

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA E DE
CRESCIMENTO DE *Schinus terebinthifolius* Raddi**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Leandro Vinícius da Luz

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA E DE CRESCIMENTO DE *Schinus terebinthifolius* Raddi

Leandro Vinícius da Luz

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

Orientador: Prof. Antonio Carlos Ferreira da Silva

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Luz, Leandro Vinícius da
Caracterização citogenética e de crescimento de
Schinus terebinthifolius Raddi / Leandro Vinícius da Luz.-
2013.

107 p. ; 30cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2013

1. Contagem de cromossomos 2. Germinação de sementes
3. Interação planta-microrganismo 4. Espécie florestal 5.
Espécie nativa I. Silva, Antonio Carlos Ferreira da II.
Título.

**Universidade Federal De Santa Maria
Centro De Ciências Naturais E Exatas
Programa De Pós-Graduação Em Agrobiologia**

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

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA E DE CRESCIMENTO DE
Schinus terebinthifolius Raddi**

elaborado por
Leandro Vinícius da Luz

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Agrobiologia

COMISSÃO EXAMINADORA

Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr.
(presidente/Orientador)

Solange Bosio Tedesco, Dra. (UFSM)

Marcus André Kurtz Almança, Dr. (IFRS/BG)

Santa Maria, 05 de julho de 2013.

“...Dedico este trabalho as 242 vítimas da tragédia ocorrida na madrugada de 27 de janeiro de 2013, na qual marcou a mim, a toda população santa-mariense e, principalmente, a nossa comunidade acadêmica da UFSM. A todos aqueles que celebravam suas vidas acadêmicas e sonhavam um dia concluir seus estudos. Dedico...”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que se fez presente em todos os momentos de minha vida, sempre me guiando pelo melhor caminho e me fazendo chegar até esse momento tão sonhado e tão especial.

À minha mãe, Eloir, que dedicou sua vida a criação de seus filhos, que nunca deixou faltar nada em nossas vidas, que esteve sempre rezando e torcendo por nós e, o fruto desse amor e confiança é que me torna forte para vencer na vida.

Às minhas irmãs, Márcia e Adriana, que sempre foram às pessoas nas quais me espelhei para realizar o sonho de estudar na UFSM.

Em especial agradeço a meu orientador, Prof. Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva, por me orientar, auxiliar e principalmente pela oportunidade e confiança depositada em mim para a realização desse projeto.

À Prof^a. Dr^a. Solange Bosio Tedesco, que me oportunizou conhecer uma nova área de conhecimento e sempre me ajudou a manter o foco no trabalho, dizendo que ao final seria um sucesso.

A colega, Me. Daniele Franco Martins Machado, por sempre estar disponível a ensinar e ajudar a escolher os melhores caminhos para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus colegas, Engenheiros Florestais, Ana Paula Fernandes e Carlos Alberto Biernaski, pela ajuda voluntária na coleta das sementes e principalmente pelo apoio nos momentos difíceis.

Aos alunos de iniciação científica Antonio Padilha Tavares e Jéssica Maus da Silva que ajudaram a montar e avaliar os diversos experimentos.

Aos colegas do Laboratório Interação Planta-Microrganismo, Anderson, Carlos Eduardo, Falko, Marcela, Daniele e Candida.

Aos colegas do Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, Ana Paula, Tamara, Vivian, Marília, Andrielle e Leonardo.

A todos os professores do Programa de Mestrado em Agrobiologia, pelas importantes contribuições com seus conhecimentos para a construção de mestres.

Aos colegas do Mestrado em Agrobiologia, pelo carinho, amizade e companheirismo durante a rotina de aulas e experimentos.

À todos meus familiares, amigos e pessoas que, mesmo não mencionadas, contribuíram para a realização desse sonho.

À Universidade Federal de Santa Maria, por meio do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, pela contribuição a minha formação acadêmica, e à CAPES, pelo fornecimento do apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

A gratidão é a memória do coração.
Antístenes (440 - 365 a.C.)

Nos dias que correm essas lendas e superstições ainda persistem, convindo recordar uma superstição bastante difundida entre os camponeses, não só do Brasil como de países vizinhos, e que consiste em personificar a "aroeira", de cuja ação maléfica da "maldição" acredita ficarem livres se, ao saudá-la, o façam ao contrário:

se é de manhã, dirão: "Boa tarde, senhora aroeira"

se é de tarde, dirão: "Bom dia, senhora aroeira"

"Sin timidez alguna, sin importarle un comino el asombro o la sonrisa irónica de nadie. Devuelve el saludo, como si se tratase de un juego de niños"

(Silva Valdes)

RESUMO GERAL

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia
Universidade Federal de Santa Maria

CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA E DE CRESCIMENTO DE *Schinus terebinthifolius* Raddi

AUTOR: LEANDRO VINÍCIUS DA LUZ

ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Data e local da Defesa: Santa Maria, 05 de julho de 2013.

As florestas tropicais desempenham função vital na manutenção da estabilidade e qualidade do meio ambiente, protegem o solo e os recursos hídricos, conservam a diversidade biológica, protegem os valores culturais e recreativos, que contribuem com a melhoria da qualidade de vida da população. Sendo o germoplasma de espécies florestais uma riqueza a ser utilizada e preservada. *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) possui propriedades medicinais, alimentícias e ecológicas, além de serem destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente. No entanto, ainda são poucos os estudos sobre a caracterização citogenética e promoção de crescimento dessa espécie. Assim, visando à conservação e a utilização sustentável, objetiva-se caracterizar citogeneticamente esta espécie, avaliar a qualidade das sementes de *S. terebinthifolius* provenientes de indivíduos de diferentes acessos do Rio Grande do Sul, bem como, avaliar o efeito da interação de *Trichoderma* spp. na contaminação e germinação *in vitro* e no crescimento vegetativo *ex vitro* de *S. terebinthifolius*. Para a determinação do número de cromossomos, foram utilizados tecidos de pontas de raízes. No estudo de germinação, as parcelas com as sementes foram mantidas em câmara climática com fotoperíodo de 16 horas à temperatura de 20°C (+/- 2°C). Para o estudo da interação entre *S. terebinthifolius* e *Trichoderma* spp. foram avaliados os isolados TSM1 e TSM2 de *Trichoderma viride*, 2B2 e 2B22 de *Trichoderma harzianum* para o experimento *in vitro*, através da técnica do papel celofane e o experimento *ex vitro* foi realizado em casa de vegetação, onde se avaliou os efeitos dos isolados 2B2 e 2B22, e o produto comercial Trichodermil[®], todos na presença e ausência do regulador de crescimento Stimulate[®]. Conclui-se que o número de cromossomos da espécie *S. terebinthifolius* determinado para 22 acessos coletados no Rio Grande do Sul é de $2n = 28$, indicando que não ocorre variabilidade intraespecífica. A qualidade das sementes de *S. terebinthifolius* apresenta grande heterogeneidade entre os diferentes acessos de coleta. Com a técnica *in vitro* do papel celofane, os quatro isolados de *Trichoderma* spp. testados são eficientes no controle da contaminação fúngica das sementes. No cultivo *ex vitro*, observou-se diferença significativa de crescimento no índice de área foliar para o isolado 2B2;

Palavras-chave: Espécie florestal. Espécie nativa. Contagem de cromossomos. Germinação de sementes. Interação planta-microrganismo.

ABSTRACT GENERAL

Master Science Dissertation
Program of Pos-Graduation in Agrobiologia
Federal University of Santa Maria

CYTOGENETICS CHARACTERIZATION AND GROWTH OF *Schinus terebinthifolius* Raddi

AUTHOR: LEANDRO VINÍCIUS DA LUZ

ADVISOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Date and Location of Defense: Santa Maria, July 05, 2013.

Tropical forests play vital role in maintaining the stability and quality of the environment, protecting the soil and water resources, conserving the biodiversity, protecting cultural and recreational values, which contribute to improving the quality of life of the population. Being the germplasm of forest species a wealth to be used and preserved. *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) has medicinal, alimentary and ecological properties, besides being destined for the recomposition of degraded areas of permanent preservation. However, there are few studies on the cytogenetics characterization and promotion growth of this species. Thus, aiming for conservation and sustainable use, the objective is to characterize cytogenetically this species, assess the quality of the seeds *S. terebinthifolius* from individuals of different accessions of populations of Rio Grande do Sul, as well as, to evaluate the effect of the interaction of *Trichoderma* spp. on the contamination and in vitro germination and ex vitro vegetative growth of *S. terebinthifolius*. For the determination of chromosome number were used tissues of root tips. In the germination study, the parcels with seeds were kept in a climatic chamber with a photoperiod of 16 hours at the temperature of 20°C (+/- 2°C). To the study the interaction between *S. terebinthifolius* and *Trichoderma* spp. were evaluated the isolates TSM1 and TSM2 of *Trichoderma viride*, 2B2 and 2B22 of *Trichoderma harzianum* for the in vitro experiment, through the cellophane technique and the ex vitro experiment was conducted in a greenhouse, where were evaluated the effects of the isolates 2B2 and 2B22 and the commercial product Trichodermil®, all in the presence and absence of growth regulator Stimulate®. It is concluded that the chromosome number of the species *S. terebinthifolius* determined for 22 accessions collected in Rio Grande do Sul is $2n = 28$, indicating that there isn't intraspecific variability. The quality of the seeds of *S. terebinthifolius* shows great heterogeneity among the different accessions collection. With the technique of in vitro cellophane, all four isolates of *Trichoderma* spp. tested are efficient in controlling fungal contamination of seeds. In ex vitro cultivation, the difference was significant growth in leaf area index for strain 2B2.

KEYWORDS: Forest species. Native species. Chromosome counting. Seed germination. Plant-microorganism interactions.

LISTAS DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 1 –	Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de <i>Schinus terebinthifolius</i> . Acessos SP-LL 2, DA-LL 4, SM-LL 5, SM-LL 9, e SM-LL 10 com $2n = 28$ e Acesso SM-LL 7 com $2n = 14$ cromossomos.....	41
Figura 2 –	Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de <i>Schinus terebinthifolius</i> . Acessos SM-LL 12, SM-LL 13, SM-LL 16, SM-LL 18 e SM-LL 19 com $2n = 28$ cromossomos.....	42
Figura 3 –	Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de <i>Schinus terebinthifolius</i> . Acessos I-LL 23, SM-LL 25, SM-LL 26, SM-LL 27, SM-LL 28 e SM-LL 29 com $2n = 28$ cromossomos.....	43
Figura 4 –	Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de <i>Schinus terebinthifolius</i> . Acessos SM-LL 30, SM-LL 31, SM-LL 32, SM-LL 33, SiM-LL 35, SiM-LL 36 com $2n = 28$ cromossomos.....	44

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 2

Gráfico – 1	Médias dos percentuais de germinação para os 35 indivíduos dos diferentes acessos do Rio Grande do Sul.....	59
Gráfico – 2	Médias dos percentuais de primeira contagem para os 35 indivíduos dos diferentes acessos do Rio Grande do Sul.....	60
Gráfico – 3	Médias do índice de velocidade de germinação para os 35 indivíduos dos diferentes acessos do Rio Grande do Sul.....	61

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 –	Local de coleta, coordenadas geográficas, número de cromossomos e número de registro no herbário SMDB dos acessos de <i>Schinus terebinthifolius</i> coletadas na região Central do RS.....	39
------------	---	----

ARTIGO 2

Tabela 1 –	Identificação dos 35 diferentes acessos, locais, coordenadas geográficas e números de registro no Herbário SMDB, das sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i>	55
Tabela 2 –	Primeira contagem (P.C), Germinação (G), Índice de velocidade de germinação (IVG), de 35 indivíduos de <i>Schinus terebinthifolius</i> provenientes de diferentes acessos de coleta do Rio Grande do Sul.....	58

ARTIGO 3

Tabela 1 –	Tratamentos constituintes do experimento realizado pela técnica <i>in vitro</i> do papel celofane onde foram avaliados o efeito de trichoderma na contaminação e na germinação das sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i>	70
Tabela 2 –	Descrição dos tratamentos constituintes do experimento realizado em casa de vegetação.....	71
Tabela 3 –	Efeito dos isolados de trichoderma, pela técnica <i>in vitro</i> do papel celofane em meio de cultura ágar-água + BD, na contaminação e na germinação das sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i> . Santa Maria - RS (2012).....	73
Tabela 4 –	Emergência (E), primeira contagem (PC), sobrevivência (SOB), índice de velocidade de emergência (IVE), número de folhas (N°F), comprimento do caule (CC), comprimento de raiz (CR), massa fresca de folhas (MF F), massa fresca de raiz (MF R), massa fresca de caule (MF C), massa seca de folhas (MS F), massa seca de raiz (MS R), massa seca de caule (MS C), área foliar (A. Foliar) de aroeira-vermelha (<i>S. terebinthifolius</i>) por isolados de trichoderma, na presença e ausência do regulador de crescimento Stimulate [®] , avaliados aos 165 dias. Santa Maria, RS, 2012.....	75

LISTA DE APÊNDICES

ARTIGO 2

Apêndice A	Resumo da análise de variância para a primeira contagem (P.C.).....	100
Apêndice B	Resumo da análise de variância para a porcentagem de germinação (G).....	100
Apêndice C	Resumo da análise de variância para o índice de velocidade de germinação (IVG).....	100

ARTIGO 3

Apêndice D	Resumo da análise de variância para a porcentagem de contaminação.....	100
Apêndice E	Resumo da análise de variância para a porcentagem de germinação.....	100
Apêndice F	Resumo da análise de variância para a porcentagem de emergência (E).....	101
Apêndice G	Resumo da análise de variância para a primeira contagem (PC).....	101
Apêndice H	Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência (Sob.).....	101
Apêndice I	Resumo da análise de variância para o índice de velocidade de emergência (IVE).....	101
Apêndice J	Resumo da análise de variância para o número de folhas (N°F)..	102
Apêndice K	Resumo da análise de variância para o comprimento de caule (CC).....	102
Apêndice L	Resumo da análise de variância para o comprimento de raiz (CR).....	102
Apêndice M	Resumo da análise de variância para a massa fresca de folhas (MF F).....	102
Apêndice N	Resumo da análise de variância para a massa fresca de raiz (MF R).....	103
Apêndice O	Resumo da análise de variância para a massa fresca de caule (MF C).....	103
Apêndice P	Resumo da análise de variância para a massa seca de folhas (MS F).....	103
Apêndice Q	Resumo da análise de variância para a massa seca de raiz (MS R).....	103
Apêndice R	Resumo da análise de variância para a massa seca de caule (MS C).....	104
Apêndice S	Resumo da análise de variância para a área foliar (A. Foliar).....	104

LISTA DE ANEXOS

Anexo A	<i>Schinus terebinthifolius</i> em tamanho adulto.....	105
Anexo B	Frutos de <i>S. terebinthifolius</i> com coloração vermelha ou em tons rosados.....	105
Anexo C	Floração de <i>S. terebinthifolius</i>	105
Anexo D	(A) Montagem do experimento em camara asséptica; (B) Biosystem Organized Development (BOD); (C) Sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i> em caixas Gerbox sob luz e temperatura controladas.....	106
Anexo E	Experimento na casa de vegetação: Fase inicial e fase final.....	106
Anexo F	Efeito de isolados de trichoderma na contaminação fúngica de sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i> pela técnica <i>in vitro</i> do papel celofane.....	107
Anexo G	Crescimento vegetal de <i>Schinus terebinthifolius</i> entre os tratamentos com isolados de trichoderma e o tratamento controle. T9: 2B2; T10: 2B22; T11: controle (s/ trichoderma); T12: Tricodermil [®] ; T13: 2B2 (c/ Stimulate [®]); T14: 2B22 (c/ Stimulate [®]); T15: controle (s/ trichoderma e c/ Stimulate [®]); T16:Tricodermil [®] (c/ Stimulate [®]).....	107

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
REVISÃO DE LITERATURA	21
A espécie arbórea <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	21
Importância ambiental, econômica e medicinal.....	23
Fragmentação de habitats florestais.....	25
Caracterização citogenética.....	26
Conservação e exploração de espécies florestais.....	28
Interação semente-microrganismos.....	29
ARTIGO 1 - Caracterização citogenética em acessos do Rio Grande do Sul de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Anacardiaceae)	33
Introdução.....	35
Material e métodos.....	38
Resultados e discussão.....	39
Conclusão.....	46
Referências.....	46
ARTIGO 2 - Avaliação da qualidade de sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi provenientes de diferentes acessos na região do Rio Grande do Sul, Brasil	51
Introdução.....	52
Material e métodos.....	54
Resultados e discussão.....	57
Conclusão.....	62
Referências.....	62
ARTIGO 3 - Efeito de trichoderma na contaminação <i>in vitro</i> das sementes de <i>Schinus terebinthifolius</i> e caracterização do crescimento vegetativo <i>ex vitro</i>, na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência de regulador de crescimento Stimulate®	65
Introdução.....	66
Material e métodos.....	69
Efeito de trichoderma na contaminação e germinação <i>in vitro</i> das sementes de <i>S. terebinthifolius</i>	69
Caracterização do crescimento vegetativo <i>ex vitro</i> , na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência re regulador de crescimento Stimulate®.....	70
Resultados e discussão	72
Efeito de trichoderma na contaminação e germinação <i>in vitro</i> das sementes de <i>S. terebinthifolius</i>	72
Caracterização do crescimento vegetativo <i>ex vitro</i> , na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência re regulador de crescimento Stimulate®.....	75
Conclusão	78
Referências	78
DISCUSSÃO	86
CONCLUSÃO	89

REFERÊNCIAS	90
Apêndices	100
Anexos	105

INTRODUÇÃO GERAL

Uma alternativa para reduzir a exploração das florestas naturais; renovar a vegetação nativa; recuperar as áreas degradadas; estabelecer bancos de germoplasma; criar programas de melhoramento de plantas; e plantios para a exploração econômica de frutos, madeira e produtos medicinais, é aumentar a oferta de sementes e mudas florestais com qualidade adequada. Segundo Silva e Higa (2006), a oferta de sementes e mudas de espécies florestais nativas é significativamente inferior à demanda atual e potencial, enquanto a relação das espécies recomendadas para restauração ambiental é ampla. Dentre elas está a *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida popularmente por Aroeira vermelha e pertencente à família Anacardeaceae.

A *S. terebinthifolius* é uma planta pioneira, que apresenta ampla distribuição geográfica e plasticidade ecológica, ocorrendo do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul (LORENZI; MATOS, 2002; LORENZI, 2008). A aroeira possui propriedades medicinais, alimentícias e ecológicas. Na culinária, seus frutos de cor vermelha ou rosada, adocicados e aromáticos são utilizados na cozinha do mundo inteiro com o nome de pimenta-rosa como condimento. Na maturidade pode atingir de 5 a 10m de altura e seu tronco, geralmente tortuoso e inclinado, de 30 a 60cm de diâmetro. Possui folhas compostas imparipinadas de 10 a 15cm de comprimento. O ciclo de floração e frutificação é anual, sendo que seus frutos possuem diâmetro médio de 0,4cm (LORENZI, 2000).

Na literatura científica existem poucos trabalhos de pesquisa com *S. terebinthifolius*, entretanto, Pedrosa *et. al.* (1999) e Franco-Cairo *et al.* (2009), em estudos citogenéticos realizados com *S. terebinthifolius*, encontraram $2n = 28$. Sendo que as informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo, desde a simples contagem, até detalhes da citogenética molecular que são a fronteira da pesquisa atual (STACE, 2000). Historicamente, quando estudos citogenéticos de espécies arbóreas são comparados aos de espécies cultivadas e/ou nativas com valor agrônomo, sua limitação é evidente, restringindo-se a informações básicas sobre sua estrutura

genômica e a inclusão dessas espécies em programas de melhoramento e conservação (SCHLARBAUM, 2000).

A importância das informações cromossômicas foi discutida por Krapovickas (1972), o qual expôs que, desde o final do século passado, quando se constatou que a quantidade de cromossomos pode ser constante para cada espécie vegetal, iniciou-se a análise dos números cromossômicos em busca de um elemento importante que possibilita esclarecer o conceito de espécie. As diferenças cromossômicas refletem diferenças na origem da variação genética e, muitas vezes, no conteúdo gênico do indivíduo (STEBBINS, 1971).

Contudo, o cultivo de espécies florestais nativas, com finalidade econômica ou conservacionista, requer conhecimentos sobre a ecofisiologia das espécies, como subsídios à formulação de práticas adequadas às diferentes etapas do desenvolvimento vegetal (SILVA BELLO *et al.*, 2008). O teste padrão de germinação é referência para avaliar a qualidade e serve de base na comercialização de sementes. É realizado em condições ideais e controlado, de forma que possibilitem a padronização e reprodutibilidade de resultados entre laboratórios (OLIVEIRA & PEREIRA, 1987).

Para que o processo de germinação ocorra é necessário que as sementes estejam viáveis e que as condições ambientais sejam favoráveis. Dentre os principais fatores ambientais pode-se citar a temperatura e a luz, que sendo conhecidos os seus efeitos podem ser controlados e manipulados de forma a otimizar a porcentagem, velocidade e uniformidade da germinação, resultando na produção de mudas mais vigorosas (NASSIF *et al.*, 1998).

Outro aspecto que deve ser considerado no processo germinativo é a qualidade sanitária das sementes (BRASIL, 2009). Conforme Carneiro (1987), sementes são estruturas atacadas por patógenos, o que afeta a qualidade e reduz a capacidade germinativa das mesmas. Em testes de germinação de laboratório, várias substâncias com ação germicida são utilizadas para fazer a desinfestação superficial das sementes (WENDLING *et al.*, 2006), entretanto, o sucesso no controle dos microrganismos vai depender do tipo de semente e de patógeno, do produto e das dosagens utilizadas nesses testes (DHINGRA *et al.*, 1980).

Para algumas espécies florestais nativas, a quantidade de sementes disponíveis em populações naturais não é suficiente para atender a demanda, tanto comercial quanto para a pesquisa. Isso é decorrente da dispersão das árvores em

pequenos fragmentos de florestas naturais, da falta de sementes de boa qualidade genética (SILVA; HIGA, 2006) e da demora que algumas espécies apresentam para iniciar a produção de sementes (CALDAS, 2006), além da variação de fatores ambientais que tem intensificado a redução no aproveitamento das sementes. Por outro lado, algumas estratégias podem ser implantadas para mitigar esses problemas.

O desenvolvimento de técnicas silviculturais, como a interação entre plantas e microrganismos, é uma alternativa sustentável para estimular o crescimento vegetal, mas é carente para a maioria das espécies florestais nativas (CALDAS, 2006). Sendo que, há também a necessidade de usar produtos biológicos como uma alternativa aos químicos, assim, os bioprodutos apresentam-se como uma tecnologia alternativa, que poderá ter um importante impacto na redução do uso de fungicidas e fertilizantes (LUZ, 2001).

Fungos do gênero *Trichoderma*, conhecidos comumente por trichoderma, estão entre os microrganismos mais estudados como agentes no biocontrole de fitopatógenos, promotores da germinação de sementes e do crescimento vegetal (ALTOMARE *et al.*, 1999; BENÍTEZ *et al.*, 2004; HOYOS-CARVAJAL *et al.*, 2009; KUNIEDA-ALONSO *et al.*, 2005; MELO, 1996). O sucesso da atividade dos bioagentes depende das propriedades e mecanismos de ação do organismo. Espécies de trichoderma podem agir através da competição, parasitismo direto, produção de metabólitos secundários, além de atuarem como indutores de resistência a plantas contra doenças e por serem parasitas de estruturas de resistência de patógenos no ambiente, como esporos, em geral difíceis de serem destruídos (MELO, 1998).

Sendo que a indução de resistência por trichoderma é um mecanismo de ação que vem sendo pesquisado nos últimos anos. As plantas levadas ao estado de indução apresentam aumento nas atividades de enzimas, tais como, quitinases, glucanases e peroxidases, envolvidas nas rotas de percepção da presença de patógenos em potencial e nas rotas de sinalização bioquímica a pontos distantes do sítio onde o sinal foi originado (ROMEIRO, 2007). Por consequência, verifica-se um aumento nas atividades de enzimas envolvidas na síntese de componentes de resistência (HWANG; BENSON, 2002; SNEH; ICHIELEVICH-AUSTER, 1998; PERAZZOLLI *et al.*, 2011).

Desse modo, os resultados desta interação poderá otimizar a produção de mudas e conseqüentemente reduzir o extrativismo de florestas naturais; contribuir nos programas de reflorestamentos no Brasil, acelerando processos de recuperação de áreas degradadas; além da conservação genética da espécie e de vantagens para produtores em viveiros.

Levando tais aspectos em consideração, este trabalho objetivou estudar a caracterização citogenética, realizando a contagem de cromossomos visando além da caracterização do germoplasma nativo, verificar a possível existência de variabilidade intraespecífica de *S. terebinthifolius*, bem como avaliar a qualidade das sementes, observando características relacionadas ao poder germinativo desta espécie e avaliar o efeito do *Trichoderma* spp. no crescimento vegetal. Para isso realizou-se a contagem do número de cromossomos; a germinação de *S. terebinthifolius* proveniente de diferentes acessos de coleta; e avaliou-se o efeito de *Trichoderma* spp. na contaminação e germinação *in vitro*, e no crescimento vegetativo *ex vitro* de *S. terebinthifolius*.

REVISÃO DE LITERATURA

A espécie arbórea *Schinus terebinthifolius* Raddi

Schinus terebinthifolius Raddi pertence ao reino vegetal, de origem familiar ou divisão Tracheophyta, da classe Magnoliopsida, da ordem Sapindales, da família Anacardiaceae, gênero *Schinus*, espécie *terebinthifolius*, divisão da espécie Raddi (DALCIN, 2001; KATZER, 2002).

Popularmente recebe várias denominações, tais como: Aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, aroeira-mansa, aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-do-brejo, aroeira-do campo, aroeira-de-sabiá, aroeirinha, coração-de-bugre, fruto-de-sabiá, fruto-de-raposa, fruto-de-cutia, araguaraíba, corneíba, árvore-da-pimenta, cabuí, cambuí, lentisco. O termo aroeira é proveniente da abreviatura de araroeira, que significa arara mais o sufixo -eira – árvore da arara – por ser a planta em que de preferência essa ave pousa e vive (SÁ, 1999).

A espécie *S. terebinthifolius* Raddi não deve ser confundida com outras variedades de aroeiras, dentre as quais se destaca a *Lithraea molleoides*. Essa é extremamente cáustica e causa lesões cutâneas. Para estes casos, as lavagens com o decocto das folhas da *S. terebinthifolius* Raddi são um remédio eficaz (BALBACHAS, 1956).

Sua distribuição é ampla, ocorrendo naturalmente no Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina (SANCHOTENE, 1989). No Brasil, ocorre nos estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe (CARVALHO, 2003). Sendo de ampla distribuição natural nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (NOGUEIRA, 1998).

No Bioma Mata Atlântica ocorre nas florestas estacional decidual, floresta estacional semidecidual, ombrófila densa e ombrófila mista (CARVALHO, 2003). A espécie ocorre, ainda, no Bioma Caatinga, onde o pioneirismo e agressividade permitem seu estabelecimento em locais adversos (BAGGIO, 1988; SANCHOTENE,

1989). É observada, também, no Bioma Cerrado, na Savana, Savana Florestada (Cerradão) e Campo Cerrado (CARVALHO, 2003).

Do ponto de vista de seu comportamento sucessional, a espécie é pioneira a secundária inicial, heliófila ou de luz difusa; de ocorrência em diversos tipos de solos, de baixa fertilidade química a férteis, solos úmidos ou secos, arenosos ou argilosos, desde o nível do mar até 2.000 metros de altitude (CARVALHO, 2003). Apresenta rápido crescimento e possui alta capacidade de ocupação em áreas degradadas podendo ser facilmente cultivada.

A *S. terebinthifolius* é um arbusto de dois a três metros de altura, às vezes arborescentes com até sete a oito metros de altura, com tronco de 30 a 60 cm. Os ramos são eretos ou apoiantes, flexíveis quando novos, pubescentes a vilosos ou glabros. Folhas compostas, imparipenadas, com pecíolos cilíndricos na parte inferior e mais ou menos alados; folíolos oblongo-elípticos ou obovados, estreitos na base e obtuso ou agudo ou ainda providos de um pequeno dente no ápice, cerrados, membranáceos, glabros. As flores são amarelo-pálidas pequenas, dispostas em panículos de 5 a 10 cm de comprimento. Os frutos, drupas de um vermelho vivo, de 4 a 5 mm diâmetro, aromáticos, conferindo uma beleza notável à árvore (LORENZI & MATOS, 2008). Os frutos são globosos vermelho-pálidos luzidios. As cascas apresentam-se como fragmentos de comprimento variável, pardas externamente e avermelhadas na face interna. Fornece madeira parda ou amarela-clara, mole, porém pesada e bastante resistente. O cheiro é resinoso; o sabor é adstringente, devido ao tanino, e balsâmico (PIO CORRÊA, 1926; BALBACHAS, 1956; FLEIG, 1989; JORGE; MARKMANN, 1996; SÁ, 1999).

Por ser uma espécie dioica e suas flores diclinas, sua estratégia de polinização é a cruzada (xenogamia/alogamia). Lenzi e Orth (2004a) constataram que a transferência de pólen é mediada exclusivamente por insetos polinizadores, observando um grande e diversificado número de visitantes florais nas flores da aroeira-vermelha, durante todo o período de floração. Estes insetos constituíram-se, na sua maioria, de abelhas (Apidae, Halictidae, Colletidae e Megachilidae), de moscas (Syrphidae, Calliphoridae, Muscidae, entre outras) e de vespas (Vespidae, Pompilidae e Sphecidae), que visitaram as flores de ambos os sexos ao longo de todo o dia.

Segundo Lenzi e Orth (2004b), avaliando populações de *S. terebinthifolius* Raddi, no litoral de Santa Catarina, verificaram que a floração ocorreu em dois

períodos: de outubro a novembro, com cerca de 20% dos indivíduos avaliados em florescimento, e entre fevereiro a abril, com florescimento de todos os indivíduos de ambos os sexos. A frutificação ocorre em seguida, sendo que os frutos podem permanecer até à próxima floração. Sua dispersão de sementes é do tipo zoocórica (NOGUEIRA, 1998).

Importância ambiental, econômica e medicinal

S. terebinthifolius é recomendada para recuperação de solos pouco férteis (como rasos, rochosos, hidromórficos ou salinos), devido ao seu caráter de rusticidade, pioneirismo e agressividade (CARVALHO, 1988). Apresenta alta carga de floração e frutificação, sendo seus frutos um dos mais procurados pela avifauna, portanto, útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992).

O uso dos frutos de *S. terebinthifolius* como produto condimentar denominado “pimenta rosa” tem sido bastante difundido em nível nacional e internacional, embora no Brasil ainda seja incipiente. A pimenta rosa tem sido utilizada como substituta da pimenta-do-reino na região do cerrado de Minas Gerais (LACA-BUENDIA *et al.*, 1992). Os frutos da aroeira, no País, são utilizados apenas em sua forma desidratada e comercializados, na maioria das vezes, a granel (BERTOLDI, 2006). Geralmente, 3kg de sementes frescas produzem 1kg de material processado (BANDES, 2008).

A pimenta rosa vem sendo utilizada nas mais exigentes culinárias do mundo (BERTOLDI, 2006) para temperar carnes brancas, salames e massas e conferir sabores exóticos a bebidas e doces, como coquetéis e chocolates. Introduzida na cozinha francesa com o nome de “poivre rose”, “pepe rosa” na italiana, “pimienta rosa” na espanhola, “blassroter pfeffer” na alemã e “pink pepper” ou “brazilian pink peppercorn” na norte-americana, a aroeira-pimenteira vem sendo amplamente utilizada e apreciada na culinária internacional.

No Brasil, existem registros de produção em maior escala no Estado do Espírito Santo (BANDES, 2008). A espécie vem sendo explorada, numa escala menor, para esta finalidade em outras regiões do Brasil, principalmente no litoral, em áreas de restinga, e tem se tornado uma fonte de renda importante para os

moradores no período de menor atividade pesqueira (CESÁRIO & GAGLIANONE, 2008).

A produção industrial de pimenta rosa no Brasil está regulamentada pela resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), onde foi aprovado o “Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos”.

Na medicina popular, *S. terebinthifolius* possui qualidades anti-nevrálgicas, adstringentes, tônicas e estimulantes, mas seu consumo deve ser feito com cautela devido às propriedades tóxicas (CORREA, 1978). Segundo Lorenzi & Matos (2002) seu uso medicinal inclui banhos de assento após o parto, tratamento de doenças do sistema respiratório e urinário, lavagem de feridas e úlceras entre outros (SOUZA *et al.*, 2001).

Várias destas propriedades medicinais estão associadas à presença de polifenóis na planta (BERTOLDI, 2006), como a apigenina, ácido elágico e naringina (QUEIRES & RODRIGUES, 1998), associados às propriedades antioxidantes (DEGÁSPARI *et al.*, 2004) na aroeira-pimenteira. Os bioflavonóides, que são dímeros precursores dos taninos, componentes presentes nos extratos da aroeira, também apresentam ação anti-inflamatória (MARTINEZ *et al.*, 1996).

O conjunto dos resultados obtidos nas pesquisas desenvolvidas com *S. terebinthifolius* nos laboratórios de Farmanguinhos – FIOCRUZ, levou a criação de um projeto visando o desenvolvimento de um fitoterápico com atividade anti-inflamatória e analgésica dentro do programa PDTIS/FIOCRUZ (Rede de Medicamentos) (COSTA *et al.*, 2008).

Na literatura foram verificados outros usos múltiplos para a *S. terebinthifolius*, sendo também, indicada para:

Produzir lenha e carvão de boa qualidade (BAGGIO, 1988). A madeira é usada principalmente como mourões de cerca, já que é madeira de pouco valor comercial. Na Região Metropolitana de Curitiba, PR, é utilizada para cabos de ferramentas ou de utensílios domésticos (BAGGIO & CARPANEZZI, 1998).

Da semente extrai-se óleo volátil, com atividade inseticida comprovada em mosca (*Musca domestica*) (SALEH, 1988). De sua casca e sementes, também se obtém óleos essenciais para serem utilizados na formulação de perfumes (FIGUEIREDO, 2009). É importante fonte de goma-resina, extraída da casca, sendo aromática e conhecida por mastique. Esse exsudato tem propriedades antitérmicas,

homeostáticas e antitussígenas (OLIVEIRA & GROTTA, 1965). Apresenta até 10% de tanino na casca, utilizado localmente em curtume e para fortalecer redes de pesca (RIZZINI & MORS, 1976).

Fragmentação de habitats florestais

Com a exploração dos recursos naturais, principalmente das espécies arbóreas, visando ao uso da madeira, produtos associados e a abertura de novas áreas para a agricultura, as florestas nativas encontram-se fragmentadas e reduzidas a porções muito pequenas em relação às suas áreas originais (REGO *et al.*, 2009).

A fragmentação florestal é um processo de formação de mosaicos de habitats, que incluem fragmentos de diferentes tamanhos, áreas agrícolas e urbanas e que apresentam uma probabilidade reduzida de dispersão e estabelecimento de indivíduos adultos e juvenis da fauna (SANTOS, 1995), responsável pela maior parte do fluxo gênico entre populações de plantas. Assim, uma das consequências da fragmentação são as alterações que as populações remanescentes sofrem nos padrões de troca de genes e têm sua variabilidade e estrutura genética alterada (BALLAL *et al.*, 1994).

A fragmentação de habitats é uma das principais causas de redução da biodiversidade em nível global. A fragmentação deixa pequenas áreas de matas recortadas formando um mosaico com áreas de campo ou de lavoura o que dificulta ou pode impedir o fluxo gênico entre plantas, reduzindo com isso a variabilidade genética das populações naturais. Sendo que os ecossistemas florestais naturais vêm sendo perturbados e definitivamente eliminados em contraste com o avanço inexpressivo de estudos desses ecossistemas, do ponto de vista ecológico, agrônômico e genético.

A redução do tamanho das populações de espécies alógamas causada por isolamento ou por fragmentação, potencialmente determina a depressão endogâmica, podendo levar à extinção, bem como, possivelmente ocasionará diminuição da capacidade adaptativa a mudanças no ambiente ecológico. Na análise de sementes florestais é comum a ocorrência de plântulas albinas em consequência da elevada homozigose resultante dos cruzamentos endogâmicos dos genitores (SARMENTO & VILLELA, 2010).

Caracterização citogenética

Com a crescente preocupação de se entender o impacto antrópico e de mudanças ambientais sobre populações e comunidades naturais, a preservação de germoplasma, e utilização de material nativo com potencial econômico, os estudos citogenéticos, morfológicos, evolutivos e reprodutivos adquirem grande importância, visto que oferecem fundamentação para trabalhos aplicados (VALLS, 1988).

O material genético (DNA), responsável pela transmissão de características herdáveis, está presente na sua grande maioria no núcleo da célula e está arranjado em cromossomos que podem ser visíveis em etapas específicas da mitose e da meiose (SYBENGA, 1993). As diferenças cromossômicas refletem diferenças na origem da variação genética, ao passo que diferenças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas refletem diferenças nos produtos de ação gênica, modificados por influências ambientais (STEBBINS, 1971).

A citogenética compreende o estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, no que diz respeito à morfologia, organização, função e replicação bem como sua variação e sua evolução (GUERRA, 1988). A citogenética assume papel importante em programas de melhoramento genético de plantas, pois através dos estudos citogenéticos é possível determinar o número cromossômico, nível de ploidia, comportamento cromossômico na meiose e na mitose, fertilidade do grão de pólen, auxiliando na identificação de materiais que possam ser utilizados em cruzamentos dirigidos (SYBENGA, 1993; 1998). Sendo que, a caracterização citogenética deveria ser encarada como um pré-requisito e uma atividade básica na caracterização das coleções de germoplasma.

Na literatura científica existem poucos trabalhos de pesquisa com *S. terebinthifolius*, entretanto, Pedrosa *et al.* (1999) e Franco-Cairo *et al.* (2009), em estudos citogenéticos realizados com *S. terebinthifolius*, encontraram $2n = 28$. Sendo que as informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo, desde a simples contagem, até detalhes da citogenética molecular que são a fronteira da pesquisa atual (STACE, 2000).

O número de cromossomos muitas vezes representa, por si só, um caráter de importância sistemática. Números cromossômicos similares podem indicar relações de parentescos próximos; números de cromossomos distintos muitas vezes geram isolamento reprodutivo a partir da fertilidade reduzida dos híbridos gerados. O

tamanho dos cromossomos, a posição dos centrômeros, padrões de bandeamento, e outras características também podem ter importância do ponto de vista sistemático (JUDD, *et al.*, 2009).

Mesmo com o advento da genética molecular, segundo Guerra & Souza (2002), a análise cromossômica seria a única maneira de observar todo o genoma de um eucarioto na forma de blocos individualizados de material genético, passíveis de serem mensurados, diferenciados em subunidades e manipulados de diversas maneiras.

Dentre as muitas informações obtidas pela citogenética, as que se referem ao número cromossômico são as mais conhecidas. Hoje, a comunidade sistemática é bem servida por catálogos de contagens cromossômicas de plantas. Um exemplo é a listagem atualizada de números cromossômicos citados na literatura pode ser encontrada no site Index Plant Chromosome Number, sob o patrocínio do Missouri Botanic Garden.

A citogenética também possui um papel importante nos estudos evolutivos e taxonômicos. O principal valor dos cromossomos com relação à sistemática está na sua importância para interpretar relações intra e interespecíficas. E quando são suficientemente significativos, os dados também podem ser utilizados para taxa de níveis superiores, proporcionando informações que esclarecem relações intergenéticas ou para um ordenamento filogenético dentro de uma família (KRAPOVICKAS, 1972).

Para Moraes-Fernandes *et al.* (1985), a regularidade do número de cromossomos é de tal importância e constância nos eucariontes, que permite a sua utilização como um parâmetro em citotaxonomia, sendo um auxiliar valioso na identificação de espécies.

Entretanto, os números cromossômicos foram registrados para apenas 25% das angiospermas (BENNET, 1998), e muitas dessas espécies tinham apenas uma ou poucas contagens, estas, frequentemente, antigas e muitas vezes duvidosas (STACE, 2000).

Apesar do significado fundamental do número cromossômico em sistemática e evolução, os dados para angiospermas são incompletos e uma ampla documentação de dados cromossômicos básicos é uma importante prioridade, devido aos problemas atuais frente à conservação dos recursos genéticos mundiais (STACE, 2000).

Conservação e exploração de espécies florestais

O desmatamento, os cultivos agrícolas e as queimadas vêm contribuindo para a destruição de habitats e diminuição de espécies arbóreas nativas que se destacam, na sua maioria, pela qualidade da madeira (celulose, fibras, polpa e biomassa para produção de energia), uso medicinal e industrial, produção de mel e utilização ornamental e paisagística. Espécies nativas possuem também grande relevância ecológica através do reflorestamento e recomposição de áreas ambientalmente degradadas, alimento e refúgio para a fauna silvestre, habitat para epífitas como bromélias, pteridófitas, orquídeas e cactos, sequestro de carbono atmosférico, fixação de nitrogênio e ciclagem de matéria orgânica no solo.

Diferentemente da maioria das grandes culturas agrícolas, espécies florestais nativas comportam grande variabilidade genética, resultando em ampla variação nas características morfofisiológicas que, por sua vez, são determinantes no comportamento ecológico dos indivíduos. Além disso, pelo fato dessas espécies estarem distribuídas em uma grande extensão geográfica, encontram-se fortemente sujeitas às variações edafoclimáticas, em escalas espacial e temporal. Somam-se a isso outros fatores relacionados à polinização, ao manejo de coleta e pós-coleta de sementes, capazes de influenciar diretamente na qualidade fisiológica. Estes fatores exigem cautela no estabelecimento de um padrão que seja característico para determinada espécie, especialmente no que tange às sementes e a seu comportamento germinativo (SARMENTO & VILLELA, 2010).

A maioria dos trabalhos que visa à conservação e exploração de espécies nativas florestais depende da formação de mudas. Assim, a renovação da vegetação, a recuperação de áreas degradadas, o estabelecimento de bancos de germoplasma, os programas de melhoramento e os plantios para a exploração econômica de frutos, madeira e produtos medicinais, são baseados na coleta de sementes e reprodução daquelas espécies (MELLO *et al.*, 1998).

As sementes de espécies arbóreas nativas apresentam, em sua maioria, baixa porcentagem de germinação, ainda que mantidas em condições favoráveis de temperatura e umidade, o que ocorre devido à presença de tegumento duro, com elevado grau de impermeabilidade e, conseqüentemente, no atraso da germinação e desconformidade de plântulas durante o processo de formação de mudas

(LORENZI, 1992). Também apresentam, de maneira geral, baixas porcentagens de germinação, devido às anormalidades e lesões provocadas por microrganismos (VECHIATO, 2010). Os maiores problemas ligados a doenças ocorrem durante a germinação e formação de mudas (CARNEIRO, 1987).

Vários microrganismos podem causar prejuízos às culturas quando associados às sementes, porém aos fungos deve ser dada maior atenção, devido ao seu caráter agressivo e decompositor que acarreta em um grande número de espécies fitopatogênicas e também por sua capacidade de sobreviver nas condições de ambiente adequadas à manutenção da viabilidade das sementes, durante o período de armazenamento (CHEROBINI, 2006; KRUPPA & RUSSOMANNO, 2009).

Entre as medidas preventivas para evitar perdas no campo, recomenda-se o emprego de algumas técnicas de manejo, como o tratamento com produtos biológicos que também poderão ser associados aos químicos. O tratamento biológico, especialmente em sementes de espécies florestais nativas é a alternativa mais desejável, pois é um método não poluente, não agride o meio ambiente, o controle é exercido pelo desequilíbrio ecológico dos patógenos alvos e oferece uma ação duradoura. Alguns bioprodutos à base do fungo *Trichoderma harzianum* têm se mostrado eficientes e promissores no controle de fungos patogênicos (VECHIATO, 2010). Além disso, espécies de trichoderma são utilizadas também como promotoras da germinação de sementes e do crescimento vegetal (ALTOMARE *et al.*, 1999).

Interação semente-microrganismos

Normalmente, as sementes são estruturas atacadas por patógenos no campo e nas operações como colheita, secagem e beneficiamento, o que afeta a qualidade e reduz a capacidade germinativa (CARNEIRO, 1987). A associação de fungos fitopatogênicos com a semente propicia a sobrevivência do patógeno por longos períodos de tempo e os prejuízos vão desde o apodrecimento das sementes, provocando falhas na germinação à podridão de raízes, causando morte de plântulas, ou, posteriormente, o aparecimento de manchas foliares, resultando em plantas mal desenvolvidas e menos produtivas (KRUPPA & RUSSOMANNO, 2009).

A rizosfera, região onde o solo e as raízes das plantas entram em contato, apresenta um número elevado de microrganismos que influenciam o crescimento e a produção das plantas. De acordo com o efeito que causam nos vegetais, os

microrganismos são classificados como prejudiciais, benéficos ou neutros (LUCON, 2009). A ocorrência de fungos prejudiciais (patogênicos) ou benéficos em sementes de espécies florestais no Brasil é grande e, dentre os prejudiciais, podem-se destacar os gêneros *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phoma* e *Cladosporium*, sendo os efeitos prejudiciais as doenças e a fitotoxicidade (KRUPPA & RUSSOMANNO, 2009).

Diversas espécies fúngicas, classificadas como benéficas, têm sido envolvidas no biocontrole de fitopatógenos. Algumas com sucesso comprovado e muitas outras com potencial de uso, tais como *Trichoderma* spp., *Gliocladium roseum*, *Gliocladium virens*, *Coniothyrium minitans*, *Talaromyces flavus*, *Pythium oligandrum*, *Sporidesmium sclerotivorum*, *Peniophora gigantea*, *Ampelomyces quisqualis*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. (MELO, 1998).

Os microrganismos benéficos possuem a capacidade de melhorar a germinação de sementes, o crescimento e a produção de plantas. Eles ocorrem de forma natural nos ecossistemas e, de certa forma, diminuem os efeitos maléficos causados pelos microrganismos prejudiciais às plantas.

O biocontrole de fitopatógenos e o maior crescimento vegetal podem ser alcançados através de práticas de manejo para favorecer antagonistas nativos e, também, através da introdução de microrganismos selecionados (MELO, 1998). Os isolados podem ser introduzidos antes ou no momento do plantio de forma preventiva e sua aplicação pode ser feita nas sementes, no substrato ou no sulco de plantio. A introdução do agente também pode ser feita em matérias orgânicas que serão incorporadas antes do transplante das mudas (LUCON, 2009).

A promoção de crescimento ocasionada por microrganismos do solo ocorre devido à ação de vários fatores pouco esclarecidos. Diversas espécies fúngicas têm sido envolvidas no biocontrole de fitopatógenos. No entanto, espécies de *Trichoderma* são, sem dúvida, os agentes de biocontrole fitopatogênico mais estudados e utilizados no Brasil e em outros países da América Latina (MORANDI & BETTIOL, 2009). Segundo Lucon (2008), isso se deve ao fato dessas espécies não serem patogênicas e estarem presentes em praticamente todos os tipos de solos com matéria orgânica, sendo facilmente isolados, cultivados e multiplicados, colonizando com eficiência o sistema radicular de diversas plantas.

A promoção de crescimento de plantas pela aplicação de isolados de *Trichoderma* spp. foi inicialmente relacionada ao controle biológico de

microrganismos prejudiciais presentes na rizosfera e/ou no solo, através da associação ou não de: Parasitismo, indivíduos de uma espécie vivem no corpo de outro, do qual retiram alimento; Antibiose, é uma relação interespecífica desarmônica, onde indivíduos de uma população expelem substâncias que impedem ou inibem o desenvolvimento de indivíduos de outra espécie, e; Competição, disputa por recursos escassos no ambiente entre indivíduos de espécies diferentes. Mais recentemente, tem sido relacionada à produção de hormônios ou fatores de crescimento, maior eficiência no uso de alguns nutrientes e aumento da disponibilidade e absorção de nutrientes pela planta (LUCON, 2009).

No entanto, é importante ressaltar que o controle biológico não objetiva a erradicação de fitopatógenos, mas sim, manipular o ambiente a níveis econômicos e ecologicamente aceitáveis, sendo uma das formas de promover o crescimento vegetal (OLIVEIRA, 2007).

Algumas linhagens aumentam a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior acesso aos elementos minerais. Outras são capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco. Também podem melhorar os mecanismos ativos de absorção, bem como, aumentar a eficiência da planta para utilizar alguns nutrientes importantes, como o nitrogênio (LUCON, 2009).

Outro fator ainda relacionado ao melhor desenvolvimento de plantas por isolados benéficos de *Trichoderma* é o aumento da resistência aos estresses abióticos, como umidade, pH e temperatura. Pesquisas apontam que plantas tratadas com esses agentes podem ter seu desempenho favorecido quando cultivadas em condições estressantes (LUCON, 2009). Conforme Ethur (2006), a interferência de *Trichoderma* no crescimento de plantas e o aumento da produtividade ocorrem devido à sua capacidade de colonizar as raízes.

Diversos trabalhos mostram o efeito de *Trichoderma* spp. no desenvolvimento vegetal. Em estudo realizado por Fortes *et al.* (2007) foi observado que a sobrevivência de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. aumentou por meio do tratamento com isolados de *Trichoderma* spp. e também promoveu um aumento na porcentagem de enraizamento. Da mesma forma, estudos realizados na interação de *Gochnatia polymorpha* (cambará) com isolados de *Trichoderma* spp. resultaram no aumento de germinação e crescimento, comparados com os tratamentos controle sem os isolados (MACHADO, 2012). Assim como, Filho *et al.*

(2008) em estudos com mudas de eucalipto verificaram que isolados de *Trichoderma* spp. promoveram a colonização endofítica das mudas, o crescimento e a produção de ácido indolacético.

Artigo 1

Caracterização citogenética em acessos do Rio Grande do Sul de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)

LUZ, L.V.^{1*}; SILVA, A,C,F.¹; TEDESCO S,B.¹; COELHO, A,P,D.¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria – Centro de Ciências Naturais e Exatas (PPG Agrobiologia) – Av. Roraima nº 1000 - Cidade Universitária - Bairro Camobi - CEP: 97105-900 - Santa Maria – Rio Grande do Sul (leandrodaluz_5@hotmail.com).

RESUMO

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira-pimenteira, ocorre de forma natural na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil. Possui propriedades medicinais e é uma das espécies mais procuradas pela avifauna, sendo, portanto, útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente. Informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo, desde a simples contagem, até detalhes da citogenética molecular. Esse trabalho teve como objetivo realizar a caracterização cromossômica em 22 acessos de *S. terebinthifolius* nativos do Rio Grande do Sul, visando à ocorrência de variabilidade intraespecífica nessa espécie, além da conservação e utilização sustentável desta espécie. Para a determinação do número de cromossomos, foram utilizados tecidos de pontas de raízes e estas foram submetidas ao pré-tratamento a frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) por 18h. Após, as radículas foram fixadas em Carnoy 3:1 (etanol / ácido acético) durante 24h na temperatura ambiente e estocadas em álcool (70%) sob-refrigeração. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética 2%. O número de cromossomos de *S. terebinthifolius* encontrados em 22 acessos foi de $2n = 28$, sendo que esses acessos estudados não exibem variabilidade intraespecífica.

Palavras-chave: Cromossomos. Variabilidade intraespecífica. Conservação. Espécies nativas.

ABSTRACT**Cytogenetic characterization in acesses of the Rio Grande do Sul state of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), popularly known as “red-aroeira”, occurs naturally in Argentina, Paraguay, Uruguay and Brazil. It has medicinal properties and is one of the species most sought by the avifauna, being, therefore, useful in heterogeneous reforestation intended for the recomposition of degraded areas of permanent preservation. Information about the chromosomes are relevant in systematic and evolutionary studies, spanning, since the simple counting, until details of molecular cytogenetics. This study aimed to perform the chromosomal characterization in 22 accessions of *S. terebinthifolius* native of Rio Grande do Sul, aiming to the occurrence of intraspecific variability in this species, besides the conservation and sustainable use of this species. For the determination of chromosome number, were used tissue of root tips, they were subjected to cold pretreatment ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) for 18h. After, the roots were fixed in Carnoy 3:1 (ethanol / acetic acid) for 24 hours at room temperature and stored under alcohol (70%) under cooling. The slides were prepared by crushing technique and stained with 2% acetic orcein. The chromosome number of *S. terebinthifolius* found in 22 accessions was $2n = 28$, and these studied accessions do not exhibit intraspecific variability.

KEYWORDS: Chromosomes. Intraspecific variability. Conservation. Native species.

INTRODUÇÃO

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), conhecida popularmente como aroeira-pimenteira, ocorre de forma natural na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil. Neste último, ocorre em diversas regiões fitoecológicas, tais como Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual e também em sistemas edáficos de primeira ocupação (CARVALHO, 2003). Do ponto de vista de seu comportamento sucessional, a espécie é tipicamente pioneira (SPVS, 1996). É uma das espécies mais procuradas pela avifauna, sendo, portanto, útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992). Também possui propriedades medicinais sendo suas folhas e cascas do caule utilizadas na forma de decocto com fins expectorante, anti-séptico, antidiarréico e cicatrizante (DUARTE *et al.*, 2006). Em face disso, a aroeira recebeu atenção em estudos com abordagem fitoquímica (DEGÁSPARI, 2004; PIRES *et al.*, 2004; QUEIRES *et al.*, 2006) e sobre aspectos da sua morfologia e anatomia (MACHADO & CARMELLO-GUEREIRO, 2001; DUARTE *et al.*, 2006).

O material genético (DNA), responsável pela transmissão de características herdáveis, está presente na sua grande maioria no núcleo da célula e está arranjado em cromossomos que podem ser visíveis em etapas específicas da mitose e da meiose (SINGH, 2002). As diferenças cromossômicas refletem diferenças na origem da variação genética, ao passo que diferenças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas refletem diferenças nos produtos de ação gênica, modificados por influências ambientais (STEBBINS, 1971).

A importância das informações cromossômicas foi discutida por Krapovickas (1972), o qual expôs que, desde o final do século passado, quando se constatou que a quantidade de cromossomos pode ser constante para cada espécie vegetal, iniciou-se a

análise dos números cromossômicos em busca de um elemento importante que possibilita esclarecer o conceito de espécie. As diferenças cromossômicas refletem diferenças na origem da variação genética e, muitas vezes, no conteúdo gênico do indivíduo (STEBBINS, 1971).

Informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo, desde a simples contagem, até detalhes da citogenética molecular que são a fronteira da pesquisa atual (STACE, 2000). Historicamente, quando estudos citogenéticos de espécies arbóreas são comparados aos de espécies cultivadas e/ou nativas com valor agrônomo, sua limitação é evidente, restringindo-se a informações básicas sobre sua estrutura genômica e a inclusão dessas espécies em programas de melhoramento e conservação (SCHLARBAUM, 2000).

Os estudos citogenéticos possibilitam a obtenção de informações básicas para a caracterização citológica e permitem que diferenças possam ser encontradas entre as espécies (POZZOBON, 2005). E o valor dos cromossomos com relação à sistemática está na sua importância para interpretar relações intra e interespecíficas. E quando são suficientemente significativos, os dados também podem ser utilizados para taxa de níveis superiores, proporcionando informações que esclarecem relações intergenéticas ou para um ordenamento filogenético dentro de uma família (KRAPOVICKAS, 1972).

A quase totalidade dos trabalhos citotaxonômicos se enquadra dentro do que se chama de *citotaxonomia clássica*, que se caracteriza pela observação de cromossomos ou núcleos interfásicos corados com o uso de técnicas relativamente simples, como a técnica de Feulgen, que cora a cromatina de forma específica e estequiométrica, ou o Carmin ou Orceina acética. Com essa abordagem têm sido possíveis vários níveis de análise citotaxonômica. A mais simples delas consiste em determinar e comparar o número cromossômico em um grande número de espécies de um determinado táxon. Nesse caso, é frequentemente possível reconhecer o número cromossômico ancestral do

grupo e, a partir daí, as diferentes linhas evolutivas desenvolvidas dentro do mesmo, marcadas por um rastro de variações graduais envolvendo principalmente diploidias e poliploidias (GUERRA, 1990).

A citogenética vegetal no Brasil está muito voltada para as plantas cultivadas com interesse econômico. Existe, no entanto, um crescente interesse por outras espécies, tanto de valor medicinal quanto ornamental (GUERRA, 1990; LOVATTO & BATTISTIN, 1997; PEDROSA *et al.* 1999 e PAGLIARINI, 2000). Contudo, há uma crescente tendência ao desenvolvimento de uma taxonomia com múltiplas abordagens, incluindo a análise citogenética. Exemplos disso podem ser observados tanto ao nível infragenérico, como em *Axonopus* (HICKENBICK *et al.*, 1975) e *Eupatorium* (COLEMAN & COLEMAN, 1984, 1988), quanto ao nível supragenérico, como no complexo *Phaseolus-Vigna-Macroptilium* (FORNI-MARTINS & DA CRUZ, 1985) ou em *Chorisia-Ceiba* (GIBBS *et al.*, 1988).

Dentre as espécies arbóreas, o grupo das gimnospermas é o mais estudado citogeneticamente, destacando-se estudos com coníferas e pináceas (MURATOVA & SEDELNIKOVA, 2000). Um evento marcante para a citogenética de espécies arbóreas foi a descoberta da origem triplóide de *Populus tremula* L., sendo esse o primeiro exemplo do potencial das informações citogenéticas no melhoramento dessas espécies (SCHLARBAUM, 2000). Gêneros como *Eucalyptus* L'Herit., *Pinus* L., *Populus* L. e *Juglans* L., em que predomina o hábito arbóreo, são os mais estudados do ponto de vista do melhoramento genético e biotecnológico (STUDART-GUIMARÃES *et al.*, 2003), evidenciando a falta de estudos botânicos e citogenéticos com espécies arbóreas nativas, visando a conservação da biodiversidade e futuros estudos de melhoramento genético.

É importante salientar, que espécies que já foram cariologicamente analisadas em uma determinada região não passam a serem menos interessantes para a análise por pesquisadores de outra região. Pelo contrário, a análise de várias populações de uma mesma espécie pode revelar desde a estabilidade citológica da espécie até a existência

de espécies ou raças crípticas. Assim, a análise da morfologia cromossômica de *Emilia sonchifolia* nas populações de São José do Rio Preto (COLEMAN & CAMPELLO, 1984) e de Recife (GUERRA & NOGUEIRA, 1990) sugere pouca ou nenhuma diferenciação cariotípica dessa espécie durante sua dispersão pelo território brasileiro, enquanto a amostra de *Genipa americana* analisada em Pernambuco (GUERRA, 1986), com $2n = 22$, parece diferir fortemente da de Campinas (PIEROZZI & CRUZ, 1988), com $2n = 20$.

Esse trabalho teve como objetivo realizar a caracterização cromossômica em uma coleção de 22 acessos de *S. terebinthifolius* nativos do Rio Grande do Sul visando ocorrência de variabilidade intraespecífica, além da conservação e a utilização sustentável desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo foi realizada a coleta de sementes de 22 acessos de aroeira de ocorrência natural no RS, Brasil e as exsiccatas depositadas no herbário SMDB do Departamento de Biologia-UFSM (Tabela 1).

As sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel filtro umedecido com água destilada; e mantidas em câmara de crescimento (temperatura: $\pm 20^{\circ}\text{C}$ e alternância de períodos de luz/escuro de 12h) no Laboratório de Interação Planta-Microrganismos da UFSM. Quando as radículas apresentavam entre 1,0 a 1,5cm de comprimento, foram coletadas e submetidas ao pré-tratamento a frio ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) por 18h. Após, as radículas foram fixadas em Carnoy 3:1 (etanol / ácido acético) durante 24h na temperatura ambiente e estocadas em álcool (70%) sob refrigeração. Para o preparo das lâminas, as radículas foram lavadas em água destilada, hidrolisadas em HCl (1N) por 5 min; e após foram lavadas novamente. Para a montagem da lâmina foi utilizada a técnica de esmagamento (GUERRA & SOUZA, 2002), e coloração com orceína acética (2%). As

células que apresentavam bom espalhamento dos cromossomos foram fotografadas e os cromossomos contados e medidos com auxílio de uma ocular micrométrica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 22 acessos de *S. terebinthifolius* (Tabela 1), pertencentes à região central do Rio Grande do Sul. O número de cromossomos apresentados para os 22 acessos estudados foi de $2n = 28$ (Figuras 1, 2, 3 e 4). Observa-se que o tamanho dos cromossomos é muito pequeno, em média de $0,56\mu\text{m}$, o que vai de acordo com Stebbins (1971) e Ehrendorfer (1976) onde constatam que a maioria das angiospermas lenhosas possuem pequenos cromossomos e com pequenas diferenças de tamanho entre as espécies ou gêneros relacionados.

TABELA 1 – Local de coleta, coordenadas geográficas, número de cromossomos e número de registro no herbário SMDB dos acessos de *Schinus terebinthifolius* coletadas na região Central do RS.

Acesso	Local da coleta	Coordenadas geográficas	Nº Cromossomos	Nº Herbário SMDB
SP-LL 2	São Pedro do Sul – RS	S 29°36'51,44" W 54°11'17,48"	$2n = 28$	13.717
DA-LL 4	Dilermando de Aguiar – RS	S 29°42'21,35" W 54°12'36,11"	$2n = 28$	13.725
SM-LL 5	Santa Maria – RS	S 29°41'14,86" W 53°52'55,96"	$2n = 28$	13.738
SM-LL 9	Santa Maria – RS	S 29°42'26,75" W 53°45'03,17"	$2n = 28$	13.719
SM-LL 10	Santa Maria – RS	S 29°42'27,54" W 23°46'47,06"	$2n = 28$	13.740
SM-LL 12	Santa Maria – RS	S 29°42'39,42" W 53°49'09,84"	$2n = 28$	13.722
SM-LL 13	Santa Maria – RS	S 29°41'47,08" W 53°51'01,04"	$2n = 28$	13.741
SM-LL 16	Santa Maria – RS	S 29°40'20,46" W 53°48'12,48"	$2n = 28$	13.734
SM-LL 18	Santa Maria – RS	S 29°40'39,07" W 53°47'47,68"	$2n = 28$	13.732
SM-LL 19	Santa Maria – RS	S 29°40'37,70" W 53°48'07,15"	$2n = 28$	13.731
I-LL 23	Itaara – RS	S 29°36'17,09" W 53°45'23,91"	$2n = 28$	13.746
SM-LL 25	Santa Maria – RS	S 29°41'33,41" W 53°51'55,96"	$2n = 28$	13.728

SM-LL 26	Santa Maria – RS	S 29°41'41,63" W 53°52'36,44"	2n = 28	13.726
SM-LL 27	Santa Maria – RS	S 29°41'28,33" W 53°51'48,38"	2n = 28	13.729
SM-LL 28	Santa Maria – RS	S 29°41'33,33" W 53°50'43,98"	2n = 28	13.723
SM-LL 29	Santa Maria – RS	S 29°39'58,97" W 53°49'48,83"	2n = 28	13.735
SM-LL 30	Santa Maria – RS	S 29°41'47,32" W 53°44'09,80"	2n = 28	13.737
SM-LL 31	Santa Maria – RS	S 29°42'30,24" W 53°46'31,49"	2n = 28	13.720
SM-LL 32	Santa Maria – RS	S 29°42'26,70" W 53°46'36,29"	2n = 28	13.743
SM-LL 33	Santa Maria – RS	S 29°41'37,09" W 53°47'05,51"	2n = 28	13.730
SiM-LL 35	Silveira Martins – RS	S 29°38'41,38" W 53°35'17,11"	2n = 28	13.727
SiM-LL 36	Silveira Martins – RS	S 29°38'53,15" W 53°35'10,45"	2n = 28	13.742

A contagem cromossômica relatada, é corroborada por outros autores em trabalhos realizados em outras regiões. Pedrosa *et. al.* (1999), em estudo realizado em Pernambuco, encontraram para *S. terebinthifolius* $2n = 28$, com cromossomos pouco contrastados, de tamanho simétrico e citoplasma em geral bastante corado. A literatura registra contagem prévia com $n = 30$ para essa espécie e $2n = 28$ em duas outras (FEDOROV, 1969). Sendo que os resultados propostos no presente estudo e por Pedrosa *et al.* (1999) em relação a diferença encontrada com o estudo anterior (FEDOROV, 1969), parece ser devida a divergência na identificação taxonômica. Entretanto, de acordo com Olkoski (2010), para obter-se uma estimativa confiável da variabilidade existente são imprescindíveis informações genéticas em um grande número de populações coletadas na área de distribuição dessa espécie, o que não ocorreu nos estudos anteriores.

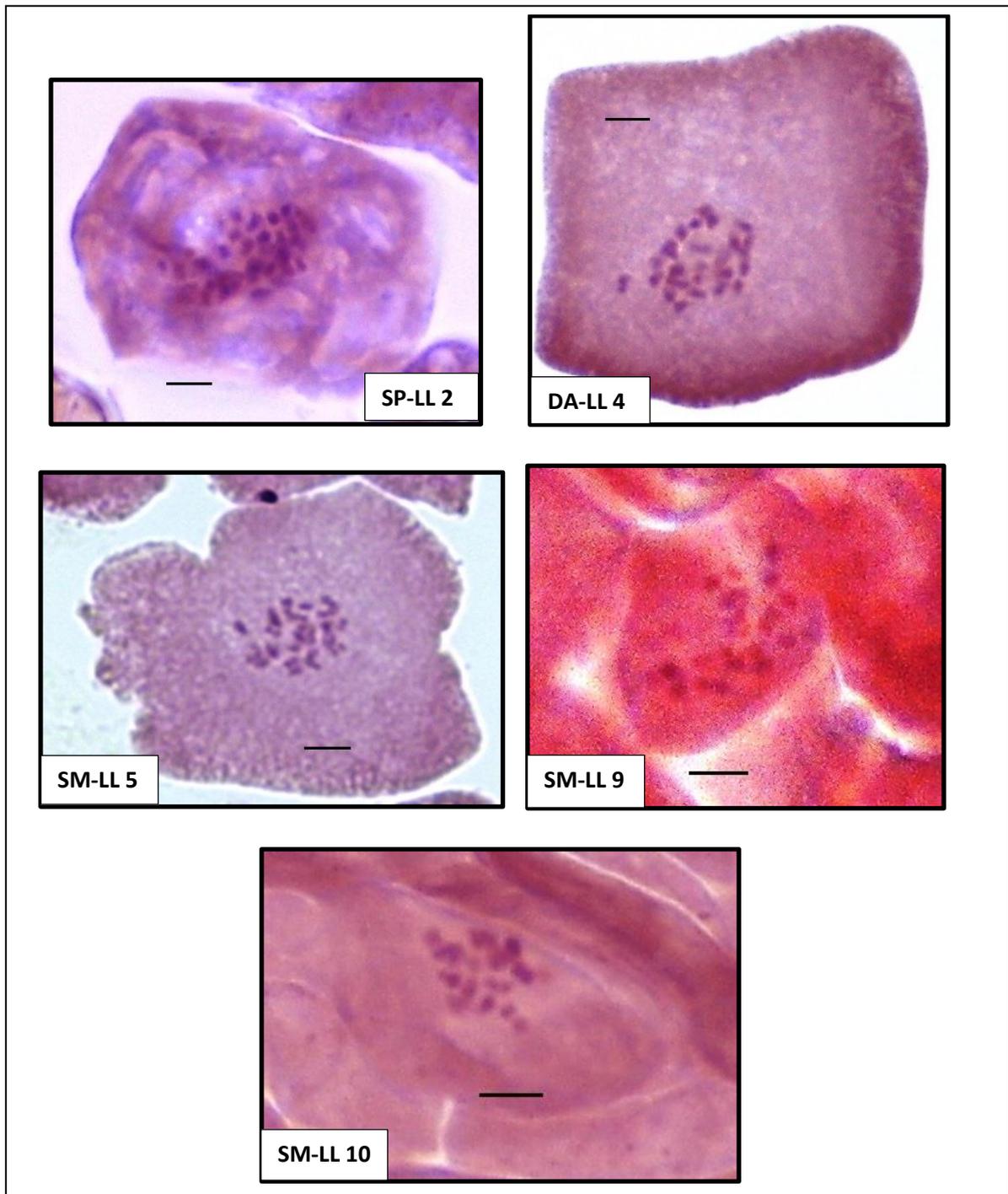


FIGURA 1 – Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de *S. terebinthifolius*. Acessos SP-LL 2, DA-LL 4, SM-LL 5, SM-LL 9, e SM-LL 10 com $2n = 28$. Barra de escala = $3\mu\text{m}$

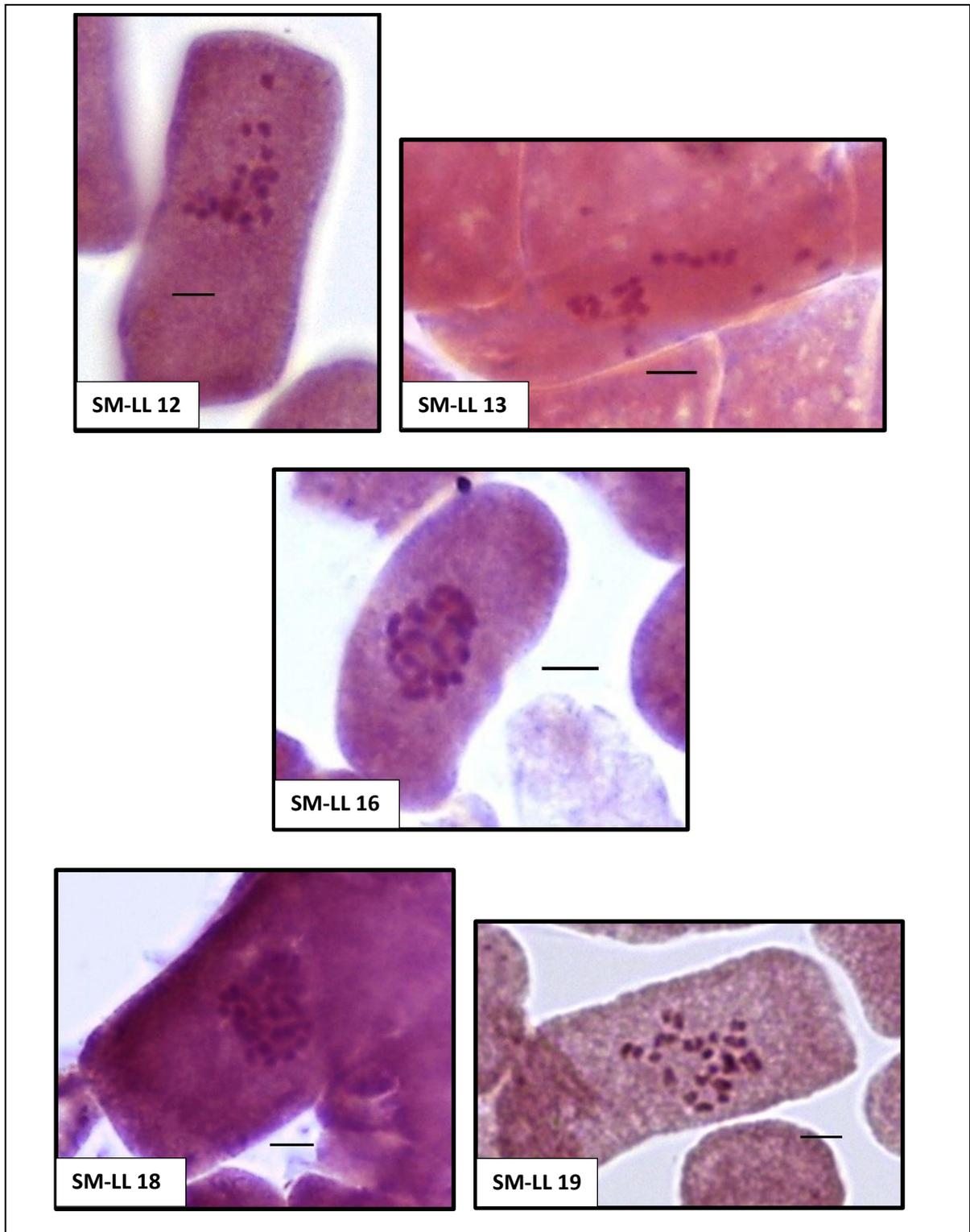


FIGURA 2 – Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de *S. terebinthifolius*. Acessos SM-LL 12, SM-LL 13, SM-LL 16, SM-LL 18 e SM-LL 19 com $2n=28$ cromossomos. Barra de escala = $3\mu\text{m}$

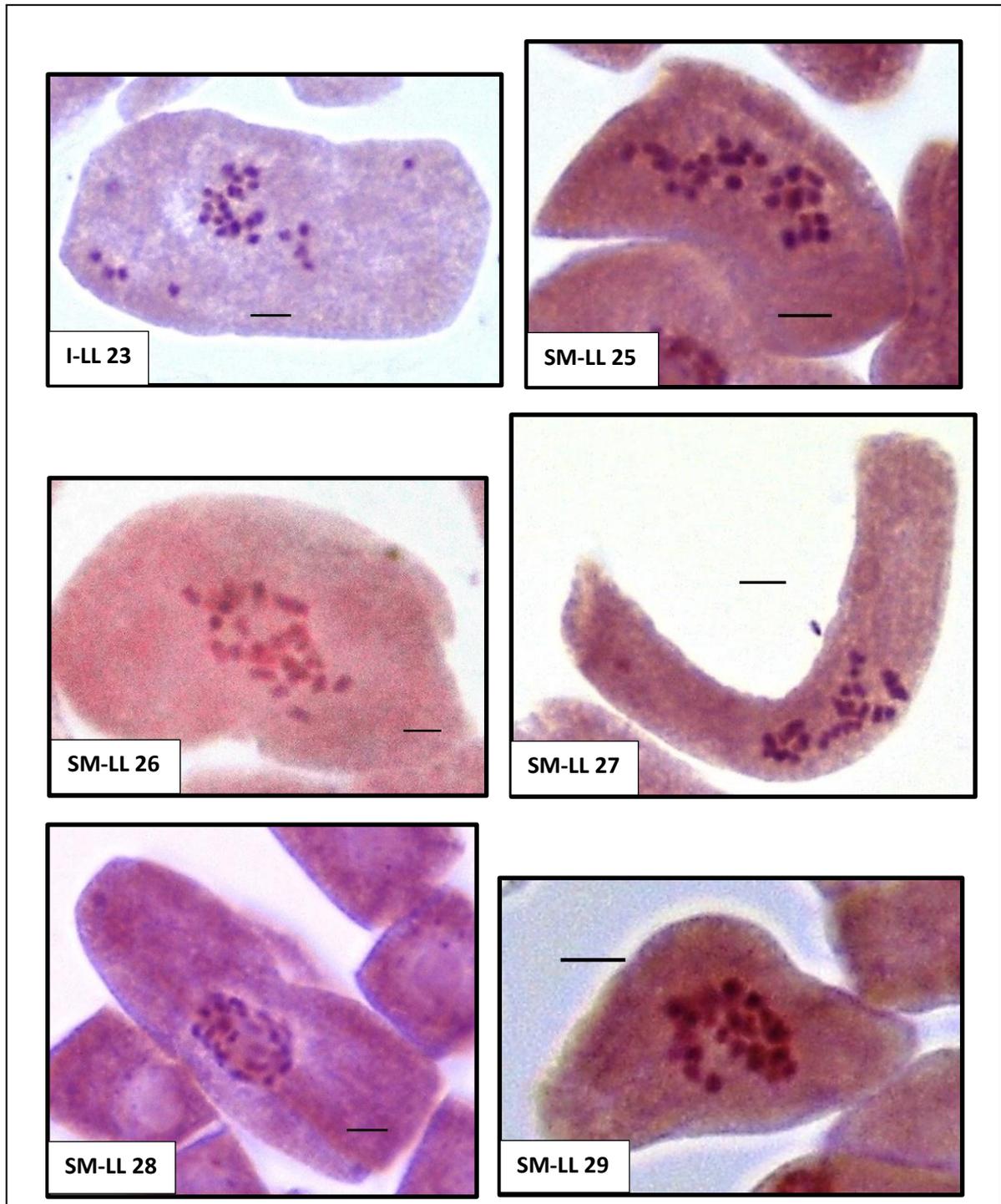


FIGURA 3 – Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de *S. terebinthifolius*. Acessos I-LL 23, SM-LL 25, SM-LL 26, SM-LL 27, SM-LL 28 e SM-LL 29 com $2n = 28$ cromossomos. Barra de escala = $3\mu\text{m}$

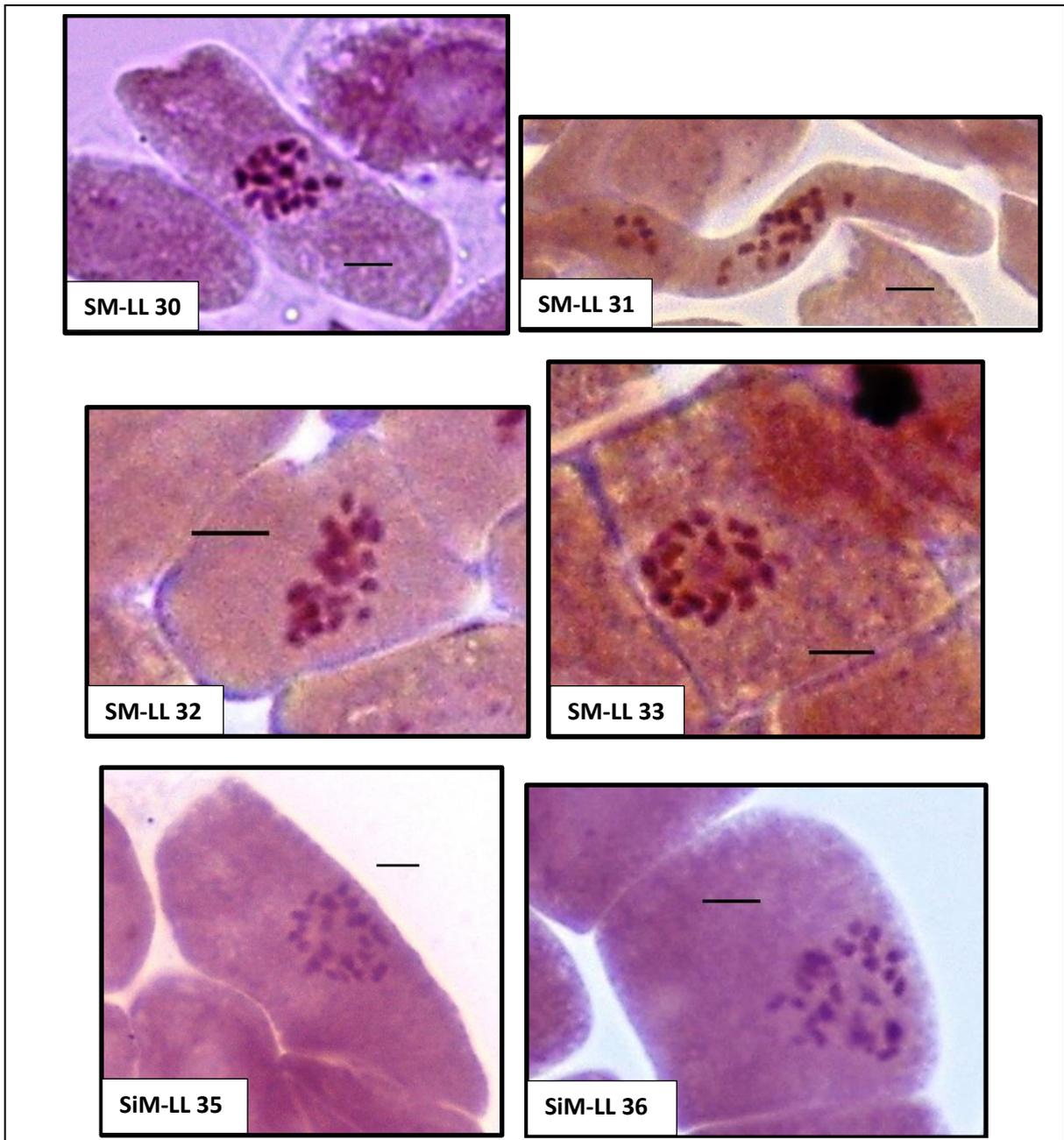


FIGURA 4 – Número de cromossomos de células somáticas de pontas de raízes de populações naturais de *S. terebinthifolius*. Acessos SM-LL 30, SM-LL 31, SM-LL 32, SM-LL 33, SiM-LL 35, SiM-LL 36 com $2n = 28$ cromossomos. Barra de escala = $3\mu\text{m}$

Em estudos citogenéticos realizados com espécies da família Anacardiaceae, *Schinus polygamus* apresentou o número somático de cromossomos $2n = 28$ (SCHNACK & COVAS, 1947), assim como, *Schinus molle* também apresentou $2n = 28$ (OGINUMA *et al*, 1993). Pedrosa *et. al.* (1999) analisou duas espécies da família

Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* (caju) que apresentou $2n = 40$ e duas amostras de *Spondias tuberosa* (umbu) na qual apresentaram 16 bivalentes em metáfase I de meiose e, uma terceira amostra, cerca de 32 cromossomos em metáfase mitótica.

Além disso, $2n = 28$ foi relatada para outros géneros da família, tais como *Lanea*, *Pistacia* e *Schinopsis* (FEDOROV, 1969; GOLDBLATT, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 2000). No entanto, Anacardiaceae é heterogênea em seus números de cromossomos, com esses números relatou: $2n = 30, 40, 28, 32$ e 20 , em ordem de decrescente de frequência (FEDOROV, 1969; GOLDBLATT, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 2000).

Estes resultados sugerem que $x = 7$ é o número básico para o género *Schinus*, de acordo com o número de cromossomos base original proposto por Raven (1975) para a família Anacardiaceae. Dessa forma, os resultados encontrados no presente estudo sugerem que $x = 7$ seja o número básico para *S. terebinthifolius*.

Poliploidia é um mecanismo evolutivo importante para a família, como foi para plantas vasculares como um todo (BRETAGNOLLE *et al.*, 1998). De acordo com Wendel (2000), cerca de 70% das espécies de angiospermas poderia ser considerado poliploides, como acontece com a maioria Anacardiaceae. A maioria dos seus relatórios indicam cromossomos $2n = 30, 40$, e 28 , ou seja, a evolução da família estava ao nível tetraploide. No entanto, deve-se mencionar que a família tem sido pouco examinada citologicamente, somente 14% de suas 875 espécies são conhecidas em seus números de cromossomas (FEDOROV, 1969; GOLDBLATT, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 2000).

Em estudos realizados por Gadek *et al.* (1996) e Pell & Urbatsch (2000), em um contexto de filogenética molecular, indicam que as famílias Burseraceae e Sapindaceae são as mais intimamente relacionadas com Anacardiaceae. Sendo que os dados cromossômicos disponíveis, ainda escassos, indicam que Burseraceae tem $2n = 22-26$, e Sapindaceae de $2n = 22, 24, 28$ e 30 (FEDOROV, 1969; GOLDBLATT, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 2000). Embora os números sejam variáveis, em três famílias a poliploidia é frequente e o número básico vai de $x = 7$ a $x = 9$. O mesmo é válido para as outras famílias da ordem: Meliaceae ($2n = 28, 42$ e 52) e Rutaceae ($2n = 18$ e 20), (FEDOROV, 1969; GOLDBLATT, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 2000).

CONCLUSÃO

O número de cromossomos da espécie *S. terebinthifolius* determinado para 22 acessos coletados no Rio Grande do Sul é de $2n = 28$, indicando que não ocorre variabilidade intraespecífica.

REFERÊNCIAS

- BRETAGNOLLE, F., F. FELBER, F. G. CALAME & P. KÜPFLER. 1998. La polyploïde chez les plantes. **Bot. Helvetica**, 108: 5-35.
- CARVALHO, P. E. 2003. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: EMBRAPA. 640p.
- COLEMAN, J. & M.L. CAMPELLO 1984. Cytogenetics of a mixed Brazilian population of *Emilia sonchifolia* (L.) DC. and *E. coccinea* (Sims) G. Don (Compositae). **Rev. Brasil. Genet.** 7: 83-94.

COLEMAN, J.R. & M.A. COLEMAN 1984. Apomixis in two triploid Brazilian species of *Eupatorium*: *E. bupleurifolium* and *E. Callilepis*. **Rev. Brasil. Genet.** 7: 549-567.

COLEMAN, J.R. & M.A. COLEMAN. 1988. Embryology and cytogenetics of apomictic triploid *Eupatorium squalidum* OC. (Compositae). **Rev. Brasil. Genet.** 11: 129-148.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. J. 2004. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 83-90.

DUARTE, M. R., TOLEDO, M. G.; OLIVEIRA, R. B. 2006. Diagnose morfoanatômica de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Visão Acadêmica**, v. 7, n. 2, p. 5-13.

EHRENDORFER, F. 1976. Evolutionary significance of chromosomal differentiation patterns in Gymnosperms and primitive Angiosperms., In C. B. Beck [ed.], **Origin and early evolution of angiosperms**. Columbia University Press, New York and London.

FEDOROV, A.M.A. 1969. **Chromosome Number of Flowering Plants**. Komarov Botanical Institute, Leningrado.

FORNI-MARTINS, E.R. & CRUZ. N.D. 1985. Estudos citotaxonômicos no complexo *Phaseolus-Vigna-Macroptilium* (Leguminosae-Papilionoideae). In.- M.L.R. AGUIAR-PERECIN, P.S. MARTINS E G. BANDEL, eds. **Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas**. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto , SP. p. 155-172.

GADEK, P. A., E. S. FERNANDO, C. J. QUINN, S. B. HOOT, T. TERRAZAS & M. W. CHASE. 1996. Sapindales: Molecular delimitation and infraordinal groups. **Amer. J. Bot.** 83: 802-811.

GIBBS, P.E., J. SEMIR & N.D. CRUZ. 1988. A proposal to the unite the genera *Chorisia* Kunth and *Ceiba* Miller (Bombacaceae). **Notes R.B.G. Edinb** . 45: 125-136.

GOLDBLATT, P. 1985. **Index to Plant Chromosome numbers** 1982-1983. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 13. Missouri Botanical Garden.

GOLDBLATT, P. & E.D. JOHNSON. 2000. **Index to Plant Chromosome numbers** 1998-1999. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 43. Missouri Botanical Garden.

GUERRA, M. A situação da Citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Bot. Bras.**, 1990, vol.4, no.2, suppl.1, p.75-86.

GUERRA, M.S. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.4,n.2, p.75-86, 1990.

GUERRA, M.S . 1986. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco. r. **Rev. Brasil. Genet.** 9; 21-40.

GUERRA, M.S. & M.T.M. NOGUEIRA 1990. **The cytotaxonomy of *Emilia* spp. (Asteraceae: Senecioneae) occurring in Brazil.** *Pl. Syst. Evol.* 170: 229-236.

GUERRA, M.; SOUSA, M.J. de. **Como observar cromossomos** – Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 191p.

HICKENBICK, M.C.M., J.F.M. VALLS, F.M. SALZANO & M.I.B. MORAES-FERNANDES. 1975. Cytogenetic and evolukionary relationship in the genus *Axonopus* (Gramineae). **Cytologia** 40: 185-204.

KRAPOVICKAS, A. La informacion cromossômica y su importância em la sistemática. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE BOTANICA, 1972, Mexico, **Sorbretic de las memorias de symposia.** México : Sociedad botânica de México, 1972. P.247-263.

LORENZI, H. 1992. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum. 352p.

LOVATTO, M.T.; BATTISTIN, A. Citogenética em cinco espécies ornamentais de Liliales. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.4, p.583-587, 1997.

MACHADO, S. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 2, p. 189-195.

MURATOVA, E.N.; SEDELNIKOVA, T.S. Karyotypic variability and abnormalities in populations of conifers from Siberia and the Far East. In.: GUTTENBERGER, H.; BORZAN, S.E.; HARTMAN, T.P.V. (Eds.) **Cytogenetics Studies of Forest Trees**

and Shrubs : review, present status, and outlook on the future. Zvolen, Slovakia : Arbora Publishers, 2000. p.09-19.

OGINUMA, K., A. KATO, H. TOBE, S.G. MATHENGE, & JUMA. F.D. 1993. Chromosomes of some woody plants in Kenya. **Acta Phytotax.** Geobot. 44: 53- 58.

OLKOSKI, D. **Número cromossômico e comportamento meiótico de populações de *Mimosa bimucronata*(DC.) O. Kuntze no Rio Grande do Sul.** 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PAGLIARINI, M. q S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997 – 1002, 2000.

PEDROSA, A.; GITAÍ, J.; SILVA, A. E. B.; FELIX, L.; GUERRA, M. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 49 – 60, 1999.

PELL, S.K. & URBATSCH, L. 2000. Evaluation of evolutionary relationships in Anacardiaceae using matK sequence data. **Amer. J. Bot.** 87 (suppl.): 149.

PIEROZZI, N.I. & N.D. CRUZ. 1988. Número e identificação dos cromossomos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) através de técnica de banda- C. **Cio e Culto** 40 (Supl.): 802.

PIRES, O. C.; TAQUEMASA, A. V. C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; ARAÚJO, C. E. P. 2004. Preliminary comparative analysis of the acute toxicity and median lethal dose (LD50) of the fruit of the Brazilian black pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and black pepper (*Piper nigrum* L.). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 2, p. 176-182.

POZZOBON, M. T. **Caracterização citogenética de acessos de germoplasma de espécies silvestres e semi domésticas do gênero *Capsicum* (Solanaceae).** 2005. 152f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

QUEIRES, L. C.; FAUVEL-LAFETVE, F.; TERRY, S.; TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J. C.; CHOPIN, D. K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L. E.; CREPIN, M. 2006. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, v. 26, n. 1A, p. 379-387.

RAVEN, P. H. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Ann. Missouri Bot. Gard.** 62: 724-764.

SCHLARBAUM, S. E. Cytogenetics studies of forest trees: looking to the past to meet challenges in the future. In: GUTTENBERGER, H. *et al.* **Cytogenetics Studies of Forest Trees and Shrubs – Review, Present Status, and Outlook on the future.**, Zvolen, Slovakia : Arbora Publishers, 2000. p. 9-19.

SCHNACK, B. & G. COVAS. 1947. Estudios cardiológicos en antófitas. **Haumania** 1: 32-41.

SINGH, R.J. **Plant Cytogenetics**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2002. 463p.

SOCIEDADE DE PESQUISA EM VIDA SELVAGEM E EDUCAÇÃO AMBIENTAL – SPVS, (Curitiba, PR). **Manual para recuperação de reserva florestal legal**. Curitiba: FNMA, 1996. 84p.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20 th and 21 st centuries. **Taxon**, Utrecht, v. 49, p. 451-477, 2000.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: Addison-Wesley, 1971. 216p.

STUDART-GUIMARÃES, C.; LACORTE, C.; BRASILEIRO, A. C. M. Transformação genética em espécies florestais. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 167-178, 2003.

Artigo 2

Avaliação da qualidade de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi provenientes de diferentes acessos na região do Rio Grande do Sul, Brasil

Leandro Vinícius da Luz¹, Antonio Carlos Ferreira da Silva², Antonio Padilha Tavares³.

¹ Eng. Florestal, Mestrando em Agrobiologia – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – Rio Grande do Sul, (leandrodaluz_5@hotmail.com)

² Eng. Agrônomo, Doutor em Ciências, Professor Associado da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – Rio Grande do Sul. (acfsilva2@uol.com.br)

³ Graduando em Agronomia - Universidade Federal de Santa Maria – Rio Grande do Sul.

RESUMO

Espécies florestais nativas ainda são pouco estudadas, assim como o caso de *Schinus terebinthifolius* conhecida popularmente no Brasil como aroeira-vermelha. A aroeira possui propriedades medicinais e alimentícias, sendo que, além da vasta importância econômica, a espécie se destaca também na recuperação de áreas degradadas e em programas de reflorestamento. Visto que, a maioria das espécies florestais nativas é propagada por sementes, o sucesso na formação de mudas depende do conhecimento do processo germinativo de cada espécie e da qualidade da semente utilizada. Assim, este trabalho objetivou avaliar a qualidade das sementes de *S. terebinthifolius* de 35 indivíduos provenientes de diferentes acessos do Rio Grande do Sul. Neste estudo, antes da instalação do experimento, as sementes passaram por um processo de desinfestação, sob condições assépticas, o qual consistiu da imersão por 15 minutos em solução de NaClO 3%, acrescida de duas gotas de detergente líquido de nome comercial “Girando Sol[®]” e três lavagens em água destilada e autoclavada. As parcelas foram mantidas em câmaras climáticas (BOD) com fotoperíodo de 16 horas à temperatura de 20°C (+/- 2°C). A avaliação desse experimento constou da primeira contagem, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação das sementes, a qual foi realizada, diariamente, por 30 dias; após a germinação da primeira semente. Para essa avaliação foi adotado o critério botânico que, considera-se semente germinada, a emergência de uma das partes do embrião de dentro dos envoltórios, nesse caso, a radícula. A qualidade das sementes variam conforme os diferentes acessos, sendo que para as três variáveis analisadas observaram-se diferenças significativas entre os indivíduos.

PALAVRAS-CHAVE: Espécie florestal. Espécie nativa. Qualidade fisiológica. Qualidade genética. Produção de mudas.

ABSTRACT

Native species are still poorly understood, as is the case of *Schinus terebinthifolius* popularly known in Brazil as red-aroeira. The “aroeira” has medicinal and food purpose, and in addition to the vast economic importance, the species also stands in the recovery of degraded areas and reforestation programs. Since, most of the native

species is propagated by seeds, the successful of seedling formation depends on the knowledge of the germination of each species and the quality of the seed used. This study aimed to evaluate the quality of the *S. terebinthifolius* seeds of 35 individuals from different accessions of Rio Grande do Sul. In this study, before the experiment, the seeds underwent a process of disinfection, under aseptic conditions, which consisted of immersion for 15 minutes in a solution of 3% NaClO plus two drops of liquid detergent trade name "Girando Sol®" and three washes in autoclaved distilled water. The plots were kept in growth chambers (BOD) with a photoperiod of 16 hours at 20 ° C (+/- 2°C). The evaluation of this experiment consisted of the first count, percentage of germination and the seeds germination speed rate, which was performed, daily, for 30 days after the the first seed germination. For this evaluation was adopted the botanical criterion, which considerate germinated seed, the emergence of one of the parts of the embryo within the wrappers, in this case, the radicle. Seed quality vary among different accessions, and for the three variables were observed significant differences between individuals.

KEYWORDS: Forest species. Native species. Physiological quality. Genetic quality. Seedling production.

INTRODUÇÃO

Schinus terebinthifolius Raddi, popularmente conhecida como aroeira vermelha, é uma espécie arbórea nativa no Brasil e introduzida na Europa, onde é muito apreciada pela beleza de seu porte, sendo empregada na arborização de ruas. Apesar de ser uma planta brasileira e de constar oficialmente na Farmacopéia Brasileira (JORGE; MARKMANN, 1996), *S. terebinthifolius* caiu em esquecimento em nosso país. No Brasil, especificamente, é encontrada desde o estado de Pernambuco até o Rio Grande do Sul (FLEIG, 1989; MEDEIROS; ZANON, 1998), seguindo pelo litoral e também na parte continental para o oeste, nos estados do sul do país (FLEIG, 1989). É de ampla distribuição natural nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (NOGUEIRA, 1998).

A aroeira possui propriedades medicinais e alimentícias. Na culinária seus frutos de cor vermelha ou rosada, adocicados e aromáticos são utilizados na cozinha do mundo inteiro com o nome de pimenta-rosa como condimento. De sua casca e semente também se obtém óleos essenciais para serem utilizados na formulação de perfumes (Figueiredo, 2009). Segundo Lorenzi e Matos (2002) seu uso medicinal inclui banhos de assento após o parto, tratamento de doenças do sistema respiratório e urinário, lavagem de feridas e úlceras entre outros. Além da vasta

importância econômica, a espécie se destaca também na recuperação de áreas degradadas e em programas de reflorestamento (Souza *et al.*, 2001).

O processo de ocupação do território brasileiro gerou grandes perdas do ponto de vista ambiental e essencialmente florestal. Nesse sentido, uma das formas de compensar a degradação gerada é a obtenção de mudas, a partir de sementes florestais nativas, para serem utilizadas em programas de reposição florestal, recuperação de áreas degradadas, arborização urbana, preservação de espécies nativas em risco de extinção, entre outras atividades que necessitam das mesmas (VIEIRA *et al.*, 2001).

No entanto, para algumas espécies florestais nativas, a quantidade de sementes disponíveis em populações naturais não é suficiente para atender a demanda, tanto comercial quanto para a pesquisa. Isso é decorrente da dispersão das árvores em pequenos fragmentos de florestas naturais, da falta de sementes de boa qualidade genética (SILVA e HIGA, 2006) e da demora que algumas espécies apresentam para iniciar a produção de sementes (CALDAS, 2006), além da variação de fatores ambientais que tem intensificado a redução no aproveitamento das sementes.

Visto que, a maioria das espécies florestais nativas é propagada por sementes, o sucesso na formação de mudas depende do conhecimento do processo germinativo de cada espécie e da qualidade da semente utilizada (REGO *et al.*, 2009). Nas Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), há metodologias definidas para testes de qualidade das espécies de alto valor comercial para o Brasil, mas as espécies florestais brasileiras representam 0,2%, dado inexpressivo diante da biodiversidade que compõe os biomas vegetais brasileiros (FIGLIOLIA *et al.*, 2007; PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2004).

De acordo com Marcos Filho *et al.* (1987b), a avaliação da qualidade fisiológica das sementes é fundamental para os diversos segmentos que compõem um sistema de produção, pois a descoberta dos efeitos dos fatores que podem afetar a qualidade das sementes depende, diretamente, da eficiência dos métodos utilizados para determiná-la.

O teste padrão de germinação é referência para avaliar a qualidade e serve de base na comercialização de sementes. É realizado em condições ideais e controlado, de forma que possibilitem a padronização e reprodutibilidade de resultados entre laboratórios (OLIVEIRA e PEREIRA, 1987). Entretanto, este teste

apresenta limitações por fornecer resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes devido ao fato de ser conduzido sob condições ótimas. Assim, foram desenvolvidos testes de vigor com o intuito de fornecer dados complementares aos obtidos no teste de germinação.

Segundo Carvalho (1986), o vigor de uma semente tem que ser entendido como o nível de energia que a mesma dispõe para realizar as tarefas do processo germinativo.

A primeira contagem do teste de germinação pode ser utilizada como um teste de vigor, uma vez que a velocidade de germinação é reduzida com o avanço da deterioração da semente (MARTINS et al., 2002). Dessa forma, amostras que apresentam maiores valores de germinação na primeira contagem podem ser consideradas mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999).

Através do teste de germinação, pode-se determinar o índice de velocidade de germinação das sementes (IVG), que é calculado pela quantidade de sementes que germinam a cada dia durante a realização do teste de germinação. Dessa forma, segundo Nakagawa (1999), quanto mais rapidamente a semente germina, ou seja, quanto maior o índice de velocidade de germinação, maior é o seu vigor.

Dessa maneira, esse trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de sementes, observando características relacionadas ao poder germinativo, em sementes de *S. terebinthifolius* Raddi. de indivíduos provenientes de 35 diferentes acessos de populações do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Interação Planta-Microrganismos, pertencentes ao Departamento de Biologia, do Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria.

O material botânico utilizado consta de sementes dos frutos de *S. terebinthifolius*, coletados de indivíduos provenientes de 35 diferentes acessos de coleta e foram incorporadas exsicatas ao herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, (Tabela 1). Estes foram coletados diretamente de plantas crescendo naturalmente em matas de cinco municípios do estado do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas entre os meses de junho a agosto de

2011. As sementes foram armazenadas sob refrigeração a 8 (+/- 2)°C até o início dos experimentos.

Tabela 1: Identificação dos 35 diferentes acessos, locais, coordenadas geográficas e números de registro no Herbário SMDB, das sementes de *Schinus terebinthifolius*.

Acesso	Local da coleta	Coordenadas geográficas	Nº Herbário SMDB
SM-LL 1	Santa Maria – RS	S 29°39'19,55" W 53°54'54,40"	–
SPS-LL 2	São Pedro do Sul – RS	S 29°36'51,44" W 54°11'17,48"	13.717
DA-LL 3	Dilermando de Aguiar – RS	S 29°42'23,62" W 54°12'36,18"	–
DA-LL 4	Dilermando de Aguiar – RS	S 29°42'21,35" W 54°12'36,11"	13.725
SM-LL 5	Santa Maria – RS	S 29°41'14,86" W 53°52'55,96"	13.738
SM-LL 6	Santa Maria – RS	S 29°41'44,59" W 53°46'25,61"	–
SM-LL 7	Santa Maria – RS	S 29°41'47,40" W 53°44'11,00"	13.745
SM-LL 8	Santa Maria – RS	S 29°42'18,47" W 53°43'28,42"	13.724
SM-LL 9	Santa Maria – RS	S 29°42'26,75" W 53°45'03,17"	13.719
SM-LL 10	Santa Maria – RS	S 29°42'27,54" W 53°46'47,06"	13.740
SM-LL 11	Santa Maria – RS	S 29°42'38,66" W 53°48'44,57"	13.718
SM-LL 12	Santa Maria – RS	S 29°42'39,42" W 53°49'09,84"	13.722
SM-LL 13	Santa Maria – RS	S 29°41'47,08" W 53°51'01,04"	13.741
SM-LL 14	Santa Maria – RS	S 29°41'55,86" W 53°49'20,17"	13.739
SM-LL 15	Santa Maria – RS	S 29°40'20,46" W 53°48'12,48"	13.734
SM-LL 16	Santa Maria – RS	S 29°40'18,55" W 53°48'11,79"	13.733
SM-LL 17	Santa Maria – RS	S 29°40'39,07" W 53°47'47,68"	13.732
SM-LL 18	Santa Maria – RS	S 29°40'37,70" W 53°48'07,15"	13.731
SM-LL 19	Santa Maria – RS	S 29°40'39,41" W 53°48'11,25"	–
SM-LL 20	Santa Maria – RS	S 29°42'09,79" W 53°47'34,92"	–
I-LL 21	Itaara – RS	S 29°36'25,33" W 53°45'10,78"	13.744
I-LL 22	Itaara – RS	S 29°36'17,09" W 53°45'23,91"	13.746

I-LL 23	Itaara – RS	S 29°38'13,01" W 53°46'00,78"	13.736
SM-LL 24	Santa Maria – RS	S 29°41'33,41" W 53°51'55,96"	13.728
SM-LL 25	Santa Maria – RS	S 29°41'41,63" W 53°52'36,44"	13.726
SM-LL 26	Santa Maria – RS	S 29°41'28,33" W 53°51'48,38"	13.729
SM-LL 27	Santa Maria – RS	S 29°41'33,33" W 53°50'43,98"	13.723
SM-LL 28	Santa Maria – RS	S 29°39'58,97" W 53°49'48,83"	13.735
SM-LL 29	Santa Maria – RS	S 29°41'47,32" W 53°44'09,80"	13.737
SM-LL 30	Santa Maria – RS	S 29°42'30,24" W 53°46'31,49"	13.720
SM-LL 31	Santa Maria – RS	S 29°42'26,70" W 53°46'36,29"	13.743
SM-LL 32	Santa Maria – RS	S 29°41'37,09" W 53°47'05,51"	13.730
SiM-LL 33	Silveira Martins – RS	S 29°38'41,43" W 53°35'18,23"	13.721
SiM-LL 34	Silveira Martins – RS	S 29°38'41,38" W 53°35'17,11"	13.727
SiM-LL 35	Silveira Martins – RS	S 29°38'53,15" W 53°35'10,45"	13.742

Neste experimento foi avaliada a primeira contagem (PC%), porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de indivíduos em 35 diferentes acessos de *S. terebinthifolius*.

O sistema de cultivo utilizado constou de caixas plásticas gerbox, 10 x 11 x 4cm, com quatro repetições por tratamento, cada uma constando de 50 sementes, totalizando 140 parcelas e 7000 sementes. Como substrato para a semeadura utilizou-se papel filtro para a germinação de sementes, umedecido na proporção de três vezes o volume de água em relação à massa do papel (MARCOS FILHO et al, 1987a).

Antes da instalação do experimento, as sementes passaram por um processo de desinfestação, sob condições assépticas, o qual consistiu da imersão por 15 minutos em solução de NaClO 3%, acrescida de duas gotas de detergente líquido de nome comercial "Girando Sol®" e três lavagens em água destilada e autoclavada (WENDLING et al., 2006). As parcelas foram mantidas em câmaras climáticas do tipo Biosystem Organized Development (BOD) com fotoperíodo de 16 horas à temperatura de 20°C (+/- 2°C).

A avaliação desse experimento constou da contagem da germinação das sementes, a qual foi realizada, diariamente, por 30 dias; após a germinação da primeira semente. Para essa avaliação foi adotado o critério botânico que, segundo Borghetti e Ferreira (2004), considera-se semente germinada, a emergência de uma das partes do embrião de dentro dos envoltórios, nesse caso, a radícula. A primeira contagem de germinação foi realizada aos oito dias após a germinação da primeira semente, os resultados foram expressos em porcentagem (NAKAGAWA, 1994).

A porcentagem de germinação foi determinada aos 30 dias após a germinação da primeira semente, através do número de sementes germinadas em relação ao número de sementes colocadas para germinar (BORGHETTI; FERREIRA, 2004).

O índice de velocidade de germinação (IVG): foi calculado o IVG somando-se o número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da sementeira, conforme (NAKAGAWA, 1994):

$$IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$$

G1, G2, ... Gn = número de sementes germinadas

N1, N2, ... Nn = número de dias após a sementeira

Para cada variável avaliada realizou-se uma análise estatística. Quando necessário, os dados em porcentagem, foram transformados para o arcosseno da raiz quadrada, utilizando o programa estatístico Estat. Após, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à probabilidade de 5% de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de germinação é o método mais utilizado para se determinar a qualidade de um lote de sementes e possibilita a avaliação da viabilidade sob condições favoráveis. Nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) são indicadas as condições ideais de temperatura, substrato, aeração e umidade para várias espécies. As espécies florestais, porém, representam pequena parte do total das espécies listadas na RAS. A determinação das condições mais adequadas à realização do teste demanda um volume considerável de pesquisas relacionadas ao

ambiente de germinação e à qualidade dos lotes no que se refere à procedência e nível de deterioração.

Utilizou-se uma análise de variância unidirecional (ANOVA), sendo o fator, diferentes acessos de coleta, e as variáveis dependentes a primeira contagem (P.C.), a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG). A análise mostra que o fator foi estatisticamente significativo para as três variáveis, o que indica que uma ou mais médias diferem estatisticamente uma da outra, demonstrando que existem diferenças entre os indivíduos de diferentes acessos de coletas para estas três variáveis. O que aporta a importância de realizar estudos que aumentem a germinação das sementes desta espécie.

Tabela 2: Primeira contagem (P.C), Germinação (G), Índice de velocidade de germinação (IVG), de 35 indivíduos de *Schinus terebinthifolius* provenientes de diferentes acessos de coleta do Rio Grande do Sul.

Acessos	P.C. (%)	G. (%)	IVG
SM-LL 1	4,25 ^{fg hijkl*}	10,00 ^{nopq}	1,10 ^{fg hi}
SPS-LL 2	11,50 ^{abc defghijkl}	52,50 ^{defghi}	3,83 ^{abc defghi}
DA-LL 3	0,25 ^l	1,50 ^{pq}	0,11 ⁱ
DA-LL 4	6,50 ^{defghijkl}	22,50 ^{klmno}	1,84 ^{cdefghi}
SM-LL 5	23,50 ^{abcdef}	51,50 ^{efghi}	8,64 ^{abcd}
SM-LL 6	1,75 ^{ijkl}	17,00 ^{lmnop}	0,91 ^{ghi}
SM-LL 7	25,50 ^{abc defgh}	88,50 ^{ab}	6,30 ^{abc defg}
SM-LL 8	13,75 ^{abc defghijkl}	35,50 ^{ijklm}	3,79 ^{abc defghi}
SM-LL 9	29,25 ^{abc}	77,50 ^{abcd}	6,93 ^{abcde}
SM-LL 10	22,00 ^{abc defgh}	76,50 ^{abcde}	7,16 ^{abcde}
SM-LL 11	9,75 ^{bcd efghijkl}	68,00 ^{bcdef}	3,99 ^{abc defghi}
SM-LL 12	5,25 ^{fg hijkl}	19,00 ^{lmno}	1,34 ^{efghi}
SM-LL 13	22,75 ^{abc defg}	48,00 ^{fghij}	7,60 ^{abcd}
SM-LL 14	26,50 ^{abcde}	63,50 ^{cdefgh}	6,44 ^{abc def}
SM-LL 15	8,50 ^{bcd efghijkl}	18,00 ^{lmno}	4,31 ^{abc defghi}
SM-LL 16	0,50 ^{kl}	1,00 ^q	0,12 ⁱ
SM-LL 17	31,50 ^{ab}	86,00 ^{abc}	7,91 ^{abcd}
SM-LL 18	3,25 ^{hijkl}	7,00 ^{opq}	1,39 ^{efghi}
SM-LL 19	1,00 ^{jkl}	2,00 ^{pq}	0,40 ^{hi}
SM-LL 20	5,50 ^{efghijkl}	16,00 ^{lmnop}	1,25 ^{efghi}
I-LL 21	3,50 ^{ghijkl}	12,50 ^{mnop}	0,87 ^{ghi}
I-LL 22	7,75 ^{cdefghijkl}	19,50 ^{lmno}	1,71 ^{defghi}
I-LL 23	31,75 ^{ab}	88,50 ^{ab}	8,20 ^{abc}
SM-LL 24	7,50 ^{cdefghijkl}	23,00 ^{klmno}	2,09 ^{cdefghi}
SM-LL 25	18,50 ^{abc defgh}	46,00 ^{fghijk}	6,03 ^{abc defg}
SM-LL 26	8,25 ^{cdefghijkl}	20,00 ^{klmno}	3,18 ^{bc defghi}
SM-LL 27	14,25 ^{abc defghijk}	35,50 ^{ijklm}	5,72 ^{abc defg}

SM-LL 28	33,25 ^a	81,00 ^{abc}	11,04 ^a
SM-LL 29	20,00 ^{abcdefgghi}	86,00 ^{abc}	10,16 ^{ab}
SM-LL 30	13,75 ^{abcdefgghijkl}	40,00 ^{ghijkl}	3,90 ^{abcdefgghi}
SM-LL 31	16,00 ^{abcdefgghij}	46,50 ^{fg hij}	4,49 ^{abcdefggh}
SM-LL 32	28,00 ^{abcd}	67,50 ^{bcdefg}	7,65 ^{abcd}
SiM-LL 33	10,75 ^{abcdefgghijkl}	29,00 ^{ijklmn}	3,25 ^{abcdefgghi}
SiM-LL 34	11,25 ^{abcdefgghijkl}	37,00 ^{hijkl}	3,58 ^{abcdefgghi}
SiM-LL 35	21,75 ^{abcdefggh}	93,50 ^a	6,69 ^{abcdef}
Média	20.66	40.10	11.90
C.V. (%)	30.39	14.59	24.99

*Valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

As médias de germinação encontram-se na Tabela 2, na qual se verifica que houve diferenças estatísticas de germinação. Observou-se que os acessos SM-LL 7, I-LL 23 e SiM-LL 35 apresentaram as maiores médias (88,5; 88,5 e 93,5% respectivamente). Entretanto, os acessos DA-LL 3, SM-LL 16 e SM-LL 19 mostram as menores médias (1,5; 1,0 e 2,0% respectivamente). Mesmo com a ocorrência de germinação em todos os acessos testados, percebe-se que há uma grande heterogeneidade na germinação entre as comparações de médias dos diferentes acessos analisados (Gráfico 1).

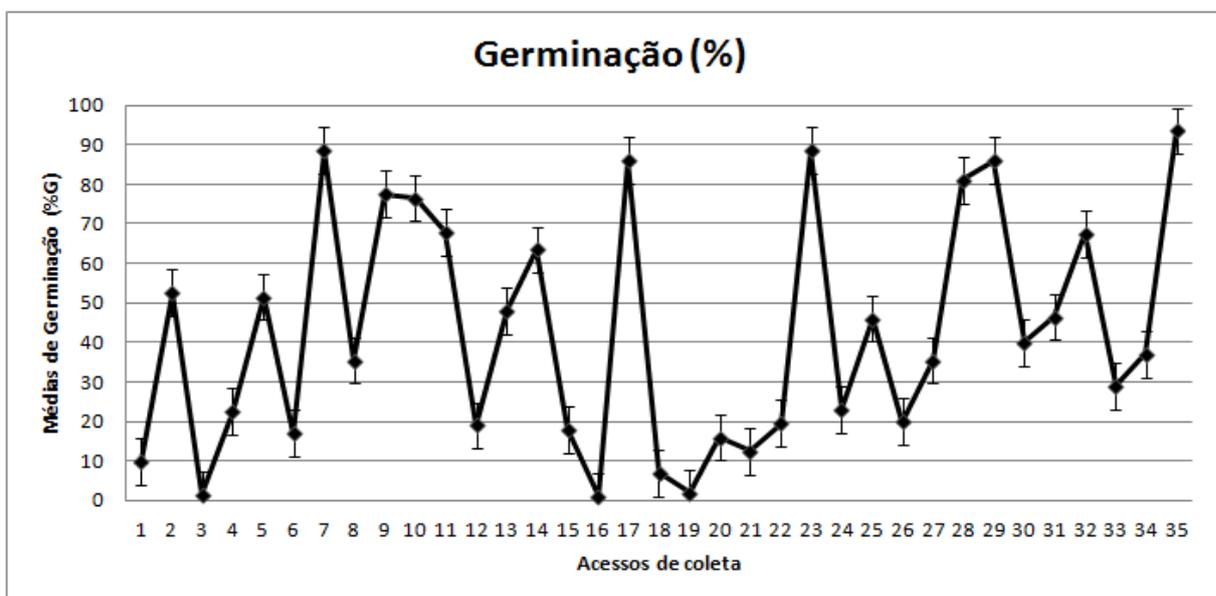


Gráfico 1: Médias dos percentuais de germinação para os indivíduos dos 35 diferentes acessos do Rio Grande do Sul. Desvio padrão = 5.85

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes, para fins de semeadura e comercialização, tem sido fundamentalmente baseada nos testes de germinação. Os lotes com alta homogeneidade são melhores avaliados através do teste de germinação. Entretanto, se o grau de heterogeneidade for elevado, os testes de vigor irão avaliar melhor o desempenho desses lotes em nível de campo (SPINA & CARVALHO, 1986).

A maturidade das sementes é máxima por ocasião da maturidade fisiológica, sendo que, a partir desse momento, processos degenerativos começam a ocorrer (CARVALHO & NAKAGAWA, 1999). Esses processos de alterações podem ser de natureza física, fisiológica ou bioquímica e caracterizam a deterioração, sendo a perda da capacidade germinativa uma de suas consequências finais (SPINOLA et al., 2000).

Para os testes de primeira contagem (Gráfico 2) e índice de velocidade de germinação (Gráfico 3), ocorreram resultados semelhantes ao teste de germinação, ou seja, verifica-se uma grande heterogeneidade nos resultados comparativos entre os 35 indivíduos analisados. Sendo que para todos os testes, os resultados seguem o mesmo padrão para as maiores e menores médias, nos respectivos acessos.

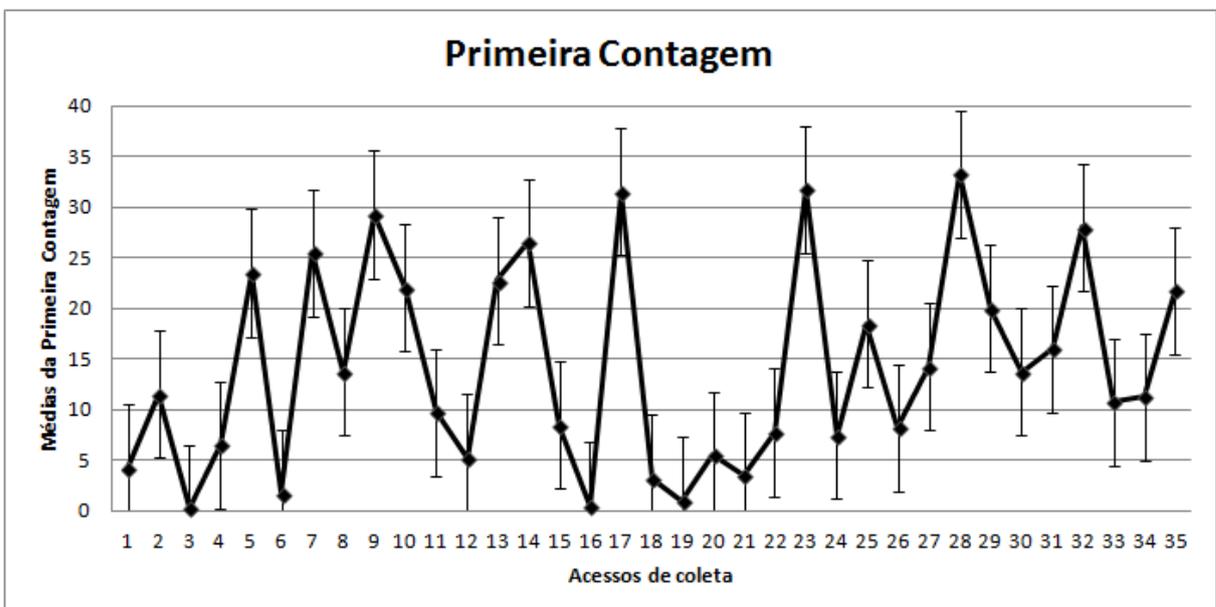


Gráfico 2: Médias dos percentuais de primeira contagem para os indivíduos dos 35 diferentes acessos do Rio Grande do Sul desvio padrão = 6.28

Segundo Nakagawa (1999), lotes que apresentam maiores médias, na data da primeira contagem, podem ser considerados mais vigorosos.

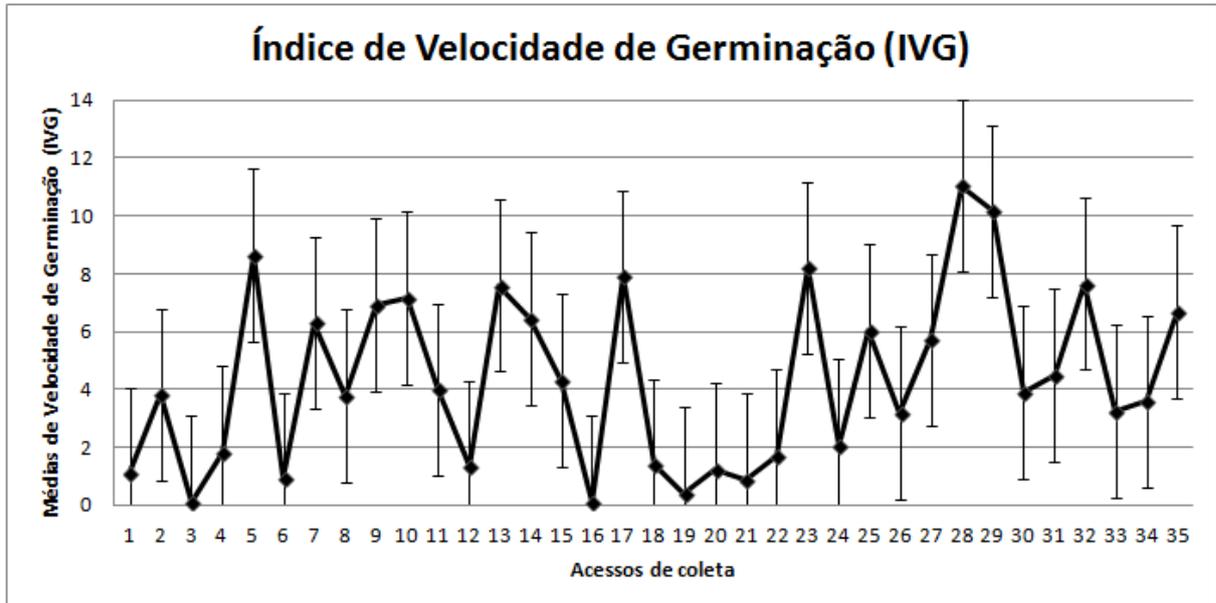


Gráfico 3: Médias do índice de velocidade de germinação para os indivíduos dos 35 diferentes acessos do Rio Grande do Sul. Desvio padrão = 2.97

A máxima qualidade fisiológica das sementes é alcançada quando a mesma atinge o ponto máximo de poder germinativo e máximo vigor, sendo este o ponto de maturidade fisiológica (CARVALHO & NAKAGAWA, 1999). A germinação e a emergência das plântulas são reflexos da qualidade fisiológica da semente. Assim, observa-se que lotes de sementes que apresentam germinação semelhante podem exibir comportamento distinto no campo e no armazenamento. Tais diferenças podem ser explicadas pelo fato de que as primeiras alterações nos processos bioquímicos, associadas à deterioração, geralmente, ocorrem antes que o declínio na capacidade germinativa seja verificado (DELOUCHE & VIEIRA, 1973).

Os testes de vigor foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar diferenças de vigor entre lotes de sementes, as quais não são possíveis de se detectar com a utilização do teste de germinação. O vigor é uma característica genética e fisiológica da semente que se manifesta através de respostas como velocidade, total de germinação, e crescimento das plântulas. A deterioração e a sua velocidade estão intimamente relacionadas com o vigor. Na maturação fisiológica ocorre o ponto de máximo vigor e máxima germinação e, também, o ponto no qual a deterioração é

mínima, sendo a partir da maturação fisiológica que se inicia o processo de deterioração (HARRINGTON, 1972).

Contudo, como as sementes foram coletadas no mesmo estágio fenológico e na mesma época do ano, supõe-se que os diferentes acessos possuem a mesma maturidade das sementes. Além de terem apresentado resultados semelhantes, mesmos acessos mantendo iguais médias (altas ou baixa), para os testes de primeira contagem, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação. Explicando assim, que existem diferenças de potencial de germinação e no vigor das sementes de *S. terebinthifolius* entre os diferentes acessos de coleta.

CONCLUSÃO

A qualidade das sementes variam conforme os acessos, sendo que os comportamentos dos indivíduos de *S. terebinthifolius*, provenientes dos 35 diferentes acessos de coleta, apresentam heterogeneidade quanto as médias das avaliações de porcentagem de germinação (de 1 a 93,5%), primeira contagem (de 0,25 a 33,25%) e índice de velocidade de germinação (de 0,110 a 11,040) nos testes realizados em caixas gerbox e usando papel filtro como substrato.

REFERÊNCIAS

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: _____. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009.399 p.

CALDAS. L. S. Pomares de sementes de espécies nativas as funções das redes de sementes. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Coords). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 227-241.

CARVALHO, N. M. Vigor de sementes. In: Semana de Atualização em Produção de Sementes, Piracicaba, 1986. **Anais...** Campinas: Cargill, 1986. Cap. 11, p. 207-233.

CARVALHO, N. C. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. 326 p.

DELOUCHE, J. C.; VIEIRA, R. D. *Accelerated aging techniques for predating the relative storability of seed lots*. **Seed Science and Technology**, Zurich. v.1, n. 2, p. 427-552. 1973.

FIGLIOLIA, M. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; NOGUEIRA, E. de S. Controle de qualidade de sementes florestais: propostas de parâmetros técnicos. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. et al. (orgs) **Parâmetros técnicos para produção de sementes florestais**. Seropédica: EDUR, 2007. p. 143–187.

FIGUEIREDO, L. Aroeira vermelha. **Revista Terra da Gente**. n.57, p. 44-49. 2009.

FLEIG, M. Anacardiáceas. In: REITZ, P. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: IOESC, 1989, p. 40-49.

HARRINGTON, J. F. *Seed storage and longevity*. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972 v. 3, 245p.

JORGE, L. I. F.; MARKMANN, B. E. O. Exame químico e microscópico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira). **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 17, p. 139-145, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987a. 230p.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **O teste de tetrazólio**. Piracicaba, : ESALQ – Departamento de Agricultura e Horticultura, São Paulo. 1987b. 40p.

MARTINS, C. M.; SEMENE, A. M.; CASTRO, M. M. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brocolis (*Brassica oleracea* L. var. italica PLENK). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 2, p. 96- 101, 2002.

MEDEIROS, A. C. S.; ZANON, A.. Substratos e temperaturas para teste de germinação de sementes de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Comunicado Técnico**, Campinas, n. 32, p. 1-3, dez.1998, p.1-3.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 49-86.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina:ABRATES, 1999. p.2.1-2.24.

NOGUEIRA, A.C. 1998. Comportamento germinativo de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). XLIX Congresso Nacional de Botânica. 0421. p.183.

OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T. S. Euphorbiaceae – Morfologia da germinação de algumas espécies. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 9, n. 1, p. 9- 51, 1987.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283–297.

REGO, S. S.; NOGUEIRA, A. C.; KUNIYOSHI, Y. S.; SANTOS, A. F. dos. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperaturas, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**. v.31, n.2, p. 212-220, 2009.

SILVA, L. D.; HIGA, A. R. Planejamento e implantação de pomares de sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Coords). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 13–39.

SOUZA, P. A. *et. al.* Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. **CERNE**, Viçosa, v. 7, p. 43-52, 2001.

SPINA, A. A. T.; CARVALHO, N. M. Testes de vigor para selecionar lotes de amendoim antes do beneficiamento. **Ciência Agrônômica**, Jaboticabal, v. 1, n. 1, p. 10, 1986.

SPINOLA, M. C. M; CICERO, S. M.; MELO, M. *et al.* Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2. p. 263-270, 2000.

VIEIRA, A. H.; MARTINS, E. P.; PEQUENO, P. L. de L.; LOCATELLI, M.; SOUZA, M. G. de. **Técnicas de produção de sementes florestais**. Rondônia: Embrapa CPAF, 2001.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Dados eletrônicos. Documentos 130. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 55p.

Artigo 3

Efeito de trichoderma na contaminação *in vitro* das sementes de *Schinus terebinthifolius* e caracterização do crescimento vegetativo *ex vitro*, na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência de regulador de crescimento Stimulate[®]

Leandro Vinícius da Luz¹, Antonio Carlos Ferreira da Silva² e Jéssica Maus da Silva³.

¹ Eng. Florestal, Mestrando em Agrobiologia – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – Rio Grande do Sul. (leandrodaluz_5@hotmail.com)

² Eng. Agrônomo, Doutor em Ciências, Professor Associado da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – Rio Grande do Sul. (acfsilva2@uol.com.br)

³ Graduada em Engenharia Florestal - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – Rio Grande do Sul.

RESUMO

A produção e cultivo de mudas florestais nativas apresentam dificuldades, sendo a interação entre espécies florestais e trichoderma uma alternativa promissora. *Schinus terebinthifolius* possui importância econômica por possuir propriedades medicinais, fitoquímicas, alimentícias e ecológicas. Este trabalho objetivou avaliar o efeito da interação de *Trichoderma* spp., em presença ou ausência de regulador de crescimento Stimulate[®] na contaminação e germinação *in vitro* e na germinação e crescimento vegetativo *ex vitro* de *S. terebinthifolius*. Através da técnica *in vitro* do papel celofane foram avaliados os isolados TSM1 e TSM2 de *Trichoderma viride*, 2B2 e 2B22 de *Trichoderma harzianum*. O experimento *ex vitro* foi realizado em casa de vegetação, onde se avaliou os efeitos dos isolados 2B2 e 2B22, e o produto comercial Trichodermil[®], todos na presença e ausência do regulador de crescimento Stimulate[®]. Os quatro isolados testados são eficientes no controle *in vitro* da contaminação fúngica das sementes. No cultivo *ex vitro*, observou-se diferença significativa no índice de área foliar para o isolado 2B2.

PALAVRAS-CHAVE: Espécie florestal. Espécie nativa. Controle biológico. Interação planta-microrganismos.

ABSTRACT

The production and cultivation of native forest seedling present difficulties, being the interaction between forest species and Trichoderma a promising alternative. *Schinus terebinthifolius* has economic importance because possesses medicinal properties, phytochemical, alimentary and ecological. This study aimed to evaluate the effect of the interaction of *Trichoderma* spp., in the presence or absence of growth regulator Stimulate[®] in contamination and germination *in vitro* and in germination and vegetative growth *ex vitro* of *S. terebinthifolius*. Through the cellophane in vitro technique were evaluated the isolates TSM1 and TSM2 of the

Trichoderma viride, 2B2 and 2B22 of the *Trichoderma harzianum*. The *ex vitro* experiment was conducted in a greenhouse, where were evaluated the effects of the isolates 2B2 and 2B22, and the commercial product Trichodermil[®], all in the presence and absence of the growth regulator Stimulate[®]. The four tested isolates are efficient on the *in vitro* controlling of the seeds fungal growth. *In ex vitro* cultivation, we observed significant differences in leaf area index for the isolates 2B2.

KEYWORDS: Forest species. Native species. Biological control. Plant-microorganisms interactions.

INTRODUÇÃO

A regeneração de um ambiente degradado depende, principalmente, da chegada de sementes a este local (REIS *et al.*, 2003). O conjunto de sementes dispersadas por diversos meios é conhecido como chuva de sementes, a qual, conforme Bechara (2003), também tem a função de colonizar áreas em processo de sucessão primária ou secundária. A chuva de sementes é responsável pela formação do banco de sementes (REIS *et al.*, 2003), o qual desempenha importante papel na recolonização vegetal das áreas degradadas (SCHMITZ, 1992). Para Holl (1999), a baixa taxa de aporte de sementes é o principal fator limitante na restauração de áreas degradadas.

Dessa forma, a necessidade pela conservação das florestas tropicais e o fortalecimento da política ambiental promoveram um aumento da demanda de estudos sobre sementes de espécies nativas, que constituem insumo básico nos programas de recuperação e conservação de ecossistemas (CARVALHO *et al.*, 2006). Contudo, as espécies florestais nativas ainda são pouco estudadas, assim como o caso de *S. terebinthifolius* conhecida popularmente no Brasil como: aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, pimenta-rosa, aroeira-mansa e aroeira-do-sertão.

S. terebinthifolius é uma espécie arbórea nativa, da família Anacardiaceae. Possui importância econômica por se tratar de uma planta com propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias, mas é em programas de reflorestamentos ambientais e recuperação de áreas degradadas que essa espécie destaca-se ecologicamente (LORENZI, 1992).

Um dos fatores de grande influência sobre a germinação de sementes é a presença de microrganismos, especialmente fungos, que podem provocar redução do seu poder germinativo, diminuindo sua qualidade e seu valor comercial (LASCA *et al.*, 2004). Dessa maneira, o tratamento de sementes pode ser usado para diminuir a ação de patógenos presentes nas sementes nas diversas fases do processo de produção (KROHN & MALAVASI, 2004). Esta prática tem sido recomendada, visando não só à preservação da qualidade das sementes, mas também à melhoria no desempenho germinativo destas sob condições adversas (GOULART *et al.*, 2000; MACHADO, 2000).

Em estudos realizados com sementes de *S. terebinthifolius* o fungo com potencial fitopatogênico, mais frequentemente detectado nas amostras foi o *Fusarium* sp. (STRAPASSON *et al.*, 2002). Algumas espécies deste gênero são associadas com tombamentos de plântulas em muitas espécies agrônômicas e florestais (CARNEIRO, 1987).

Em testes de germinação em laboratório, várias substâncias com ação germicida são utilizadas para fazer a desinfestação superficial das sementes, visando reduzir a incidência de patógenos e promover a germinação. Os mais comuns são o etanol 70% e os compostos a base de cloro, como o hipoclorito de sódio (NaClO). As concentrações das soluções desinfetantes variam bastante, de acordo com o tipo de semente e de patógeno, bem como dos produtos utilizados (WENDLING *et al.*, 2006).

A interação entre plantas e microrganismos é uma alternativa sustentável que vem sendo pesquisada nas instituições de ensino e centros de pesquisa. Algumas linhagens de trichoderma são utilizadas no controle biológico de fitopatógenos e na promoção de crescimento vegetal, devido a sua versatilidade de ação, como parasitismo, antibiose e competição; além de atuarem como indutores de resistência a plantas contra doenças e produzirem hormônios de crescimento (ALTOMARE, *et al.*, 1999; DELGADO *et al.*, 2007; FILHO *et al.*, 2008; HARMAN, 2000; HOYOS-CARVAJAL *et al.*, 2009; LOUZADA, *et al.*, 2009; RESENDE *et al.*, 2004).

O biocontrole de fitopatógenos e o maior crescimento vegetal podem ser alcançados através de práticas de manejo para favorecer antagonistas nativos e, também, através da introdução de microrganismos selecionados (MELO, 1998). Os isolados podem ser introduzidos antes ou no momento do plantio de forma preventiva e sua aplicação pode ser feita nas sementes, no substrato ou no sulco de plantio. A introdução do agente também pode ser feita através de matéria orgânica incorporada antes do transplante das mudas (LUCON, 2009).

A promoção de crescimento ocasionada por microrganismos do solo ocorre devido à ação de vários fatores pouco esclarecidos. Diversas espécies fúngicas têm sido envolvidas no biocontrole de fitopatógenos. No entanto, espécies de *Trichoderma* são, sem dúvida, os agentes de biocontrole fitopatogênico mais estudados e utilizados no Brasil e em outros países da América Latina (MORANDI & BETTIOL, 2009). Segundo Lucon (2008), isso se deve ao fato dessas espécies não serem patogênicas e estarem presentes em praticamente todos os tipos de solos com matéria orgânica, sendo facilmente isolados, cultivados e multiplicados, colonizando com eficiência o sistema radicular de diversas plantas.

Algumas linhagens aumentam a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior acesso aos elementos minerais. Outras são capazes de solubilizar e disponibilizar para a planta o fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco. Também podem melhorar os mecanismos ativos de absorção, bem como, aumentar a eficiência da planta para utilizar alguns nutrientes importantes, como o nitrogênio (LUCON, 2009).

Outro fator ainda relacionado ao melhor desenvolvimento de plantas por isolados benéficos de *Trichoderma* é o aumento da resistência aos estresses abióticos, como umidade, pH e temperatura. Pesquisas apontam que plantas tratadas com esses agentes podem ter seu desempenho favorecido quando

cultivadas em condições estressantes (LUCON, 2009). Conforme Ethur (2006), a interferência de *Trichoderma* no crescimento de plantas e o aumento da produtividade ocorrem devido à sua capacidade de colonizar as raízes.

No entanto, é importante ressaltar que o controle biológico não objetiva a erradicação de fitopatógenos, mas sim, manipular o ambiente a níveis econômicos e ecologicamente aceitáveis, sendo uma das formas de promover o crescimento vegetal (OLIVEIRA, 2007).

Diferentes isolados de trichoderma têm levado a aumentos significativos na porcentagem e na precocidade de germinação (MELO, 1996), além disso, pesquisas têm sido direcionadas para a promoção do crescimento vegetal e apresentam aumento tanto no crescimento quanto na produtividade de diversas culturas como cravo, crisântemo, pepino, berinjela, ervilha, pimentão, rabanete, tabaco, tomate, alface, cenoura, milho, papoula, algodão, feijão, arroz, grão de bico, eucalipto, entre outras (RESENDE *et al.* 2004; ALMANÇA, 2005; FORTES *et al.*, 2007; JYOTSNA *et al.* 2008; FILHO *et al.*, 2008; HOYOS-CARVAJAL *et al.*, 2009).

Em estudo realizado por Fortes *et al.* (2007) foi observado que a sobrevivência de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. aumentou por meio do tratamento com isolados de *Trichoderma* spp. e também promoveu um aumento na porcentagem de enraizamento. Da mesma forma, estudos realizados na interação de *Gochnatia polymorpha* (cambará) com isolados de *Trichoderma* spp. resultaram no aumento de germinação e crescimento, comparados com os tratamentos controle sem os isolados (MACHADO, 2010).

Nesse contexto, entra o papel dos biorreguladores vegetais, os quais têm apresentado resultados favoráveis no aumento da produtividade de algumas culturas, tais como citros, feijão, milho, soja e algodão (CASTRO *et al.*, 1998; ALLEONI *et al.*, 2000; MILLÉO *et al.*, 2000; VIEIRA & CASTRO, 2001; VIEIRA & CASTRO, 2004; BRACCINI *et al.*, 2005; FERRARI *et al.*, 2008).

Biorreguladores ou reguladores vegetais são compostos orgânicos, naturais ou sintéticos que não são produzidos pelas plantas, com ação semelhante à dos hormônios (auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e inibidores) no metabolismo vegetal, modulando e regulando o crescimento de diversos órgãos da planta (SANTOS, 2004).

Os biorreguladores vegetais ou reguladores vegetais, em pequenas quantidades, inibem ou modificam de alguma forma processos morfológicos e fisiológicos do vegetal (CALDAS *et al.*, 1990; CASTRO & VIEIRA, 2001). Quando aplicadas nas sementes ou nas folhas, podem interferir em processos como germinação, enraizamento, floração, frutificação e senescência (CASTRO & MELOTO, 1989). O uso de reguladores de crescimento na fase de germinação melhora o desempenho das plântulas, acelerando a velocidade de emergência e realçando o potencial das sementes de várias espécies. O uso de compostos químicos biologicamente ativos, como reguladores e estimulantes de crescimento, pode cessar ou diminuir o impacto de fatores adversos na qualidade e desempenho das sementes (ARAGÃO *et al.*, 2003).

Pelos inúmeros benefícios obtidos a partir da aplicação de reguladores vegetais sobre as plantas cultivadas, combinações desses produtos têm sido

estudadas. Para Castro e Vieira (2001), o bioestimulante ou estimulante vegetal são misturas de dois ou mais biorreguladores ou de biorreguladores com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes, vitaminas). Levando-se em consideração que o Stimulate[®] tem em sua constituição o ácido indolbutírico (auxina) 0,005%, cinetina (citocinina) 0,009% e ácido giberélico (giberelina) 0,005%, sendo eles biorreguladores de crescimento vegetal, que atuam como mediadores de processos fisiológicos, e acredita-se que este biorregulador pode em função de sua composição, concentração e proporção das substâncias, incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, podendo também aumentar a absorção de água e nutrientes pelas plantas (VIEIRA & CASTRO, 2004).

Dessa maneira, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. na contaminação e germinação *in vitro* de *S. terebinthifolius*, e estudar a influencia dos isolados de trichoderma, na presença ou ausência do fitoregulador de crescimento Stimulate[®], na caracterização da emergência das plântulas e do crescimento vegetativo *ex vitro* de *S. terebinthifolius*, visando a sua conservação através da propagação de mudas saudáveis, e a utilização sustentável desta espécie

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Interação Planta-Microrganismos e em casa de vegetação, pertencentes ao Departamento de Biologia, do Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria.

O material botânico utilizado consta de sementes dos frutos de *S. terebinthifolius*, coletados diretamente de plantas crescendo naturalmente em matas do estado do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas entre os meses de junho a agosto de 2011. As sementes foram armazenadas sob refrigeração a 8 (+/- 2)°C até o início dos experimentos. Quatro exsicatas foram incorporadas ao herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, proveniente de coletas realizadas em diferentes locais, sob o número de registro SMDB – 13.718, 13.732, 13.742, 13.743.

Efeito de trichoderma na contaminação e germinação *in vitro* das sementes de *S. terebinthifolius*

O experimento foi realizado utilizando-se a técnica *in vitro* do papel celofane, modificada, de Ethur (2002). Avaliou-se o efeito de isolados de trichoderma no percentual de germinação e de contaminação das sementes de *S. terebinthifolius*. Foram utilizados nos experimentos dois isolados de *Trichoderma viride*, TSM1 e TSM2, dois isolados de *Trichoderma harzianum*, 2B2 e 2B22, que estavam armazenados no Laboratório de Interação Planta-Microrganismo - CCNE/UFSM, além do tratamento controle, sem isolados de trichoderma. Esses isolados foram

escolhidos devido aos mesmos já terem apresentado resultados em pesquisas de controle biológico de fitopatógenos e promoção de crescimento e germinação de sementes (SILVA, 1991; SILVA, 1997; MACHADO, 2012).

Foram avaliados cinco tratamentos (Tabela 1) dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento; cada parcela experimental constituída por 25 sementes, totalizando 150 por tratamento.

Tabela 1 - Tratamentos constituintes do experimento realizado pela técnica *in vitro* do papel celofane onde foram avaliados o efeito de trichoderma na contaminação e na germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius*.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
T1	TSM1 (<i>Trichoderma viride</i>)
T2	TSM2 (<i>Trichoderma viride</i>)
T3	2B2 (<i>Trichoderma harzianum</i>)
T4	2B22 (<i>Trichoderma harzianum</i>)
T5	Controle (sem isolados)

O meio de cultura utilizado foi uma mistura de meio de cultura ágar-água e meio de cultura BD, sendo 70% ágar-água e 30% BD (batata e dextrose – 200 g de batata, 20 g de dextrose, 1000mL de água destilada). Utilizou-se ágar 0,7% e pH ajustado a $5,8 \pm 0,2$ em placas de Petri. O meio de cultura foi coberto, assepticamente, com um disco de papel celofane semipermeável, esterilizado (120°C/40 minutos) e foram transferidos para o centro das placas, discos de meio de cultura à base de aveia contendo micélios e esporos dos isolados de trichoderma.

As placas dos tratamentos controle foram cobertas com o disco de papel celofane, porém, não receberam o disco de micélio e esporos dos isolados. As placas foram vedadas com filme de PVC e as culturas mantidas em câmara climática (BOD) a 20°C e fotoperíodo de 16 horas por cinco dias. Decorrido o período de incubação, em condições assépticas, as placas de Petri foram abertas e foi retirado o papel celofane juntamente com os discos de micélios e esporos, permanecendo no meio de cultura apenas os metabólitos não-voláteis liberados pelos isolados, onde foram semeados as sementes que previamente passaram por um processo de desinfestação, que consistiu na imersão por 15 minutos em hipoclorito de sódio (NaClO) 3% e três lavagens em água destilada e autoclavada.

As culturas foram mantidas a 20°C com fotoperíodo de 16h. As avaliações constaram da contagem das sementes contaminadas por sete dias e da contagem das sementes germinadas por 24 dias, contados 24 horas após a instalação do experimento.

Caracterização do crescimento vegetativo *ex vitro*, na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência de regulador de crescimento Stimulate®

Esse experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, para detectar a relação entre a ação dos isolados e do fitorregulador de crescimento em condições *ex vitro*. Utilizaram-se dois isolados de trichoderma, 2B2, 2B22, os quais apresentaram bons resultados na redução de contaminação de sementes de *S. terebinthifolius in vitro*, e um produto comercial, Trichodermil[®] (fabricante: Itaforte Bioprodutos). O regulador de crescimento utilizado tem o nome comercial de Stimulate[®] (composição: CINETINA, ÁCIDO GIBERÉLICO, ÁCIDO 4-INDOL-3-ILBUTÍRICO).

Utilizou-se o substrato da marca Tecnomax[®]. A aplicação de trichoderma no substrato não esterilizado foi realizada através de pós-biológicos, preparados com os isolados, com exceção do pó comercial (Trichodermil[®]) que foi adquirido junto ao fabricante ITAFORTE Bio Produtos.

A aplicação dos pós-biológicos nos substratos foi realizada 14 dias antes da semeadura para a colonização do trichoderma no substrato. Utilizou-se 2g de pó biológico por Kg de substrato, conforme recomendação do fabricante do produto comercial, sendo essa dose ajustada para que todos os tratamentos recebessem o equivalente a 10^9 UFC.g⁻¹ de pó biológico, com exceção do Trichodermil[®] que possui uma concentração de 10^8 UFC.g⁻¹. Os isolados 2B2, 2B22 foram testados na concentração de 4g de pó por Kg de substrato, além de um tratamento controle na ausência de trichoderma (Tabela 2).

Também foram testados os efeitos da interação do trichoderma com o regulador de crescimento, Stimulate[®]. As sementes foram embebidas utilizando-se a maior dose recomendada, dentre todas as culturas, pelo fabricante para aplicação antes do plantio ($1,5 \text{ L} \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ de sementes).

Tabela 2 – Descrição dos tratamentos constituintes do experimento realizado em casa de vegetação.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos	Dosagem de pó biológico
T9	2B2	4g
T10	2B22	4g
T11	Controle: s/ isolado	-
T12	Trichodermil [®]	2g
T13	2B2 + Stimulate [®]	4g
T14	2B22 + Stimulate [®]	4g
T15	Controle: s/ isolado + Stimulate [®]	-
T16	Trichodermil [®] + Stimulate [®]	2g

Para a instalação desse experimento utilizaram-se 12 vasos, com capacidade para 500mL, para cada tratamento, totalizando 96 vasos plásticos. Foram semeados 10 sementes por repetição a uma profundidade de 0,5cm. A irrigação foi realizada diariamente e constou de 20 a 80mL de água destilada ao dia, variando de acordo com a necessidade.

Nesse experimento foram realizadas as seguintes avaliações das plântulas:

Primeira contagem de emergência: realizou-se aos 28 dias, os dados obtidos foram empregados para calcular-se a porcentagem da primeira contagem de emergência das plântulas (NAKAGAWA, 1994); **Porcentagem de emergência:** foram contadas as plântulas emergidas a cada sete dias, por 23 semanas. Ao final das 23 semanas foi determinada a porcentagem total de emergência, através do número de plântulas emergidas em relação ao número de sementes colocadas para germinar (BORGHETTI & FERREIRA, 2004); **Índice de velocidade de emergência (IVE):** foi calculado o IVE, somando-se o número de plântulas emergidas a cada sete dias, divididas pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme Maguire (1962) (NAKAGAWA, 1994); **Porcentagem de plântulas sobreviventes:** foi determinada ao final das 23 semanas, através do número de plântulas sobreviventes em relação ao número de plântulas emergidas; **Número de folhas:** realizou-se a contagem do número de folhas por plântula e calculado a média aritmética (MUNIZ *et al.*, 2007); **Área foliar:** realizada através do método destrutivo, com equipamento modelo LI3000C, da marca Licor, apresentando o valor em mm²; **Comprimento de caule:** foi medida em cm do colo da plântula até o ápice caulinar e calculado a média aritmética (NAKAGAWA, 1994); **Comprimento da maior raiz:** foi medida em cm e calculada a média aritmética (NAKAGAWA, 1994); **Massa fresca da parte aérea (caule e folhas) e da raiz:** as plântulas foram retiradas do substrato, lavadas em água corrente para retirar os resíduos de substrato retidos nas raízes e então, deixadas para escorrer em papel absorvente. Após, foi realizado um corte na base do caule, separando-se a parte aérea da raiz. Realizou-se, então, a pesagem, por repetição, em balança com precisão de 0,001g, da parte aérea (caule e folhas, separadamente) e da raiz, e calculado a média aritmética por plântula (NAKAGAWA, 1994); **Massa seca da parte aérea (caule e folhas) e da raiz:** após ter-se obtido o peso da massa fresca da parte aérea e da raiz, o material foi colocado em sacos de papel e levado para estufa, mantido à temperatura de 60-65°C, onde permaneceu até atingir peso constante, quando foi pesado e determinado o peso médio da massa seca por plântula (NAKAGAWA, 1994).

Foram avaliados oito tratamentos, dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com 12 repetições por tratamento; cada parcela constituída por 10 sementes, totalizando 120 sementes por tratamento.

Para cada variável avaliada realizou-se uma análise estatística. Quando necessário, os dados em porcentagem, foram transformados para o arcoseno da raiz quadrada, utilizando o programa estatístico Estat. Após, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à probabilidade de 5% de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de trichoderma na contaminação e germinação *in vitro* das sementes de *S. terebinthifolius*

Para o estudo do efeito de trichoderma na contaminação e na germinação *in vitro* das sementes de *S. terebinthifolius*, utilizou-se a técnica do papel celofane. Esta técnica é utilizada na seleção de microrganismos antagonistas produtores de compostos antifúngicos, como substâncias antibióticas ou metabólitos (REIS *et al.*, 1995). A liberação de metabólitos não-voláteis e inibição no crescimento de fitopatógenos foram observadas por Silva (1997), que utilizou esse método e constatou que isolados de *T. viride* e *T. harzianum* foram efetivos quanto à inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, um fungo causador de doenças. Ethur *et al.* (2005), também utilizaram essa técnica, com o objetivo de selecionar agentes biocontroladores para esse mesmo patógeno.

O papel celofane, semi-permeável, permite a nutrição e crescimento do antagonista, além da difusão de metabólitos para o meio de cultura (ETHUR, 2002), onde são inseridos discos contendo estruturas do patógeno. Nesse experimento a técnica foi modificada, ao invés de se transferir para o meio de cultura discos do patógeno, transferiram-se as sementes de *S. terebinthifolius*, a fim de se avaliar o efeito de metabólitos liberados por isolados de trichoderma no controle de fungos presentes e na germinação das sementes.

Santos *et al.* (2000) e Medeiros *et al.* (1992), verificaram que é frequente a associação de fungos, patogênicos ou não, às sementes de espécies florestais. Em estudos realizados com sementes de aroeira-vermelha foram encontrados os seguintes gêneros: *Fusarium*, *Alternaria*, *Pestalotia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Nigrospora*, *Geotrichum* e *Mucor* (STRAPASSON *et al.*, 2002).

Observa-se na Tabela 3 que todos os tratamentos com trichoderma (T1, T2, T3 e T4) inibiram o crescimento de fungos contaminantes, reduzindo a contaminação quando comparadas com o controle (T5). Embora os tratamentos com trichoderma não tenham diferido estatisticamente entre si, aqueles que apresentaram os menores valores de contaminação foram 2B2 e 2B22 de *T. harzianum* (4,6 e 4,8%, respectivamente) e TSM1 de *T. viride* (7,3%). O tratamento controle obteve contaminação de 49,0%, demonstrando a ação dos isolados de *Trichoderma* spp.

Tabela 3 – Efeito dos isolados de trichoderma, pela técnica *in vitro* do papel celofane em meio de cultura ágar-água + BDA, na contaminação e na germinação das sementes de *Schinus terebinthifolius*. Santa Maria - RS (2012).

Tratamentos	Descrição dos tratamentos	Contaminação (%)	Germinação (%)
T1	TSM1	7,333 ^{a*}	19,941 ^a
T2	TSM2	9,333 ^a	21,812 ^a
T3	2B2	4,667 ^a	20,015 ^a
T4	2B22	4,800 ^a	27,455 ^a
T5	Controle: s/ isolados	49,000 ^b	16,497 ^a
Média		18,93	20,26
C.V. (%)		32,38	61,48

*Valores seguidos de mesma letra não se diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Hilgemberg *et al.* (2007), também observaram variação entre os antagonistas *Trichoderma* spp. e *Trichotecium roseum*, ao crescimento micelial de fungos de solo, *S. sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* sp. Essa variabilidade na ação dos antagonistas pode estar relacionada à produção dos metabólitos. Segundo Harman (2000), muitas espécies estudadas produzem metabólitos secundários tóxicos, como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos. De acordo o autor, duas linhagens de *T. harzianum* (T39 e NCIM1185) produzem uma protease que é capaz de degradar enzimas sintetizadas pelo patógeno *Botrytis cinerea*, demonstrando especificidade entre alguns isolados e o patógeno.

Segundo Baugh e Escobar (2007), a ação de trichoderma como estimulador da germinação e do crescimento vegetal é complexa e realizada por interações com fatores bioquímicos e produção de diversas enzimas e compostos benéficos. Pode-se observar que o tratamento com a maior germinação foi o 2B22 (27,45%) de *T. harzianum*, seguido de TSM2 de *T. viride* com 21,81%. O tratamento controle teve a menor germinação com 16,49%. No entanto, não foram observadas diferenças significativas de germinação entre os tratamentos com os isolados de trichoderma e o controle.

Para Ozbay *et al.* (2004), os isolados T22 e T95 de *T. harzianum* não auxiliaram na emergência do tomateiro, mas aumentaram o crescimento de plântulas. Harman (2000) utilizando aplicação de nitrogênio no solo juntamente com o isolado T-22 de *T. harzianum*, constatou que inicialmente não ocorreram diferenças entre as áreas com e sem tratamento, mas nas plantas adultas de milho, ocorreu maior diâmetro de talos, rendimentos de grãos e silagem, nas plantas das áreas tratadas.

Harman *et al.* (2004) consideram que o aumento da produtividade proporcionado por isolados selecionados de *Trichoderma* spp. é mais evidente sob condições estressantes às plantas, em termos de presença de patógenos. Sob condições próximas ao ideal, os benefícios às plantas são menos evidentes.

S. terebinthifolius e outras espécies podem se beneficiar da colonização de suas raízes por *Trichoderma* spp., como uma consequência do controle de patógenos e a ação de alguns isolados desse gênero, como espécie simbiote. Da mesma forma, segundo Harman *et al.* (2004), a indução de resistência por *Trichoderma* spp. incrementa a expressão de genes relacionados com a defesa da planta e é similar ao processo de resistência adquirida.

Dessa forma, fica evidenciado que ocorreu a ação antagonista no controle biológico dos fungos associados às sementes e esta interação com o trichoderma não interferiu na germinação de *S. terebinthifolius* de forma negativa. Sendo que, o menor índice de contaminação inicial pode gerar mudas com maior vigor futuro.

Caracterização do crescimento vegetativo *ex vitro*, na influência de isolados de trichoderma, sob presença ou ausência de regulador de crescimento Stimulate[®]

Trichoderma spp. são fungos amplamente estudados por serem antagonistas de vários fungos fitopatogênicos de solo e por melhorarem o desenvolvimento de diversas culturas de importância econômica. Segundo Dal Bello *et al.* (2002) e Harman *et al.* (2004), a eficiência do antagonista na proteção de plantas contra microrganismos patogênicos e na promoção de crescimento de plantas está diretamente relacionada à habilidade desses organismos colonizarem e sobreviverem no solo e/ou rizosfera das plantas onde foram introduzidos. Cabe ressaltar que os três diferentes isolados introduzidos no substrato, onde as mudas foram produzidas, conseguiram colonizar e sobreviver nas plantas até o final do ciclo da cultura, em condições de campo.

Os efeitos do trichoderma, na presença ou ausência do fitoregulador de crescimento Stimulate[®], sobre as avaliações de germinação (porcentagem de emergência, primeira contagem, sobrevivência de plântulas, índice de velocidade de emergência) e crescimento (número de folhas, comprimento do caule, comprimento de raiz, massa fresca de folhas, massa fresca de raiz, massa fresca de caule, massa seca de folhas, massa seca de raiz, massa seca de caule, área foliar) de *S. terebinthifolius*, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Emergência (E), primeira contagem (PC), sobrevivência (SOB), índice de velocidade de emergência (IVE), número de folhas (N°F), comprimento do caule (CC), comprimento de raiz (CR), massa fresca de folhas (MF F), massa fresca de raiz (MF R), massa fresca de caule (MF C), massa seca de folhas (MS F), massa seca de raiz (MS R), massa seca de caule (MS C), área foliar (A. Foliar) de aroeira-vermelha (*S. terebinthifolius*) por isolados de trichoderma, na presença e ausência do regulador de crescimento Stimulate[®], avaliados aos 165 dias. Santa Maria, RS, 2012.

Trat.	E (%)	PC (%)	Sob. (%)	IVE	N° F	CC (g)	CR (g)	MF F (g)	MF R (g)	MF C (g)	MS F (g)	MS R (g)	MS C (g)	A. Foliar (cm ²)
T9	21,6 ^a	5,0 ^a	81,9 ^a	0,6 ^a	9,4 ^a	6,3 ^a	6,5 ^a	10,1 ^a	5,8 ^a	3,8 ^a	2,7 ^a	1,3 ^a	1,1 ^a	510 ^a
T10	26,6 ^a	4,2 ^a	89,6 ^a	0,7 ^a	7,7 ^a	6,8 ^a	7,2 ^a	8,6 ^a	3,7 ^a	3,2 ^a	2,4 ^a	1,2 ^a	1,0 ^a	295 ^b
T11	33,3 ^a	12,5 ^a	93,1 ^a	1,0 ^a	9,3 ^a	10,6 ^a	9,6 ^a	13,1 ^a	4,8 ^a	5,0 ^a	3,8 ^a	1,7 ^a	1,6 ^a	271 ^b
T12	25,8 ^a	6,7 ^a	91,7 ^a	0,7 ^a	8,5 ^a	7,3 ^a	7,4 ^a	8,5 ^a	3,9 ^a	3,5 ^a	2,6 ^a	1,3 ^a	1,2 ^a	306 ^b
T13	30,0 ^a	3,3 ^a	75,4 ^a	0,8 ^a	7,9 ^a	6,5 ^a	6,0 ^a	8,7 ^a	4,1 ^a	3,0 ^a	2,5 ^a	1,0 ^a	0,9 ^a	286 ^b
T14	26,7 ^a	5,0 ^a	87,5 ^a	0,7 ^a	7,9 ^a	6,8 ^a	6,2 ^a	9,1 ^a	4,8 ^a	3,1 ^a	2,7 ^a	1,1 ^a	1,0 ^a	275 ^b
T15	20,8 ^a	5,8 ^a	91,7 ^a	0,6 ^a	8,3 ^a	6,1 ^a	5,7 ^a	9,3 ^a	5,0 ^a	3,3 ^a	2,8 ^a	1,2 ^a	1,0 ^a	379 ^b
T16	26,7 ^a	5,8 ^a	84,7 ^a	0,8 ^a	7,7 ^a	7,6 ^a	6,4 ^a	11,3 ^a	5,6 ^a	4,0 ^a	3,5 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	338 ^b
Média	30.1	11.8	77.9	0.7	2.9	2.7	2.6	3.1	2.2	2.0	1.8	1.3	1.3	56.2
CV (%)	35.9	78.9	32.2	3.2	25.5	28.8	30.8	27.8	24.5	24.1	22.8	17.4	17.9	21.7

*Valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Para Melo (1998), o sucesso do controle de fitopatógenos e da promoção de crescimento vegetal por bioagentes depende das propriedades e mecanismos de ação do organismo. Sendo que, para os testes *ex vitro*, foi verificada diferença significativa apenas para a variável de área foliar, na qual o tratamento com o isolado 2B2 de *T. harzianum*, na ausência de regulador de crescimento Stimulate[®],

foi superior a todos os outros tratamentos. Entretanto, para todas as demais variáveis não foram observados efeitos, tanto negativa quanto positiva, dos isolados de trichoderma estudados na presença ou ausência de Stimulate[®], nos testes de germinação e de crescimento das plantas de *S. terebinthifolius*.

A área foliar pode ser considerada como um índice de produtividade, dada a importância dos órgãos fotossintetizantes na produção biológica da planta (SCALON *et al.*, 2003). A luz, por ser fonte primária de energia relacionada à fotossíntese (CAMPOS & UCHIDA, 2002) e fenômenos morfogenéticos (TAIZ & ZEIGER, 2004), é um dos principais fatores que influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais, de tal forma que, esse aumento de área foliar promovido pelo isolado 2B2 de *T. harzianum* pode repercutir no maior crescimento quando analisado em estádios mais avançados.

Todas as plantas têm habilidade para modificar o seu modelo de desenvolvimento em resposta ao ambiente luminoso (HOLT, 1995). Todavia, a natureza da resposta morfogênica pode variar consideravelmente entre espécies de acordo com a capacidade de aclimação e a dependência da quantidade ou qualidade da luz (CLOUGH *et al.* 1980; WALTERS & FIELD, 1987; GIVNISH, 1988; SEEMANN, 1992; GRONINGER *et al.*, 1996; TAIZ & ZEIGER, 2004). Desta forma, a eficiência do crescimento pode ser relacionada à habilidade de adaptação das mudas às condições luminosas do ambiente, sendo o crescimento satisfatório de algumas espécies em ambientes com baixa ou alta luminosidade atribuído à capacidade da espécie ajustar rapidamente seu modelo de alocação de biomassa e comportamento fisiológico (DIAS-FILHO, 1997, 1999).

Para os resultados do uso do regulador de crescimento Stimulate[®], na qual não se constatou efeitos positivos nem negativos na germinação e crescimento de *S. terebinthifolius*, ressalta-se que o fabricante ainda não possui recomendações para espécies florestais. Tais resultados obtidos podem ter relação com a escolha da dose aplicada, número de aplicações para esta espécie, entre outros fatores ainda não esclarecidos. Dessa forma, mostra-se evidente a necessidade de maiores estudos deste regulador de crescimento para espécies florestais. Podendo, inclusive, apresentar resultados satisfatórios do uso na presença de microrganismos promotores de crescimento.

A capacidade de promoção de crescimento de plantas ocasionada por microrganismos do solo ocorre devido à ação de vários fatores pouco esclarecidos. Segundo Benítez *et al.* (2004) esses fatores podem ser tais como a composição da microbiota do solo, disponibilidade de nutrientes, isolados utilizados, tipo de solo e fatores ambientais. Sendo que a ausência de alguns desses fatores podem explicar os resultados obtidos na Tabela 4, na qual demonstra não haver efeitos significativos do trichoderma nos parâmetros de germinação e crescimento estudados.

Quanto ao efeito no desenvolvimento e produção de alface, constatou-se que os isolados não interferiram na massa de matéria fresca das plantas, quando comparados aos controles, mesmo estando presentes na rizosfera das plantas. Estes dados discordam dos observados por Lynch *et al.* (1991) que relatou aumentos de 27 a 54% no peso fresco de alface tratada com *Trichoderma* sp. Já Ousley *et al.* (1993) demonstraram esta variabilidade quando utilizaram um isolado de *Trichoderma* produtor de viridiol que interferiu negativamente na germinação de alface (*Lactuca sativa* L.) e outros isolados produtores de ácidos graxos e glicerol

que atuaram positivamente no crescimento de trigo (*Triticum aestivum* L.). Por outro lado, Corrêa (2006), em condições de hidroponia, e Bal & Altintas (2008), em condições subótimas de crescimento em campo, não constataram nenhum tipo de efeito de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas de alface.

A variabilidade entre os isolados de *Trichoderma* spp., quanto a interferência no crescimento de vegetais, consiste, principalmente, na produção de metabólitos secundários e na sua capacidade de ser competitivo na rizosfera. Dessa forma, podemos observar que a resposta do trichoderma para diferentes culturas podem variar, como observados por Chang *et al.* (1986), utilizando tratamento de solo com suspensão de conídios de *T. harzianum* observaram promoção de crescimento da planta através do peso de massa seca superior à testemunha, no feijoeiro de 10%, no rabanete de 8%, no tomateiro de 37%, na pimenteira de 42% e no pepineiro de 93%.

O uso de muitas espécies arbóreas nativas do Brasil tem sido feito de forma extrativista, e muitas vezes predatória, tornando-se salutar o cultivo destas espécies. Não obstante esta necessidade, a propagação de um grande número destas espécies encontra sérias limitações em razão do pouco conhecimento que se dispõe sobre as características fisiológicas, morfológicas, ecológicas e genéticas das mesmas, o que pode comprometer o sucesso desses cultivos (TELLES *et al.*, 2001).

Tanto a intensidade como a velocidade desse processo depende de fatores genéticos e ambientais e estão relacionados aos cuidados durante o manejo dos lotes de sementes (MARCOS FILHO *et al.*, 1987; KRZYZANOWSKI *et al.*, 1991; PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2004). Altos níveis de variabilidade genética dentro de populações têm sido detectados para a maioria das espécies arbóreas temperadas e tropicais, avaliadas a partir de caracteres quantitativos e de dados de marcadores genéticos (HAMRICK, 1983), podendo, também, ser o caso das sementes de *S. terebinthifolius* coletadas para este estudo. Dessa forma, relacionando a ausência do efeito do trichoderma em alguns parâmetros, à grande variação genética nos indivíduos para cada caráter estudado.

A aplicação dos testes de vigor em sementes de espécies florestais é uma prática que permite estimar e comparar lotes para diferentes objetivos. A simplicidade, inerente a vários destes testes, aliada aos bons resultados, tornam-nos de utilização promissora em vários campos de pesquisa. Comparações de vigor de sementes entre matrizes, progênies e procedências, oferecem ao pesquisador dados adicionais em uma fase inicial de um programa de melhoramento ou conservação genética. A divulgação de sua metodologia tornará, com certeza, mais difundida a sua aplicação no campo das ciências florestais, sendo que têm sido desenvolvidos testes aplicáveis a espécies ou grupo de espécies semelhantes (VALENTINI & PIÑA-RODRIGUES, 1995).

Apesar de não terem sido observados efeitos positivos na germinação e pouco efeito no crescimento de *S. terebinthifolius* pelos isolados de trichoderma, também não foram observados efeitos negativos (Tabela 4). A presença desses isolados no substrato tem potencial em estádios mais avançados do desenvolvimento, de proporcionar uma maior proteção contra a ação de fitopatógenos, isto logicamente, se comprovado por estudos detalhados de controle biológico para determinados microrganismos patogênicos à espécie estudada. Em vários estudos tem se observado que *Trichoderma harzianum*, introduzido no solo,

tem reduzido a severidade de doenças nas plantas e induzido a estimulação da germinação e do crescimento vegetal de várias espécies, entretanto, existem poucos relatos de pesquisas envolvendo a interação de trichoderma e espécies florestais (DONOSO *et al.*, 2008), sendo que os resultados desta interação poderá otimizar a produção de mudas e conseqüentemente reduzir o extrativismo de florestas naturais; contribuir nos programas de reflorestamentos no Brasil, acelerando processos de recuperação de áreas degradadas; além da conservação genética da espécie e de vantagens para produtores em viveiros. No entanto, a contribuição de espécies de trichoderma no aumento da germinação de sementes e do crescimento vegetal é comprovada para alguns isolados de trichoderma em espécies vegetais estudadas (RESENDE *et al.* 2004; ALMANÇA, 2005; FORTES *et al.*, 2007; JYOTSNA *et al.* 2008; FILHO *et al.*, 2008; HOYOS-CARVAJAL *et al.*, 2009; MACHADO, 2010; MACHADO, 2012).

CONCLUSÃO

Os isolados de trichoderma testados, TSM1 e TSM2 de *T. viride* e 2B2 e 2B22 de *T. harzianum*, não interferem de modo negativo na germinação das sementes de *S. terebinthifolius*. Estes isolados, se mostraram eficientes na diminuição da contaminação fúngica das sementes de *S. terebinthifolius* pela técnica *in vitro* do papel celofane.

No cultivo *ex vitro* de *S. terebinthifolius* foi observado que o isolado 2B2 de *T. harzianum* na ausência do regulador de crescimento Stimulate[®], obteve aumento significativo em relação ao crescimento vegetativo de área foliar. Para as demais variáveis analisadas não foi observado interação entre os isolado de trichoderma, tanto na presença quanto na ausência do fitoregulador de crescimento Stimulate[®], em relação à germinação e ao crescimento vegetativo.

REFERÊNCIAS

ALLEONI, B.; BOSQUEIRO, M.; ROSSI, M. Efeito dos reguladores vegetais de Stimulate no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Publ. UEPG**, Ponta Grossa, v. 6, n. 1, p. 23-35, 2000.

ALMANÇA, M. A. K. **Trichoderma sp. no controle de doenças e na promoção do crescimento de plantas de arroz**. 2005. Dissertação de mestrado. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 81 p., 2005.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol

fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**. v.65, n.7, p. 2926-2933, 1999.

ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F.; ALVES, E. Atividade aminolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n.1, p. 43-48, 2003.

BAL, U.; ALTINTAS, S. **Effects of *Trichoderma harzianum* on lettuce in protected cultivation**. 2008. Disponível em <<http://www.agr.hr/jcea/issues/jcea9-1/pdf/jcea91-9.pdf/>> acesso em 15 de novembro. 2012 .

BAUGH, C. L.; ESCOBAR, C. L. B. The genus *Bacillus* and genus *Trichoderma* for agricultural bio-augmentation. **Rice Farm Magazine**. Feb., 2007.

BECHARA, F. C. **Restauração ecológica de restingas contaminadas por *Pinus* spp. no Parque Florestal do Rio Vermelho, Florianópolis, SC**. 2003. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**. v.7, n.4, p. 249-260, 2004.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: _____. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

BRACCINI, A. L. *et al.* Emergência das plântulas e componentes da produção de sementes em resposta a diferentes doses e formas de aplicação do bioestimulante Stimulate 10X na cultura da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 27., 2005, Cornélio Procópio. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 565-566.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP; EMBRAPA/ CNPH, 1990. p.37-70.

CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. 2002. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 37 (3): 281-288.

CARNEIRO, J. S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 386-394.

CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A.; DAVIDE, A. C. Comportamento no armazenamento de sementes florestais. **Revista brasileira de sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 15-25, 2006.

CASTRO, P. R. C.; MELOTO, E. Bioestimulante e hormônios aplicados via foliar, In: BOARETO, A.E.; ROSOLEM, C. A. (Eds.). **Adubação foliar**. Campinas: Fundação Cargill, 1989. v.1, p. 191-235.

CASTRO, P. R. C., PACHECO, A. C., MEDINA, C. L. Efeitos de Stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* L. osbeck). **Sciencia Agrícola**, Piracicaba, vol.55, n. 2, p. 338-341, 1998.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132p.

CHANG, YA-CHUN *et al.* Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. **Plant Disease**, v.70, p. 145-148, 1986.

CLOUGH, J. M.; TERRI, J. A.; ALBERTE, R. S. 1980. Photosynthetic adaptation of *Solanum dulcamara* L. to sun and shade environments. III. Characterization of genotypes with differing photosynthetic performance. **Oecologia**, 44: 221-225.

CORRÊA, E. B. **Controle da podridão de raiz (*Pythium aphanidermatum*) e promoção de crescimento de alface hidropônica**. 2006. 103p. Mestrado, UFLA, Lavras.

DAL BELLO, G. M.; MONACO, C. L.; SIMON, M. R. Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganism. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, p. 627-636, 2002.

DIAS-FILHO, M. B. 1997. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32 (8): 789-796.

DIAS-FILHO, M. B. 1999. Physiological responses of two tropical weeds to shade. I. Growth and biomass allocation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 34 (6): 945-952.

DELGADO, G. V.; MARTINS, I.; MENÊZES, J. E.; MACEDO, M. A.; MELLO, S. C. M. Inibição do crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* por *Trichoderma* spp. in vitro. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

DONOSO, E. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plântulas de *Pinus radiata* em viveiro. **Bosque**. v.29, n.1, p. 52-57, 2008.

ETHUR, L. Z. **Avaliação de fungos como antagonistas para o biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary em pepineiro cultivado em estufa**. 2002. 155f. Dissertação. (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 155 f. Tese (Doutorado no

Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

ETHUR, L. Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; SILVA, A. C. F. da; STEFANELO, D. R.; ROCHA, E. k. da. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**. v.30, n.2, p. 127-133, 2005.

FERRARI, S. *et al.* Desenvolvimento e produtividade do algodoeiro em função de espaçamentos e aplicação de regulador de crescimento. **Acta Scientia Agronomica**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 365-371, 2008.

FILHO, M. R. C.; MELLO, S. C. M. de; SANTOS, R. P. dos; MENÊZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético in vitro e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento 226**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008.

FORTES, F. O.; SILVA, A. C. F.; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**, v. 31, n. 2, p. 221-228, 2007.

GIVNISH, T. J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. **Australian Journal of Physiology**, 15: 63-92.

GOULART, A. C.; ANDRADE, P. J. M.; BORGES, E. P. Controle de patógenos de soja pelo tratamento com fungicidas e efeitos na emergência e no rendimento de grãos. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 341-346, 2000.

GRONINGER, J. W.; SEILER, J. R., PETERSON, J. A.; KREH, R. E. 1996. Growth and photosynthesis responses of four Virginia Piedmont tree species to shade. **Tree Physiology**, 16 (9): 773-778.

HAMRICK, J. L. The distribution of genetic variation within and among natural populations. In: SCHONEWALD-COX, C. M.; CHAMBERS, S. M.; MACBRYDE, B.; THOMAS, W. L. (Ed). **Genetic and conservations**. London: The Benjamin/Cumming Publ., p. 335-348, 1983.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**. v.84, n.4, p. 376-393, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Review of Microbiology**. v. 2, p. 43-56, 2004.

HILGEMBERG, P.; DALLA PRIA, M.; DUDA, L.; SANDINI, F.; KAMIKOGA, A. Antagonismo de *Trichoderma* spp. e *Trichotecium roseum* a fungos de solo. **Fitopatologia Brasileira**. v.32, suplemento, p.121, agos 2007.

HOLL, K. D. Factors limiting rain forest regeneration in abandoned pasture: seed rain, seed germination, microclimate, and soil. **Biotropica**. v. 31, p. 229-242, 1999.

HOLT, J. S. 1995. Plant response to light: a potencial tool for weed management. **Weed Science**, 43: 474-482.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**. v.51. p. 409-416, 2009.

JYOTSNA; SRIVASTAVA, A.; SINGH, R. P.; SRIVASTAVA, A. K.; SAXENA, A. K. E ARORA, D.K. Growth promotion and charcoal rot management in chickpea by *Trichoderma harzianum*. **Journal of Plant Protection Research**, 48, 1: 81-92, 2008.

KROHN, N. G.; MALAVASI, M. M.; Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com fungicidas durante e após o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 26, n. 2, p. 91-97, 2004.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, v.1, n.2, p.15-59. 1991.

LASCA, C. C.; VECHIATO, M. H.; KOHARA, E. Y. Controle de fungos de sementes de *Brachiaria* spp.: eficiência de fungicidas e influência do período de armazenamento de sementes tratadas sobre ação desses produtos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 465-472, 2004.

LORENZI, H. 1992. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 352p.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR, M. L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropica**. Programa Biota Fapesp. v.9, n.3, p. 145-149, 2009.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em 02 jun. 2011.

LUCON, C. M. M. **Trichoderma no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo**. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, São Paulo, n. 77, 2008. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=77>. Acesso em 14 jul. 2011.

LYNCH, J. M.; WILSON, K. L.; OUSLEY, M. A.; WHIPPS, J. M. Response of *lettuce* to *Trichoderma* treatment. **Letters Applied Microbiology**, v. 12, p. 59-61, 1991.

MACHADO, D. F. M. Efeito de *Trichoderma* spp. na germinação in vitro das sementes de *Gochnatia polymorpha* (ASTERACEAE). In: IV Simpósio de microbiologia aplicada e I Encontro Latino-Americano de microbiologia aplicada,

2010, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. p. 46-48.

MACHADO, D. F. M. **ESTUDO DA GERMINAÇÃO E DO EFEITO DE *Trichoderma* spp. NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Gochnatia polymorpha* (LESS.) CABRERA.** 2012. Dissertação de mestrado. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 101 p., 2012.

MACHADO, J. C. Patologia de sementes: significado e atribuições. In: CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal, SP: FUNEP, 2000. p. 522-588.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. et al. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes.** Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MEDEIROS, A. C. S.; MENDES, M. A. S.; FERREIRA, M. A. S. V.; ARAGÃO, F. J. L. Avaliação quali-quantitativa de fungos associados a sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 14, n. 1. p. 51-55, 1992.

MELO, I. S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico.** v.1. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p. 17-60.

MELO, I. S. de. Trichoderma e Gliocladium como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, 4: 261-295, 1996.

MILLÉO, M. V. R. ZAGONEL, P.; MONFERDINI, M. A. Avaliação da eficiência agrônômica do produto Stimulate aplicado no tratamento de sementes e no sulco de plantio sobre a cultura do milho (*Zea mays* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, p. 1-145, 2000. Suplemento.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 07-14.

MUNIZ, M. F. B.; SILVA, L. M.; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes.** v.29, n.1, p. 140-146, 2007.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: Funep, 1994. p. 49-86.

OLIVEIRA, G. G. de. **Trichoderma spp. no crescimento vegetal e no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* e de patógenos em sementes de cártamo (*Carthamus tinctorius*).** 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

OSBAY, N.; NEWMAN, S. E.; BROWN, W. M. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. **Acta Hortícola**, v. 635, p. 131-134, 2004.

OUSLEY, M. A.; LYNCH, J. M.; WHIPPS, J. M. Effect of *Trichoderma* on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. **Microbial Ecology**, v. 26, p. 277-285, 1993.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283–297.

REIS, A.; ESPÍNDOLA, M. B.; VIEIRA, N. K. A nucleação como ferramenta para a restauração ambiental. In: Seminário temático sobre recuperação de áreas degradadas, 2003, [S.l.]. **Anais...** p. 32-39.

REIS, A.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M. Potencial de isolados de *Trichoderma* para biocontrole da murcha de *Fusarium* do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**. v.21, n.1, 1995.

RESENDE, M. de L.; OLIVEIRA, J. A. de.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculações de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**. v.28, n.4, p. 793-798, 2004.

SANTOS, A. F. dos; MEDEIROS, A. C.; SANTANA, D. L. Q. Fungos em sementes de espécies arbóreas da Mata Atlântica. In: Congresso paulista de fitopatologia, 23.; Reunião de controle biológico de doenças de plantas, 6., 2000, Campinas. **Programa e resumos**. Campinas: Grupo Paulista de Fitopatologia / Instituto Biológico, 2000. p.221.

SANTOS, C. M. G. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento do algodoeiro**. 2004. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; RIGONI, M. R.; SCALON FILHO, H. 2003. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, 27 (6): 753-758.

SCHIMTZ, M. C. Banco de sementes no solo em áreas do reservatório da UHE Paraibuna. In: KAGEYAMA, P.Y. **Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidroelétricas da CESP**. Série IPEF 25, 1992. p. 7-8.

SEEMANN, J. R. 1992. Light adaptation/acclimation of photosynthesis and the regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity in sun and shade plants. **Plant Physiology**, 91: 1-18.

SILVA, A. C. F. da. **Obtenção e caracterização de novos biótipos de *Trichoderma harzianum*, Rifai, resistentes a benzimidazóis, através da luz ultravioleta.** 1991. 33f. Dissertação (Mestrado na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

SILVA, A. C. F. **Uso de radiação gama para obtenção de mutantes de *Trichoderma harzianum* Rifai, e *T. viride* Pers. Fr. com capacidade melhorada no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.** (Tese de Doutorado) São Paulo. Universidade de São Paulo. 1997.

STRAPASSON, M.; SANTOS, A. F. & MEDEIROS, A. C. S. Fungos associados às sementes de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*). **Boletim de Pesquisa Florestal**. 2002. n.45, p. 131-135.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Artmed, Porto Alegre. 719pp.

TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; DINIS FILHO, J. A. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.11, p.1387–1394, 2001.

VALENTINI, S. R. T.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Aplicação do teste de vigor em sementes. **IF Série Registros**, São Paulo, n. 14, p. 75-84, 1995.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 23, n. 2, p. 222-228, 2001.

VIEIRA, E.L.; CASTRO, P.R.C. **Ação de bioestimulante na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill).** Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2004. 47p.

WALTERS, M.B; FIELD, C.B. 1987. Photosynthetic light acclimation in two rainforest Piper species with different ecological amplitudes. **Oecologia**, 72: 449-456.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção de mudas de espécies lenhosas. **Dados eletrônicos**. Documentos 130. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 55p.

DISCUSSÃO

Nos estudos citogenéticos, onde foram analisados 22 acessos de *S. terebinthifolius*, pertencentes à região central do Rio Grande do Sul, determinou-se que o número de cromossomos apresentados para 22 acessos estudados foi de $2n = 28$. (Artigo 1, Figuras 1, 2, 3, 4), indicando que não ocorre variabilidade intraespecífica. Observa-se que o tamanho dos cromossomos é muito pequeno, em média de $0,56\mu\text{m}$, o que vai de acordo com Stebbins (1971) e Ehrendorfer (1976) onde constatam que a maioria das angiospermas lenhosas possuem pequenos cromossomos e com pequenas diferenças de tamanho entre as espécies ou gêneros relacionados.

Sendo que a contagem cromossômica relatada, é corroborada por outros autores em trabalhos realizados em outras regiões. Pedrosa *et al.* (1999), em estudo realizado em Pernambuco, encontraram para *S. terebinthifolius* $2n = 28$, com cromossomos pouco contrastados, de tamanho simétrico e citoplasma em geral bastante corado. A literatura registra contagem prévia com $n = 30$ para essa espécie e $2n = 28$ em duas outras (FEDOROV, 1969). Sendo que os resultados propostos no presente estudo e por Pedrosa *et al.* (1999) em relação a diferença encontrada com o estudo anterior (FEDOROV, 1969), parece ser devida a divergência na identificação taxonômica.

Em estudos citogenéticos realizados com espécies da família Anacardiaceae, *Schinus polygamus* apresentou o número somático de cromossomos $2n = 28$ (SCHNACK & COVAS, 1947), assim como, *Schinus molle* também apresentou $2n = 28$ (OGINUMA *et al.*, 1993). Pedrosa *et al.* (1999) analisou duas espécies da família Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* (caju) que apresentou $2n = 40$ e duas amostras de *Spondias tuberosa* (umbu) na qual apresentaram 16 bivalentes em metáfase I de meiose e, uma terceira amostra, cerca de 32 cromossomos em metáfase mitótica.

Os resultados do teste de germinação indicam que a qualidade das sementes variam conforme os diferentes acessos coletados no Rio Grande do Sul. Mesmo com a ocorrência de germinação em quase todos os acessos testados, percebe-se que há uma grande heterogeneidade na germinação entre as comparações de

médias dos diferentes acessos analisados (Artigo 2, Tabela 2). Para os testes de primeira contagem e índice de velocidade de germinação, ocorreram resultados semelhantes ao teste de germinação, ou seja, verifica-se uma grande heterogeneidade nos resultados obtidos a partir dos indivíduos analisados nos 35 acessos. Sendo que para todos os testes, os resultados seguem o mesmo padrão para as melhores e piores médias, nos respectivos acessos (Artigo 2, Tabela 2).

A germinação e a emergência das plântulas são reflexos da qualidade fisiológica da semente. Assim, observa-se que lotes de sementes que apresentam germinação semelhante podem exibir comportamento distinto no campo e no armazenamento. Tais diferenças podem ser explicadas pelo fato de que as primeiras alterações nos processos bioquímicos, associadas à deterioração, geralmente, ocorrem antes que o declínio na capacidade germinativa seja verificado (DELOUCHE & VIEIRA, 1973).

Para o estudo do efeito de trichoderma na contaminação e na germinação *in vitro* das sementes de *S. terebinthifolius*, utilizando-se a técnica do papel celofane, observa-se que todos os tratamentos com trichoderma (T1, T2, T3 e T4) inibiram o crescimento de fungos contaminantes sobre as sementes, observando-se médias de contaminação reduzidas quando comparadas a média do controle (T5), demonstrando que na ausência dos antagonistas a contaminação foi alta (Artigo 3, Tabela 3).

Outras espécies já foram testadas, e segundo Hilgemberg *et al.* (2007), também observaram essa variação entre os antagonistas *Trichoderma* spp. e *Trichotecium roseum*, ao crescimento micelial de fungos de solo, *S. sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium* sp. Essa variabilidade na ação dos antagonistas pode estar relacionada à produção dos metabólitos. Segundo Harman (2000), muitas espécies estudadas produzem metabólitos secundários tóxicos, como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos. De acordo o autor, duas linhagens de *T. harzianum* (T39 e NCIM1185) produzem uma protease que é capaz de degradar enzimas sintetizadas pelo patógeno *Botrytis cinerea*, demonstrando especificidade entre alguns isolados e o patógeno.

Não foram encontradas diferenças significativas nas médias de germinação entre os tratamentos com os isolados de trichoderma e o controle (Artigo 3, Tabela 3). No entanto, para Ozbay *et al.* (2004), os isolados T22 e T95 de *T. harzianum* não

auxiliaram na emergência do tomateiro, mas aumentaram o crescimento de plântulas. Harman (2000) utilizando aplicação de nitrogênio no solo juntamente com o isolado T-22 de *T. harzianum*, constatou que inicialmente não ocorreram diferenças entre as áreas com e sem tratamento, mas na maturidade das plantas de milho, ocorreu maior diâmetro de talos, rendimentos de grãos e silagem, nas plantas das áreas tratadas.

Sendo que, para os testes *ex vitro*, foi verificada diferença significativa apenas para a variável de área foliar, na qual o tratamento com o isolado 2B2 de *T. harzianum*, na ausência de regulador de crescimento Stimulate[®], apresentou melhores resultados. Entretanto, para todas as demais variáveis não foram observadas interferências, tanto negativa quanto positiva, dos isolados de trichoderma estudados na presença ou ausência de Stimulate[®], nos testes de germinação e de crescimento das plantas de *S. terebinthifolius* (Artigo 3, Tabela 4). Cabe ressaltar que os três diferentes isolados introduzidos no substrato, onde as mudas foram produzidas, conseguiram colonizar e sobreviver nas plantas até o final do ciclo da cultura, em condições de campo.

A área foliar pode ser considerada como um índice de produtividade, dada a importância dos órgãos fotossintetizantes na produção biológica da planta (SCALON *et al.*, 2003). A luz, por ser fonte primária de energia relacionada à fotossíntese (CAMPOS & UCHIDA, 2002) e fenômenos morfogênicos (TAIZ & ZEIGER, 2004), é um dos principais fatores que influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais, de tal forma que, esse aumento de área foliar promovido pelo isolado 2B2 de *T. harzianum* pode repercutir no maior crescimento quando analisado em estádios mais avançados.

Dessa forma, *S. terebinthifolius* e outras espécies podem se beneficiar da colonização de suas raízes por *Trichoderma* spp., como uma consequência do controle de patógenos e a ação de alguns isolados desse gênero, como espécie simbiote. Da mesma forma, segundo Harman *et al.* (2004), a indução de resistência por *Trichoderma* spp. incrementa a expressão de genes relacionados com a defesa da planta e é similar ao processo de resistência adquirida.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, é possível concluir que o número de cromossomos da espécie *S. terebinthifolius* determinado para 22 acessos coletados no Rio Grande do Sul é de $2n = 28$, indicando que não ocorre variabilidade intraespecífica.

Observa-se que a qualidade das sementes variam conforme os acessos, sendo que, os 35 diferentes acessos de coleta da espécie *S. terebinthifolius*, apresentam comportamentos heterogêneos quanto às médias das avaliações de porcentagem de germinação (de 1 a 93,5%), primeira contagem (de 0,25 a 33,25%) e índice de velocidade de germinação (de 0,110 a 11,040), nos testes realizados em caixas gerbox e usando papel filtro como substrato.

Os resultados referentes a técnica *in vitro* do papel celofane, mostraram que os isolados de trichoderma testados, TSM1 e TSM2 de *T. viride* e 2B2 e 2B22 de *T. harzianum* se mostram eficientes na diminuição da contaminação fúngica das sementes de *S. terebinthifolius*, e estes, não interferem de modo negativo na germinação das sementes.

No cultivo *ex vitro* de *S. terebinthifolius*, o isolado 2B2 de *T. harzianum* na ausência do regulador de crescimento Stimulate[®], apresenta aumento significativo em relação ao crescimento vegetativo de área foliar. Não há, para as demais variáveis analisadas, interação entre os isolado de trichoderma, tanto na presença quanto na ausência do fitoregulador de crescimento Stimulate[®], em relação à germinação e ao crescimento vegetativo.

REFERÊNCIAS

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**. v.65, n.7, p. 2926-2933, 1999.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. "**REGULAMENTO TÉCNICO PARA ESPECIARIAS, TEMPEROS E MOLHOS**". Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

BAGGIO, A. J. Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, v. 17, p. 25-32, 1988.

BAGGIO, A. J.; CARPANEZZI, A. A. **Exploração seletiva do sub-bosque**: uma alternativa para aumentar a rentabilidade dos bracingais. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1998. 17p. (EMBRAPA-CNPQ. CIRCULAR TECNICA , 28).

BALBACHAS, A. **As plantas curam**. 2. ed. São Paulo: Missionária, 1956.

BALLAL, S.R.; FORÉ, S.A.; GUITTMEN, S.I. Apparent gene flow and genetics structure of *Acer saccharum* subpopulations in forest fragments. **Canadian Journal of Botany**, v.72, p.1311-1315, 1994.

BANCO DE DESENVOLVIMENTO DO ESPIRITO SANTO S/A - BANDES. **A cultura da aroeira em São Mateus e arredores**: um pioneirismo que o Banded deve apoiar/ Banco de Desenvolvimento do Espírito Santo – Vitória: BANDES, 2008. 39p. (Estudos Banded).

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**. v.7, n.4, p. 249-260, 2004.

BENNET, M. M. Plant genome values: How much do we know? **Proceedings of the National Academy Science**, Washington, v. 95, p. 2011-2016, 1998.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006. 96 f. Dissertação (Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009.

CALDAS, L. S. Pomares de sementes de espécies nativas as funções das redes de sementes. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Coords). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 227–241.

CAMPOS, M.A.A.; UCHIDA, T. 2002. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 37 (3): 281-288.

CARNEIRO, J. S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 386-394.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039p. (Coleção espécies arbóreas brasileiras, v. 1).

CARVALHO, P. E. R. Potencialidades e restrições da regeneração artificial de espécies madeireiras nativas no Paraná. In: CONGRESSO FLORESTAL DO PARANA, 1988, Curitiba. **Anais....** Curitiba: Instituto Florestal do Paraná, 1988. p. 292-331.

CESÁRIO, L. F.; GAGLIANONE, M. C. Biologia floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em restinga do norte fluminense. **Acta Botânica Brasilica**, v. 22, n. 3, p. 828-833, 2008.

CHEROBINI, E. A. I. **Avaliação da qualidade de sementes e mudas de espécies florestais nativas**. 2006. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1978. v. 5.

COSTA, T. E. M. M.; HERINGER, A. P.; KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R.; HENRIQUES, M. das G.; ROSAS, E. C. **Estudo da ação antiinflamatória dos extratos etanólico, frações e substâncias obtidas da *Schinus terebinthifolius***

Raddi (aroeira) em ensaios *in vitro* e *in vivo*. IV Bienal de Pesquisa, FIOCRUZ, 2008. Acesso 04/09/2011: <<http://www.bienal.fiocruz.br/proposta.php?idb=587>>.

DALCIN, E. **Base de dados sobre árvores ornamentais.** 2001. Disponível em <<http://juazeiro.cnip.org.br/edalcin/arvores/taxa/428.shtml>>. Acesso em: 05 ago. 2012.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. J. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 83-89, 2004.

DELOUCHE, J. C.; VIEIRA, R. D. *Accelerated aging techniques for predating the relative storability of seed lots.* **Seed Science and Technology**, Zurich. v.1, n. 2, p. 427-552. 1973.

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J.; FILHO, J. da C. **Tratamento de sementes (controle de patógenos).** Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 1980. 121 p.

EHRENDORFER, F. 1976. Evolutionary significance of chromosomal differentiation patterns in Gymnosperms and primitive Angiosperms., In C. B. Beck [ed.], **Origin and early evolution of angiosperms.** Columbia University Press, New York and London.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro.** 2006. 155 f. Tese (Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FEDOROV, A.M.A. 1969. **Chromosome Number of Flowering Plants.** Komarov Botanical Institute, Leningrado.

FIGUEIREDO, L. Aroeira vermelha. **Revista Terra da Gente**, [s.l], n.57, p. 44-49. 2009.

FILHO, M. R. C.; *et al.* **Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e biotecnologia, 2008.

FLEIG, M. Anacardiáceas. In: REITZ, P. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: IOESC, 1989, p. 40-49.

FORTES, F. de O.; SILVA, A. C. F. da; ALMANÇA, M. A. K.; TEDESCO, S. B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de *Eucalyptus* sp. por *Trichoderma* spp. **Revista Árvore**. v.31, n.2, p. 221-228, 2007.

FRANCO-CAIRO, J. L. P.; GUEDES, M. L. S.; OLIVEIRA, A. L. P. C. Análises citogenéticas em espécies de Angiospermas de um ecossistema de restinga. In: 55º Congresso Brasileiro de Genética. 2009. Águas de Lindóia. **Anais...** p.1, 2009.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como analisar cromossomos**: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002. 131p.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**. v.84, n.4, p. 376-393, 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Review of Microbiology**. v. 2, p. 43-56, 2004.

HILGEMBERG, P.; DALLA PRIA, M.; DUDA, L.; SANDINI, F.; KAMIKOGA, A. Antagonismo de *Trichoderma* spp. e *Trichotecium roseum* a fungos de solo. **Fitopatologia Brasileira**. v.32, suplemento, p.121, agos 2007.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**. v.51. p. 409–416, 2009.

HWANG, J.; BENSON, D. M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with Burkholderia and binucleate *Rhizoctonia*. **Plant Disease**. v.86, p. 47-53, 2002.

JORGE, L. I. F.; MARKMANN, B. E. O.. Exame químico e microscópico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira). **Rev Ciênc Farm**, São Paulo, v. 17, p. 139-145, 1996.

JUDD, S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. 2009. 632p.

KATZER, G. **Pepper Rosé (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2002. Disponível em: http://www-ang.kfunigraz.ac.at/~katzer/engl/generic_frame.html?Schi_ter.html. Acesso em: 05 ago. 2012.

KRAPOVICKAS, A. La informacion cromossômica y su importância em la sistemática. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE BOTANICA, 1972, Mexico, **Sobretic de las memorias de symposia**. México : Sociedad botânica de México, 1972. P.247-263.

KRUPPA, P. C.; RUSSOMANNO, O. M. R. **Fungos em plantas medicinais, aromáticas e condimentares – solo e semente**. 2009. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Fungos/index.htm. Acesso em: 24 mai 2011.

KUNIEDA-ALONSO, S.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. Sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma* spp., em restos de cultura de *Eucalyptus* sp. **Fitopatologia Brasileira**. v.30, n.2., p. 164-168, 2005.

LACA-BUENDIA, J. P.; BRANDAO , M.; OLIVEIRA, L. M. da S. Utilização dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Anacardiaceae) na substituição da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Daphne**, Belo Horizonte, v. 2, n. 4, p. 34-36, jul., 1992.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 2, p. 198-201, 2004a.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, SC, v. 17, n. 2, p. 67-89, 2004b.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 373p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. 4 ed. Nova Odessa, São Paulo: Plantarum, 1992, v. 2. 352 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2008 - **Plantas Medicinais no Brasil**. 2ª edição. Instituto Plantarum, Nova Odessa.

LUCON, C. M. M. *Trichoderma* no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo. **Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**, São Paulo, n. 77, 2008. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=77>. Acesso em 14 jul. 2011.

LUCON, C. M. M. Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp. 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em 02 jun. 2011.

LUZ, W. C. da. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**. v.26, n.1, p. 16-20, 2001.

MACHADO, D. F. M. Efeito de *Trichoderma* spp. na germinação in vitro das sementes de *Gochnatia polymorpha* (ASTERACEAE). In: IV SIMPÓSIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA E I ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA APLICADA, IV, 2010, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. p. 46-48.

MACHADO, D. F. M. **ESTUDO DA GERMINAÇÃO E DO EFEITO DE *Trichoderma* spp. NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Gochnatia polymorpha* (LESS.) CABRERA**. 2012. Dissertação de mestrado. Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, 101 p., 2012.

MARTINEZ, M. J.; GONZALEZ, N. A.; BADELL, J. B. Atividade antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (Copal) Ver. **Cubana Planta Médica**, v. 1, n. 3 p. 37-39, 1996.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. v.1. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p. 17-60.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v.4, p. 261-295, 1996.

MELLO, J. T. *et al.* Propagação e desenvolvimento inicial de espécies do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina-DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1998. 556 p.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. *et al.* Instabilidade cromossômica e adaptação em trigo. In: COLOQUIO SOBRE CITOGENÉTICA E EVOLUÇÃO DE PLANTAS, 1985. **Tópicos de citogenética e evolução de plantas**. Ribeirão Preto : Sociedade Brasileira de Genética, 1985. P.69-110.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 07-14.

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Fatores externos (ambientais) e internos que influenciam na germinação de sementes. **Informativo Sementes IPEF**. Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais. São Paulo, 1998. Acesso em 26 mai 2012. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>>.

NOGUEIRA, A.C. 1998. Comportamento germinativo de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **XLIX Congresso Nacional de Botânica**. 0421. p.183.

OGINUMA, K.,A. KATO, H. TOBE, S.G. MATHENGE, & JUMA. F.D. 1993. Chromosomes of some woody plants in Kenya. **Acta Phytotax**. Geobot. 44: 53- 58.

OLIVEIRA, E. C.; PEREIRA, T. S. Euphorbiaceae – Morfologia da germinação de algumas espécies. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 9, n. 1, p. 9- 51, 1987.

OLIVEIRA, F.; GROTTA, A. S. Contribuição ao estudo morfológico e anatômico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, n. 3, p. 271-293, 1965.

OLIVEIRA, G. G. de. ***Trichoderma* spp. no crescimento vegetal e no biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* e de patógenos em sementes de cártamo (*Carthamus tinctorius*)**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

OSBAY, N.; NEWMAN, S.E.; BROWN, W.M. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. **Acta Horticola**, v. 635, p. 131-134, 2004.

PEDROSA, A.; GITAÍ, J.; SILVA, A. E. B.; FELIX, L.; GUERRA, M. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 49 – 60, 1999.

PERAZZOLLI, M.; ROATTI, B.; BOZZA, E.; PERTOT, I. *Trichoderma harzianum* T39 induces resistance against downy mildew by priming for defense without costs for grapevine. **Biological Control**. v. 58. p. 74–82, 2011.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926, v. 1.

QUEIRES, L. C. S.; RODRIGUES, L. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* (Raddi). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, p. 247-253, 1998.

REGO, S.S.; NOGUEIRA, A. C., KUNIYOSHI, Y. S. SANTOS, A. F. DOS. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperatura, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n.2, p.212-220, 2009.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: EPU, EDUSP, 1976. 207p.

ROMEIRO, R. S. **Controle biológico de doenças de plantas – procedimentos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 172 p.

SÁ, E. N. M. de. **Aroeira**. 1999. Disponível em: <http://www.geocities.com/plantas_medicinais/newpage1.htm>. Acesso em: 05 ago. 2012.

SALEH, M. A. The volatile constituents of *Schinus terebinthifolius* Rad. **Arab Gulf Journal of Scientific Research**, v. 6, n. 2, p. 219-226, 1988.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: SA - GRA, 1989. 306p.

SANTOS, P.S. Fragmentação de habitats: implicações para a conservação *in situ*. In: ESTEVES, F.A., ed. **Oecologia brasiliensis**. Rio de Janeiro: UFRJ, 1995. 616p.

SARMENTO, M.B.; VILLELA, F.A. Sementes de espécies florestais nativas do Sul do Brasil. **Informativo ABRATES**, v.20, n.1,2, p.39-44, 2010.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; SCALON FILHO, H. 2003. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, 27 (6): 753-758.

SCHLARBAUM, S. E. Cytogenetics studies of forest trees: looking to the past to meet challenges in the future. In: GUTTENBERGER, H. *et al.* **Cytogenetics Studies of Forest Trees and Shrubs – Review, Present Status, and Outlook on the future**. , Zvolen, Slovakia :Arbora Publishers, 2000. p. 9-19.

SCHNACK, B. & G. COVAS. 1947. Estudos cardiológicos en antófitas. **Haumania** 1: 32-41.

SILVA BELLO, E. P. de B. C.; ALBUQUERQUE, M. C. de F. e.; GUIMARÃES, S. C.; MENDONÇA, E. A. F. de. Germinação de sementes de *Amburana acreana* (Ducke) A. C. Sm. submetidas a diferentes condições de temperatura e de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Sementes**. v.30, n.3, p. 16–24, 2008.

SILVA, L. D.; HIGA, A. R. Planejamento e implantação de pomares de sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Coords). **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 13–39.

SNEH, B.; ICHIELEVICH-AUSTER, M. Induced resistance of cucumber seedlings caused by some non-pathogenic *Rhizoctonia* (np-R) isolates. **Phytoparasitica**. v.26, n.1, p. 27-38, 1998

SOUZA, P. A. de.; VENTURIN, N.; MACEDO, R. L. G. de.; ALVARENGA, M. I. N.; SILVA, V. F da. Estabelecimento de espécies arbóreas em recuperação de área degradada pela extração de areia. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 43-52, 2001.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20 th and 21 st centuries. **Taxon**, Utrecht, v. 49, p. 451-477, 2000.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plant**. London: Addison-Wesley, 1971. 216p.

SYBENGA, J. **Cytogenetics in Plant Breeding**. Berlin: [s. n.], 1993. p. 469.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding: a personal view. In: LELLEY, T. **Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement**. Vienna: [s. n.], 1998. p. 22-32.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Artmed, Porto Alegre. 719pp.

VALLS, J. F. M. Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais...**Jaboticabal: FCAV, 1988. P106-128.

VECHIATO, M. H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas**. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm>. Acesso em: 24 mai 2012.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Dados eletrônicos. Documentos 130. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 55p.

APÊNDICES

Artigo 2

Apêndice A – Resumo da análise de variância para a primeira contagem (P.C.)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	34	10467.2634	307.8607	7.81**
Resíduo	105	4141.2652	39.4406	
Total	139	14608.5285		

Apêndice B – Resumo da análise de variância para a porcentagem de germinação (G)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	34	53891.4103	1585.0415	46.29**
Resíduos	105	3595.6395	34.2442	
Total	139	57487.0499		

Apêndice C – Resumo da análise de variância para o índice de velocidade de germinação (IVG)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	34	2377.6067	3306.6722	7.90**
Resíduos	105	929.0655	8.8482	
Total	139	3306.6722		

Artigo 3

Apêndice D – Resumo da análise de variância para a porcentagem de contaminação

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	3283.6791	656.7358	17.47**
Resíduos	27	1014.7406	37.5830	
Total	32	4298.4197		

Apêndice E – Resumo da análise de variância para a porcentagem de germinação

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	5	477.4930	95.4986	0.57 NS
Resíduos	27	2996.1633	166.4535	
Total	32	3473.6562		

Apêndice F – Resumo da análise de variância para a porcentagem de emergência (E)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	22.9307	7.6436	0.0654 NS
Fitohormonio	1	11.4740	11.4740	0.0982 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	628.6483	209.5494	1.7939 NS
Tratamentos	7	663.0530	94.7219	
Resíduos	88	10279.3484	116.8108	

Apêndice G – Resumo da análise de variância para a primeira contagem (PC)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	516.8025	172.2675	1.9709 NS
Fitohormonio	1	37.9374	37.9374	0.4340 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	159.7328	53.2443	0.6092 NS
Tratamentos	7	714.4727	102.0675	
Resíduos	88	7691.8109	87.4069	

Apêndice H – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência (Sob.)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	1454.7714	484.9238	0.7683 NS
Fitohormonio	1	264.0350	264.0350	0.4183 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	1370.8379	456.9460	0.7240 NS
Tratamentos	7	3089.6444	441.3778	
Resíduos	88	55543.4679	631.1758	

Apêndice I – Resumo da análise de variância para o índice de velocidade de emergência (IVE)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.0003	0.0001	0.1525 NS
Fitohormonio	1	0.0003	0.0003	0.4934 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	0.0041	0.0014	2.3194 NS
Tratamentos	7	0.0047	0.0007	
Resíduos	88	0.0520	0.0006	

Apêndice J – Resumo da análise de variância para o número de folhas (N° F)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.5551	0.1850	0.3406 NS
Fitohormonio	1	0.5322	0.5322	0.9797 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	0.2569	0.0856	0.1576 NS
Tratamentos	7	1.3442	0.1920	
Resíduos	88	47.8041	0.5432	

Apêndice K – Resumo da análise de variância para o comprimento de caule (CC)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	2.9741	0.9914	1.6661 NS
Fitohormonio	1	0.0563	0.0563	0.0946 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	2.3636	0.7879	1.3241 NS
Tratamentos	7	5.3939	0.7706	
Resíduos	88	52.3598	0.5950	

Apêndice L – Resumo da análise de variância para o comprimento de raiz (CR)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	2.7332	0.9111	1.4061 NS
Fitohormonio	1	0.0536	0.0536	0.0828 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	1.1224	0.3741	0.5775 NS
Tratamentos	7	3.9093	0.5585	
Resíduos	88	57.0169	0.6479	

Apêndice M – Resumo da análise de variância para a massa fresca de folhas (MF F)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	1.5256	0.5085	0.6890 NS
Fitohormonio	1	0.6304	0.6304	0.8541 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	3.6761	1.2254	1.6602 NS
Tratamentos	7	5.8321	0.8332	
Resíduos	88	64.9511	0.7381	

Apêndice N – Resumo da análise de variância para a massa fresca de raiz (MF R)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.5156	0.1719	0.5791 NS
Fitohormonio	1	0.2247	0.2247	0.7570 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	1.4456	0.4819	1.6237 NS
Tratamentos	7	2.1859	0.3123	
Resíduos	88	26.1167	0.2968	

Apêndice O – Resumo da análise de variância para a massa fresca de caule (MF C)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	1.0929	0.3643	1.6146 NS
Fitohormonio	1	0.1742	0.1742	.7719 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	1.0131	0.3377	1.4968 NS
Tratamentos	7	2.2802	0.3257	
Resíduos	88	19.8544	0.2256	

Apêndice P – Resumo da análise de variância para a massa seca de folhas (MS F)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.6679	0.2226	1.3301 NS
Fitohormonio	1	0.0664	0.0664	0.3968 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	0.7589	0.2530	1.5112 NS
Tratamentos	7	1.4932	0.2133	
Resíduos	88	14.7296	0.1674	

Apêndice Q – Resumo da análise de variância para a massa seca de raiz (MS R)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.3866	0.1289	2.4765 NS
Fitohormonio	1	0.0307	0.0307	0.5896 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	0.1674	0.0558	1.0725 NS
Tratamentos	7	0.5847	0.0835	
Resíduos	88	4.5790	0.0520	

Apêndice R – Resumo da análise de variância para a massa seca de caule (MS C)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	0.3448	0.1149	2.2670 NS
Fitohormonio	1	0.0104	0.0104	0.2044 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	0.1936	0.0645	1.2729 NS
Tratamentos	7	0.5488	0.0784	
Resíduos	88	4.4620	0.0507	

Apêndice S – Resumo da análise de variância para a área foliar (A. Foliar)

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Microrganismos	3	643.3198	214.4399	1.4379 NS
Fitohormonio	1	52.8659	52.8659	0.3545 NS
Microrganismos x Fitohormonio	3	1737.5566	579.1855	3.8837 *
Tratamentos	7	2433.7424	347.6775	
Resíduos	64	9544.4659	149.1323	

ANEXOS

Anexo A – *S. terebinthifolius* em tamanho adulto.



Anexo B – Frutos de *S. terebinthifolius* com coloração vermelha ou em tons rosados.



Anexo C – Floração de *S. terebinthifolius*.



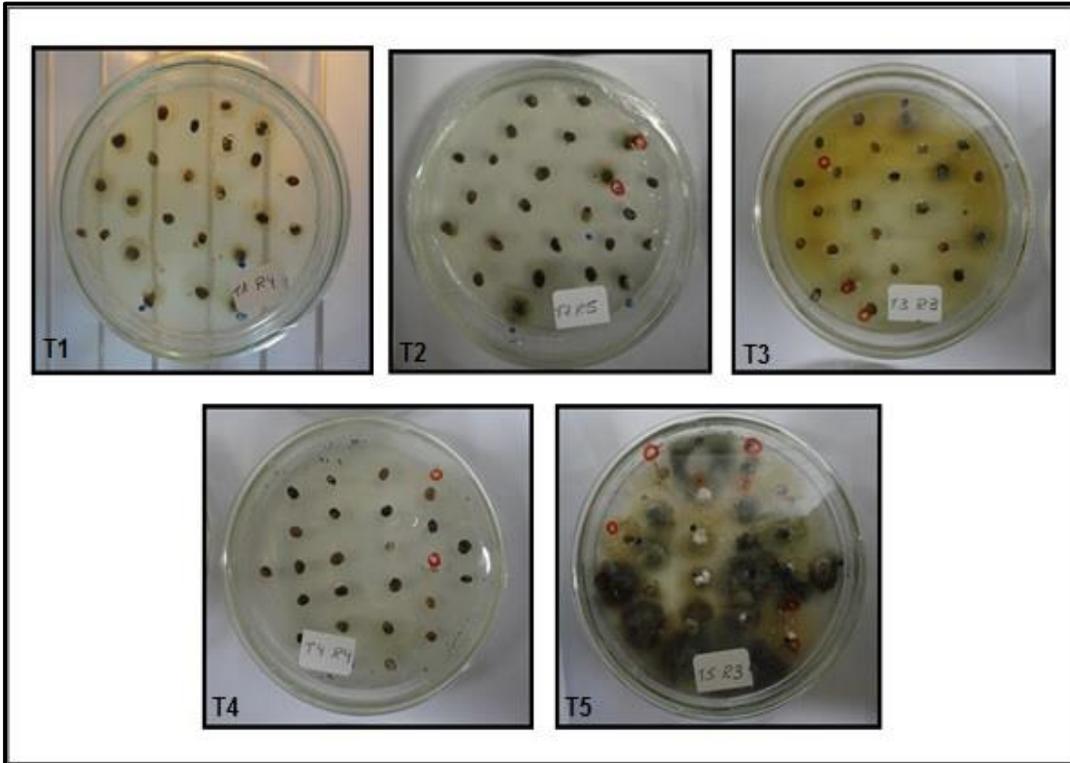
Anexo D – (A) Montagem do experimento em camara asséptica; (B) Biosystem Organized Development (BOD); (C) Sementes de *S. terebinthifolius* em caixas Gerbox sob luz e temperatura controladas.



Anexo E – Experimento na casa de vegetação: Fase inicial e fase final.



Anexo F – Efeito de isolados de trichoderma na contaminação fúngica de sementes de *S. terebinthifolius* pela técnica *in vitro* do papel celofane.



Anexo G – Crescimento vegetal de *S. terebinthifolius* entre os tratamentos com isolados de trichoderma e o tratamento controle. T9: 2B2; T10: 2B22; T11: controle (s/ trichoderma); T12: Tricodermil®; T13: 2B2 (c/ Stimulate®); T14: 2B22 (c/ Stimulate®); T15: controle (s/ trichoderma e c/ Stimulate®); T16:Tricodermil® (c/ Stimulate®).

