuniformidade na emergência das plântulas e, conseqüentemente, maior demanda de tempo na sua produção, além de maior risco de perda de sementes por deterioração, já que estas permanecem mais tempo no solo antes da germinação.

A produção de mudas florestais apresenta uma série de restrições, principalmente de origem sanitária, devido ao grande número de patógenos associados às sementes e, posteriormente, às mudas resultantes.

A contaminação superficial das sementes é o caminho mais comum pelos quais os fitopatógenos são transportados e podem ocorrer na cultura, durante o período de maturação da semente. Neste momento, o inóculo produzido sobre folhas ou outras partes da planta atinge a superfície da semente, através de respingos de chuva, água de irrigação, vento, insetos, entre outros. Também pode ocorrer durante o processo de colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento das sementes.

Apesar de toda a perspectiva de transmissão de fitopatógeno associado à semente, esta associação não implica necessariamente, no surgimento de doenças

após a semeadura, embora muitos organismos associados às sementes sejam potencialmente capazes de causar doenças. O fenômeno de transmissão ocorre caso a doença se manifeste no campo, após a semeadura.

Estudos que visem o aprimoramento de técnicas, para solucionar problemas no desenvolvimento e manejo de espécies florestais, são de suma importância. Dentro desse contexto, trabalhos sobre produção de mudas florestais, especialmente sobre manejo de doenças, fornecem importantes informações para o estabelecimento de novos cultivos.

As sementes que são atacadas por patógenos no campo e nas operações subseqüentes (colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento), afetam a qualidade fisiológica das sementes, causando redução da germinação, bem como, tombamento de plântulas.

A umidade relativa, associada às altas temperaturas, contribui para o desenvolvimento e transmissão dos fungos presentes nas sementes, para plântulas e mudas. Portanto, é necessário conhecer e entender o desenvolvimento das doenças em mudas florestais.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a transmissão de *Alternaria alternata* e a sua influência na qualidade sanitária e fisiológica das sementes de *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta) e de *Senna macranthera* (Manduirana), após submissão à superação da dormência.

## **4.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.1 Local de realização**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria e na Casa de Vegetação do Centro de Pesquisa de Recursos Florestais - FEPAGRO-Florestas, no distrito de Boca do Monte, município de Santa Maria, RS.

#### 4.2.2 Métodos de superação da dormência

Para a realização dos diferentes testes, as sementes foram submetidas aos métodos de superação de dormência que se destacaram nos testes prévios:

- Escarificação ácida: as sementes de *Senna macranthera* foram imersas em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 90%, por 15 e 20 minutos. As sementes de *Lithrea molleoides* foram imersas por 20 minutos (MEDEIROS, 2001).
- Imersão em água fervente: as sementes de *L. molleoides* foram imersas em água, com temperatura de 70°C, até esfriar, por 24 horas (MEDEIROS, 2001).
- Ácido giberélico (GA<sub>3</sub>): as sementes foram escarificadas em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 90%, por 15 minutos e, logo após, imersas em solução de ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas e, na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 horas para *L. molleoides*. As sementes de *S. macranthera* foram imersas em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas (FRANCO; FERREIRA, 2002).
- Nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>): as sementes foram escarificadas em ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 90%, por 15 minutos e, logo após, as sementes de *L. molleoides* foram imersas na solução de nitrato de potássio na concentração de 0,2%, por 24 e 48 horas. As sementes de *S. macranthera* foram imersas por 48 horas na solução de nitrato de potássio (LULA et al., 2000).

#### 4.2.3 Inoculação de *Alternaria alternata* nas sementes

Após a realização dos diferentes métodos de superação da dormência, as sementes foram submetidas a inoculação de *A. alternata*.

*A. alternata* utilizada no presente trabalho foi observado e isolado das sementes das espécies em estudos (*L. molleoides* e *S. macranthera*). O meio de cultura básico utilizado na inoculação foi BDA (extrato de 200 g de batata, 20 g de dextrose e 20 g de ágar).

Após a autoclavagem, o meio de cultura, foi vertido em placas de petri de 8 cm de diâmetro, aproximadamente, com 25 ml de meio por placa. Um disco de 2 mm

de diâmetro, contendo meio de cultura e estrutura de *A. alternata*, foi transferido para cada placa e esta, incubadas em câmara com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C, por oito dias.

Logo após o período de incubação, foi realizada a suspensão de esporos, na qual foram adicionado 20 ml de água estéril em cada placa de Petri e, com auxílio da alça de Drigalski, homogeneizou-se a massa de esporos. Em seguida, padronizou-se a suspensão em  $10^4$  esporos/ml com auxílio da câmara de Neubauer.

As sementes foram desinfestadas em álcool etílico 70% por 1 minuto e, posteriormente, com hipoclorito de sódio a 1%, por 2 minutos. Em seguida, as sementes foram depositadas sobre papel-filtro esterilizado para que secassem e, após, foram colocadas em contato com a suspensão de esporos.

A inoculação das sementes foi realizada através de imersão, por quatro períodos de tempo (0, 24, 48 e 72 horas) e usado o tempo zero, sem inoculação. Em seguida, foram realizados os testes para avaliação da qualidade das sementes. Para a avaliação da transmissão de fungos via sementes, a inoculação das sementes foi realizada através de imersão por três períodos de tempo (24, 48 e 72 horas).

#### **4.2.4 Avaliação da qualidade sanitária das sementes**

##### **4.2.4.1 Teste de sanidade**

O teste de sanidade foi realizado por meio do método “Blotter test”, onde amostras de 100 sementes, divididas em 4 subamostras, foram colocadas em caixas de plástico tipo “Gerbox”, sobre três folhas de papel filtro esterilizadas e umedecidas com água destilada e esterilizada. Logo após, foram incubadas em estufa, a temperatura aproximada de 25°C, em regime de 12 horas de iluminação com lâmpadas fluorescentes, alternadas com 12 horas de escuro, durante sete dias. Após este período, foram avaliados os microrganismos presentes nas sementes, com auxílio de microscópio estereoscópico e ótico. A identificação dos fungos foi realizada conforme descrição de Barnett; Hunter (1972).



#### **4.2.5 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**

##### **4.2.5.1 Teste de germinação**

Esta avaliação foi composta de quatro repetições de 25 sementes, em substrato de rolo de papel, nas quais foram utilizadas três folhas de papel filtro, que foram umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel filtro seco (BRASIL, 1992).

As sementes foram mantidas sob fotoperíodo de 12 horas de luz direta e temperatura constante de 25°C. As avaliações foram realizadas semanalmente: as sementes de *L. Molleoides*, por um período de 160 dias, e as de *S. macranthera*, por 30 dias.

Foram avaliadas as plântulas normais, ou seja, as que se apresentavam bem desenvolvidas e morfologicamente perfeitas, sem rachaduras ou lesões. As plântulas que não apresentavam os critérios estabelecidos para plântulas normais foram classificadas como plântulas anormais. Também foram consideradas as sementes mortas e duras.

##### **4.2.5.2 Crescimento de plântulas**

Foi medido, com o auxílio de um escalímetro, o comprimento da parte aérea, incluindo folhas cotiledonares, no caso da *S. macranthera*, e o comprimento da radícula (KRZYZANOWSKI et al., 1999). Os resultados foram expressos em centímetros

#### **4.2.6 Avaliação da transmissão de fungos via semente**

O experimento foi conduzido em área aberta no Viveiro Florestal da FEPAGRO-Florestas. Para a avaliação das mudas sintomáticas, foram semeadas, em recipientes individuais (tubetes), duas sementes por recipiente, utilizando 200

sementes para cada tratamento. Os recipientes foram preenchidos com substrato composto por uma mistura de solo do subsolo, casca de arroz e húmus na mesma proporção. Foram realizadas as avaliações:

#### 4.2.6.1 Índice de velocidade de emergência

As avaliações foram realizadas a cada 15 dias, a partir do dia em que surgiram as primeiras plântulas normais. O procedimento descrito da avaliação prosseguiu até o dia da última contagem. O início das contagens ocorreu aos 45 e 30 dias, após a semeadura e, a última contagem, aos 75 e 45 dias para *L. molleoides* e *S. macranthera*, respectivamente.

Calculou-se a velocidade de emergência empregando a expressão de Maguire (1962).

$$\text{IVE} = E_1/N_1 + E_2/N_2 + E_3/N_3 + \dots + E_n/N_n$$

Sendo:

**IVE** = índice de velocidade de emergência.

**E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>n</sub>** = número de plântulas normais computadas nas contagens.

**N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, N<sub>n</sub>** = número de dias da semeadura à primeira contagem.

Para cada repetição, calculou-se IVE, empregando-se a expressão.

#### 4.2.6.2 Sanidade de mudas

As mudas que apresentavam sintomas de doenças, como morte, lesões de tecidos na região do coleto, murcha e seca, foram separadas para análise em laboratório para identificação dos possíveis patógenos que poderiam causar perdas no campo. As avaliações foram realizadas a cada 15 dias, sendo que para *L. molleoides* foram efetuadas três avaliações e, para *S. macranthera*, duas. Para cada muda que apresentou sintomas foliares causados por *A. alternata* foram atribuídas notas, conforme o grau de severidade da doença, baseada na tabela sugerida por Alfenas; Máfia (2007), seguindo uma escala com intervalo de 20% de severidade,

conforme a Tabela 8. Logo após, para cada tratamento, foi realizado uma média do número de plântulas para cada nota, conforme o grau de severidade, e os resultados foram expressos em percentagem.

**TABELA 8** Notas atribuídas aos graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* em mudas de *Lithrea molleoides* e *Senna macranthera*.

Notas	Grau de Severidade (%)
1	Nenhum sintoma
2	até 20
3	20 a 40
4	40 a 60
5	60 a 80
6	80 a 100

#### 4.2.7 Delineamento experimental

Foi utilizado esquema fatorial (7 X 4), com sete métodos de superação de dormência e quatro tempos de imersão na suspensão de esporos, para *L. molleoides*. Para *S. macranthera* também se utilizou esquema fatorial (5 X 4), com cinco métodos de superação de dormência e quatro tempos de imersão na suspensão de esporos, para a avaliação da qualidade sanitária e fisiológica.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à regressão polinomial, onde foram testados os modelos linear, quadrático e cúbico, sendo selecionado para explicar os resultados, o modelo significativo de maior ordem.

Para os dados da avaliação da transmissão de *Alternaria alternata* para as mudas, foi utilizado esquema fatorial (7 X 3), com sete métodos de superação de dormência e três tempos de imersão na suspensão de esporos, para *L. molleoides*. Para *S. macranthera* também se utilizou esquema fatorial (5 X 3), com cinco métodos de superação de dormência e três tempos de imersão na suspensão de esporos.

Os dados em percentagem da avaliação da transmissão de fungos para as mudas foram transformados em  $\arcsin \sqrt{x/100}$  e submetidos à análise de variância. A comparação das médias entre os métodos de superação da dormência e tempos de imersão na suspensão de esporos foi realizada através do teste de

Tukey, a 5% de significância. Utilizaram-se testes de correlações simples entre as diferentes variáveis e, para as análises, utilizou-se o Sistema de Análise Estatística - SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 *Lithrea molleoides* (Aroeira-preta)

Os resultados da avaliação da qualidade sanitária das sementes de *Lithrea molleoides*, quando submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e inoculação de *Alternaria alternata*, estão apresentados nas Figuras 1 A - G. Além de *A. alternata*, foram detectados com maior incidência *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp., *Nigrospora* spp., *Colletotrichum* spp., e *Pestalotia* spp. com menor incidência agrupados, sendo estes agrupados como “outros”.

Parisi et al. (2005), também constataram a presença desses fungos em sementes das espécies de aroeira (*Schinus terebinthifolius*), canafistula (*Peltoforium dubium*), caroba (*Jacaranda micrantha*), cedro (*Cedrela fissilis*), figueira (*Ficus enormes*), guarantã (*Piptadenia gonocantha*), jacarandá-mimoso (*Machaerium paraguariense*), quaresmeira (*Tibouchina sellowiana*) e pau-marfim (*Balfourodendron riedelianum*).

Segundo Galvão (2000), o processo de produção de mudas florestais é influenciado pela qualidade das sementes, uma vez que o total de sementes germinadas determinará o total de mudas a serem produzidas. Os valores de germinação variam de ano para ano e de lote para lote.

Os dados da incidência de *A. alternata*, *Penicillium* spp. e os fungos classificados como “outros” ajustaram-se ao modelo cúbico na Testemunha (Tabela 9). Os fungos “outros” foram reduzidos com o aumento do tempo de imersão das sementes na suspensão de esporos de *A. alternata*. Na Figura 1 A, a incidência de *Penicillium* spp. foi reduzida de 70%, no tempo de 24 horas, para 15%, no tempo de 48 horas e *A. alternata* iniciou com valores próximos de zero e, no tempo de 48 horas, atingiu valor máximo (66%). Portanto, o tempo de 48 horas de imersão foi suficiente para o desenvolvimento de *A. alternata* associado às sementes.

As sementes de *L. molleoides* apresentaram oscilação na incidência de *Penicillium* spp. ao longo do tempo, mas com uma alta no final do período (Figura 1A). Observou-se que, provavelmente, ocorreu uma relação de competição entre *A. alternata* e *Penicillium* spp. Essa competição pode ser por alimento, espaço e oxigênio. A presença de *Penicillium* spp. tende a prejudicar a qualidade das

sementes pela redução da viabilidade. A presença freqüente deste fungo nos lotes pode refletir nas condições de armazenamento dos mesmos. Carneiro (1990) cita a necessidade de se dar maior atenção para o aspecto de sanidade de sementes de espécies florestais, visando a obtenção da melhoria da qualidade das sementes e mudas.

Na Figura 1B, observou-se que a utilização da água quente reduziu a incidência *Penicillium* spp. e “outros”. Porém, contribuiu para o desenvolvimento de *A. alternata*. Os dados de *A. alternata* e os fungos classificados como outros se ajustaram ao modelo cúbico e *Penicillium* spp. ao modelo quadrático (Tabela 9). *A. alternata* obteve uma baixa incidência no período de zero a 24 horas, sendo que no tempo de 72 horas obteve um alto crescimento, chegando a 100%. Este resultado pode ter ocorrido devido ao aumento da exposição das sementes à fonte de inóculo.

Verzignassi et al. (1997) verificaram que *Alternaria steviae* e *A. alternata* estavam associados às sementes de estêvia (*Stevia rebaudiana*), interna e externamente, e foram capazes de causar danos às plântulas, como manchas necróticas na radícula e na parte aérea.

De acordo com a Tabela 9, verificou-se que *A. alternata*, *Penicillium* spp. e “outros” ajustaram-se ao modelo cúbico, quando utilizou-se escarificação ácida por 20 minutos. Observou-se que a incidência foi reduzida para valores próximos de zero. A incidência de *A. alternata* aumenta com o aumento do tempo de imersão das sementes na suspensão de esporos. Verificou-se que no tempo zero, a incidência de *A. alternata* foi de 10% e que, a partir de 24 horas, aumentou sua incidência, a qual atingiu 95% em 72 horas. Isso pode ter ocorrido, talvez, pelo fato de que o tempo de 24 horas de inoculação seja insuficiente para o desenvolvimento do patógeno nas sementes, quando se utilizou imersão em ácido sulfúrico por 20 minutos.

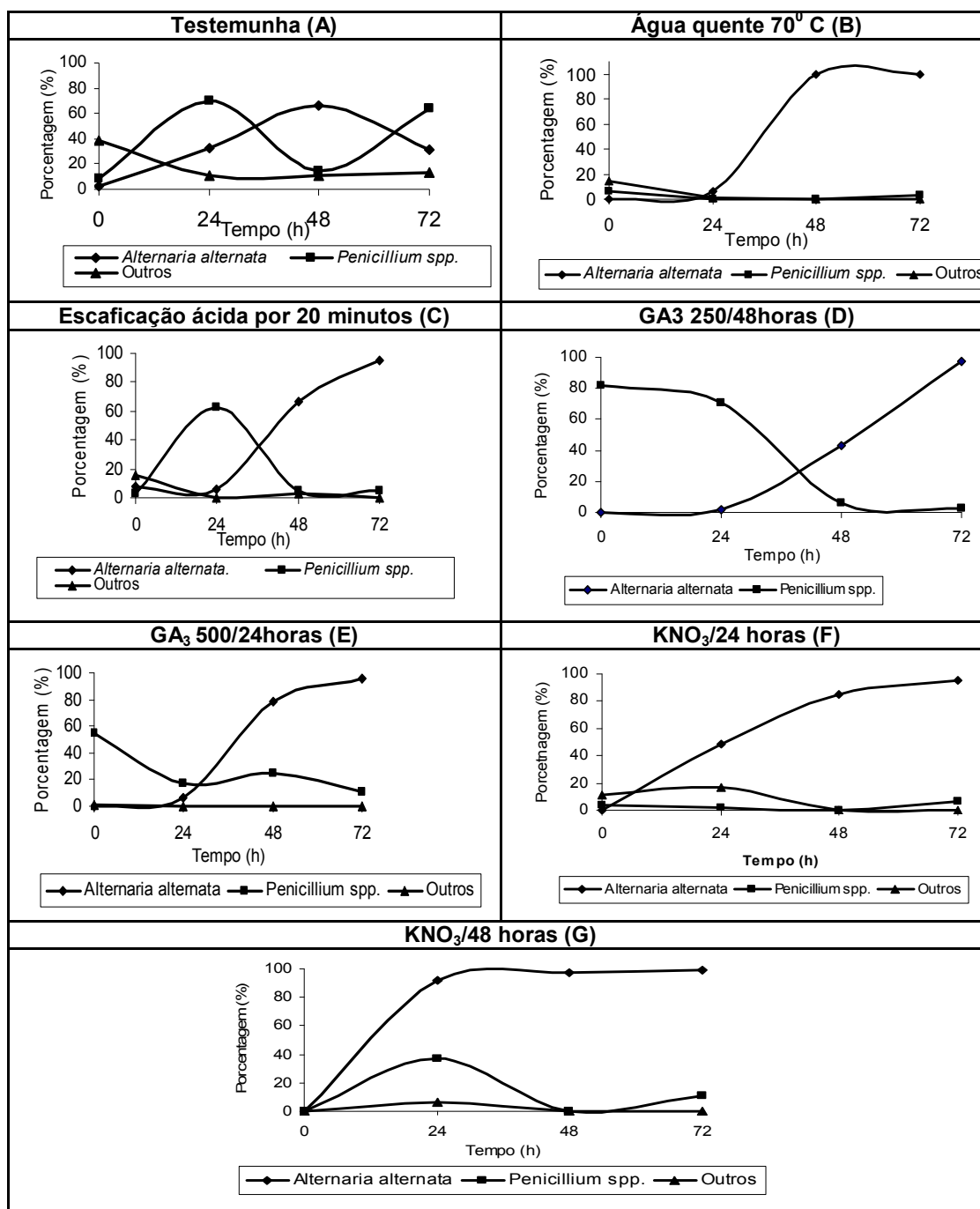
Na Figura 1D, verificou-se que os fungos classificados como “outros” foram reduzidos quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas. Esse resultado nos mostra que o ácido giberélico pode ter cooperado para inibir a incidência de vários gêneros de fungos, devido talvez a mudança do pH da superfície das sementes. *A. alternata* e *Penicillium* spp. ajustaram-se ao modelo cúbico, *Penicillium* spp. apresentou comportamento agressivo com valores muito altos no início da inoculação (80%), decrescendo bruscamente chegando a valores próximos de zero no tempo de 72 horas de inoculação. Essa redução de *Penicillium* spp. pode ter sido ocasionada pela competição com *A. alternata*, por alimento,

oxigênio ou espaço. *A. alternata* apresentou valores crescentes, atingindo 97% de incidência no ponto máximo (Figura 1D). O ácido giberélico pode ter alterado o pH da superfície da semente, contribuindo assim, para o desenvolvimento de *A. alternata*.

O inóculo contido nas sementes pode acarretar o início de diversas epidemias, além de ser um dos veículos mais importantes de transmissão de patógenos (SANTOS et al., 2001). Salustiano et al. (2005) relataram que do ponto de vista epidemiológico *A. helianthi* em baixos níveis nas sementes, é capaz de causar sérios danos à cultura de girassol em condições favoráveis à doença.

A utilização do ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas, manteve os fungos classificados como outros sempre próximos de zero (Figura 1E). Os fungos classificados como outros exercem efeito de forma quadrático e *A. alternata* e *Penicillium* spp. ajustaram-se ao modelo cúbico (Tabela 9). *Penicillium* spp. e *A. alternata*, apresentaram um comportamento de competição ou até mesmo de parasitismo, visto que, quando um aumenta outro reduz a população.

Através das Figuras 1F e 1G, observou-se que *A. alternata* apresentou comportamento crescente, com valores próximos de 100% de incidência, quando utilizou-se nitrato de potássio, independente do tempo empregado. Possivelmente, a imersão das sementes em nitrato de potássio colaborou para o desenvolvimento de *A. alternata* em sementes de *L. molleoides*. Na Tabela 9, verificou-se que *A. alternata* ajustou-se ao modelo quadrático e *Penicillium* spp. e “outros” ajustaram-se ao modelo cúbico quando as sementes foram imersas em nitrato de potássio por 24 horas. Observou-se também na Tabela 9 que, quando se utilizou imersão em nitrato de potássio por 48 horas, todas as variáveis ajustaram-se ao modelo cúbico.



**FIGURA 1** Incidência de fungos associados às sementes de *Lithrea molleoides* submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e tempo de inoculação; Testemunha (A); água quente a 70°C (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas (E); imersão em nitrato de potássio por 24 horas (F); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (G).



**TABELA 9** Equações representativas do teste de sanidade das sementes de *Lithrea molleoides*.

Variável	Equações	R <sup>2</sup>
<b>Testemunha</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.099019 + 0.0196326X + 0.00243797X^2 - 0.000034017X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.431195 + 0.3408861X - 0.01238911X^2 + 0.000112719X^3$	1,0
Outros	$Y = 11.771389 - 0.0915503X + 0.00196934X^2 - 0.000012692X^3$	1,0
<b>Água quente 70° C</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 + 0.1090743 X + 0.00000806X^2 - 0.000010055X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.286049 - 0.0156007X + 0.00019137X^2$	0,98
Outros	$Y = 10.714186 - 0.0483672X + 0.00102502X^2 - 0.000006820X^3$	1,0
<b>Escaficação ácida por 20 minutos</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.388735 - 0.1193946X + 0.00603113X^2 - 0.000051110X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.147586 + 0.3210744X - 0.01106182X^2 + 0.000091954X^3$	1,0
Outros	$Y = 10.764837 - 0.0660515X + 0.00175153X^2 - 0.000013635X^3$	1,0
<b>GA<sub>3</sub> 250 por 48 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 - 0.0551598X + 0.00293307X^2 - 0.000019285X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 13.487273 + 0.1020052X - 0.00641565X^2 + 0.000060482X^3$	1,0
<b>GA<sub>3</sub> 500 por 24 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 - 0.1115154X + 0.00669539X^2 - 0.000060764X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 12.447054 - 0.1495043X + 0.00424401X^2 - 0.000035239X^3$	1,0
Outros	$Y = 10.047034 - 0.0021660X + 0.00002149X^2$	0,93
<b>KN<sub>3</sub> por 24 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 9.986470 + 0.1117300X - 0.00077861X^2$	0,99
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.197096 + 0.0020205X - 0.00038128X^2 - 0.000005284X^3$	1,0
Outros	$Y = 10.558433 + 0.0563207X - 0.00246726X^2 + 0.000021907X^3$	1,0
<b>KN<sub>3</sub> por 48 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 + 0.2865564X - 0.00628012X^2 + 0.000042949X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.000000 + 0.2193329X - 0.00782126X^2 + 0.000067746X^3$	1,0
Outros	$Y = 10.000000 + 0.0396069X - 0.00137524X^2 + 0.000011460X^3$	1,0

Os resultados do teste de germinação de *L. molleoides*, estão presentes na Figura 2A-G. Observou-se que as variáveis analisadas na Testemunha ajustaram-se ao modelo cúbico (Tabela 10). Para a Testemunha verificou-se, que no tempo zero, a percentagem de plântulas normais foi baixa (9%), mas, a partir do tempo de 48 horas, iniciou um aumento na percentagem germinação, chegando a 30% no tempo de 72 horas de inoculação. Este resultado pode ter ocorrido devido ao tempo de embebição, ou seja, aumentou o tempo de embebição aumenta a germinação. Mostrando assim que provavelmente, as sementes de *L. molleoides* apresentam dormência tegumentar, devido à dificuldade da passagem de água pelo tegumento das sementes.

Quando se utilizou ácido por 20 minutos (Figura 2C), observou-se que a partir do tempo de 24 horas, as sementes de *L. molleoides* apresentaram percentagem de plântulas normais crescente de 31% no tempo de 24 horas e 64% no tempo de 72 horas, e a equação referente à percentagem de plântulas normais ajustou-se ao modelo quadrático (Tabela 10).

Quando se utilizou o tratamento água quente 70°C (Figura 2B), as variáveis observadas ajustaram-se ao modelo quadrático (Tabela 10). Observou-se que a germinação apresentou comportamento decrescente, iniciando com 45% e no tempo 72 horas chegou a 26%. Portanto, a utilização da água quente pode ter danificado o embrião e contribuído para o crescimento de *A. alternata*. Embora seja um método vantajoso para superar a dormência em sementes de leguminosas pelo baixo custo, a água quente tem proporcionado resultados contraditórios (RODRIGUES et al., 1990). Para *Stryphnodendron pulcherrimum* (VARELA et al., 1991) e *Mimosa caesalpiniaefolia* (MARTINS et al., 1992), a água fervente danificou o embrião para as espécies em estudo.

Quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> no tempo de 48 horas (Figura 2D), as sementes apresentaram percentagem de plântulas normais de 13% no tempo de 24 horas, e a percentagem aumentou para 35% no tempo de 72 horas. Provavelmente, esse resultado ocorreu devido ao maior tempo de embebição das sementes, o que contribuiu para o incremento da percentagem de plântulas normais das sementes de *L. molleoides*. Quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup>, por 24 horas (Figura 2E), verificou-se que as variáveis ajustaram-se ao modelo cúbico, com exceção de plântulas anormais, que se ajustaram ao modelo linear (Tabela 10). Verificou-se redução na percentagem de plântulas normais. No tempo zero, obteve-se 30% de plântulas normais e, no tempo 72 horas, a germinação foi reduzida para 13%. Este resultado ocorreu, provavelmente, devido à ação de *A. alternata* já que, no teste de sanidade (Figura 1), verificou-se que houve um aumento na incidência desse fungo.

Nas Figuras 2F e 2G, estão apresentados os dados do teste de germinação dos tratamentos de superação da dormência imersão em nitrato de potássio por 24 e 48 horas, respectivamente. Observou-se que para ambos os tempos, as sementes de *L. molleoides* apresentaram um aumento na percentagem de plântulas normais e, a partir do tempo de 24 horas, iniciou a redução da percentagem dessa variável. Possivelmente, este fato pode ter ocorrido devido ao tempo de 24 horas de

embebição das sementes, fazendo com que aumentasse a percentagem de plântulas normais. Mas, o aumento do tempo de exposição das sementes ao inóculo proporcionou maior nível de infecção nas sementes, colaborando assim, para a inibição da germinação devido ao aumento da deterioração destas.

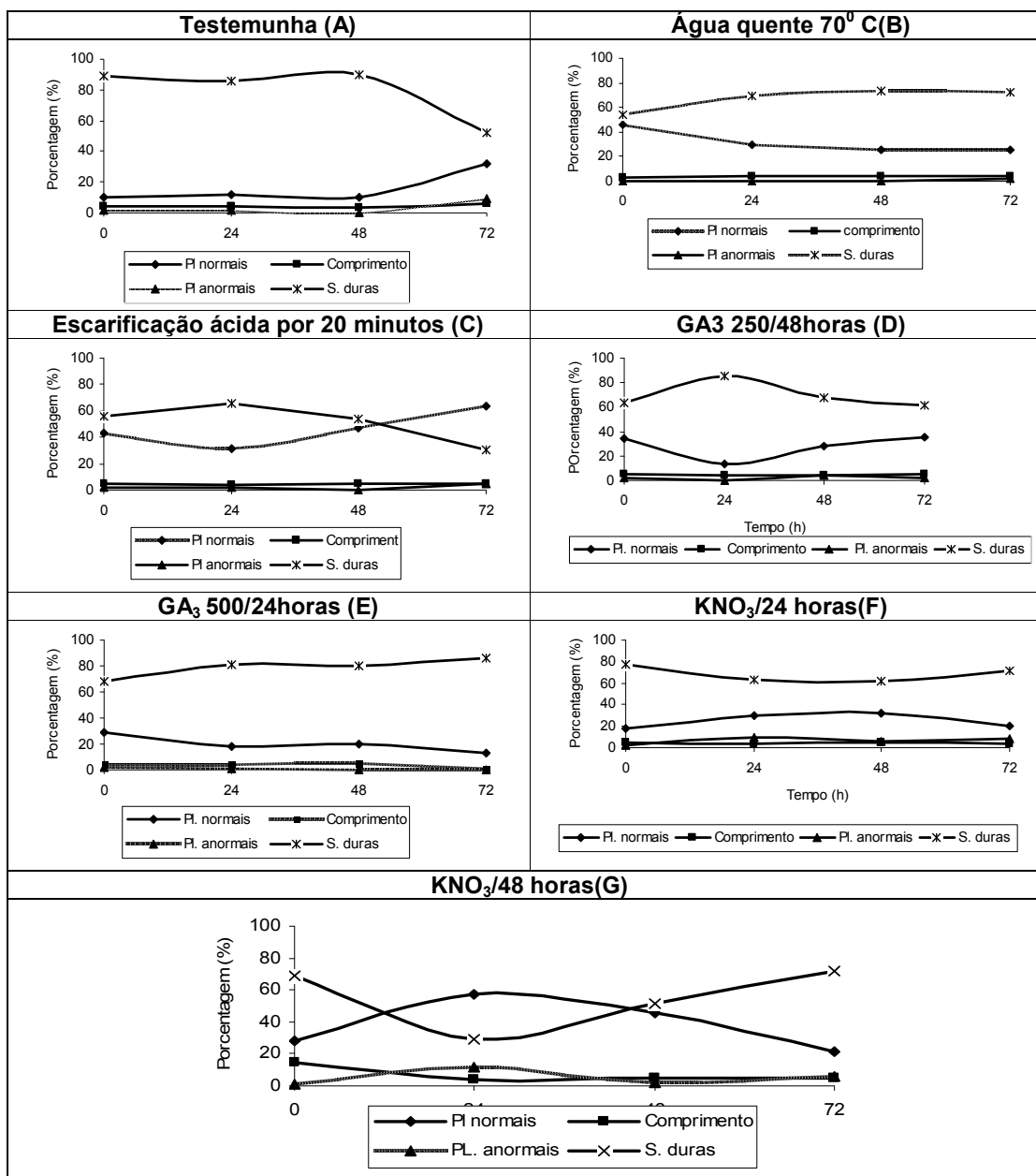
Resultados semelhantes foram observados por Machado et al. (2001) em soja, pois verificaram que, para fungos muito agressivos como *Colletotrichum truncatum*, não há necessidade de prolongamento do tempo de exposição das sementes ao inóculo, visto que no menor tempo utilizado (48 horas) obteve-se quase 100% de infecção. Araújo et al. (2006) também observaram redução na percentagem de plântulas de algodoeiro quando as sementes foram inoculadas por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

Gomes; Dhingra (1983) relataram que sementes de feijão vagem, com alta infecção de *Alternaria alternata*, não germinaram e Verzignassi et al. (1997) observaram decréscimo na percentagem de germinação de *Stevia rebaudiana*, variando de 40,5% a 16,8%.

Na Figura 2A, verificou-se que houve um aumento no comprimento médio das plântulas normais. No tempo zero, o comprimento era de 4 cm e, no tempo 72 horas, o comprimento passou para 5,5 cm. Resultados semelhantes também foram verificados nos tratamentos escarificação ácida, água quente e quando utilizou-se ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas.

Porém, quando se utilizou o tratamento ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas, nitrato de potássio por 24 e 48 horas, ocorreu uma redução no comprimento médio das plântulas normais. No tratamento nitrato de potássio por 48 horas, observou-se uma queda brusca no comprimento, de 14,25 cm no tempo zero para 4,5 cm no tempo 72 horas. Quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas, observou-se que, no tempo zero, o comprimento é de 4,25 cm e, logo após inicia sua redução, chegando a 1,5 cm no tempo 72 horas. Provavelmente, *A. alternata* proporcionou redução do vigor das sementes, visto que o fungo é saprófita, e causa redução da viabilidade das sementes.

Os resultados mostram que a inoculação de *A. alternata* pode ter contribuído para redução da percentagem da germinação e na redução do vigor das sementes de *L. molleoides*, dependendo do método de superação da dormência utilizado nas sementes.



**FIGURA 2** Gráficos representativos das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Lithrea molleoides* submetidas a métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação; Testemunha (A); água quente a 70°C (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas (E); imersão em nitrato de potássio por 24 horas (F); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (G).

**TABELA 10** Equações representativas das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Lithrea molleoides* submetidas a métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação.

Variável	Equações	R <sup>2</sup>
<b>Testemunha</b>		
Plântulas normais	$Y = 10.486812 + 0.0257091X - 0.00127712 X^2 + 0.000015416X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 4.000000 + 0.1458333 X - 0.00694444 X^2 + 0.000072338X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.099019 + 0.0112283X - 0.00066207X^2 + 0.000008024X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 13.746407 - 0.0355991X + 0.00183170X^2 - 0.000022388X^3$	
<b>Água quente 70° C</b>		
Plântulas normais	$Y = 12.060840 - 0.0330347X + 0.00030046X^2$	0,98
Comprimento	$Y = 3.462500 + 0.0348958X - 0.00032552X^2$	0,95
Plântulas anormais	$Y = 10.004904 - 0.0018389X + 0.00004257X^2$	0,93
Sementes duras	$Y = 12.416177 + 0.0313758X - 0.00030359X^2$	0,99
<b>Escaficação ácida por 20 minutos</b>		
Plântulas normais	$Y = 11.899791 - 0.0229840 X + 0.00050270X^2$	0,93
Comprimento	$Y = 4.500000 - 0.0868056X + 0.00347222 X^2 - 0.000030141X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.098076 + 0.0081541X - 0.00046706X^2 + 0.000005305X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 12.485768 + 0.0280505X - 0.00059921X^2$	0,99
<b>GA<sub>3</sub> 250 por 48 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 11.574547 - 0.0970364 X + 0.00298797X^2 - 0.000022609X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 4.762500 - 0.0671875X + 0.00097656X^2$	0,99
Plântulas anormais	$Y = 10.099019 - 0.0184613X + 0.00076786X^2 - 0.000007106X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 12.806009 + 0.0919502X - 0.00296393X^2 + 0.000023179X^3$	1,0
<b>GA<sub>3</sub> 500 por 24 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 11.376593 - 0.0479744X + 0.00139422X^2 - 0.000012055X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 10.210266 - 0.0056978X + 0.00029765X^2 - 0.000003399X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.089117 - 0.0014440X$	0,89
Sementes duras	$Y = 12.979094 + 0.0409291X - 0.00110181X^2 + 0.000009137X^3$	1,0
<b>KN0<sub>3</sub> por 24 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 10.851310 + 0.0342319X - 0.00045649X^2$	0,99
Comprimento	$Y = 5.000000 - 0.1709028X + 0.00643229X^2 - 0.000061728X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.098076 + 0.0400967X - 0.00125225X^2 + 0.000010427X^3$	1,0
Sementes duras	$*Y = 13.338091 - 0.0322215X + 0.00040127X^2$	0,99
<b>KN0<sub>3</sub> por 48 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 11.312146 + 0.1040756X - 0.00251712X^2 + 0.000014105X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 13.650000 - 0.4156250X + 0.00412326X^2$	0,89
Plântulas anormais	$Y = 10.049509 + 0.0659925X - 0.00232258X^2 + 0.000020184X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 12.998100 - 0.1584848X + 0.00456866X^2 - 0.000032620X^3$	1,0

**TABELA 11** Valores médios obtidos no índice de velocidade de emergência (IVE) no viveiro para sementes de *Lithrea molleoides* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência e tempos de inoculação de *Alternaria alternata*.

	Inoculação			Média
	24 horas	48 horas	72 horas	
TESTEMUNHA	2,50	1,75	1,75	2,00 C
Escarificação ácida por 20 min	4,50	4,00	1,75	3,42 AB
Água quente a 70°C	2,00	3,75	2,25	2,67 AC
GA <sub>3</sub> 250/48h	4,25	3,25	4,00	3,83 A
GA <sub>3</sub> 500/24h	3,50	2,50	4,25	3,42 AB
KNO <sub>3</sub> / 24h	2,75	4,75	2,75	3,42 AB
KNO <sub>3</sub> / 48h	3,75	3,75	3,75	3,75 A
Média	3,32 a	3,39 a	2,93 a	

\* Média seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

Na análise dos dados do índice de velocidade de emergência (Tabela 11) e das notas atribuídas aos graus de severidade dos sintomas causados por *A. alternata* nas mudas de *L. molleoides* (Figura 5), a análise de regressão polinomial não foi significativa. Portanto, optou-se por realizar o Teste de Tukey a 5% de significância.

De acordo com os dados da Tabela 11, não houve interação significativa entre método de superação de dormência e período de inoculação de *A. alternata* em sementes de *L. molleoides*, indicando, assim, que não existe uma combinação ideal entre os dois fatores, quando se avaliou o índice de velocidade de emergência.

Segundo Nakagawa (1999), essa variável baseia-se no princípio de que os lotes que apresentam maior índice de velocidade de emergência são os mais vigorosos, ou seja, que há relação direta entre a velocidade e o vigor das sementes.

Verificou-se que não ocorreu diferença significativa entre os diferentes tempos de contato das sementes com inóculo de *A. alternata*. Este resultado nos indica que o tempo de inoculação não interferiu na emergência das plântulas de *L. molleoides*. Teixeira et al. (2005) em estudo sobre a interação patógeno hospedeiro em milho, concluíram que não houve diferença entre percentuais de incidência de *Acremonium strictum*, para os tempos de exposição avaliados.

Os métodos de superação da dormência podem interferir na velocidade emergência das sementes de *L. molleoides*. Observou-se que a utilização da água quente não proporcionou aumento no índice de velocidade de emergência. Porém,

Alves et al. (2008) constataram que a imersão em água quente, bem como em água fria, proporciona uma elevada emergência de plântulas em *Zizyphus joazeiro*.

A utilização de GA<sub>3</sub> 250, por 48 horas, assim como a utilização de do nitrato de potássio, por 48 horas, acelerou a velocidade de emergência das plântulas. Vieira; Gusmão (2006) concluíram que o tratamento com ácido giberélico nas sementes de *Talisia esculenta* não proporcionou aumento na velocidade de germinação.

As plântulas apresentavam, inicialmente, manchas necróticas de tamanhos variados, com secamento das bordas das folhas. Logo após, evoluindo para grandes manchas com anel concêntrico e, também, manchas necróticas nos caules. Esses sintomas foram transferidos para as outras folhas da muda, evoluindo para a morte da ponteira. Observou-se que os sintomas apareceram juntamente com a emergência das plântulas, com diferentes graus de severidade.

Moraes et al. (1983) verificaram que a mancha de alternaria, causada pelo fungo *Alternaria helianthi*, é o principal problema fitossanitário do girassol, causando crestamento em todos os estágios de crescimento. McDonald; Martens (1943) também relataram que a *A. zinniae*, quando inoculada em sementes de girassol, resulta em plantas com sintomas típicos como pontuações necróticas que coalescem, formando áreas extensas de tecido necrosado, provocando crestamento prematuro da folha, desfolha precoce e morte das plantas, e em outros hospedeiros infectados. Algumas plântulas apodrecem totalmente e nem mesmo chegam a emergir e, outras, após a emergência, exibem lesões nos cotilédones, hipocótilo e tombamento.

O ataque de *Alternaria* spp. é favorecido em altas temperaturas concomitante com alta umidade, de modo que em ambientes mais secos, a doença não se desenvolve (ZAMBOLIM et al., 2000). Por outro lado, segundo esse autor, as temperaturas relativamente baixas, com alta umidade relativa, favorecem o desenvolvimento da *Alternaria* spp. Portanto, quando o ambiente apresenta alguma fonte de inóculo de *A. alternata*, a doença pode ocorrer em qualquer estação do ano, visto que os viveiros florestais apresentam-se sempre úmidos, sendo este fator o determinante para o desenvolvimento de *A. alternata*.

Nas Figuras 3-9, encontram-se os resultados referentes à avaliação da severidade dos sintomas presentes nas plântulas, quando as sementes foram inoculadas com *A. alternata*.

Verificou-se que não ocorreu diferença significativa entre os diferentes métodos de superação da dormência, e esse resultado indica que o método utilizado para superar a dormência não interferiu no desenvolvimento de *A. alternata*.

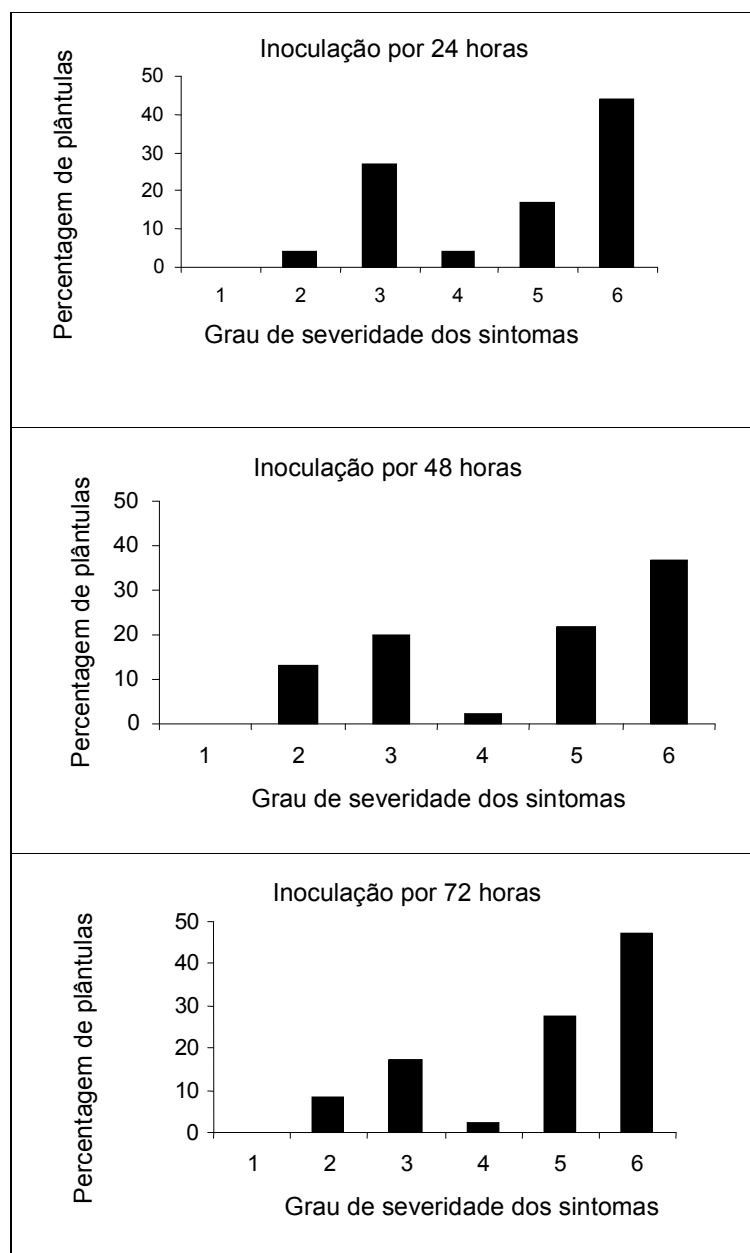
De acordo com os dados da Figura 3, observou-se que a inoculação por 24 horas foi suficiente para que *A. alternata* fosse transferida das sementes para as mudas de *L. molleoides*. Verificou-se que 44% das plântulas apresentaram o maior grau de severidade dos sintomas (grau 6) na Testemunha. Resultados semelhantes foram verificados quando se utilizou escarificação ácida por 20 minutos (Figura 4).

Quando utilizou-se água quente (Figura 5), o tempo de 24 horas de inoculação proporcionou o melhor desenvolvimento de *A. alternata*. A utilização da água quente 70°C, reduziu a incidência de alguns patógenos presentes nas sementes, ou seja, a utilização deste método realiza assepsia da superfície da semente e, também, contribuiu para o desenvolvimento de *A. alternata*.

Observou-se na Figura 6, que a inoculação por 24 horas contribuiu para o aumento da percentagem de plântulas com o grau máximo de severidade. Quando se avaliou o tempo de 72 horas de inoculação, verificou-se alta percentagem de plântulas de grau 2 de severidade dos sintomas. Resultado semelhante foi encontrado quando se utilizou ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas (Figura 7).

A utilização de nitrato de potássio por 24 horas (Figura 8), observou-se que a inoculação por 24 horas promoveu um aumento da percentagem de plântulas com o grau 5 de severidade dos sintomas. Observou-se aumento na percentagem de plântulas com o grau máximo de severidade dos sintomas, a medida que aumenta o tempo de inoculação. Este resultado também foi encontrado quando se utilizou nitrato de potássio por 48 horas (Figura 9).





**FIGURA 3** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* na testemunha e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

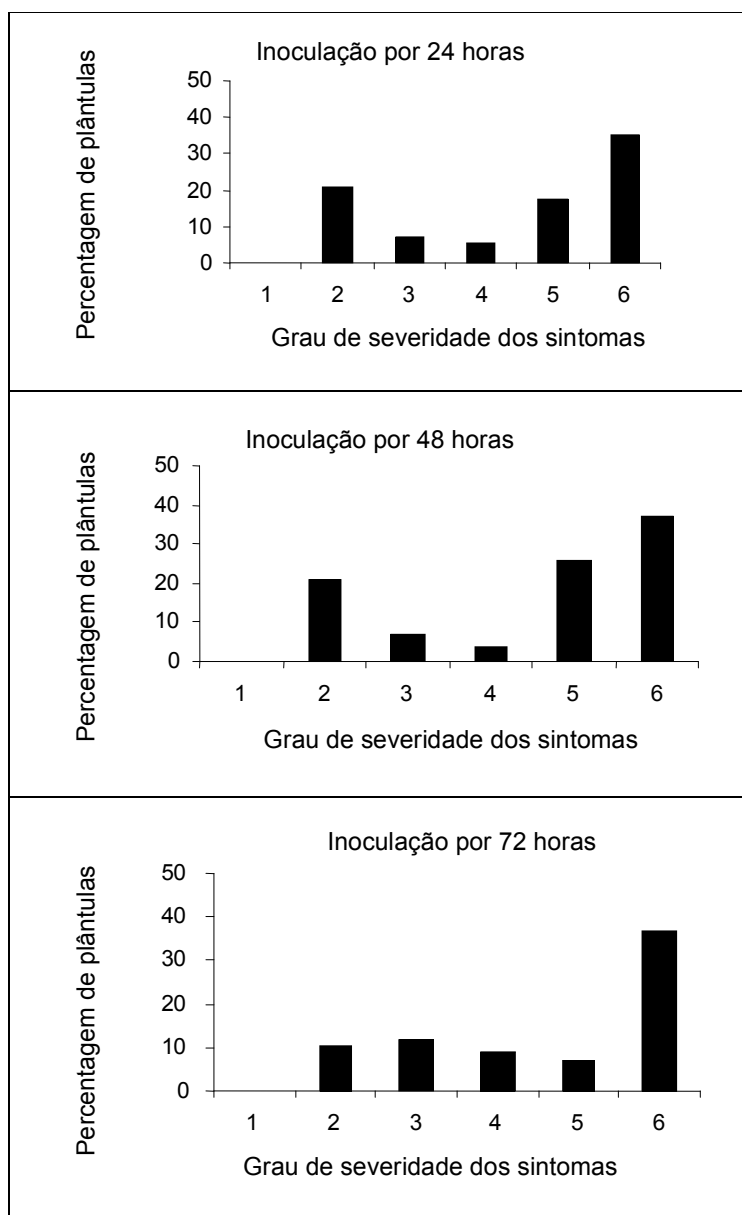
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 4** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência escarificação ácida por 20 minutos e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

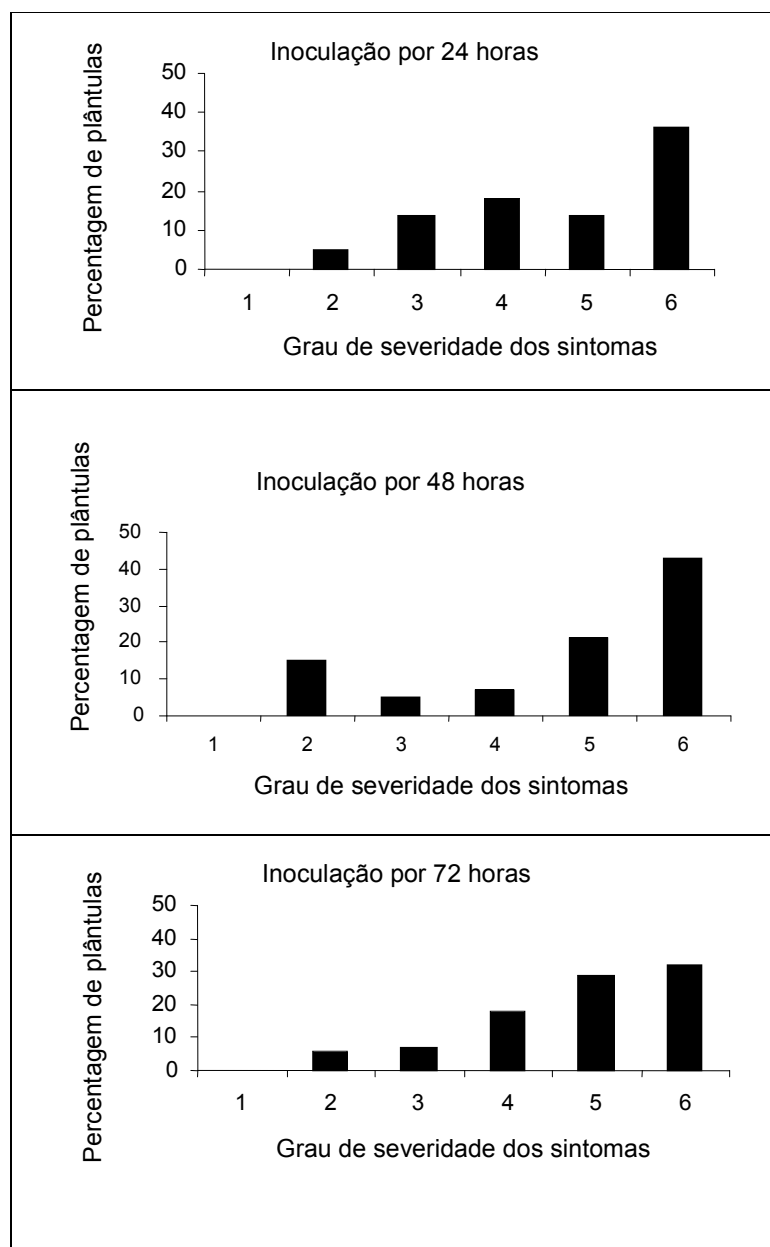
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 5** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência água quente a 70°C e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

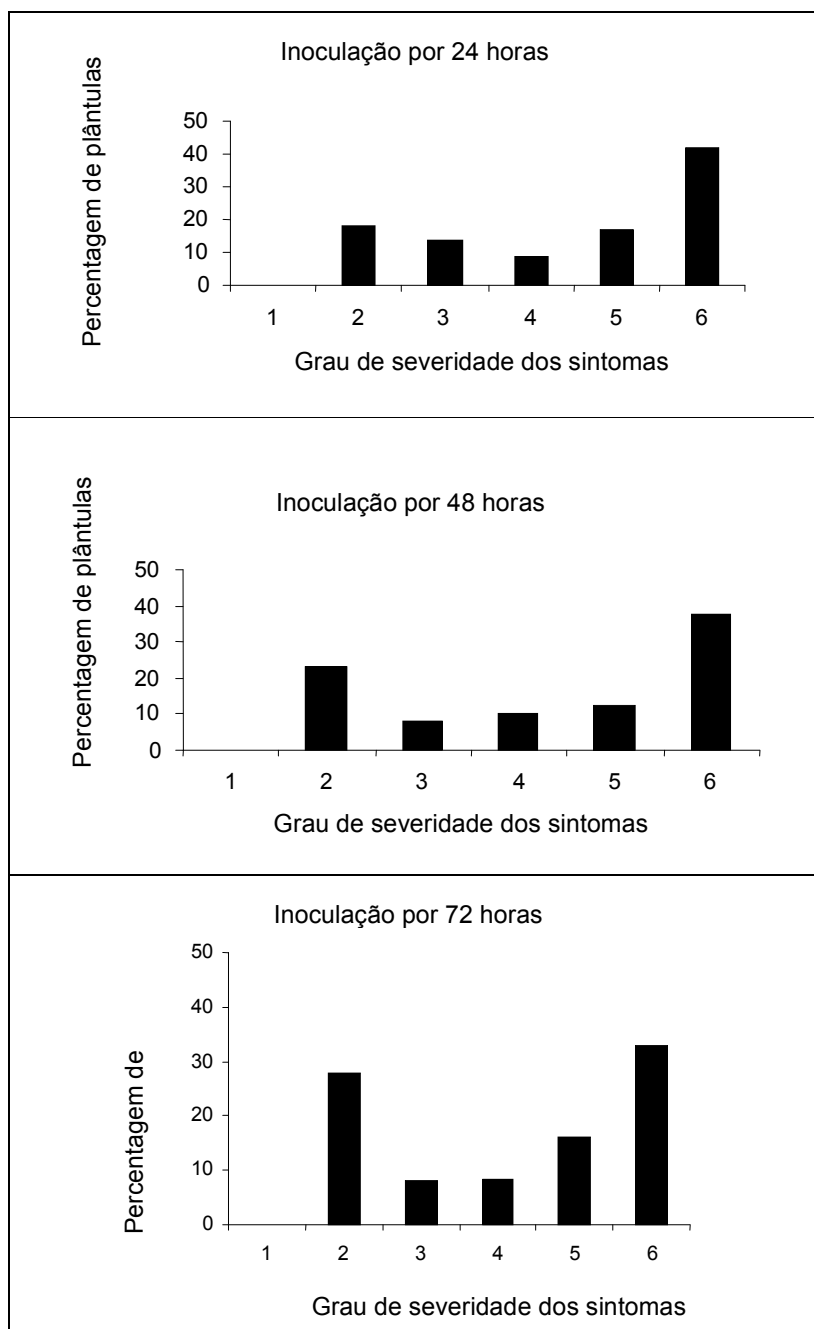
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 6** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

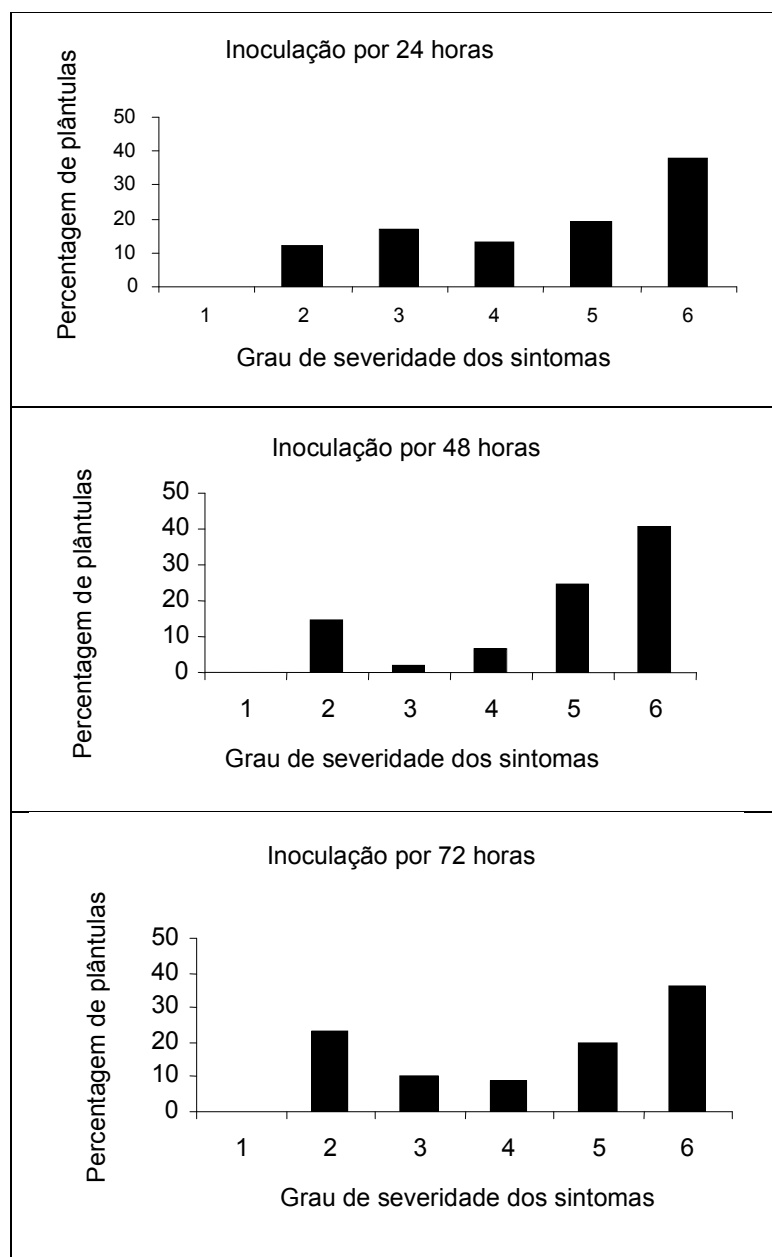
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 7** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 500 mg.l<sup>-1</sup> por 24 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: **1:** sem sintomas;

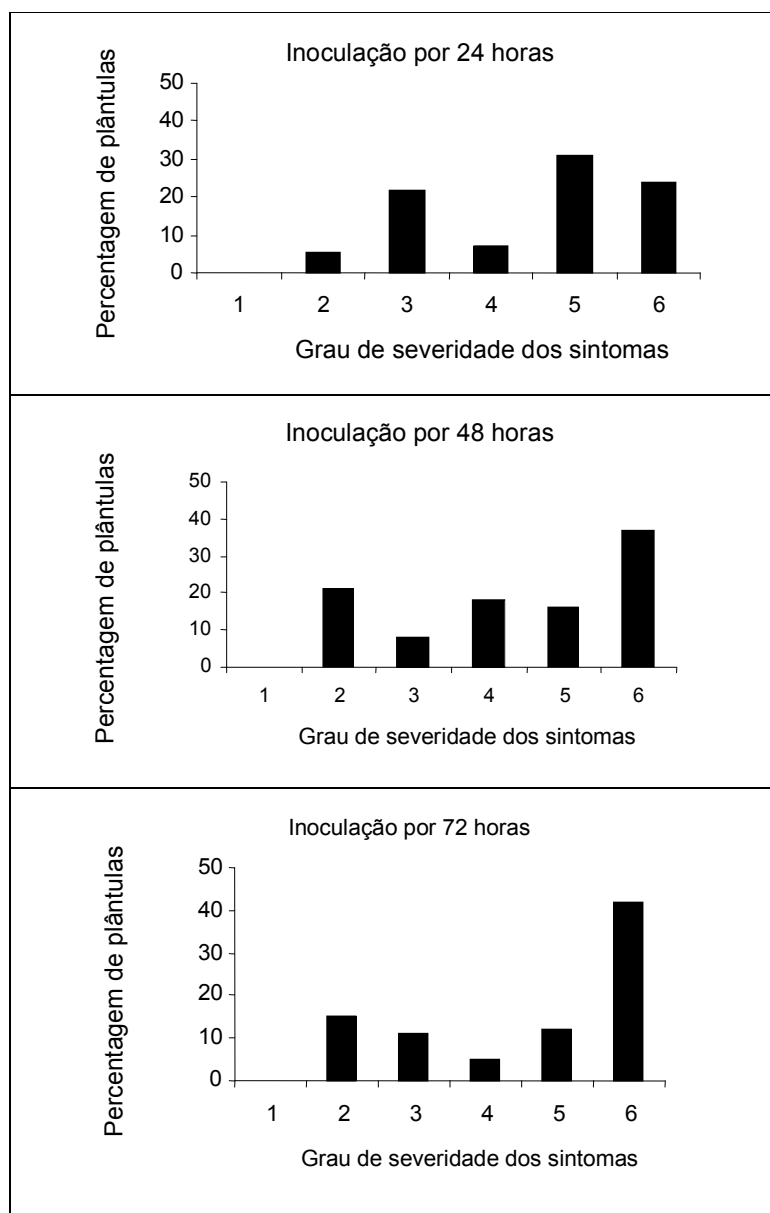
**2:** severidade dos sintomas até 20%;

**3:** severidade dos sintomas de 20 a 40%;

**4:** severidade dos sintomas de 40 a 60%;

**5:** severidade dos sintomas de 60 a 80%;

**6:** severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 8** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 24 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

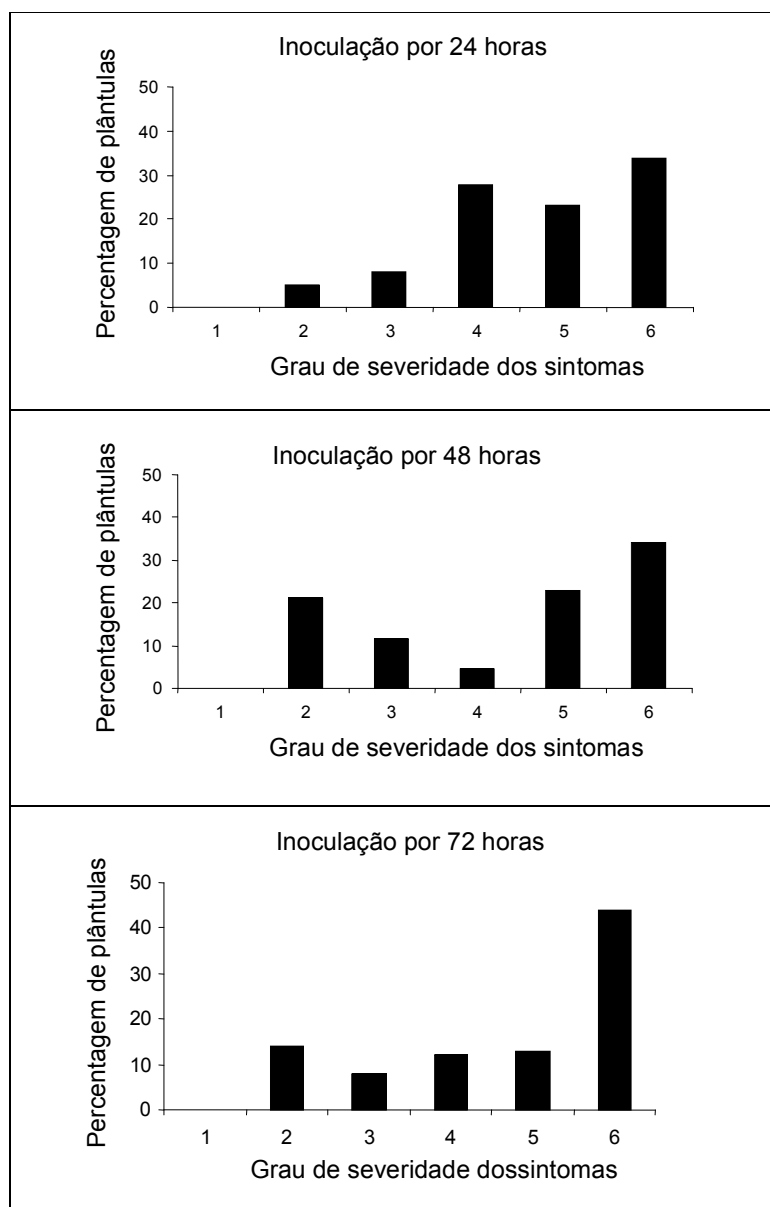
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 9** Percentagem de plântulas que apresentaram diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Lithrea molleoides* submetidas ao método de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: **1**: sem sintomas;

**2**: severidade dos sintomas até 20%;

**3**: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

**4**: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

**5**: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

**6**: severidade dos sintomas de 80 a 100%.

#### 4.3.2 *Senna macranthera* (Manduirana)

Nas Figuras 10A–E, estão presentes os resultados referentes ao teste de sanidade de sementes de *S. macranthera*, quando submetidas a diferentes métodos de superação da dormência e tempos de imersão em solução contendo inóculo de *Alternaria alternata*.

Além de *A. alternata*, observou-se a presença de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp e *Rhizoctonia* spp., *Rhizopus* spp., *Trichoderma* spp., *Phoma* spp., *Nigrospora* spp., *Colletotrichum* spp., *Paecilomices* spp. e *Pestalotia* spp. com menor incidência, sendo estes agrupados como “outros”.

Na Figura 10A, estão presentes os dados referentes à Testemunha do teste de sanidade, onde se verificou que as variáveis analisadas exercem um efeito de forma cúbica (Tabela 12). *A. alternata* inicia com baixa incidência (12%) e no tempo de 24 horas de inoculação, obteve um aumento para 26%, chegando a 62% no tempo 72 horas. Comportamento semelhante também foi verificado para *Cladosporium* spp. que no tempo zero não foi detectado e obteve um aumento de 72% no tempo 72 horas. *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., e os “outros” iniciaram com incidências próximas de 55% e obtiveram uma redução para valores próximos de zero.

Quando se utilizou ácido por 15 minutos (Figura 10B), verificou-se que *Penicillium* spp. obteve alta incidência nos tempo de 24 e 48 horas de inoculação e, no tempo de 72 horas, obteve-se uma redução na sua percentagem. *A. alternata* no tempo zero obteve 8% de incidência e no tempo de 72 horas obteve a máxima percentagem (85%).

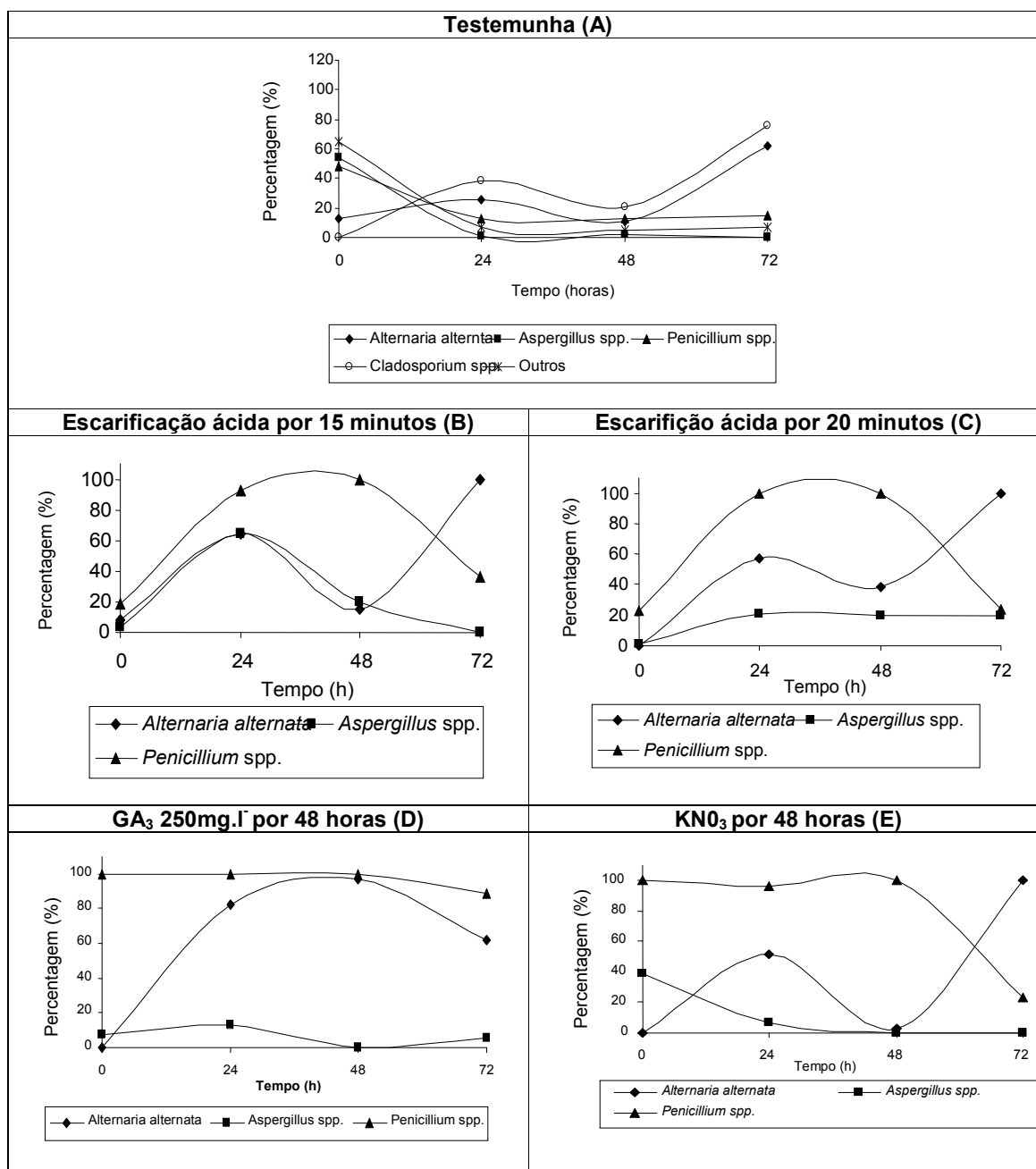
Lucca-Filho (1995) afirma que os danos causados pelos gêneros *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. são variáveis, como: perda de germinação, descoloração das sementes, aumento da taxa de ácidos graxos, aquecimento da massa de sementes e produção de toxinas.

Na Figura 10C, é possível observar o crescimento na percentagem de *A. alternata*, sendo que, no tempo 72 horas, atingiu 100% de incidência e ajustou-se ao modelo cúbico. *Penicillium* spp. ajustou-se ao modelo quadrático, sendo que nos tempos de 24 e 48 horas proporcionou 100% de incidência e no tempo de 72 horas, verificou-se a redução para 20%.



A utilização de ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup>, por 48 horas (Figura 10D), contribuiu para o aumento da incidência de *A. alternata* até o tempo de 48 horas de contato com o inóculo. Observou-se que todas as variáveis analisadas ajustaram-se ao modelo cúbico.

O estudo da associação de fungos com espécies florestais pode fornecer subsídios para modelos epidemiológicos, desde o armazenamento de sementes até a produção de mudas (SANTOS et al., 2001). Quando utilizou-se nitrato de potássio por 48 horas (Figura 10E), todas as variáveis analisadas ajustaram-se ao modelo cúbico (Tabela 12). Foi reduzido de 100%, no tempo zero para 24%, no tempo 72 horas. *A. alternata* apresentou aumento de 100% de incidência no tempo de 72 horas de contato com o inóculo. *Aspergillus* spp. é um fungo típico apodrecedor de sementes e, verificou-se que, nas sementes de *S. macranthera*, iniciou com percentagem de 38% no tempo zero e foi reduzido para zero de incidência no tempo de 48 horas.



**FIGURA 10** Gráficos representativos da incidência de fungos associados às sementes de *Senna macranthera* submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e tempo de inoculação: Testemunha (A); escarificação ácida por 15 minutos (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (E).

**TABELA 12** Equações da análise de regressão do teste de sanidade das sementes de *Senna macranthera*.

Variável	Equações	R <sup>2</sup>
<b>Testemunha</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.620571 + 0.1070907X - 0.00463807X^2 + 0.000049375X^3$	1,0
<i>Aspergillus</i> spp.	$Y = 12.429276 - 0.1855698X + 0.00434643X^2 - 0.000031079X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 12.177914 - 0.1190643X + 0.00267640X^2 - 0.000018110X^3$	1,0
<i>Cladosporium</i> spp.	$Y = 10.00 + 0.2009976 X - 0.00693944X^2 + 0.000066345X^3$	1,0
“Outros”	$Y = 12.851667 - 0.1881495X + 0.00409838X^2 - 0.000027349X^3$	1,0
<b>Escarificação ácida por 15 minutos</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.391414 + 0.3361318X - 0.01269303X^2 + 0.000121501X^3$	1,0
<i>Aspergillus</i> spp.	$Y = 10.197096 + 0.2785334X - 0.00862066X^2 + 0.000065474X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 10.904208 + 0.1809107X - 0.00236201X^2$	1,0
<b>Escarificação ácida por 20 minutos</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 + 0.2628303X^2 - 0.00842246X^2 + 0.000077376X^3$	1,0
<i>Aspergillus</i> spp.	$Y = 10.049509 + 0.0735685X - 0.001711076X^2 + 0.000011967X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 11.081312 + 0.1904574X - 0.00263586X^2$	1,0
<b>GA<sub>3</sub> 250mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.00 + 0.2212428X - 0.00347613X^2 + 0.000012881X^3$	1,0
<i>Aspergillus</i> spp.	$Y = 10.00 + 0.2212428X^2 - 0.00347613X^2 + 0.000012881X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 14.142136 - 0.0055121X + 0.00034450X^2 - 0.000004785X^3$	1,0
<b>KNO<sub>3</sub> por 48 horas</b>		
<i>Alternaria alternata</i>	$Y = 10.000000 + 0.3361769X - 0.01307869X^2 + 0.000127897X^3$	1,0
<i>Aspergillus</i> spp.	$Y = 11.777191 - 0.1203449X + 0.00312196X^2 - 0.000024907X^3$	1,0
<i>Penicillium</i> spp.	$Y = 14.142136 - 0.0597918X^2 + 0.00323963X^2 - 0.000041541X^3$	1,0

Os resultados obtidos no teste de germinação de *S. macranthera* estão apresentados na Figura 11A e E. Observou-se, na Testemunha (Figura 11A), que no tempo de 48 horas ocorreu um aumento de 12% na percentagem de plântulas normais e, no tempo de 72 horas, a percentagem de plântulas normais foi reduzida para 4%. Esse resultado provavelmente ocorreu devido ao aumento de tempo de embebição, a partir de 48 horas de contato com as sementes, o inóculo de *A. alternata* inibiu a germinação.

Machado et al. (2001) relatam que o fungo *Phomopsis sojae*, quando inoculado em sementes de soja é extremamente agressivo, ocasionando uma redução da germinação para menos de 20%, para as sementes que permaneceram em contato com inóculo no tempo de 48 horas.

Quando utilizou os métodos de superação da dormência ácida por 15 minutos, ácido giberélico na concentração 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas e nitrato de

potássio por 48 horas, a equação ajustou-se ao modelo cúbico para todas as variáveis analisadas (Tabela 13).

Quando se utilizou ácido por 15 minutos (Figura 11B), a equação ajustou-se ao modelo cúbico para todas as variáveis analisadas (Tabela 13). Verificou-se que a percentagem de plântulas normais foi de 45% no tempo zero, quando as sementes foram colocadas em contato com a fonte de inoculo de *A. alternata*, ocorreu redução da germinação, chegando a 22% no tempo de 72 horas de inoculação.

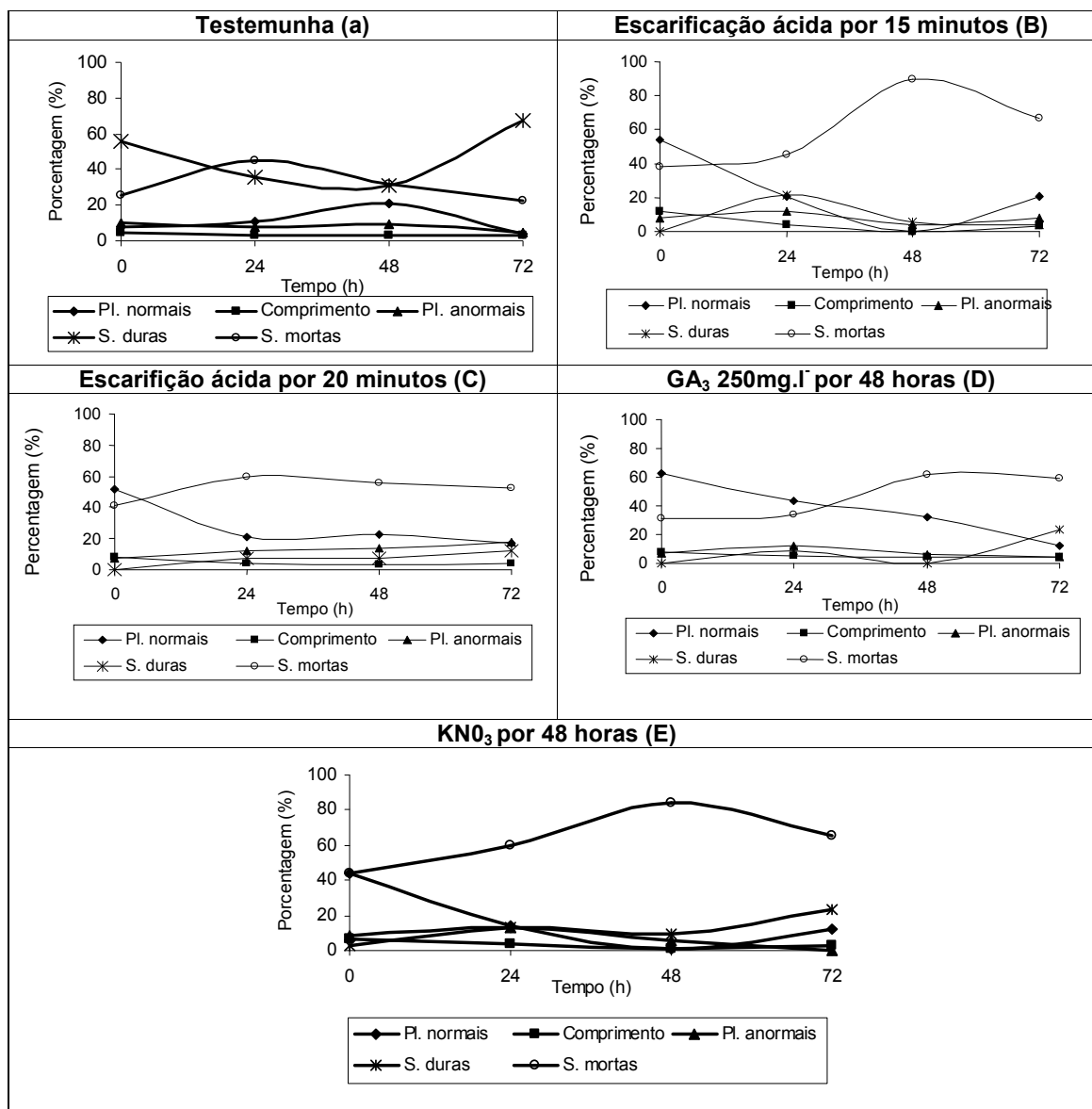
Verificou-se que, quando se utilizou ácido por 20 minutos (Figura 11C), ocorreu redução na percentagem de plântulas normais de 52% no tempo zero para 17% no tempo 72 horas, exercendo efeito cúbico (Tabela 13). Observou-se resultados similares, também, quando utilizou-se ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (Figura 11D), quando a percentagem de plântulas normais iniciou com 63% e decresceu para 12%. Esse resultado comprova a ação agressiva de *A. alternata*, ocasionando redução na germinação das sementes de *S. macranthera*. A equação ajustou-se ao modelo cúbico para todas as variáveis analisadas (Tabela 13).

Porém, Moraes; Menten (2006), estudando o efeito de *Alternaria* spp. na qualidade fisiológica de feijão, relataram que os isolados de *Alternaria alternata* não afetaram a germinação das sementes.

Verificou-se que na utilização do nitrato de potássio por 48 horas, a equação ajustou-se ao modelo cúbico para todas as variáveis analisadas (Tabela 13). Observou-se que a utilização do nitrato de potássio, por 48 horas, também proporcionou redução na porcentagem de plântulas normais nos diferentes tempos utilizados na inoculação de *A. alternata* nas sementes de *S. macranthera*. No tempo de 48 horas, a percentagem de plântulas normais chegou à zero. Este resultado pode ter ocorrido devido à ação da *A. alternata* ter sido favorecida pela utilização do nitrato de potássio.

Quando se correlacionaram os dados do teste de sanidade com sementes mortas, verificou-se que, no tempo zero de inoculação, a Testemunha obteve correlação negativa ( $r=-0,96$ ) e significativa entre os fungos classificados como "outros" e sementes mortas. Cherobini et al. (2008) verificaram que as sementes de *Cedrela fissilis* apresentaram coeficiente de correlação negativa entre os diferentes fungos presentes nas sementes. Para o método nitrato de potássio por 48 horas, observou-se correlação positiva ( $r= 1,0$ ) e significativa entre os fungos classificados

como outros e sementes mortas. Este resultado nos indica que quando utilizou nitrato de potássio, os fungos classificados como outros podem causar a morte das sementes.



**FIGURA 11** Gráficos representativos das variáveis plântulas normais, comprimento das plântulas normais, plântulas anormais e sementes duras no teste de germinação de sementes de *Senna macranthera* submetidas a métodos de superação de dormência e diferentes tempos de inoculação: Testemunha (A); escarificação ácida por 15 minutos (B); escarificação ácida por 20 minutos (C); imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas (D); imersão em nitrato de potássio por 48 horas (E).

Quando se utilizou a inoculação no tempo 72 horas, verificou-se correlação negativa ( $r = -0,96$ ) entre sementes mortas e *A. alternata*. Também observou-se correlação negativa ( $r = -0,97$ ) quando se utilizou ácido por 20 minutos. Os resultados

demonstram que a associação de fungos em sementes pode não ser responsável pela redução da germinação, emergência de plantas em sementeiras e redução do estabelecimento das plântulas no campo.

**TABELA 13** Equações da análise de regressão do teste de germinação das sementes de *Senna macranthera*.

Variável	Equações	R <sup>2</sup>
<b>Testemunha</b>		
Plântulas normais	$Y = 10.387843 - 0.0222204X + 0.00163475X^2 - 0.000018930X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 4.550000 - 0.0291667X$	0,78
Plântulas anormais	$Y = 10.490787 - 0.0028161X$	0,70
Sementes duras	$Y = 12.526595 - 0.0672752X + 0.00100351X^2$	0,96
Sementes mortas	$Y = 11.196651 + 0.0849290X - 0.00251303X^2 + 0.000018167X^3$	1,0
<b>Escarificação ácida por 15 minutos</b>		
Plântulas normais	$Y = 12.400331 - 0.0447452X - 0.00103001X^2 + 0.000019175X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 11.750000 - 0.3246528X - 0.00065104X^2 + 0.000048225X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.386198 + 0.0357435X - 0.00148862X^2 + 0.000013789X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 10.000000 + 0.1140531X - 0.00365356X^2 + 0.000029266X^3$	1,0
Sementes mortas	$Y = 11.744507 - 0.0741482X + 0.00477809X^2 - 0.000048924X^3$	1,0
<b>Escarificação ácida por 20 minutos</b>		
Plântulas normais	$Y = 12.324016 - 0.1101095X + 0.00278798X^2 - 0.000021536X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 7.750000 - 0.1927083X + 0.00195313X^2$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.367502 + 0.0068412X$	0,97
Sementes duras	$Y = 10.0 + 0.0292928X - 0.00079203X^2 + 0.000006878X^3$	1,0
Sementes mortas	$Y = 11.916708 + 0.0331548X - 0.00038830X^2$	0,86
<b>GA<sub>3</sub> 250mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 12.765993 - 0.0471177X + 0.00081132X^2 - 0.000008035X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 8.000000 - 0.1927083X + 0.00325521X^2 - 0.000018084X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.341904 + 0.0307362X - 0.00107221X^2 + 0.000008575X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 10.000000 + 0.0704184X - 0.00287654X^2 + 0.000029364X^3$	1,0
Sementes mortas	$Y = 11.440736 - 0.0453826X + 0.00279910 X^2 - 0.000027014X^3$	1,0
<b>KNO<sub>3</sub> por 48 horas</b>		
Plântulas normais	$Y = 11.998238 - 0.0638605X + 0.00022630X^2 + 0.000005382X^3$	1,0
Comprimento	$Y = 6.750000 - 0.0868056X - 0.00325521X^2 + 0.000051239X^3$	1,0
Plântulas anormais	$Y = 10.431468 + 0.0272310X - 0.00095892X^2 + 0.000006909X^3$	1,0
Sementes duras	$Y = 10.147586 + 0.0548161X - 0.00189095X^2 + 0.000018215X^3$	1,0
Sementes mortas	$Y = 11.981556 - 0.0046480X + 0.00188942X^2 - 0.000023034X^3$	1,0

**TABELA 14** Valores médios obtidos no teste de índice de velocidade de emergência (IVE) no viveiro para sementes de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência e tempos de inoculação de *Alternaria alternata*.

	Inoculação			Médias
	24 horas	48 horas	72 horas	
Testemunha	0,25	0,25	0,00	0,17 C
Escarificação ácida por 15 min	1,25	6,50	2,00	3,25 AB
Escarificação ácida por 20 min	5,25	5,50	3,50	4,75 A
GA <sub>3</sub> 250/48h	2,00	3,00	3,00	2,67 ABC
KNO <sub>3</sub> / 48h	3,25	1,25	1,00	1,83 BC
Médias	2,40 a	3,30 a	1,90 a	

\* Média seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey, à 5% de significância.

Na Tabela 14 encontram-se os resultados do índice de velocidade de emergência, realizado nas sementes de *S. macranthera*, quando submetidas a diferentes métodos de superação da dormência e tempo de inoculação. Observou-se que não ocorreu interação significativa entre métodos de superação da dormência e os diferentes tempos de inoculação.

No tempo de 72 horas, houve uma redução na velocidade de emergência (1,90). Esta redução pode ter ocorrido devido ao favorecimento do desenvolvimento de *A. alternata*, que é saprófito e causa redução da germinação das sementes da espécie em estudo.

Verificou-se que a utilização da escarificação ácida por 20 minutos incrementou a velocidade de emergência (4,75). Provavelmente, este procedimento rompeu mais rapidamente o tegumento, facilitando a absorção de água acelerando assim, a germinação e a velocidade de emergência.

Silva et al. (2007) constataram que o uso da escarificação ácida em sementes de *Erythrina velutina* não contribui para acelerar o índice de velocidade de emergência.

Os resultados dos valores médios dos graus de severidade dos sintomas causados por *A. alternata* nas mudas de *S. macranthera*, quando submetidas à diferentes métodos de superação da dormência, estão presentes na Figura 6A e 6E. Verificou-se que não ocorreu interação significativa entre métodos de superação da dormência e os diferentes tempos de inoculação.

Os sintomas apresentavam-se, inicialmente, como pequenas manchas de coloração marrom e diferentes formatos nos cotilédones. Logo após, esses sintomas evoluíram rapidamente para manchas necróticas nos cotilédones e no caule.

Araújo (2008) quando inoculou *A. alternata* em sementes de *Myracrodruon urundeuva*, identificou sintomas de doenças caracterizadas por manchas necróticas escuras, com dimensões de 1 a 3 mm de diâmetro.

Na Testemunha (Figura 12) obteve-se alta percentagem de plântulas com o grau de severidade máximo, quando o tempo de contato das sementes com a fonte de inóculo foi de 24 e 72 horas. Quando utilizou-se o tempo de 48 horas de inoculação, a percentagem de plântulas com grau cinco de severidade dos sintomas foi alta. Este resultado pode ter ocorrido devido à emergência da espécie em estudo ser lenta e desuniforme, contribuindo, assim, para o maior tempo de contato das sementes com *A. alternata*, facilitando a ação do fungo.

Nas sementes submetidas à escarificação ácida por 15 minutos (Figura 13), observou-se que a inoculação, por 48 horas, proporcionou alta percentagem de plântulas com sintomas de grau de cinco e seis de severidade. Também foi verificada elevada percentagem de plântulas com grau cinco de sintomas no tempo de 72 horas. Este resultado pode ter sido ocasionado pela emergência desuniforme da espécie.

A utilização do ácido por 20 minutos (Figura 14) a inoculação por 24 horas, proporcionaram alta porcentagem de plântulas sem sintomas. Este resultado pode ter ocorrido devido ao índice de velocidade de emergência ter sido relativamente alto (5,25), reduzindo o tempo de contato da semente com o fungo, ou o tempo de contato das sementes com *A. alternata* foi insuficiente para que o fungo se estabelecesse. Quando se utilizou inoculação por 72 horas, observou-se alta percentagem de plântulas com sintomas de grau cinco e seis. Este resultado pode ter sido proporcionado pela maior ação de *A. alternata* nas sementes de *S. macranthera*. Assim, as sementes quando imersas na suspensão de esporos, absorveu parte da água, facilitando o aumento da incidência de *A. alternata*.

Segundo Santos; Parisi (2004) há poucos trabalhos que relacionam os microorganismos que ocorrem nas sementes com seu efeito sobre a germinação e o desenvolvimento das plantas.

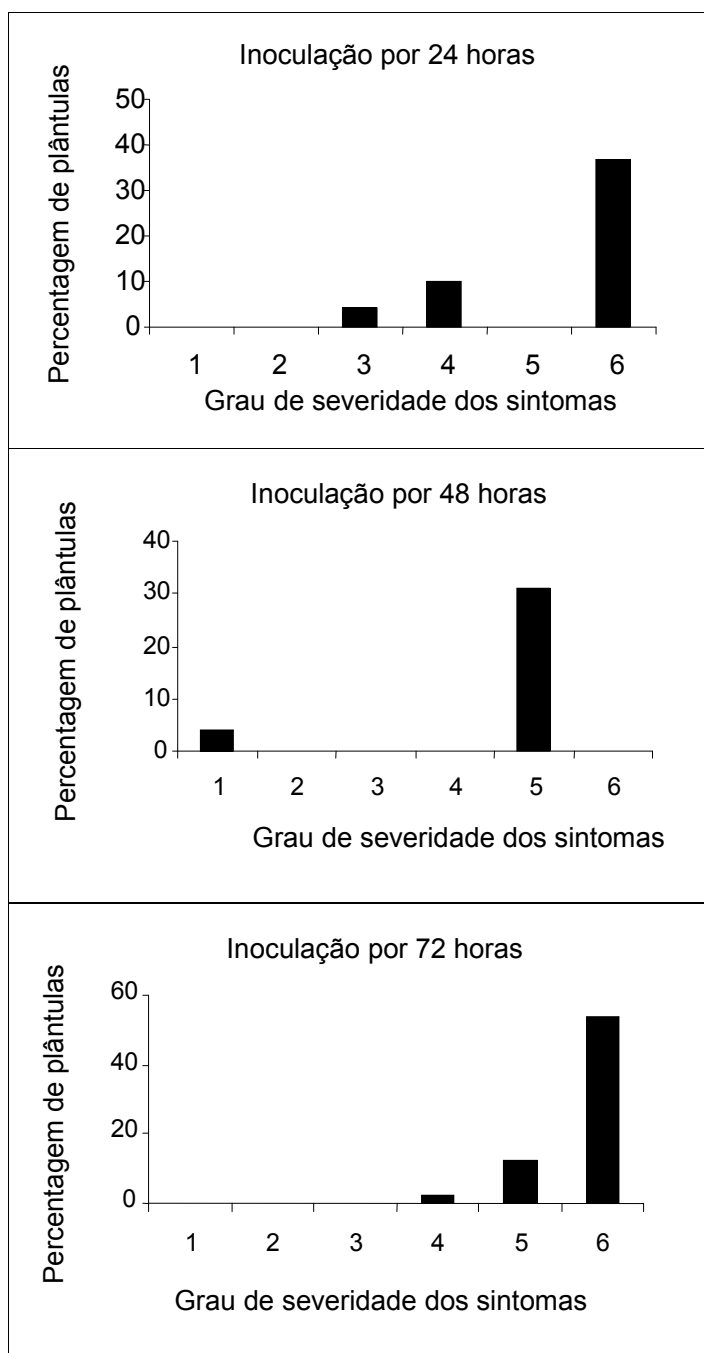
Na avaliação das sementes submetidas ao ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas e imersão por 24 e 48 horas na suspensão de esporos



(Figura 15 e 16), observou-se alta percentagem de plântulas com grau de severidade dos sintomas entre cinco e seis. *A. alternata*, provavelmente, foi favorecida pela ação do ácido giberélico. Porém, quando as sementes foram inoculadas por 72 horas, observou-se alta percentagem de plântulas com ausência de sintomas. Provavelmente, as unidades formadoras de colônia de *A. alternata* foram reduzidas, devido ao tempo de imersão em água, provocando a morte das mesmas.

De acordo com os dados observados de ocorrência de mancha necrótica em cotilédones das plântulas inoculadas com *A. alternata* nas sementes têm-se, então, um indicativo de que esta espécie fúngica pode ser transmitida por sementes de *S. macranthera*.

Observou-se na Figura 16, que a utilização do nitrato de potássio por 48 horas favoreceu a ação de *A. alternata*, visto que, para qualquer tempo de contato, foi verificado que a severidade dos sintomas ocorreu entre cinco e seis. A utilização do nitrato de potássio pode ter provocado alteração no pH da superfície da semente de *S. macranthera*, favorecendo o desenvolvimento da *A. alternata*.



**FIGURA 12** Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Senna macranthera* na Testemunha e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

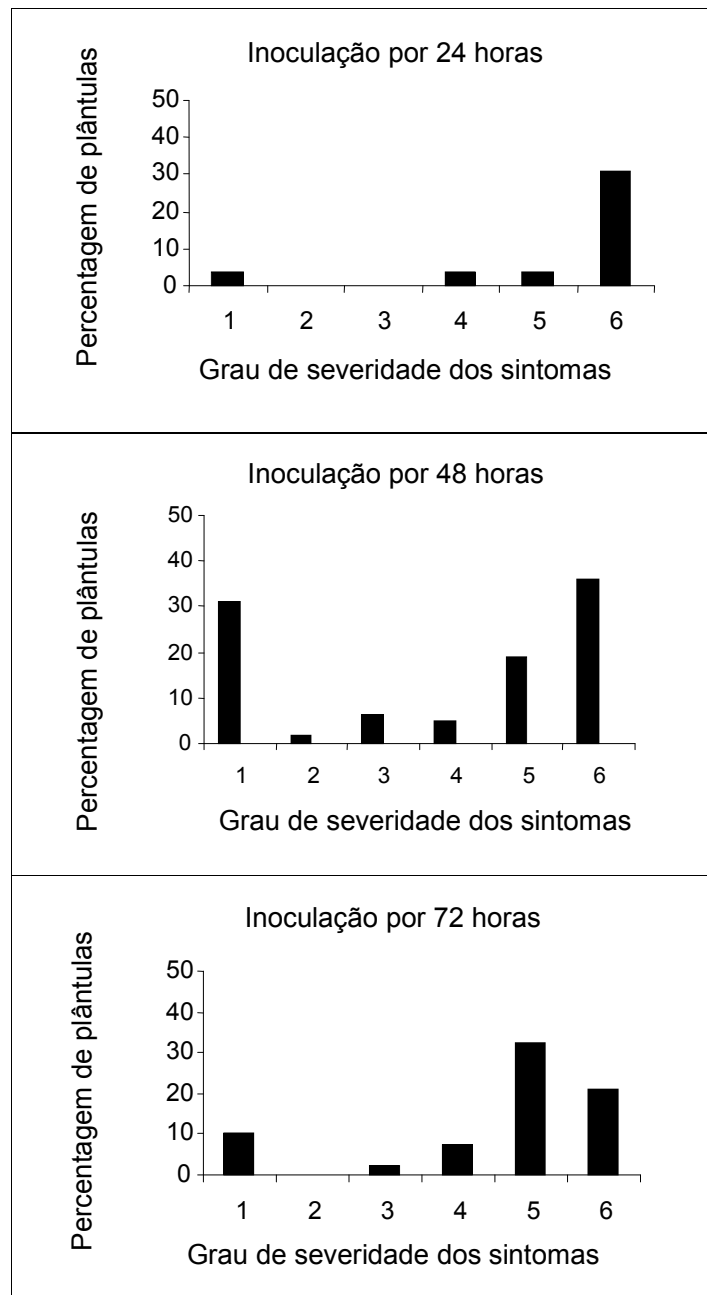
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 13** Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Senna macranthera* submetidas ao métodos de superação de dormência escarificação ácida por 15 minutos e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

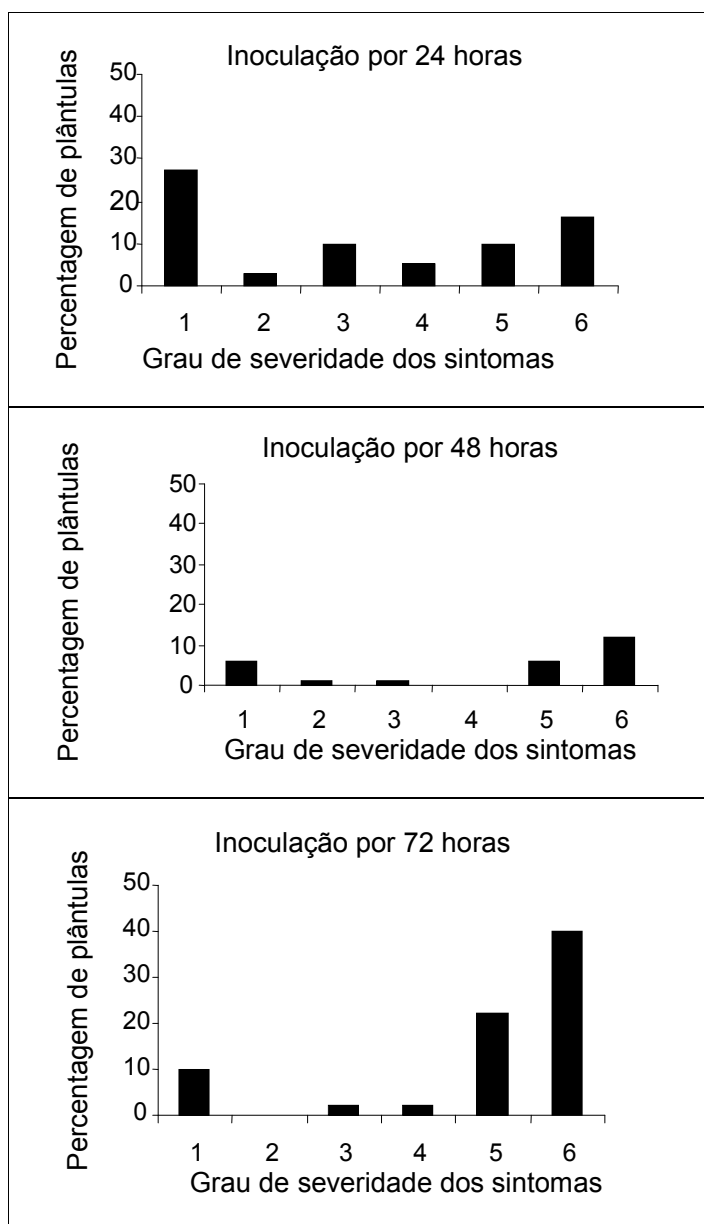
2: severidade dos sintomas até 20%;

3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;

4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;

5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;

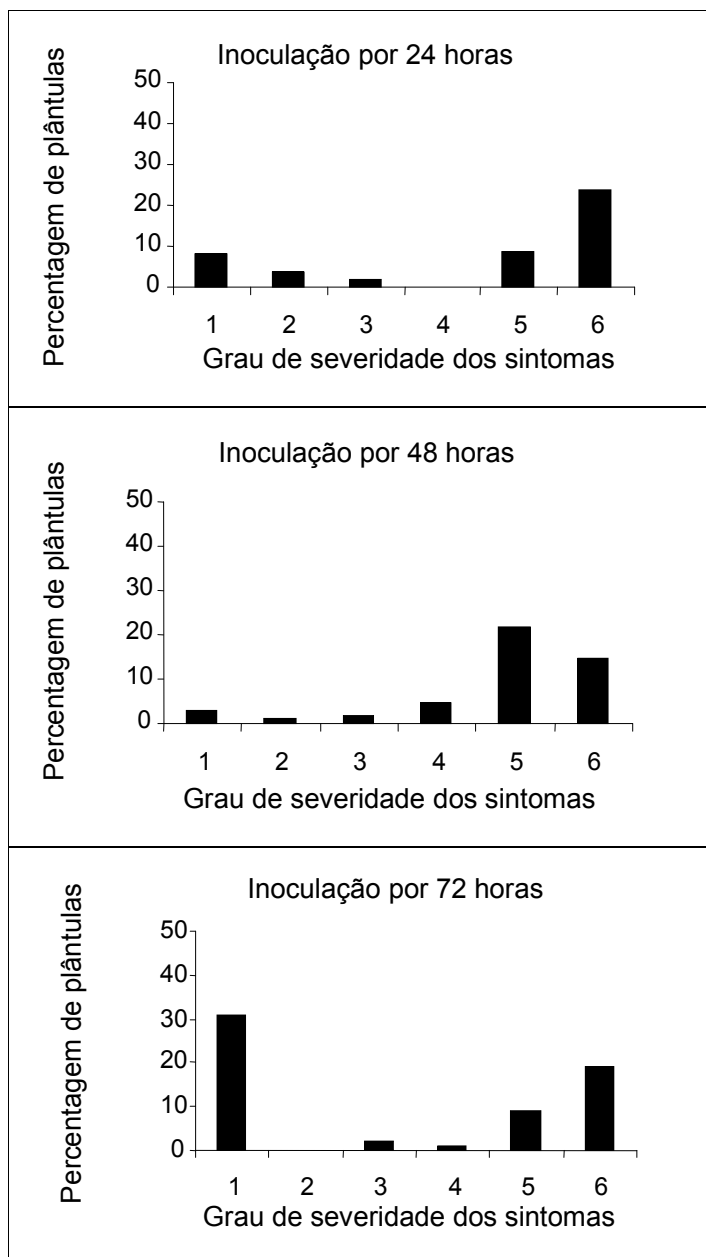
6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 14** Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência escarificação ácida por 20 minutos e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

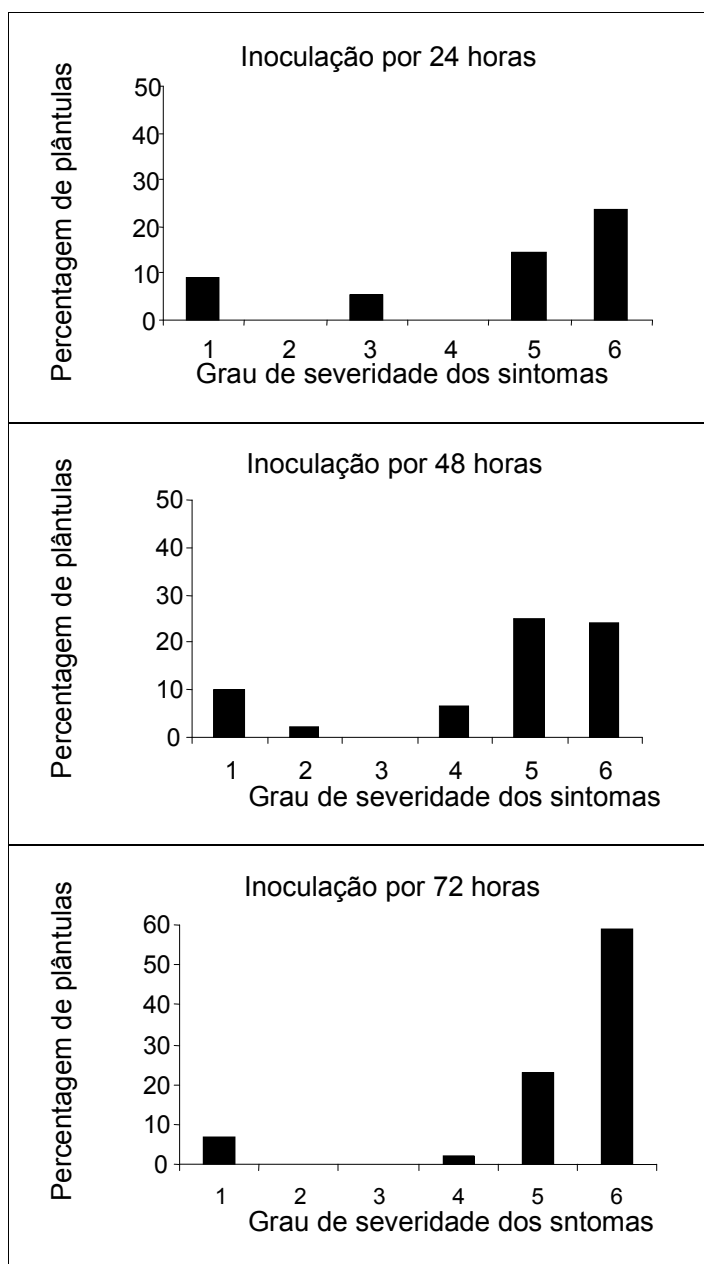
- 2: severidade dos sintomas até 20%;
- 3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;
- 4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;
- 5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;
- 6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 15** Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência imersão em ácido giberélico na concentração de 250 mg.l<sup>-1</sup> por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

- 2: severidade dos sintomas até 20%;
- 3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;
- 4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;
- 5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;
- 6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.



**FIGURA 16** Percentagem de plântulas que apresentaram à diferentes graus de severidade dos sintomas causados por *Alternaria alternata* nas plântulas de *Senna macranthera* submetidas a diferentes métodos de superação de dormência imersão em nitrato de potássio por 48 horas e diferentes tempos de inoculação.

Legenda: 1: sem sintomas;

- 2: severidade dos sintomas até 20%;
- 3: severidade dos sintomas de 20 a 40%;
- 4: severidade dos sintomas de 40 a 60%;
- 5: severidade dos sintomas de 60 a 80%;
- 6: severidade dos sintomas de 80 a 100%.

#### 4.4 CONCLUSÕES

- A utilização dos métodos de superação da dormência, e os diferentes tempos de imersão na suspensão de esporos, proporcionaram condições para uma maior ou menor infecção das plântulas por *A. alternata*.
- Os resultados deste trabalho confirmam a transmissão de *A. alternata* por sementes para as espécies em estudo.
- O percentual de *A. alternata* associado às sementes das espécies em estudo elevou-se até o tempo de 48 horas de inoculação.
- A inoculação de *A. alternata* nas sementes em estudo afetou diretamente o índice de velocidade de emergência e o estabelecimento das plântulas no viveiro.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. U. et al. Métodos para quebra de dormência de unidades de dispersão de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 407 - 415, May/June, 2008

ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A. Inoculação de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. Cap.5, p.117-137.

AMARAL, D.M.I.; ALCALAY, N. Emprego do teste de tetrazólio em cinco espécies florestais do Rio Grande do Sul. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.7, n.1/2, May/June, p. 221, 1997.

ANDERSON, R. L. **Check list of micro-organisms associated with tree seeds in the world**. Washington: USDA, Forest Service, 1986. (Technical Report, SE -39).

ARAÚJO, D. V. et al. Relação entre níveis de inóculo de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e o progresso da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Pelotas, v. 31 n. 2, mar./abr. 2006

ARAÚJO, E. R. **Qualidade fisiológica, etiologia e patogenicidade de fungos assinalados em sementes de aroeira produzidas em três municípios da Paraíba**. 2008. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. The Seed Vigor Test Committee. **Seed vigor testing handbook**. [S. l.], The Handbook on Seed Testing, 1983. 88 p. (contribution, 32).

BACKES, P.; IRGANG, B. **Mata Atlântica: as árvores e a paisagem**. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. P. 272.

BARBOSA, A. P. et al. Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34 n.1, p.107-110, mar./abr., 2004.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Burgess Publishing Company, Minneapolis: 3<sup>rd</sup> ed, 1972.



- BASTOS, G. Q.; NUNES, R. S.; CRUZ, G. M. F. Reavaliação de quebra de dormência em sementes de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) DC). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 14, n. 1, p. 17-20, jul. 1992.
- BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A. S. (Ed.) **Seed quality: basic mechanisms and agriculture implications**. New York: Food Products Press, 1995. p. 1-44.
- BETIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. Princípios e conceitos. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 717-727.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BIRIEL, R. P. et al. Efeitos do condicionamento seguido ou não de secagem em sementes de *Pterogyne nitens* TUL. sob estresse. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 2, p. 119-128, abr - jun, 2007.
- BLANK, M. F. A.; ALVARENGA, A. A.; BLANK, A. F. Armazenamento e viabilidade de sementes de *Campomanesia rufa*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 21, n. 1, p. 85-90, abr - jun, 1997.
- BORGES, E. E. L.; CASTRO, J. L. D.; BORGES, R. C. G. Avaliação fisiológica de sementes de cedro submetidas ao envelhecimento precoce. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, São Paulo. **Anais...** Instituto Florestal de São Paulo, 1991. p. 28.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BRUNO, R. L. A. et al. Tratamentos pré-germinativos para superar a dormência de sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 136 -143, dez., 2001.
- CALDEIRA, S. F. **Conservação, viabilidade e vigor de diásporos e crescimento inicial de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* FR.ALLEM.)** 2007. 196 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- CARNEIRO, J. S. Micoflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 3, p. 557 - 66, set., 1986.

\_\_\_\_\_. Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paropeba-MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.75-7, mar., 1990.

CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR, 1995. 451 p.

CARNEIRO, J. W. P.; GUEDES, T. A. Dinâmica de ocorrência germinativa em amostras de semente envelhecidas artificialmente: envelhecimento e sobrevivência. **Informativo ABRATES**, Pelotas v.12, p.44 - 51, jun., 2002.

CARVALHO, N. C. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciências, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 424 p.

CARVALHO, P., E., R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, Embrapa florestas, 2003. v. 1. p.22-55.

\_\_\_\_\_. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, Embrapa florestas, 2006. v. 2. p. 97-104.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-107.

CASTRO, E. M. et al. Influência do ácido giberélico e do nitrato de potássio na germinação de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer. **Revista Árvore**, Viçosa . v. 23, n. 2, p. 255-258. jan.-mar.1999.

CHEROBINI, E.A.I.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 1, P. 65-73, jan.- mar. 2008.

CHRISTENSEN, C. M. Loss of viability in storage Microflora. **Seed Science and Technology**, Zurich,V. 1,n.3, p.547-562, 1973.

CLEMENTE FILHA, A. C. **Aspectos fisiológicos e fotoquímicos de *Bauhinia forficata* Link e *Plantago major* L.** 1996. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COPELAND, L. O. **Principles of seed science and technology**. Minnesota: Burgess Publ., 1976. 369 p.

DUARTE, L. M. L. et al. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu v. 34, n. 4, p. 343-348. Botucatu out./dez., 2008.

DUTRA, A. S., et al. O. Germinação de sementes de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin E Barneby – Caesalpinoideae. Revista **Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.29, n.1, p.160 -164, abr., 2007.

EIRA, M. T. S.; FREITAS, R. W. A.; MELLO, C. M. C. Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) MORONG. – LEGUMINOSAE. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 15, n. 2, p. 177-181, ago., 1993.

FOWLER, J. A. P.; CARPANEZZI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Tecnologia para o manejo adequado de sementes de farinha-seca. **Boletim Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 53, p. 195-208 jul./dez. 2006.

FERREIRA, F. A. **Patologia Florestal**: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa, SIF, 1989, 570 p.

FERREIRA, G.; SEIDEL, G. O.; VERONA, M. M. Efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilheus. **Resumos**. Ilhéus: 2001. 1 CDROM.

FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, D.; OLIVEIRA, A. F.; GEMAQUE, R. C. R. Qualidade fisiológica de sementes de *Copaifera langsdorffii* envelhecidas artificialmente. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 35, n. 1, p.82-86, jan. - jun., 2004.

FONSECA, C.F.; RIBEIRO, J. F. Fruteiras nativas do cerrado: estágio atual e perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1; 1996, Cruz das Almas, **Anais**. Cruz da Almas EMBRAPA-CNPMF/SBF, 1996. p. 63-75.

FRANCO, E. T. H. ; FERREIRA, A. G. Tratamentos pré -germinativos em sementes de *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dcne. et Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, P. 1-10, mar., 2002.

GARCIA, L..C; NOGUEIRA A. C.; ABREU, D. C. A. Influência do envelhecimento

acelerado no vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan – *Mimosaceae* **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 85-90, mar. ,2004.

GOMES, J.L.L.; DHINGRA, O. D. *Alternaria alternata*, a serious pathogen of white colored snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, p.173-7, dez., 1983.

HALMER, P.;BEWLEY, J.D. **A physiological perspective on seed vigour testing**. Seed Science Techonology, v.12, p. 561-575.1984.

HILTON, J. R. How light affects weed seed germination. **Span**, Derby, v. 28, n. 3, 1985, p. 95-97.

ISTA-INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rules for Seed Testing. **Seed Science and Tecnology**, Zürich, v.21, Supl., p.1-288, 1993.

KHAN, A. A. Control and manipulation of seed dormancy. In: LANG, G. A. (Ed.) **Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology**. Wallingford: CAB International, 1996. p. 29-45.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. de B. F. *Leiostachya* Benth., *Cassia grandis* L. E. *Samanea saman* Merrill, após tratamentos para superar a dormência. Revista **Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 40, n. 8, p.80-86, dez., 1998.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. de B. F. **Vigor de sementes: Conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LIMA, E.F., CARVALHO, J.M.F.C., CARVALHO, L.P; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* através da semente do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, V. 10, n. 1, p. 105-115, mar., 1985.

LUCCA-FILHO, O. A. **Curso de tecnologia de sementes**. Brasília: ABEAS, 53 p., 1995.

LULA, A. A.; ALVARENGA, A. A., ALMEIDA, L. P.; ALVES, J. D.; MAGALHÃES M. M. Estudos de agentes químicos na quebra da dormência de sementes de *Paspalum paniculatum* L. **Ciência Agrotécologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p.358 - 366, abr./jun., 2000.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 106p.

MACHADO, J. C.; OLIVIRA, J.A.; VIEIRA, M. G.G.C.; ALVES, M. C. Inoculação artificial de sementes de soja por fungos, utilizando solução de manitol **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, vol. 23, nº 2, p.95-101, dez., 2001.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Sci.**, v.65,1975, p.109-139.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: Fealq, 1987. 230p.

MARCOS FILHO, J. Teste de vigor: Importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. de B. F. **Vigor de sementes** : Conceitos e testes. Londrina: ABRATES, cap. 1, 1999, p.1-21.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MARTINS, C. C.; CARVALHO, N. M.; OLIVEIRA, A. P. Quebra de dormência de sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, vol. 14, n. 1, p. 5-8, abr., 1992.

MARTINS, S. E. **Aspectos fitossanitários e fisiológicos de sementes de barbatimão, ipê-amarelo e ipê roxo de algumas localidades do Sul de Minas Gerais**. Lavras, MG: ESAL, 1991. 72f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1991.

MARQUES, M. A.; PAULA, R. C.; RODRIGUES, T. J. D. Efeito do número de sementes e do volume de água na condutividade elétrica de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr.All. ex Benth. **Brasileira de Sementes**, Brasília, vol. 24, nº 1, p.254-262, jun., 2002.

McDONALD, W.C.; MARTENS, J.W. Leaf and stem spot of sunflowers caused by *Alternaria zinniae*. **Phytopathology**, St. Paul, v.33, n.3, p.372-381, march. ,1943.

McDONALD, M.B. Seed priming. In: BLACK, M.; BEWLEY, J.D. **Seed technology and its biological basis**. Sheffield: Sheffield Academic Press, 2000. p.287-325.

MCNEIL, D. L.; DURAN, R. S. Effects of pre-germination treatments on seedling establishment and development of *Plantago ovata* Forsk. **Tropical Agriculture**, Surrey, v. 69, n. 3, p. 229-234, Sept., 1991.

MEDEIROS, A. C. DE S. **Aspecto de dormência em sementes de espécies arbóreas**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 2001. 12 p. (EMBRAPA-CNPQ. Circular Técnica, 55).

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes**: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1995. 312p.

MORAES, S.A; UNGARO, M.R.G.; MENDES, B.M.J. **Alternaria helianthi agente causal de doença em girassol**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 20p.

MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Transmissão de *Alternaria* spp. através de sementes de feijão e seu efeito sobre a qualidade fisiológica das sementes. **Summa phytopathol**, Botucatu, v.32 n. 4, p. 381-383, Sept. ,2006

MUNIZ, M. F. B.; MOREIRA, J. R.; ROSA, F. C.; PIVETA, G. Microflora associada as seementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi oriundas de frutos em três diferentes estágios de coloração. **Informativo ABRATES**, Pelotas, v.13, n. 3, agost. 2003.

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. de B. F. **Vigor de sementes** : Conceitos e testes. Londrina: ABRATES, cap. 2, p.28-33, 1999.

NEGREIROS, G. DE F.; PEREZ, S.C.J.G. DE A. Resposta fisiológica de sementes de palmeiras ao envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.4, p.391-396, abr. 2004.

NOBRE, S. A. M.; MELO, G. A.; BATISTA, G. N.; AZEVADO, D. M. Q.; NUNES, Y. R.; OLIVEIRA, D. A. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas ao controle biológico com *Clonostachys rosea*. In CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2007.

NOGUEIRA, A. L; GARCIA, L. C; ABREU, A. C. D. Comportamento de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan., Mimosaceae submetidas ao envelhecimento acelerado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2001, Curitiba. **Anais...** Curitiba: ABRATES, 2001. p. 261.

YORINORI, J. T. Doenças da soja causadas por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 94, p. 40-46, 1982.

OLIVEIRA, E. de C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. Propostas para a padronização de metodologia em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, ano 11, n. 1, 2, 3, p 1-2.1987.

OLIVEIRA, L. M.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, M. L. M. Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.5, p.597-603, set./out., 2003.

PACHECO, M. V.; et al. Germinação de sementes de *Platypodium elegans* Vog. submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos e substratos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.11, n.5, p.497-501, set./out., 2007.

PARISI, J.J.D.; ANDRADE, F. A.; COUTINHO, E. L.; BOTTOSSO, M.C.; MARTINS, M.C.; SALES, W.R.M. 2005. Qualidade sanitária de sementes e mudas de espécies arbóreas nativas do estado de São Paulo. In: 15º CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2005, Foz do Iguaçu. **CD...** ABRATES, 2005.

PIÑA-RODRIGUES, F. C.M.; VIEIRA, J. D. Teste de germinação. In: PIÑARODRIGUES, F.C.M. (coord.). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas, Fundação Cargill, 1988. p. 70-86.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Teste de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artimed, p. 265-282, 2004.

PINTO, N. F. J.A. 1999. **Patologia de sementes de sorgo**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 32. 62 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia das Sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

ROCHA, F., F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília, Ed. Vera Cruz 1976, 85 p.

RODO, A. B.; PERLEBERG, C. S.; TORRES, S. B.; GENTIL, D. F. de O., TESSARIOLI NETO, J.; Qualidade fisiológica e tamanho de sementes de cenoura. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.1, p.201-204, jan./mar. 2001.

RODRIGUES, E. H. A.; AGUIAR, I. B.; SADER, R. Quebra de dormência de sementes de três espécies do gênero *Cassia*. **Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.12, n.12, p.17-25, set., 1990.

ROSA, F. C.; MOREIRA, J. R.; ROSA, MINIZ, M. F. B. estudo da qualidade de sementes de aroeira vermelha - *Schinus terebinthifolius* Raddi - em diferentes estágios de coloração de fruto. In: 9<sup>o</sup> CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, 9.,2003, Nova Prata. **Anais...** Nova Prata, 2003.

ROSSETTO, C.A. V; et al.. Efeito da disponibilidade hídrica do substrato, da qualidade fisiológica e do teor de água inicial das sementes de soja no processo de germinação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.54, n. 1-2, p.97-105, Jan./Ago. 1997.

SALES, N. L. P. **Efeito da população fúngica e do tratamento químico no desempenho das sementes de ipê-amarelo, ipê-rocho e barbatimão**. 1992.89f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) Escola superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4. ed. Califórnia,:Wadsworth, 1992. 682p.

SALUSTIANO, M. E.; JOSÉ DA CRUZ MACHADO, J. C.; PITTIS, J. E. Patogenicidade de *Alternaria helianthi* (HANSF.) e *Alternaria zinniae* (PAPE) ao girassol a partir de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, vol. 27, n<sup>o</sup> 1, p.138-143, jun., 2005.

SANTOS, A. F.; MEDEIROS, A. C. S.; SANTANA, D.L. **Fungos associados a sementes de espécies arbóreas da mata atlântica**. Colombo, EMBRAPA/CNPF, 2001. p.51-60. (Boletim de Pesquisa Florestal, 42).

SANTOS, M. R. A.; et al. Estudos sobre superação de dormência em sementes de *Smilax japecanga* Grisebach. **Ciência Agrotécnica**. Lavras. V.27, n.2, p.319-324, mar./abr., 2003

SANTOS, A.F. dos; PARISI, J.J.D. Estado da arte e perspectivas da patologia de sementes florestais no Brasil. In: Simpósio Brasileiro de patologia de sementes, 8, 2004, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, p. 43-47, 2004.

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith &



Downs (Branquilha) – Euphorbiaceae **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v. 19, n.1, p.1-12, jun., 2007.

SCALON, S. P. Q.; et al.. Armazenamento, germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Acta Sci. Biol. Sci.**, Manaus, v. 27, no. 2, p. 107-112, April/June, 2005.

SCALON, S. P. Q.; et al. Armazenamento e tratamentos pré-germinativos em sementes de jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia* Mart.). **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.2, p.179-185, mar./abr., 2006

SILVA, K. B.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; GONÇALVES, E. P.; BRAZI, M. S. S. VIANA, J. S. Quebra de dormência em sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Revista Brasileira de Biociências, Porta Alegre**, v. 5, supl. 2 , p. 180-182, Jan-Mar, 2007.

SMIDERLE, O. J.; SOUSA, C. P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* KUNTH - fabacia-Papilionidae). **Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p.72-75, jul., 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing. 1991. 559p.

TEIXEIRA, H.; MACHADO, J. C.; ORIDE, D.; ALVES, M.C. NODA, A. Técnica de restrição hídrica: efeito sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho infetadas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30 n. 2, p.109-114. mar./abr, 2005.

TOLEDO, F.F.; MARCOS-FILHO, M. **Manual das sementes, tecnologia da produção**. São Paulo: Agronomia Ceres. 1977. 224p.

VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. Efeito de giberilina, fungicidas e do armazenamento na germinação de sementes de *Genipa americana* L. (RUBIACEAE) **Cerne, Lavras**, v. 12, n. 2, p. 137-144, abr./jun. 2006.

VARELA, V. P.; BROCKI, E.; SÁ, S. T. V. Tratamentos pré-germinativos de espécies da amazônia. IV. Faveira camuzê - *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr. - Leguminosae. **Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 13, n. 2, p.87-89, dez., 1991.

VERZIGNASSI, J. R.; VIDA, J. B.; HOMECHIN, M. Ocorrência e transmissão de *Alternaria steviae* E *A. alternata* em sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 19, n. 2, p. 283 – 287, dez., 1997.

VIERA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. de B. F. **Vigor de sementes : Conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap. 4, 1999, p.1-26.

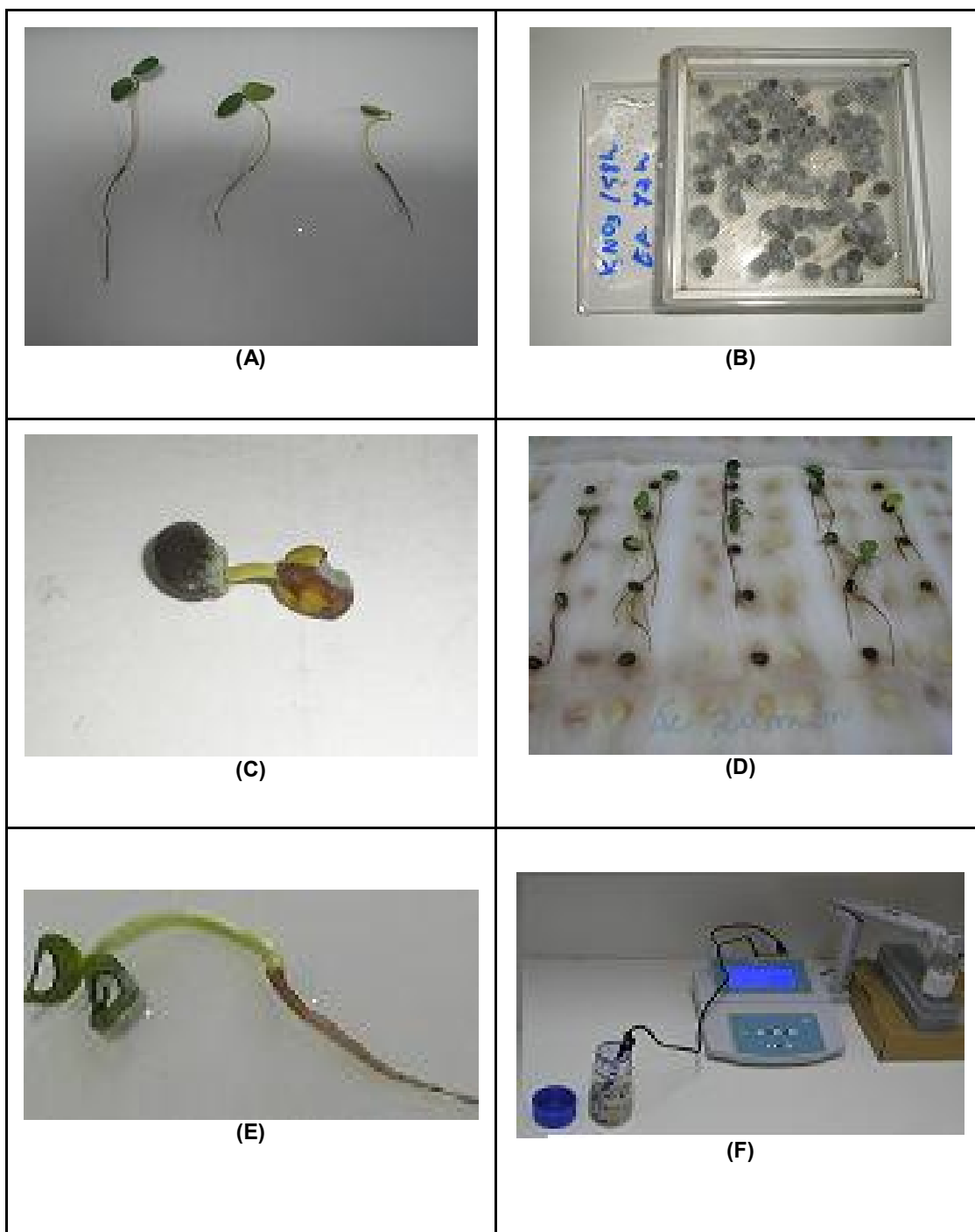
VIEIRA, F. A; GUSMÃO, E. Uso de giberilina na emergência de plântulas de *Talisia esculenta* (A. St.-Hil.) Radlk. **Revista Científica Eletrônica da Engenharia Florestal**. Garça, V. 6, n. 8, p. 1-10, Agosto, 2006.

ZAIDAN, L. B. P. BARBEDO, C. J. Quebra de dormência. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, p.135- 148.

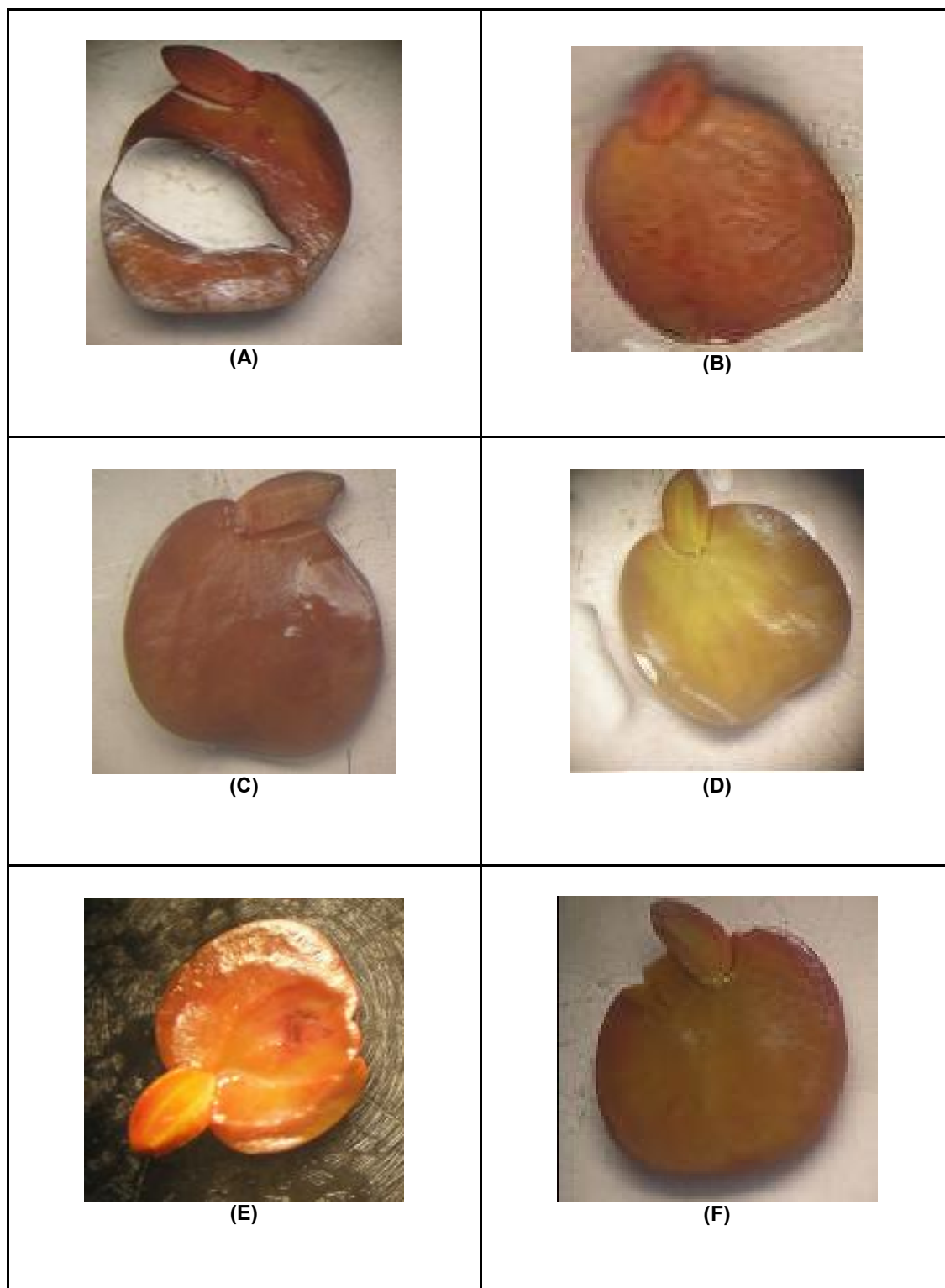
ZAMBOLIM L; VALE FXR; COSTA H. Controle de doenças de plantas-hortaliças. Viçosa: UFV, V. 1, 2000, 444 p.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Sistema de análise estatística para microcomputador – SANEST**. Pelotas: UFPEL, 1984 Registro SEI N, 066060-0, Categoria AO.

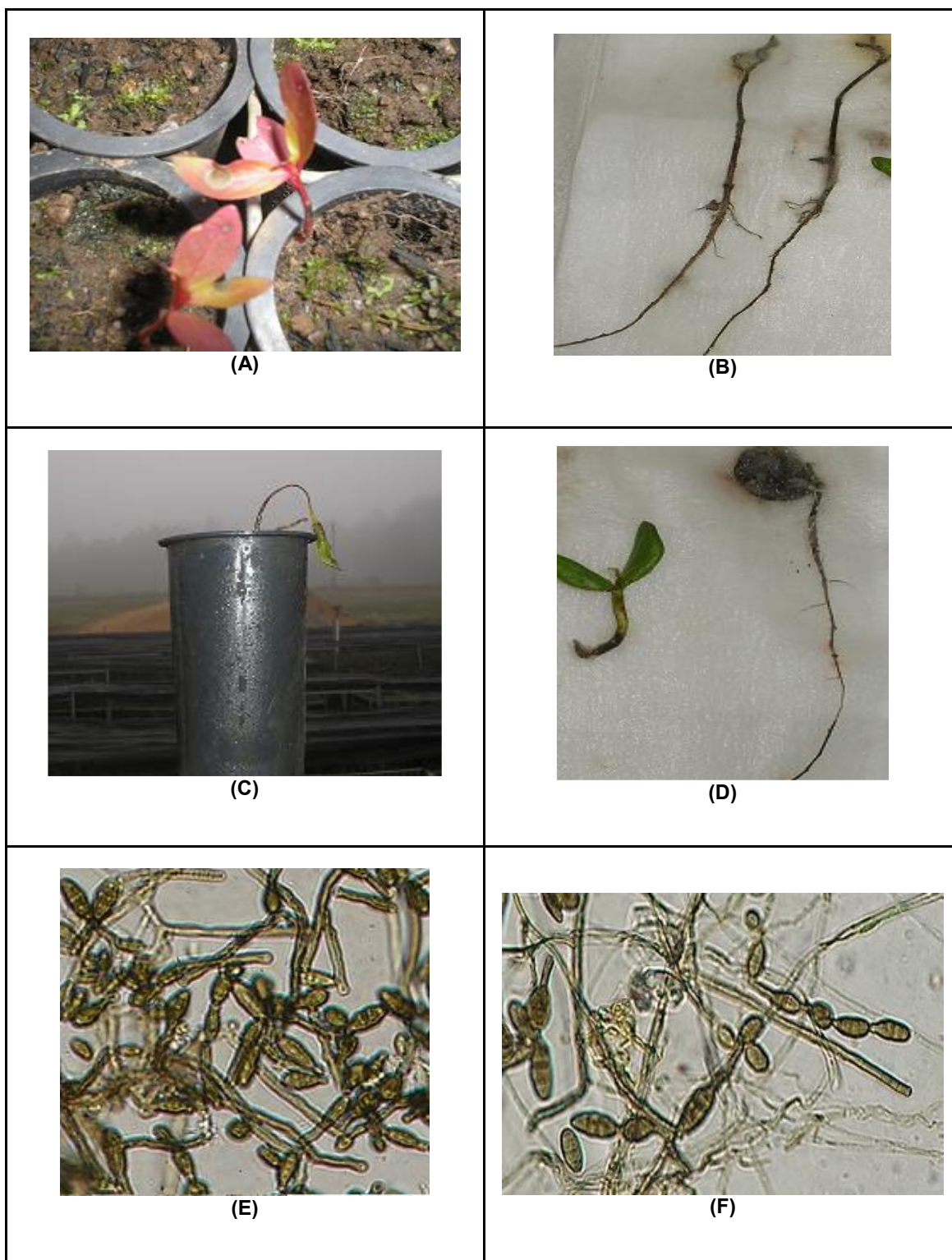
## **APÊNDICES**



**APÊNDICE 1** Plântulas normais de *Lithrea Molleoides* do teste de germinação (A); teste de Envelhecimento acelerado de *Senna macranthera* (B); plântulas anormais de *Senna macranthera* ocasionada pelo ataque de insetos (C); teste de germinação de *Senna macranthera* (D); plântulas anormais de *Senna macranthera* (E); teste de condutividade elétrica (F).



**APÊNDICE 2** Teste de tetrazólio em *Senna macranthera*; Semente intermediária (A); Semente viável (B); Semente Viável (C); Semente inviável (D); Semente inviável (E); Semente inviável (F).



**APÊNDICE 3** Plântulas com sintomas de *Alternaria alternata*: *L. molleoides* com sintomas de *Alternaria alternata* (A); teste de patogenicidade em mudas de *L. molleoides* (B); *S. macranthera* com sintomas de *Alternaria alternata* (C); teste de patogenicidade em mudas de *S. macranthera* (D); *Alternaria alternata* (E e F).