

# Patologia de sementes

noções básicas

Luciana Cordeiro do Nascimento  
José George Ferreira Medeiros  
organizadores

**EU**  
Editora  
UFPB

*Um grande número de fatores interferem sobre a qualidade das sementes. Entre esses fatores, destacam-se os fitopatógenos, comprometendo a sanidade e provocando grandes prejuízos econômicos e sociais. Nesse cenário, desponta a Patologia de Sementes com importância fundamental, considerando-se que 90% da espécies vegetais são propagadas por essa via.*

*Nessa publicação estão inseridos importantes aspectos relacionados à Patologia de Sementes, desenvolvendo-se desde os Aspectos Gerais relacionados a essa importante área da Fitopatologia, até o controle de doenças em sementes, objetivo prático desse estudo.*

*Destinada, a princípio, à estudantes de graduação e Pós-Graduação das Ciências Agrárias que busquem um conhecimento geral sobre as potencialidades da Patologia de Sementes e sua importância na produção de plantas cultivadas.*

ISBN 978-85-237-1125-2



9 788523 711252



**60**  
ANOS  
1955  
2015  
UFPB

UNIVERSIDADE  
FEDERAL DA  
PARAÍBA

**PATOLOGIA DE SEMENTES**  
**NOÇÕES BÁSICAS**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**

Reitora MARGARETH DE FÁTIMA FORMIGA MELO DINIZ  
Vice-Reitor EDUARDO RAMALHO RABENHORST  
Pró-Reitor PRPG ISAAC DE ALMEIDA MEDEIROS



**EDITORA DA UFPB**

Diretora IZABEL FRANÇA DE LIMA  
Supervisão de Editoração ALMIR CORREIA DE VASCONCELOS JUNIOR  
Supervisão de Produção JOSÉ AUGUSTO DOS SANTOS FILHO

Conselho Editorial BERNARDINA M<sup>te</sup> JUVENAL FREIRE DE OLIVEIRA (CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS)  
ELJANA VASCONCELOS DA SILVA ESVAEL (LINGUÍSTICA E LETRAS)  
FABIANA SENA DA SILVA (MULTIDISCIPLINAR)  
ILDA ANTONIETA SALATA TOSCANO (CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA)  
ITALO DE SOUZA AQUINO (CIÊNCIAS AGRÁRIAS)  
JOSÉ MARIA BARBOSA FILHO (CIÊNCIAS DA SAÚDE)  
MARIA DE LOURDES BARRETO GUMES (ENGENHARIAS)  
MARIA PATRÍCIA LOPES GOLDFARD (CIÊNCIAS HUMANAS)  
MARIA REGINA DE VASCONCELOS BARBOSA (CIÊNCIAS BIOLÓGICAS)

**LUCIANA CORDEIRO DO NASCIMENTO**  
**JOSÉ GEORGE FERREIRA MEDEIROS**  
organizadores

## **PATOLOGIA DE SEMENTES** **NOÇÕES BÁSICAS**

Editora da UFPB  
João Pessoa  
2015

#### Direitos autorais 2015 - Editora da UFPB

Efetuada o Depósito Legal na Biblioteca Nacional, conforme a Lei nº 10.994, de 14 de dezembro de 2004.

#### TODOS OS DIREITOS RESERVADOS À EDITORA DA UFPB

É proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio. A violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610/1998) é crime estabelecido no artigo 184 do Código Penal.

O conteúdo desta publicação é de inteira responsabilidade do autor.

Impresso no Brasil. *Printed in Brazil.*

Projeto Gráfico EDITORA DA UFPB  
Editoração Eletrônica MÔNICA CÂMARA  
Design de Capa MÔNICA CÂMARA  
Ilustrações da Capa/  
Contracapa PAULO HENRIQUE PEREIRA LIMA

#### Catálogo na fonte:

Biblioteca Central da Universidade Federal da Paraíba

P312 Patologia das sementes: noções básicas / Luciana Cordeiro do Nascimento, José George Ferreira Medeiros, organizadores. – João Pessoa: Editora da UFPB, 2015. 196 p.  
ISBN: 978-85-237-1125-2  
1. Sementes - patologia. 2. Patógenos em sementes - detecção - controle. 3. Sementes infectadas - principais doenças. I. Nascimento, Luciana Cordeiro do. II. Medeiros, José George Ferreira.

CDU: 631.53.01/02

#### EDITORA DA UFPB

Cidade Universitária, Campus I s/n  
João Pessoa - PB  
CEP 58.051-970  
editora.ufpb.br  
editora@ufpb.edu.br  
Fone: (83) 3216.7147

Editora filiada à

  
Associação Brasileira  
das Editoras Universitárias

Livro aprovado para publicação através do Edital da Chamada Interna PRPG/UFPB Nº 10/2013, financiado pelo Programa de Apoio a Produção Científica - PRÓ-PUBLICAÇÃO DE LIVROS da Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

## Apresentação

Este livro é o resultado de atividades desenvolvidas na disciplina de Patologia de Sementes. A disciplina reuniu alunos dos níveis de mestrado e doutorado pertencentes ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba.

A qualidade e integridade sanitária das sementes nos últimos anos tem sido alvo de diversos estudos devido a sua importância nos sistemas agrícolas, considerando-se que uma semente de qualidade sanitária poderá acarretar perdas inaceitáveis. O estabelecimento de padrões sanitários é o primeiro passo para que a produção de sementes com uma maior qualidade sanitária, gerando aumento de produtividade e redução de custos nas lavouras, além de menor impacto ambiental pela menor utilização de defensivos agrícolas.

A Patologia de Sementes é de extrema importância quando se trata de doenças de plantas se levarmos em consideração que a maior parte das plantas cultivadas são propagadas via sementes e que as mesmas são potenciais veículos de disseminação de patógenos podendo levar a grandes perdas na agricultura, causando prejuízos ambientais, econômicos e sociais.

O estudo de patógenos em sementes e seu controle são considerados como requisitos fundamentais para a implantação segura de uma nova área agrícola evitando-se perdas desde o início do ciclo produtivo uma baixa qualidade da semente e garantindo uma maior produção e consequente produtividade. A introdução precoce de patógenos por sementes favorece a presença do inóculo desde o início do ciclo de vida da planta, quando esta é mais suscetível e existe uma maior dificuldade de controle.

As informações contidas nesse livro, sintetizadas de forma simples e objetiva, abordam aspectos gerais relacionados a

problemática da patologia de sementes e sua importância dentro de um sistema agrícola moderno e convencional, sendo de interesse para estudantes e profissionais da área agrônômica e fitopatológica.

**Luciana Cordeiro do Nascimento**

Professora Doutora de Fitopatologia/UFPB/CCA

**José George Ferreira Medeiros**

Doutor em Agronomia/UFPB/PPGA

## Sumário

<b>Patologia de sementes: noções básicas .....</b>	<b>09</b>
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<i>José George Ferreira Medeiros</i>	
<b>Métodos de detecção de patógenos em sementes .....</b>	<b>13</b>
<i>Aderson Costa Araujo Neto</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Fatores que afetam a infecção de patógenos em sementes.....</b>	<b>47</b>
<i>Carmem Valdenia da Silva Santana</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Causas abióticas de danos em sementes .....</b>	<b>71</b>
<i>Daniela Vieira dos Anjos Sena</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Deterioração de sementes por fungos de armazenamento .....</b>	<b>89</b>
<i>Dayana Silva de Medeiros</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Sobrevivência do patógeno na semente .....</b>	<b>103</b>
<i>Wilza Carla Oliveira de Souza</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Principais doenças causadas por sementes infectadas .....</b>	<b>115</b>
<i>José George Ferreira Medeiros</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	
<b>Micotoxinas produzidas por patógenos em sementes.....</b>	<b>133</b>
<i>Kedma Maria Silva Pinto</i>	
<i>Luciana Cordeiro do Nascimento</i>	

**Mecanismos de defesa da planta hospedeira  
contra fitopatógenos.....** 157

*Lidiany Aparecida Barbosa*

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

**Controle de patógenos em sementes: métodos culturais,  
químicos e biológicos.....** 177

*Daniel Ferreira*

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

## Patologia de sementes: noções básicas

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

*José George Ferreira Medeiros*

A qualidade da semente é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade das sementes de originar plantas de alta produtividade. A qualidade sanitária compreende a condição da semente quanto à presença e grau de incidência de microorganismos e insetos (POPINIGIS, 1985). Contudo, a boa qualidade de sementes produzidas, é um fator de extrema importância para o sucesso da cultura, especialmente em novas áreas produtoras (BLACK, 2000). A boa qualidade da semente representa um dos elementos para o sucesso de uma lavoura na qual todas as práticas agrícolas, incluindo preparo do solo, tratamentos culturais, controle fitossanitário não serão eficazes se o produtor não usar sementes de boa qualidade.

Uma semente de boa qualidade física e sanitária é um aspecto a ser considerado em larga escala devido a problemática da presença de microrganismos causando perdas na agricultura e a possibilidade de transmissão e disseminação de doenças, entre diferentes regiões, desde o início do ciclo produtivo, podendo colocar em risco a produção. Devido a semente ser um insumo básico e responsável pela propagação da maioria das espécies vegetais cultivadas a definição e estabelecimento da qualidade da mesma apresenta-se como uma estratégia promissora evitando danos e prejuízos. Esses prejuízos podem ser tanto para os produtores de sementes como também para os produtores e consumidores de grãos.

A presença de organismos causadores de doenças em espécies cultivadas pode permitir a ocorrência e avanço de epidemias através de patógenos transmitidos via sementes e, portanto, o conhecimento da relação parasitária entre hospedeiro e patógeno é de grande relevância no sentido de possibilitar um conhecimento que irá gerar um método adequado de manejo. Nesse sentido, o método deverá garantir a sustentabilidade dos cultivos com menos prejuízos causados por esses agentes, minimizando os reflexos negativos que a associação patógeno-semente poderá proporcionar. Essa associação se traduz em uma forma eficiente de disseminação e introdução de patógenos em novas áreas de cultivo.

De modo geral, as sementes podem abrigar e transportar qualquer tipo de microrganismo, principalmente os fungos, patogênicos ou não, constituindo a principal causa da deterioração e perdas na produção. Por isso, a detecção precoce desses agentes se constitui de uma importante estratégia dentro do manejo de doenças originadas pela presença de patógenos nas sementes. Para a detecção desses agentes existem testes específicos que podem indicar a ausência ou presença de patógenos ou quantificar o inóculo nas sementes.

Os principais danos que os microorganismos causam são a morte de plântulas pré e pós-emergência, podridões radiculares, infecção da parte aérea com reflexos sobre a qualidade das sementes, o que pode gerar perda de vigor, germinação e apodrecimento. O inóculo presente na semente poderá resultar em aumento progressivo de uma dada doença no campo, podendo com isso reduzir o valor comercial da cultura. Entretanto, os fungos de armazenamento, como por exemplo, do gênero *Aspergillus*, além destes danos às sementes, ainda produzem micotoxinas que podem causar intoxicações alimentares (PINTO, 2001). O inóculo presente na semente também pode resultar em aumento progressivo de uma dada doença no campo, podendo com isso reduzir o valor comercial da cultura.

Alguns patógenos causam perdas no campo, restringindo sua ação sobre a redução do rendimento, sem afetar a viabilidade da semente. Outros, além da redução no rendimento das sementes, podem interferir sobre a germinação e vigor das mesmas. Como ferramenta para evitar a entrada de patógenos em sementes, os métodos de detecção podem também impedir a disseminação e auxiliar no tratamento adequado para eliminar e/ou reduzir a ação do patógeno. Outro ponto que deve ser considerado é a semente como fonte de sobrevivência do inóculo, levando-se em consideração que os patógenos podem sobreviver na mesma desde a colheita até o plantio.

Aspectos ambientais tais como umidade, temperatura, composição dos substratos de plantio, manejo cultural, nível de resistência do hospedeiro, variabilidade e agressividade dos patógenos, dentre outros, deverão ser considerados para o estabelecimento de infecções que poderão levar a ocorrência de epidemias e podem sofrer variações resultantes do hospedeiro, do patógeno e do ambiente. O clima quente e úmido que antecede a colheita pode propiciar aparecimento de fungos nos grãos, alguns deles prejudicando a qualidade, afetando o poder germinativo e causando morte prematura das plantas (PINTO, 2002). Para que ocorra a transmissão de patógenos via sementes é essencial que uma relação parasitária estável entre o patógeno e o hospedeiro seja estabelecida garantindo assim um risco em potencial para doenças causadas por esses microrganismos.

O fato de controlar doenças na fase que antecede à implantação de uma lavoura ou por ocasião da semeadura faz com que o tratamento de sementes seja considerado na agricultura moderna uma das medidas de controle mais recomendadas, possibilitando um menor uso de defensivos químicos e, conseqüentemente, evitando problemas de poluição do ambiente. O uso de sementes com a qualidade sanitária garantida, além dos demais atributos fisiológicos e morfológicos é a forma mais simplificada e econômica de reduzir custos de produção e assegurar a sustentabilidade dos cultivos de interesse geral (MACHADO, 2010).

## REFERÊNCIAS

- BLACK, R. J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectivas. In: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". **Soja: Tecnologia de produção**. Piracicaba: FEALQ, 2000. p.1-17.
- MACHADO, J. C. Benefícios da sanidade na qualidade das sementes. In: WORKSHOP BRASILEIRO SOBRE O CONTROLE DE QUALIDADE DE SEMENTES, 3., 2010, Uberlândia. **Resumos...**Uberlândia: UFU, 2010. p. 18-19.
- PINTO, N. F. J. A. Controle químico de fungos associados a sementes de sorgo e proteção contra fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n. 5, p.723-728, 2002.
- PINTO, N. F. J. A. Tratamento químico de grãos de sorgo úmidos visando o controle de fungos de armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 55-59, 2001.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985, 289p.

## Métodos de detecção de patógenos em sementes

*Aderson Costa Araujo Neto  
Luciana Cordeiro do Nascimento*

As sementes de modo geral podem abrigar e transportar microrganismos ou agentes patogênicos de todos os grupos taxonômicos, causadores e não causadores de doenças. Do ponto de vista ecológico, esses agentes podem ser agrupados em organismos de campo, onde predominam espécies fitopatogênicas, e organismos de armazenamento, com pequeno número de espécies que deterioram as sementes nesta fase (NEERGAARD, 1983).

A associação patógeno-semente é uma das formas que favorecem a sobrevivência e a disseminação destes agentes, já que para as sementes não existem fronteiras (NEERGARD, 1977; TANAKA, 1982; MACHADO, 1988 e WETZEL, 1988). Esta associação é importante por diversas razões: o patógeno sobrevive por mais tempo, mantendo sua viabilidade e características; é facilmente disseminado, podendo ser introduzido em novas áreas e há alta probabilidade do patógeno infectar a plântula em desenvolvimento após a semeadura, causando doenças na fase inicial da cultura (MENTEN, 1995).

Os fungos englobam o maior número de espécies associadas às sementes, seguidos pelas bactérias, com um número expressivo de representantes e os vírus e nematóides, em menor número. Dentre os fungos fitopatogênicos, a maioria pode ser transmitida pelas sementes de seus hospedeiros (NEERGAARD, 1977; LUCCA FILHO et al., 1999; BRASIL, 2009).



O conhecimento prévio das formas de interação do inóculo de patógenos com sementes é importante em patologia de sementes, dentre vários aspectos, para a escolha de métodos de detecção destes agentes.

De modo geral, o transporte de microrganismos por sementes em um dado lote pode ocorrer de três maneiras. No primeiro caso, o microrganismo, encontra-se em mistura com as sementes, fazendo parte da fração impura do lote. Fazem parte desta fração: fragmentos vegetais, sementes de plantas invasoras e partículas do solo que podem, todos, ser portadoras de micélio dormente, corpos frutíferos e esporos de fungos, cistos ou galhas de nematóides, células bacterianas e partículas de vírus, escleródios ou estromas fúngicos. Uma segunda maneira pela qual certos patógenos podem se associar e ser(em) transportados pelas sementes é por adesão passiva à superfície destas. A terceira forma de associação de microrganismos com sementes é a presença do inóculo nos tecidos das sementes, seja em estruturas superficiais ou mais interno no embrião (SANTOS et al., 1996; SANTOS et al., 2000). Essa é a forma de interação e transporte mais comum entre os agentes transmitidos por sementes. Apesar da distinção que se faz entre esses três tipos de interação de inóculo com as sementes, um mesmo patógeno pode estar presente em um lote, sob uma ou mais dessas formas de associação (MACHADO, 1988).

Quando os patógenos encontram-se aderidos à superfície das sementes, ou com elas misturados, diz-se que a semente encontra-se infestada; quando o patógeno estiver localizado no interior da semente, a mesma estará infectada (AGARWAL e SINCLAIR, 1987).

Existem vários testes que podem ser empregados para caracterizar o estado sanitário das sementes. A escolha do método a ser utilizado está na dependência do patógeno a ser detectado, da infra-estrutura disponível no laboratório, da espécie de semente a ser testada, do próprio objetivo do teste e do grau de treinamento do

pessoal envolvido com a interpretação do referido teste (NEERGAARD, 1973; ISTA, 1976).

Segundo Machado (1988), os testes de sanidade de sementes têm como fundamento fazer com que os patógenos, uma vez associados a essas estruturas, sejam direta ou indiretamente detectados, permitindo a sua identificação rápida e segura. O objetivo central de um teste de sanidade é informar os tipos, a frequência e o potencial de ocorrência de agentes fitopatogênicos em uma determinada amostra de sementes.

Os objetivos dos testes sanitários de sementes estão relacionados com a finalidade dos mesmos, abrangendo desde a obtenção de cultivares até o sistema de produção de sementes. A técnica a ser utilizada dependerá, invariavelmente, da importância do patógeno transportado pela semente e do potencial que este patógeno possui para estabelecer doenças nos campos de produção (HENNING, 2005).

Por outro lado, Ball e Reeves (1992) listam seis requerimentos principais para um teste de sanidade de sementes: ser específico, sensível, rápido, simples, econômico e confiável.

O teste de sanidade deve fornecer informações confiáveis acerca da qualidade sanitária da semente destinada à semeadura ou aos serviços de quarentena. Os resultados, além de serem reproduzíveis, devem estar disponíveis em curto espaço de tempo, mantendo, dentro dos limites aceitáveis, os custos de mão de obra e dos equipamentos (LUCCA FILHO, 1987).

O teste de sanidade é importante por inúmeras razões, entre as quais: **(1)** os patógenos transmitidos por sementes podem servir de inóculo inicial para o desenvolvimento progressivo da doença no campo, reduzindo o valor comercial da cultura; **(2)** os lotes de sementes importadas podem introduzir patógenos ou patótipos em áreas isentas, fazendo com que testes de quarentena e de certificação para o comércio internacional possam ser necessários; **(3)** pode

elucidar a avaliação das plântulas e as causas de uma baixa germinação e de baixo vigor em laboratório ou no campo, complementando assim, o teste de germinação; **(4)** pode indicar a necessidade e orientar o tratamento de sementes visando ao controle de doenças originadas com as sementes; **(6)** indicar a presença de fungos de armazenamento e/ou toxigênicos e **(7)** agregar valor ao lote de sementes (HENNING, 1994; MACHADO, 2000; BRASIL, 2009)

## **1 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE PATÓGENOS EM SEMENTES**

Existem vários testes que podem ser aplicados para a detecção de patógenos associados às sementes. Estes testes variam quanto à sensibilidade e objetivo, se que alguns métodos exigem incubação das sementes, enquanto que outros permitem a identificação de patógenos através de descolorações e anormalidades do tegumento das mesmas, sem prévia incubação (LUCCA FILHO, 1987).

Vale salientar que um mesmo agente pode ser detectado por diferentes métodos, havendo diferenças entre eles em relação a sensibilidade, custos, complexidade de execução, e objetivos do teste etc.

### **1.1 Métodos de detecção de Fungos em sementes**

#### **1.1.1 Inspeção visual, Inspeção direta ou Método da semente seca**

Este teste pode ser conduzido juntamente com a análise de pureza. Assim, considera-se a fração correspondente aos pesos indicados na análise de pureza para a espécie em questão.

As porções de sementes devem ser submetidas ao peneiramento com malha de tamanhos variados, coletando as frações obtidas em

separado e dispendo-as em uma camada simples sobre superfície limpa, previamente desinfestada, e sob luminosidade suficiente para observações dos componentes fracionados a olho nu e/ou com auxílio de lupas à resolução de 10 a 40 X (BRASIL, 2009).

A avaliação é feita com a contagem do número de sementes com sintomas/sinais típicos dos agentes patogênicos e as unidades de cada tipo de inóculo, caso de escleródios, estromas e agregados de frutificações reconhecidas, presentes na amostra. Os resultados são expressos em número de estruturas fúngicas ou de sementes com sintomas do patógeno por peso.

Sementes secas podem mostrar sintomas de diferentes intensidades, devido a necroses ou descolorações produzidas por microrganismos, como também, podem ser detectados corpos de frutificação, esporos ou células bacterianas aderidas à superfície das sementes.

Este método pode ser aplicado para um grande número de patógenos e espécies de sementes, desde que o patógeno envolvido produza sobre a semente algum indicativo característico de sua presença.

O método da semente seca ou inspeção visual permite obter uma rápida informação sobre o estado sanitário das sementes, não requerendo muitos equipamentos, além de poder ser conduzido juntamente com a análise de pureza sem muito trabalho adicional. É um teste indispensável para a detecção de esclerócios de fungos e galhas de nematóides, complementando as informações obtidas a partir dos testes com incubação das sementes.

Entretanto, somente patógenos causadores de sintomas facilmente visíveis externamente são detectados através deste método. Deste modo, os microrganismos carregados por sementes, localizados no interior das mesmas, não serão detectados, a menos que produzam sintomas e/ou sinais típicos no tegumento. Além disso, não se tem informação sobre a viabilidade do patógeno, sendo necessária a

condução de outro método para a obtenção destes dados (LUCCA FILHO, 1987; BARBA, 2001).

### **1.1.2 Exame da suspensão da lavagem de sementes ou Método da lavagem da semente**

Neste exame utilizam-se 400 sementes (4 repetições de 100 sementes) para a análise. Cada porção é colocada em frascos cônicos de 125 mL e adicionada água destilada no volume suficiente para cobrir 2 cm acima da camada superior das sementes. Em seguida, cada porção é submetida à agitação mecânica por 10 minutos, a fim de remover esporos e outras estruturas aderidas à superfície das sementes. A suspensão resultante da agitação é distribuída em tubos de centrífuga. Este material será centrifugado por 15 minutos a 3.000 rpm. Terminada a centrifugação, elimina-se cuidadosamente o sobrenadante e a partir do sedimento prepara-se lâminas para exame microscópico.

A avaliação é feita a partir da observação das lâminas ao microscópio ótico, percorrendo, com auxílio do cursor, todo o campo visual ótico, contando as estruturas típicas do(s) microrganismo(s) alvo(s) do teste. Recomenda-se o exame (leitura) de no mínimo 5 lâminas para cada repetição de 100 sementes. Os resultados são referenciados em número de esporos/semente ou por 100 sementes (BRASIL, 2009).

O método da lavagem das sementes é adequado para contaminações que estão presentes exclusivamente na superfície das sementes (LUCCA FILHO, 1987). Assim, é um método aplicável para fungos que frutificam e esporulam na superfície das plantas infectadas ao final do ciclo e cujo inóculo pode aderir-se à superfície das sementes por ocasião da colheita e fase posteriores. São exemplos: *Pyricularia oryzae* Cavara (1891) em arroz; *Peronospora manshurica* (Naumov) Syd. (1923) em soja; *Tilletia caries* (DC.) Tul. & C. Tul. (1847)

em trigo; *Ustilago tritici* (Pers.) C.N. Jensen, Kellerm. & Swingle em cereais (BRASIL, 2009).

Segundo Henning (2005), é um método rápido e barato, pois não necessita de equipamento especial nem de incubação. As principais limitações são que só pode ser usado para esporos que aderem fracamente na parte externa da semente, o teste de viabilidade dos esporos é necessário e a sensibilidade do teste deixa a desejar.

### **1.1.3 Incubação em Substrato de Papel ou Método do Papel de Filtro ("blotter test")**

Neste teste são avaliadas 400 sementes (4x100, 8x50 ou 16x25), as quais são dispostas individualmente sobre camada de papel de filtro umedecido (3 discos sobrepostos ou 2 folhas de papel mata borrão), mantendo-as distanciadas 1-2 cm uma das outras, dependendo do tamanho de sua maior dimensão, no interior de recipientes, como placas de Petri, gerboxes ou equivalentes. As placas, ou outros recipientes, devem conter tampas transparentes que permitem a passagem integral de luz incidente (BRASIL, 2009).

Os recipientes com as sementes são dispostos sob lâmpadas de luz fluorescente branca, a distância de 30-40 cm, em câmaras com fotoperíodo de 12 horas pelo período de 7-8 dias a temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

As sementes são examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio a resolução de 30-80X, pela ocorrência de frutificações típicas do crescimento de fungos. Conidióforos com conídios e corpos de frutificação (e.g., picnídios, acérvulos, peritécios) formados nas sementes são características importantes para identificar espécies fúngicas. Observações de lâminas ao microscópio ótico são, algumas vezes, necessárias para confirmar a identidade dos fungos em nível de espécie.

Os resultados devem ser expressos em percentual de ocorrência dos fungos com duas casas decimais.

Este método apresenta uma série de vantagens e algumas desvantagens. Dentre as vantagens destacam-se a combinação dos princípios *in vivo* e *in vitro*, permitindo a observação dos fungos que se desenvolvem no hospedeiro *in situ*, sem perturbação, numa condição natural de crescimento (NEERGAARD, 1983); basicamente, o método do papel de filtro é uma combinação da câmara úmida, da fitopatologia, com o teste de germinação da tecnologia de sementes e pode ser empregado para todos os tipos de sementes. Como desvantagens, neste método fungos de crescimento rápido podem encobrir os de desenvolvimento mais lento, de tal forma que a incidência pode ser subestimada, o teste não detecta patógenos importantes como *Perenospora manshurica*, *Plasmopara halstedii* e outros parasitas obrigatório e a contaminação com saprófitas (*Rhizopus* spp., *Mucor* sp., *Aspergillus* spp., *Tricoderma* spp., *Cladosporium* spp., entre outros) pode dificultar a análise (NEERGAARD, 1973; REIS et al., 1999; HENNING, 2005).

Para reduzir o processo de germinação das sementes de espécies de dicotiledôneas, durante o período de incubação, o substrato de papel pode ser umedecido em solução de sal de 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacetato de sódio) a 5 ppm de concentração. No caso de monocotiledôneas e algumas dicotiledôneas com sementes menores, a técnica do congelamento rápido é utilizado em substituição ao 2,4-D, por ser um produto tóxico, tanto para laboratoristas, quanto aos fungos, quando utilizado em altas concentrações (LIMONARD, 1968; NEERGAARD, 1973).

Quando o congelamento é recomendado, os recipientes com as sementes devem ser mantidos em câmara incubadora pelo período inicial de 24 horas sob temperatura de  $20 \pm 2$  °C e, em seguida em congelador (-20 °C) por 24 horas, e finalmente retornadas a incubadora a  $20 \pm 2$  °C sob luz fluorescente branca,

tal como descrito anteriormente, por mais 5 dias. Devido ao rápido congelamento, haverá a formação de cristais de gelo, os quais romperão a estrutura celular, matando a semente (LUCCA FILHO, 1987).

A percentagem de infecção obtida com esta técnica é bastante próxima à observada em meio de cultura, especialmente devido à falta de resistência do hospedeiro. Esta técnica é bastante útil, especialmente para sementes de forrageiras e cereais, facilitando a leitura e favorecendo o desenvolvimento de certos fungos como *Drechslera*, *Fusarium*, *Septoria*, *Phoma*, entre outros.

Atualmente, este método é de uso rotineiro em laboratórios de análise por preencher os requisitos de rapidez, simplicidade, baixo custo e permitir o levantamento da microflora associada à diversos tipos de sementes, quantificação do inóculo e avaliação preliminar da germinação (TANAKA, 2001).

#### **1.1.4 Plaqueamento em meio de cultura agarizado ou Método da placa com ágar**

Neste teste também são avaliadas 400 sementes (4x100, 8x50 ou 16x25). As sementes, inicialmente, em solução de hipoclorito de sódio 1%, ou equivalente, durante 3 minutos; e em seguida, após secagem rápida em papel de filtro esterilizado, distribuídas assepticamente sobre o meio de cultura a uma distância de 2-4 cm, dependendo do tamanho das sementes, 5-10 sementes por placa de Petri, diâmetro de 9 cm (BRASIL, 2009). Existem vários meios de cultura, porém, os mais utilizados são o BDA (extrato de batata-dextrose-ágar), MEA (extrato de malte-ágar) e AA (ágar - água) (MATHUR e SINGH, 1988; HENNING, 2005).

As placas, com sementes, são colocadas em câmara de incubação, sob luz fluorescente branca a temperatura de  $20 \pm 2$  °C pelo período de 7-8 dias.

O exame inicial deve ser feito a olho nu observando-se a formação e o tipo de colônias desenvolvidas em volta das sementes. Cor, textura, morfologia geral e a presença de corpos de frutificação podem ser indicativos para o reconhecimento de espécies fúngicas. As sementes devem ser também examinadas individualmente ao microscópio estereoscópico, observando-se a formação de estruturas típicas de fungos.

Os resultados devem ser expressos em percentual de ocorrência dos fungos com duas casas decimais.

Este método é geralmente empregado, quando a incubação em papel de filtro não oferece condições adequadas para o crescimento vegetativo e a esporulação de fungos e para a detecção de patógenos que produzem colônias características em meio de cultura (LUCCA FILHO, 1987; HENNING, 2005).

Geralmente, fungos de crescimento rápido impedem a identificação de fungos de crescimento mais lento, assim como ocorre no Método do Papel de Filtro. Além disso, podem surgir mais de uma colônia a partir da mesma semente, o que torna difícil a identificação dos fungos, pois pode mascarar e até mesmo inibir o crescimento da outra.

Este método pode ter sua prática prejudicada na detecção de patógenos, quando ocorre a germinação das sementes, dificultando a identificação dos fungos associados às mesmas, comprometendo a validade do método pela possibilidade de contaminações secundárias entre as sementes e o exterior do recipiente. Para tanto, a inibição ou retardamento do processo de germinação das sementes de espécies de dicotiledôneas pode ser realizada com o uso de 2,4-D (sal de sódio) na concentração de 5 ppm. Para algumas espécies de sementes, tanto de dicotiledôneas como monocotiledôneas, o uso da restrição hídrica, por meio de manitol, KCl ou equivalente, pode ser recomendado para este fim (COUTINHO et al, 2001; MACHADO et al., 2007).

Em alguns casos, o meio básico agarizado pode sofrer modificações em sua composição, tornando o método seletivo ou semi-seletivo. Exemplos são: meio BDA com quitozina para detecção de espécies de *Fusarium*; meio ágar (BDA) com azul de bromofenol e antibióticos (estreptomicina e penicilina) para detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em feijão e soja e meio ágar salino para detecção de espécies de *Aspergillus* e de *Penicillium* em sementes armazenadas (ITO et al., 1992).

Este teste, se comparado com o teste em papel de filtro, é um teste mais caro e mais trabalhoso, pois envolve a utilização e esterilização do meio de cultura. Para Richardson (1985), o método de plaqueamento em meios de cultura é, provavelmente, o mais confiável para a detecção da maioria dos fungos transmitidos pela semente. Apesar de ser mais custoso e demorado que o teste do papel-filtro, a rapidez com que se pode avaliar uma amostra recompensa essa desvantagem.

### 1.1.5 Fluorescência sob luz negra

Neste procedimento são analisadas 400 sementes (4x100, 8x50 ou 16x25). As sementes são distribuídas sobre discos de papel de filtro umedecidos, ou outro papel neutro absorvente, de forma semelhante à descrita no Método do Papel de Filtro.

Os recipientes com sementes são mantidos inicialmente em ambiente a 18 °C pelo período de três dias e em seguida a -18 °C por 5 horas e depois em incubadora a 28 °C por mais 4-7 dias na ausência de luz.

O exame das sementes é feito sob luz negra (NUV - screened lamp de 366nm, mínimo de 100 W), observando as seguintes características: 1) Mancha amarelo-enzofre fluorescente, diâmetro de 1 a 2 cm no papel de filtro ao redor das sementes e manchas menores em volta das raízes; no estágio inicial há formação de halo

fluorescente com coloração azul claro; 2) Micélio com coloração amarelo-enzofre fluorescente ou gotículas de reduzido tamanho (1mm de diâmetro) na superfície das sementes e 3) Manchas esparsas de coloração amarelo opaco que desaparecem na medida da seca do papel ou apresentando coloração azul intensa no papel sem a característica de fluorescência amarelo-enzofre não devem ser consideradas.

### **1.1.6 Exame de embriões ou Método da contagem de embriões**

Este método é comumente utilizado para detecção de *Ustilago* sp. em sementes de cereais. É recomendado o uso de quatro sub-amostras de 100 gramas de sementes para esta análise.

Inicialmente, as sementes são pré-condicionadas separadamente em porções de 100g em 1 L de solução de hidróxido de sódio 5%, ou hidróxido de potássio, contendo 0,15g de trypan blue, por 22-24 horas a 20-22 °C. No dia seguinte, lava-se a amostra em água levemente aquecida sob agitação para separar os embriões dos demais tecidos da semente. Em seguida, verter-se o material sobre três peneiras superpostas (3,5, 2,0 e 1,0mm), isolando os embriões dos endospermas. Logo, transfere-se os embriões para um funil de Baermanm, contendo 200mL de uma mistura de ácido láctico, glicerol e água (1:2:1), favorecendo a separação e descarte do restante de endosperma ou detritos que ainda permaneçam aderidos aos embriões. Por fim, coloca-se os embriões de cada repetição em beakers de 250mL contendo previamente uma mistura de ácido láctico e glicerol (1:2) e daí aquecidos até a fervura por 2 minutos. Uma vez adequadamente isolado, os embriões são examinados individualmente com o auxílio de um microscópio estereoscópico (BRASIL, 2009).

São considerados infectados os embriões que apresentarem em seu interior hifas de micélio fúngico. Estas hifas do micélio são facilmente distinguíveis pelo fato de permanecerem com coloração azul adquirido do corante (LUCCA FILHO, 1987).

Este método é grandemente utilizado para a detecção do carvão (*Ustilago tritici*) em trigo e cevada, fornecendo resultados altamente correlacionados com a infecção no campo.

Segundo Henning (2005), uma das limitações deste teste é que a presença do fungo no embrião nem sempre resulta em infecção nas plântulas. Cultivares resistentes podem apresentar este tipo de reação. Além disso, poucos patógenos podem ser detectados por este método.

### **1.2 Métodos de detecção de Bactérias em sementes**

Diversas bactérias fitopatogênicas alcançam a semente e algumas vezes o embrião via funículo. O funículo, todo ou em parte, sofre abscisão, deixando uma cicatriz, o hilo, que é geralmente a parte da semente mais permeável à água e juntamente com a micrópila proporcionam um meio de entrada para patógenos bacterianos. Rachaduras e outros ferimentos de origens diversas nas sementes constituem, também, vias importantes para a penetração e o estabelecimento interno de fitobactérias. A penetração ocorre ainda através das flores, da invasão pelo sistema vascular ou durante o desenvolvimento e maturação de frutos e vagens. Nas sementes, as bactérias se encontram na fase latente, em baixas populações tendo sua multiplicação paralisada. Muitas das bactérias fitopatogênicas permanecem viáveis pelo mesmo período de viabilidade das sementes. A semente infectada pode ou não apresentar sintomas, sendo que na maioria dos casos não apresenta (VALARINI, 1995).

### 1.2.1 Plantio de sementes em substrato esterilizado

Neste método utiliza-se 1.000 sementes para análise, as quais são semeadas em substrato esterilizado (areia, solo, vermiculita e outros) e incubadas em câmara de crescimento a 25<sup>o</sup>-28<sup>o</sup>C.

A avaliação é realizada a partir da emergência das plântulas, observando-se a ocorrência ou não de sintomas característicos da infecção pelo patógeno alvo. A taxa de infecção é calculada com base no número de plântulas emergidas.

Para a confirmação dos resultados realiza-se o isolamento da bactéria e sua posterior identificação.

Este método permite determinar a porcentagem de transmissão do patógeno associado às sementes para a planta que ela originará, entretanto, não permite a detecção de bactérias em sementes não germinadas nem naquelas infectadas por uma quantidade de células bacterianas inferior à necessária para que a infecção se manifeste. É simples e não requer equipamento ou pessoal com treinamento específico, exceto para reconhecimento dos sintomas, detectando somente células viáveis e patogênicas, porém demorado, de baixa sensibilidade, utiliza grande espaço físico e é bem adaptado para organismos normalmente presentes em relativamente alto nível populacional ou porcentagem de sementes contaminadas (1 a 10%). Nesta forma de detecção existe a possibilidade de ocorrência de dispersão e disseminação secundária, o que pode levar a valores superestimados. Portanto, um método de baixa eficiência e pouco viável para ser realizado rotineiramente.

### 1.2.2 Inoculação em plantas susceptíveis

Este teste é realizado com 1.000 sementes, o qual consiste inocular plantas suscetíveis com extrato obtido pela imersão de

sementes em água, solução salina ou tampão, seguida da observação dos sintomas desenvolvidos.

A avaliação é realizada observando-se a ocorrência ou não de sintomas característicos da infecção pelo patógeno alvo e para a confirmação dos resultados realiza-se o isolamento da bactéria e sua posterior identificação.

É uma técnica de fácil execução e permite a detecção somente de células viáveis, porém é demorada e exige a manutenção de plantas em estágio de desenvolvimento recomendado para a inoculação e sob condições ambientes controladas. É um método não quantitativo.

A utilização do inóculo presente nas sementes para inoculação em plantas indicadoras auxilia na identificação de bactérias e vírus (HENNING, 2005).

Um exemplo prático deste método, é a inoculação de material oriundo de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) infectadas com *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em plantas indicadoras, mostrando-se um método bastante eficiente para a detecção destes microorganismos (SCHAAD, 1987; RODRIGUES NETO, 1988; VALARINI, 1995). A reação positiva é observada através de grandes lesões, seguida de necrose sistêmica. No caso de viroses, apesar do grande número de plantas indicadoras já conhecidas, o teste é pouco usado em análises de rotina, principalmente pela dificuldade na obtenção de plantas indicadoras (LUCCA FILHO, 1987).

### 1.2.3 Plaqueamento em meio seletivo e semi-seletivo

Nos últimos anos, têm sido numerosas as tentativas para encontrar meios para um rápido isolamento e identificação das bactérias fitopatogênicas. A detecção de pequenos números de células bacterianas, interna ou externamente à semente, tem sido difícil por causa do número relativamente grande de bactérias taxonomicamente relacionadas aos patógenos que interferem com o crescimento dos

mesmos em meios de cultura. Isso tem levado os pesquisadores a desenvolverem meios seletivos e semi-seletivos para a detecção de patógenos bacterianos, principalmente, em sementes, quando o nível de infecção é baixo (VALARINI, 1995).

O número de sementes utilizado nesta técnica é variável com a cultura. Consiste em plaquear sementes ou o extrato obtido pela sua imersão em água, solução salina ou tampão, em meios seletivos ou semi-seletivos (BEHLAU et al., 2006; TEBALDI et al., 2007; BRASIL, 2009).

Existem muitos meios de cultura, os mais comumente utilizados são: YDC, FS ágar, mCS20ABN ágar, MKM ágar, MD5A ágar, mTBM ágar, 523; mPSA, SCM, SCM modificado (mSCM), King B, CKTM, XCP1, Milk-Tween (MT), Meio Semi-Seletivo de Reis (ALMEIDA e REIS, 2009).

A avaliação é realizada observando-se colônias típicas do patógeno, e o resultado é expresso qualitativamente (presença ou ausência).

Para a confirmação dos resultados realiza-se testes bioquímicos, de patogenicidade, PCR, Imunofluorescência, ELISA, uso de bacteriófagos.

É um método que permite o isolamento do patógeno, entretanto, é necessária a identificação posterior dos organismos isolados por testes bioquímicos, sorológicos ou de patogenicidade; muitos meios seletivos não são suficientemente específicos para detectar todos os isolados do patógeno; é trabalhoso e requer tempo para incubação e confirmação da patogenicidade.

O registro de resultados deve indicar o número médio de unidades formadoras de colônias (ufc) por semente e/ou o número de sub-amostras positivas do número total testado e o tamanho da amostra ou a probabilidade máxima estimada da proporção de sementes infestadas.

Segundo Richardson (1985), quando a análise patológica das sementes objetiva detectar a presença de patógenos específicos,

o emprego de meios seletivos ou semi-seletivos torna-se uma ferramenta de extremo valor para o fitopatologista, pois evita o desenvolvimento de contaminantes, favorecendo eficientemente a detecção e identificação do patógeno-alvo.

No entanto, os fatores limitantes no desenvolvimento de meios seletivos e semi-seletivos têm sido o alto custo das drogas, a necessidade de mão de obra especializada e a possibilidade do efeito de repressividade de crescimento do patógeno (VALARINI, 1995).

## 2 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE VÍRUS EM SEMENTES

Diversos métodos podem ser empregados para a detecção de vírus em sementes, sendo os métodos biológicos e sorológicos os mais comuns e fáceis de serem empregados. Entretanto, testes moleculares como PCR (para vírus de DNA) e RT-PCR (para vírus de RNA) também podem ser utilizados, sendo o PCR um dos mais sensíveis entre os disponíveis no momento. A principal dificuldade, que constitui um fator decisivo na eficiência dos testes de diagnose, é a sensibilidade da técnica empregada, uma vez que, além da baixa concentração de partículas virais nas sementes, geralmente a porcentagem de sementes infectadas varia entre 5 e 15%. A localização da partícula viral na semente também pode interferir na eficiência da técnica diagnóstica (BARBA, 2001; NASCIMENTO, 2006).

O TMV (*Tobacco mosaic virus*), por exemplo, se localiza na parte externa das sementes, enquanto outros vírus, como o LMV (*Lettuce mosaic virus*) se localizam nos tecidos embrionários, devido à infecção do óvulo ou do grão de pólen.

### 2.1 Testes biológicos

Os testes biológicos são, aparentemente, mais fáceis, devido ao fato de não necessitarem de infraestrutura ou de equipamentos



caros. Existe a necessidade apenas de um telado ou casa-de-vegetação, ou mesmo de uma câmara de crescimento com luz e temperatura controladas. Esse método consiste em fazer a semeadura das sementes que se quer analisar, em bandejas adequadas, e esperar a germinação das sementes e o crescimento das plantas por um período aproximado de uma semana a dez dias. Geralmente esse tempo é suficiente para avaliar se as plântulas apresentam ou não os sintomas da virose que se quer investigar (BRASIL, 2009).

Esse teste tem como desvantagem, o fato de que a observação visual, nem sempre é absolutamente segura, de modo que se pode, nos casos de dúvida, submeter a planta suspeita a testes complementares, como o sorológico ou mesmo PCR. A segunda desvantagem seria o tempo gasto para a realização do teste, que pode se alongar nos casos em que a germinação das sementes for demorada.

## 2.2 Testes sorológicos

As técnicas de sorologia, empregadas na fitopatologia para detectar e identificar patógenos, especialmente vírus e bactérias fitopatogênicas. Há pouco mais de duas décadas, a maior parte dos testes para esses patógenos requeriam o uso de plantas indicadoras ou os testes de "grow out" que, além de demorados, demandavam muita mão-de-obra. Atualmente, os testes sorológicos abriram novas perspectivas no campo da fitopatologia para identificação de fungos, bactérias e vírus. As principais vantagens desses testes são rapidez, alta sensibilidade e especificidade. Porém, as desvantagens incluem altos custos, equipamentos sofisticados, qualidade do antissoro e, principalmente, a impossibilidade da distinção entre inóculo viável e inviável (HENNING, 2005).

### 2.2.1 ELISA

O método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) consiste em empregar o antissoro específico para cada vírus, numa técnica em que se utiliza a Imunoglobulina (IGg) e a IGg conjugada com a enzima fosfatase alcalina para a diagnose de vírus em tecidos vegetais. A produção desses antissoros é bastante demorada, porém a maioria dos vírus mais comuns, que são transmissíveis pelas sementes, possui antissoros comerciais disponíveis no mercado.

Essa é uma técnica bastante eficiente e sensível, capaz de detectar 1ng de vírus. A detecção de vírus na parte externa das sementes, como é o caso do TMV, é mais fácil, mergulhando as sementes em solução de extração, em agitador, por cerca de 20 minutos, para eluir as partículas virais.

A extração do vírus de tecidos internos das sementes é mais difícil, e pode se tornar um fator limitante para a sua detecção. Uma boa alternativa é colocar as sementes para germinar, por incubação em papel de filtro e utilizar os tecidos da plântula para o teste. Além dos tecidos serem mais tenros e fáceis de serem triturados, a multiplicação das partículas virais, juntamente com as células da plântula, durante o processo de germinação, aumenta a chance de detecção do patógeno, que geralmente ocorre em baixa concentração nas sementes (LUCCA FILHO, 1987; MACHADO, 1988; BARBA, 2001; BARBA et al., 2002; HENNING, 2005; BRASIL, 2009).

#### 2.2.1.1 ELISA Direto e Indireto

O ELISA direto e indireto são realizados em cinco etapas básicas, porém a distinção entre esses dois métodos depende da ordem de execução dos seguintes passos (Brasil, 2009) (Figura 1 e 2):

### a) Extração do vírus

Inicialmente, faz-se a extração do vírus triturando o tecido da plântula em sacos plásticos apropriados na presença da solução de extração.

### b) Cobertura inicial das placas

A cobertura das placas deve ser feita com antissoros específicos, utilizando a diluição recomendada pelo fabricante. Em seguida faz-se a incubação da placa por 2h a 37°C e a lavagem por 3-4 vezes com água deionizada e uma vez com tampão de lavagem. Pode-se empregar lavagem manual ou com o lavador automático de placas.

### c) Adição da amostra

Após a secagem da placa adiciona-se o antígeno, compreendido pelo extrato de tecidos provenientes das sementes (ou plântulas) que se quer analisar, com incubação de um dia para o outro ("overnight"). Lava-se novamente como descrito anteriormente, ficando as partículas virais retidas às do antissoro fixado nas paredes do orifício. Deve-se empregar controles positivos e negativos, compreendidos por extratos de plantas comprovadamente infectadas e/ou saudas, respectivamente.

### d) Adição do conjugado

Adiciona-se o anticorpo conjugado com a enzima fosfatase alcalina, também diluída conforme a recomendação do fabricante e incuba-se por 2-3h a 37°C, visando propiciar a coloração da suspensão. Efetua-se nova lavagem conforme descrito anteriormente, ficando as partículas do antissoro conjugado à enzima fixado nas partículas do antígeno anteriormente aderido.

### e) Adição do substrato e leitura dos resultados

Adiciona-se o substrato p-nitrofenilfosfato e incuba-se à temperatura ambiente por no mínimo 30 minutos, ou até ser observada a cor amarela nos orifícios onde foram colocados os controles positivos. Este substrato será hidrolisado pela enzima, produzindo uma coloração amarela indicadora da reação positiva entre antígeno e antissoro. Faz-se então a leitura a 405nm em um leitor de placas apropriado.

De forma esquemática, no ELISA direto, o anticorpo (antissoro viral) de um antígeno particular é, inicialmente, adsorvido na placa. Depois, o antígeno é adicionado e se liga ao anticorpo. Finalmente, um segundo e diferente anticorpo ligado à enzima é adicionado. Nesse caso, a intensidade da reação é proporcional à quantidade de antígeno presente. Logo, permite mensurar até pequenas quantidades de antígeno (CÂMARA, 2010) (Figura 1).

(b) Sandwich ELISA

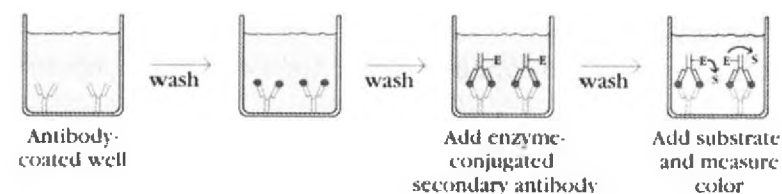


Figura 1: Sequência esquemática do ELISA direto.

Fonte: Adaptado de Câmara (2010).

O ELISA indireto é um ensaio amplamente utilizado para a detecção e/ou quantificação de anticorpos em amostras de soro. A especificidade desse teste é garantida principalmente pela qualidade do antígeno adsorvido à placa. De maneira geral, no ELISA indireto, ao contrário do ELISA direto, os antígenos que são inicialmente adsorvidos na placa. Em seguida, é adicionado o anticorpo

específico (antissoro viral) para os antígenos que foram adsorvidos anteriormente. Finalmente, anticorpos ligados à enzima ligam-se aos anticorpos (antissoro viral), propiciando a reação enzimática com mudança de cor (CÂMARA, 2010) (Figura 2).

(a) Indirect ELISA

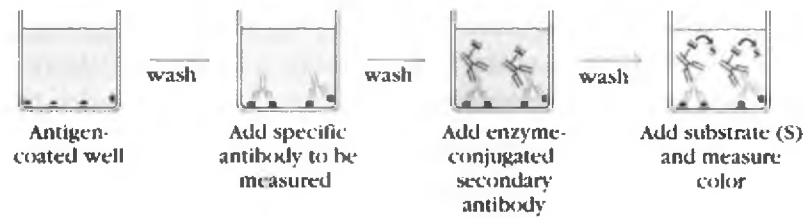


Figura 2: Sequência esquemática do ELISA indireto.  
Fonte: Adaptado de Câmara (2010).

### 2.2.2 Imunofluorescência (IF)

O anticorpo específico é conjugado com um corante fluorescente. O extrato de sementes (antígeno) é colocado em placas especiais com pequenos orifícios. Posteriormente, é adicionado o anticorpo conjugado com o corante. Após a secagem, observa-se ao microscópio.

Uma modificação deste método é a imuno-adsorvente imunofluorescência. Nesse caso, as placas especiais são "codificadas" com o anticorpo (gama-globulina). Após a adição do extrato da semente, somente o patógeno (antígeno) permanece aderido. Posteriormente, adiciona-se novamente o anticorpo, desta vez conjugado com o corante fluorescente, o qual adere as partículas do patógeno, produzindo fluorescência (HENNING, 2005).

Estudos feitos por Guimarães et al. (1997), objetivando verificar a eficácia do uso de extrato de sementes na imunodeteção de *Bipolaris sorokiniana* em trigo e a viabilidade do mesmo como antígeno, observaram grandes pontos de fluorescência na superfície

das hifas, especialmente nas extremidades, evidenciando a presença de antígenos de superfície. Os autores concluíram que é possível a detecção de *B. sorokiniana* em trigo por imunofluorescência, utilizando como antígeno reagente o extrato de sementes.

### 2.3 PCR (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE)

Segundo Carvalho et al. (2000), as isoenzimas e proteínas foram os marcadores moleculares mais utilizados nos últimos anos. Recentemente, com o advento cada vez mais rápido do conhecimento científico, outras técnicas baseadas nas moléculas de DNA e RNA foram disponibilizadas.

A técnica PCR ou reação em cadeia da polimerase é mais sensível que a sorológica, sendo capaz de detectar menos de 1pg de vírus. Para essa técnica, emprega-se um par de oligonucleotídeos complementares a uma determinada região do genoma viral, com a finalidade de amplificar um fragmento genômico, de tamanho conhecido. No caso de vírus, cujo genoma é o RNA, deve-se primeiro fazer uma fita de DNA complementar, utilizando-se uma transcriptase reversa, para depois então fazer a PCR propriamente dita (RT-PCR).

Para realizar essa técnica, primeiro deve-se fazer a extração do RNA total da planta, para depois então fazer, a partir desse, o cDNA e a PCR.

Para a reação de PCR pode-se empregar 35 ciclos, sendo: 94°C por 40 segundos, 53°C por 55 segundos e 72°C por 2 minutos, com uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Entretanto, dependendo do vírus poderá haver uma pequena variação nesse ciclo. Ao final da reação, alíquotas contendo a amostra são analisadas por eletroforese em gel de agarose (0,7%), para checar o aparecimento das bandas típicas (NASCIMENTO, 2006; NASCIMENTO et al., 2008; BRASIL, 2009).

Os oligonucleotídeos (par de *primers*) empregados devem ser desenhados especialmente para cada vírus, com base nas seqüências específicas de cada um. Por exemplo: a seqüência dos oligonucleotídeos (*primers*) para a detecção do Tobamovirus TMV (*Tobacco mosaic virus*) por RT-PCR, o número de pares de base (Pb) e o fragmento e região do genoma a ser amplificado são:

- a) 1: 5' GTCAGTGCCGAACAAG 3' e 2: 5' TCAAGTTGCTGGACTAG 3'
- b) 600 pares de bases
- c) 5592 – 6191 MP/CP

Neste caso, o ciclo para PCR poderá ser: (1) Aquecimento inicial a 94 °C por 2 minutos; (2) 30 ciclos: 92°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto e 72°C por 2 minutos; e (3) Extensão final de 72°C por 10 minutos.

Estudos preliminares utilizando técnicas moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e a PCR (Polymerase Chain Reaction), permitiram diferenciar isolados de *Drechslera teres*, *Drechslera graminea* e *Bipolaris sorokiniana* (Peltonen et al., 1996), assim como isolados de *B. sorokiniana*, procedentes de diferentes hospedeiros (BULAT e MIRONENKO, 1993).

### 3 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE NEMATÓIDES EM SEMENTES

A disseminação dos nematóides pode ser realizada de diferentes maneiras. Pode ocorrer ativamente, pelos seus próprios meios (movimentos lentos); pelo homem, no transporte de material propagativo infectado (sementes, mudas, tubérculos, etc.); pelos implementos agrícolas contendo solo infestado; pelos animais domésticos e insetos e pela água de irrigação e infiltração.

A possibilidade de disseminação de fitonematóides através de sementes, a curta e a longa distância, entre regiões, países e continentes em todo o mundo, tem aumentado através do intercâmbio de sementes entre

agricultores, melhoristas de plantas e outros agentes. Esse movimento, previsível na agricultura moderna, é favorecido pela constante circulação de material vegetal e falta de conscientização durante os processos de produção, comercialização e produção de sementes.

Os nematóides podem ser transportados junto com as sementes de três diferentes modos: a) no interior das mesmas, na forma de juvenis abrigados entre a casca e o endosperma da semente; em pequenas cavidades das sementes de cereais e de gramíneas; na região do hilo (*Aphelenchoides* spp. e *Ditylenchus* spp.) e, em lesões presentes na semente (*Ditylenchus* spp.); b) associados à fragmentos vegetais da planta-mãe infectada junto às sementes (*Ditylenchus* spp.); c) como contaminação concomitante, a exemplo de algumas espécies do gênero *Anguina* spp., as quais transformam o ovário da flor da planta hospedeira em galhas, sendo assim disseminadas misturadas às sementes produzidas ou, ainda na forma de cistos (*Heterodera* spp.), contidos em torrões de solo ou aderidos às sementes de plantas hospedeiras (BRASIL, 2009).

#### 3.1 Detecção de *Heterodera glycines* em amostras de sementes de soja

Neste método são recomendadas a utilização de cinco sub-amostras de 100 sementes para análise. A detecção de cistos de *Heterodera* em sementes normalmente é realizada pela inspeção das sementes secas (4.1.1), ou destas em água (4.1.2). Também pode ser realizada através do método de peneiramento, com (4.1.2) ou sem flutuação em centrífuga (4.1.1), seguido pela análise visual em microscópio estereoscópico.

##### 3.1.1 Método do peneiramento a seco

As sementes são colocadas sobre uma tela de metal (malha 0,840mm), que substituirá o fundo de uma caixa tipo gerbox,

sobreposta a uma tampa de caixa tipo gerbox. Entre a tela e a tampa da caixa coloca-se papel de filtro umedecido e em seguida, agita-se o conjunto manualmente, permitindo a passagem dos cistos pelos poros da tela, ficando estes retidos no papel umedecido. Posteriormente, as amostras devem ser analisadas sob microscópio estereoscópico.

### 3.1.2 Método da flutuação + peneiramento

É um método simples para extração de cistos das sementes. As sementes são dispostas em proveta de 2,0L, contendo cerca de 5,0mL de água e agitadas com movimentos rotatórios até seu completo umedecimento. Completar o volume da proveta com água e verter os resíduos e cistos flutuantes em peneira de 20 mesh (0,840mm), sobreposta em peneira de 60 mesh (0,250mm), agitando-se suavemente a proveta de modo que todo o material flutuante em suspensão seja recolhido nas peneiras e com um mínimo de perturbação das sementes. Com auxílio de pisseta deve-se recolher a suspensão contendo resíduos e cistos da peneira de 60 mesh para um becker de 100mL. A suspensão recolhida no becker deve ser analisada ao microscópio estereoscópico.

Para identificar a presença de cistos de *Heterodera* em germoplasmas introduzidos no Brasil, Tenente et al. (1994) empregaram metodologia descrita por Carvalho et al. (1953), onde as sementes foram colocadas em frascos com 50 mL de água, os quais foram agitados durante 10 minutos. A estes adicionou-se uma solução de sacarose (400 g/L de água) e, novamente, agitou-se por mais 10 minutos. Após, a suspensão foi vertida em um novo recipiente, onde permaneceu por 10 minutos. Posteriormente, a suspensão foi despejada em um filtro (papel de filtro). Após o escoamento, o material retido no papel foi examinado.

A avaliação é feita pelo reconhecimento das fêmeas de *H. glycines*, as quais apresentam de 0,4 a 0,8mm de comprimento, forma de limão, 300-600 micrômetros de diâmetro, com pescoço e uma vulva subterminal próxima ao ânus; são de coloração brancas ou amarelas quando imaturas, mas com a maturidade ficam pretas ou marrons (SHEPHERD, 1970).

### 3.2 Detecção de *Ditylenchus dipsaci* em sementes de cebola

Neste teste são utilizadas para análise cinco sub-amostras de 50 sementes. É mais rápido e eficiente que as técnicas de incubação geralmente utilizadas para tecidos vegetais. Também pode ser usada para recuperação de endoparasitas de folhas, hastes e também para detecção de juvenis de *Anguina tritici* em sementes de trigo e de outras gramíneas e de *D. dipsaci* em sementes de trevo (SOUTHEY, 1969).

#### 3.2.1 Método da trituração e filtração para recuperação de endoparasitas migradores

As sementes são trituradas em água durante 15 segundos, sendo 5 segundos para o triturador alcançar a velocidade máxima, 5 segundos permanecendo em velocidade máxima e 5 segundos para a parada. Este período é suficiente para facilitar a saída dos nematóides dos tecidos sem danificá-los. Após, a suspensão resultante é vertida em um papel de filtro ou lenço de papel apoiado numa peneira ou tela plástica. O conjunto é disposto sobre um prato ou bandeja com água, onde deve permanecer durante 24 a 48 horas. Os nematóides separados das partículas inertes movimentam-se pelo filtro e são recuperados no prato, para posteriormente serem quantificados em lâmina de Peters, sob microscópio ótico (SOUSA et al., 2003).

### 4.3 DETECÇÃO DE *APHELENCHOIDES BESSEYI* EM SEMENTES DE ARROZ

Neste procedimento recomenda-se a utilização de cinco sub-amostras de 100 sementes. Tihohod (1993) observou que praticamente 100% dos exemplares viáveis de *A. besseyi* podem ser detectados pelo método de descascamento manual das sementes. No entanto, a operação é muito trabalhosa e demanda um considerável suporte. São necessárias pesquisas adicionais para mecanizar o processo de descascamento das sementes sem liberar os materiais do endosperma. A mecanização facilita a detecção clínica dos nematóides.

#### 4.3.1 Método do descascamento manual de sementes + funil de Baermann

Este método consiste em eliminar a casca e a cariópse das sementes após a imersão destas em água por determinado período de tempo. Este material é lavado em peneira padrão de 400 mesh para que sejam eliminadas as substâncias leitosas liberadas pelo endosperma. O material resultante do peneiramento (nematóides e restos de casca e cariópse) é recolhido com o auxílio de pisseta para um Becker de 100mL e, posteriormente, transferido para o funil de Baermann onde permanece pelo menos por 12-24 horas, para extração dos nematóides ativos (Zuckerman et al., 1990).

#### 4.3.2 Pré-imersão, trituração e funil de Baermann

As sementes são imersas em água destilada (30 minutos), para rehidratação dos nematóides em estado de anidrobiose. Esse tratamento prévio de pré-imersão facilita a fragmentação das sementes em liquidificador, feita a seguir por 20 segundos com 300mL de água. A suspensão resultante é passada pelas peneiras

de 100 (0,150 mm) e 400 mesh e o material retido é disposto em funis de Baermann com água oxigenada a 0,5%. Os sedimentos são coletados e examinados ao microscópio ótico após 24, 48 e 72 horas, aproximadamente (ZUCKERMAN et al., 1990).

### REFERÊNCIAS

- AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J.B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton. CRC Press, 1987.
- ALMEIDA, M. F.; REIS, E. M. Comparação da sensibilidade de métodos para a detecção de fungos patogênicos em sementes de aveia branca e preta no Rio Grande do Sul. **Trop. plant pathol**, vol. 34, n. 4, p. 265-269, 2009.
- BALL, S.; REEVES, J. Application of rapid techniques to seed health testing – prospects and potential. In: Duncan, J. M. & Torrance, L. (Ed.) **Techniques for the rapid detection of plant pathogens**. Oxford. British Society for Plant Pathology. 1992. p. 193-207.
- BARBA, J. T. ***Bipolaris sorokiniana (Cochliobolus sativus)* em sementes de cevada: detecção, transmissão e controle**. 2000. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia). Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2001.
- BARBA J. T.; REIS E. M.; FORCELINI A. C. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia brasileira**, vol. 27, n. 4, p. 389-394, 2002.
- BEHLAU, F.; NUNES, L. M.; LEITE JR., R. P. Meio de cultura semi-seletivo para detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em solo e sementes de feijoeiro. **Summa phytopathol**. 2006, vol.32, n.4, p. 394-396.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes/Ministério da**

Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 202p.

BULAT, S. A.; MIRONENKO, N. V. Genetic differentiation of the phytopathogenic fungus *Cochliobolus sativus* (Ito and Kurib.) Drechsl. ex Dastur (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.: Sorok.) Shoem.) revealed by a universally primed polymerase chain reaction UP-PCR technique: correlation with host-specificity. **Genetika Moskva** 29: 1295-1301. 1993.

CÂMARA, B. **Biomedicina Padrão**. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Disponível: <http://www.biomedicinapadrao.com/2010/05/elisa.html>. Acesso em: 12 jun. 2011.

CARVALHO, J. C.; LORDELLO, L. G. E.; BOOCK, O. J. Considerações acerca do nematóide dourado da batatinha. **O Biológico**, 19, p.196-200. 1953.

CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; RESENDE VON PINHO, E. Técnicas moleculares em sementes. **Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento** 17: 44-47. 2000.

COUTINHO, W. M.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M.; FERRERIRA, D. F. Uso da restrição hídrica na embebição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n.2, p.127-135, 2001.

GUIMARÃES, A.; LOPES, P. C.; MATSUMURA, A.; PORTO, M.; SIMONETTI, A.; VAN DER SAND, S. Detecção de *Bipolaris sorokiniana*, por imunofluorescência, em extrato de sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira** 22 (Suplemento): 322. 1997. (Resumo 523).

HENNING, A. A. Patologia de Sementes. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1994. 43p. (EMBRAPA - CNPSO / Documento 90).

HENNING, A. A.; **Patologia e tratamento de sementes: Noções gerais/** Londrina: Embrapa Soja, 2005. 52p.; 21cm – (Documentos 264/Embrapa Soja).

ISTA - International Seed Testing Association. Seed health testing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.4, n.1, p.3-49, 1976.

ITO, M. F.; BACCHI, L. M. A.; MARINGONI, A. C.; MENTEN, J. O. M. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.

LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceeding of International Seed Testing Association**, Wagenigen, v. 33, n. 2, p. 343-513, 1968.

LUCCA FILHO, O. A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: Soave, J. e Wetzell, M. M. V. da S. **Patologia de sementes**. Campinas, SP. Fundação Cargill/Abrates. 1987. p. 276-298.

LUCCA FILHO, O. A.; PORTO, M. D. M.; MAIA, M. S. Fungos em sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam) e seus efeitos no estabelecimento da pastagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 142-147, 1999.

MACHADO, A. Q.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. D. G. G. C.; CASSETARI NETO, D.; SOUZA, M. V. Potencial do uso da restrição hídrica em testes de sanidade de sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 408-414, 2007.

MACHADO, J. da C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Lavras. ESAL/FAEPE. 1988.

MACHADO, J. da C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.

MATHUR, S. B.; SINGH, K. Seed health testing for field fungi. In: CTA Seminar held at Copenhagen, 1988. **Proceedings**. Copenhagen:

- Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation, 1988. p.161-174.
- MENTEN, J. O. M. (ed) **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. ESALQ/USP, São Paulo, Ciba Agro. 1995. 321p.
- NASCIMENTO, R. J. **Análise molecular em alho consume nacional e importado para detecção da presença de allexivirus**. 2006. 53 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- NASCIMENTO, R. J.; PIO-RIBEIRO, G.; SANTOS, R. C.; MELO FILHO, P. A. Detecção de allexivirus em primórdios foliares de alho via RT-PCR. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 3, p. 267-269, 2008.
- NEERGAARD, P. Detection of seed-borne pathogens by culture tests. **Seed Science & Technology** 1: 217-254. 1973.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The MacMillan Press, 1977. v. 2, 1191p.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London. The Macmillan Press. 1983. v. 1, 839 p.
- PELTONEN, S.; JALLI, M.; KAMMIOVIRTA, K.; KARJALAINEN, R. Genetic variation in *Drechslera teres* populations as indicated by RAPD markers. **Annals of Applied Biology** 128: 465-477. 1996.
- REIS, E. M.; REIS, A. C.; CASA, R. T.; BLUM, M. M. C. Comparison of methods to detect leaf head blighting fungi in small grain seeds. **Summa Phytopathologica** 25: 364-367. 1999.
- RICHARDSON, M. J. Análisis patológicos de semillas. In: FAO (Santiago de Chile). **Manual para patólogos vegetales**. 2<sup>da</sup>ed. Santiago de Chile. 1985. pp. 366-375.
- RODRIGUES NETO, J. Detecção e identificação de fitobactérias em sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE

- SEMENTES, 3., Lavras, 1988. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 123-39
- SANTOS, A. F.; JÚNIOR, A. G.; AUER, C. G. **Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais**. Floresta, v. 30, n. 1/2, p. 119-128, 2000.
- SANTOS, G. R.; COSTA, H.; PELUZIO, J. M.; MIRANDA, G. V. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da micoflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v. 43, n. 249, p. 621-627, 1996.
- SCHAAD, N. W. Use and limitations of methods to detect seed borne bacteria. In: ADVANCED INTERNATIONAL COURSE ON SEED PATHOLOGY, Passo Fundo, 1987. **Proceedings...** Brasília: ABRATES, 1987. p. 324-32.
- SHEPHERD, A. M. Extraction and estimation of *Heterodera*.
- SOUTHEY, J. F. Laboratory methods for works with plant and soil nematodes. London: Her Majesty's Stationery Office, 1970. p. 23-33. (Technical Bulletin, 2).
- SOUSA, A. I. M.; GOMES, V. F.; TENENTE R. C. V. Tratamento físico aplicado às sementes de melão (*Cucumis melo* L.), importadas da Holanda, na erradicação de *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 223-225. 2003.
- SOUTHEY, J. F. A gall forming nematode (*Anguina* sp.) parasitic on cocksfoot grass. **Plant Pathology**, 18, p. 164-166. 1969.
- TANAKA, M. A. S. Importância da utilização de sementes sadias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v. 8, n. 91, p. 31-34. 1982.
- TANAKA, M. A. S. Recentes avanços no desenvolvimento de métodos de detecção de fungos em sementes, no Brasil. **Informativo Abrates**, v. 11, n. 1, p. 24-31, 2001.



- TEBALDI, N. D.; SOUZA, R. M.; MACHADO, J. C. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em sementes de feijão em meio de cultura semi seletivo. **Fitopatologia Brasileira**, vol. 32, n. 1, p. 56-58, 2007.
- TENENTE, R. C. V.; MENDES, M. A. S.; MANSO, E. S. C.; MARQUES, A. S. A. Seed health testing for nematode detection and treatment of plant germplasm in Brazil. *Seed Science Technology*, Zurich, v. 22, n. 3, p. 415-420, 1994.
- TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372 p.
- VALARINI, P. J. Detecção do agente causal do crestamento comum em sementes de feijão. In: MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba: ESALQ; FEALQ, 1995. p. 53-76.
- WETZEL, M. M. V. S. Controle sanitário na importação de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 3, Lavras, 1988. **Resumos**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 48-57.
- ZUCKERMAN, B. M.; MAI, W. F.; HARRISON, M. B. **Plant nematology: laboratory manual**. Amherst, Massachusetts: Univ. of Massachusetts Agricultural Experiment Station, 1990. 212 p.

## Fatores que afetam a infecção de patógenos em sementes

Carmem Valdenia da Silva Santana

Luciana Cordeiro do Nascimento

A qualidade das sementes para comercialização se inicia no campo de produção (FESSEL et al., 2003), por isso, para a obtenção de uma boa muda é necessário o controle de sanidade e de qualidade da semente utilizada, pois esta poderá servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos (MENDES et al., 2005).

A associação de patógenos às sementes é importante, por diversas razões: o patógeno pode sobreviver por mais tempo em sementes, mantendo sua viabilidade e características; é facilmente disseminado, podendo ser introduzido em novas áreas; e existe alta probabilidade do patógeno infectar a plântula em desenvolvimento após a semeadura, causando doença na fase inicial da cultura (MACHADO, 1988). No entanto, para que haja o processo de infecção de patógenos em sementes, é necessário que as condições ambientais estejam favoráveis, assim como, tem que haver certa suscetibilidade da semente a determinado patógeno com potencial infectivo.

Diversos são os fatores que podem influenciar na infecção de patógenos em sementes, dentre estes, pode-se citar: fatores relacionados ao ambiente (temperatura do ar, umidade relativa do ar, temperatura do solo, pH do solo, irrigação), ao hospedeiro, que no caso, é a semente (morfologia e anatomia da semente, estádios de desenvolvimento da planta, teor de água na semente, tipo de cultivo, manejo da cultura, manejo durante a colheita, pós-colheita, processamento, beneficiamento e armazenamento) e ao patógeno

(concentração de inóculo, potencial de inóculo, patogenicidade, agressividade, virulência do patógeno).

Caso ocorra a infecção por microrganismos, segundo Ferreira (2010), esta, pode provocar o apodrecimento das sementes e a morte de plântulas em pré ou pós-emergência, a diminuição do vigor inicial e o aumento da deterioração durante o armazenamento.

Portanto, o conhecimento de todos os fatores que interferem na infecção de patógenos em sementes é essencial no manejo da doença, seja ainda em campo ou após colheita das mesmas, pois através desse conhecimento pode-se lançar mão de um ou vários métodos de controle da doença que sejam efetivos.

## 1 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE FITOSSANITÁRIA DE SEMENTES

A qualidade das sementes para comercialização se inicia ainda no campo de produção, e para evitar a perda de todo esse processo é necessário a realização de um beneficiamento de sementes bem feito após a colheita (FESSEL et al., 2003).

A qualidade da semente é definida como o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de originar plantas de alta produtividade (Popinigis, 1985). Está ligada à presença de microrganismos ou insetos associados às sementes, onde muitas espécies de microrganismos patogênicos podem ser carregados pelas próprias sementes (MEDEIROS e EIRA, 2006).

Sementes infectadas por microrganismos (fungos, bactérias e vírus) possuem baixo valor comercial pelo comprometimento de sua qualidade fitossanitária (MEDEIROS e EIRA, 2006). Com relação à qualidade fisiológica da semente os fungos mais importantes são os chamados fungos de armazenamento, compreendendo principalmente os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Esporos e micélios destes,

normalmente estão presentes na superfície da semente quando esta é armazenada (ANGELINI, 1986; MENTEN, 1995). Segundo Menten (1995), além dos fungos citados acima, a bactéria *Bacillus subtilis* também causa a perda da capacidade germinativa das sementes armazenadas e acarreta a morte do embrião.

De modo geral, vários danos podem ser provocados por patógenos associados às sementes. Dentre eles, morte em pré-emergência, podridão radicular, tombamento de mudas, manchas necróticas em folhas, caules, deformações como hipertrofias e subdesenvolvimento, descoloração de tecidos, infecções latentes, entre outros (NEERGAARD, 1979).

## 2 INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO-AMBIENTE

A ocorrência de uma doença depende da interação entre uma planta suscetível, um patógeno infectivo e um ambiente favorável ao patógeno (AGRIOS, 2005), como mostrado na figura abaixo:

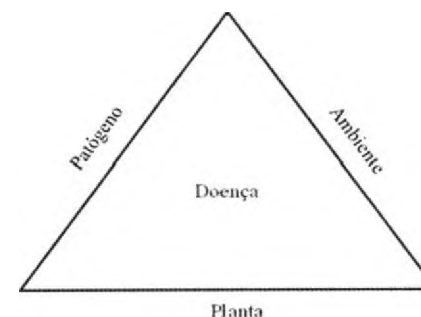


Figura 1 – Ciclo das relações patógeno-hospedeiro-ambiente.

O ambiente é um fator de grande relevância na interação entre patógeno e planta, pois pode afetar todas as fases do ciclo do patógeno (infecção, colonização, esporulação, dispersão e sobrevivência). A condição ambiental pode muitas vezes ser desfavorável ao ponto

de impedir que o patógeno, mesmo presente sobre o hospedeiro, se instale, se desenvolva e/ou se propague. As condições ambientais também podem influenciar o hospedeiro, através da alteração de sua suscetibilidade, pela exposição a fatores externos menos favoráveis a ele do que ao patógeno (HELDWEIN et al., 2007). Desse modo, as condições micrometeorológicas são muito importantes para o manejo e controle de doenças, pois condicionam os processos infecciosos (HUBER e GILLESPIE, 1992; SENTELHAS et al., 2005).

Dentre os fatores ambientais que podem afetar as relações patógeno-hospedeiro, a umidade relativa e a temperatura são os mais importantes (REIS, 2004).

## 1 TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AR

A umidade relativa e a temperatura do ambiente de armazenamento são fatores decisivos no desenvolvimento de fungos, como por exemplo, *Aspergillus* e *Penicillium* nas sementes, pois esses patógenos se desenvolvem em sementes com umidade em equilíbrio com a umidade relativa do ar superior a 68%. E quando a umidade da semente é mais baixa, próximo ao limite mínimo para o crescimento dos fungos, o ataque é lento, porém, à medida que a umidade da semente se eleva torna-se mais rápida a queda da germinação devido ao rápido crescimento dos fungos (ANGELINI, 1986).

Nas regiões tropicais, umidade e temperaturas elevadas são favoráveis ao crescimento e desenvolvimento de patógenos, tornando as sementes das espécies nativas vulneráveis ao ataque desses microrganismos (NASCIMENTO et al., 2006). A temperatura é mantida entre 3 a 5 °C para as espécies ortodoxas temperadas e entre 10 e 20 °C para as espécies ortodoxas tropicais (HONG e ELLIS, 2003) com a umidade do ar em torno de 45% (SCHUMACHER et al., 2002).

Segundo Bragantini (2005) a temperatura do ar é talvez o fator físico mais importante na conservação dos grãos armazenados,

pois a maioria das reações químicas é acelerada com o aumento da temperatura. Quando a temperatura de armazenamento é mais baixa, pode-se armazenar com segurança, mesmo quando a umidade dos grãos está acima da ideal, pois a baixa temperatura inibe o desenvolvimento de microorganismos e insetos.

Alguns estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de avaliar os efeitos das condições ambientais na sanidade de sementes, como por exemplo, o realizado por Rupollo et al. (2006) que, avaliando o efeito da umidade e do armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia observaram interação significativa entre umidade e período de armazenamento sobre a dinâmica populacional dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* em grãos de aveia armazenados no sistema hermético. Nos tratamentos com umidades inferiores a 15% verificou-se a predominância de outros fungos, cuja incidência decresceu na ordem dos gêneros *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Phoma*, *Bipolaris*, *Alternaria* e *Neurospora*. Umidades mais elevadas favoreceram a incidência dos fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, sendo que as maiores incidências dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* ocorreram na umidade de 18%, seguindo-se de 21% e 15%. Para o gênero *Fusarium*, a maior incidência foi verificada em grãos armazenados com 21% de umidade.

## 2 TEMPERATURA DO SOLO

A maior incidência de tombamento de plântulas, em pré e pós-emergência, são atribuídas a baixas temperaturas no solo durante o período de germinação (Tanaka, 1995). Segundo o mesmo autor, nessas condições, ocorre aumento de exsudação de açúcares e aminoácidos e, conseqüentemente, aumento de microrganismos patogênicos e saprofíticos.

### 3 PH DO SOLO

Ocorrem diferenças significantes na população de fungos em vista do tipo de solo devido aos fatores relacionados à aeração, à capacidade de retenção de água e ao pH, de ácido para alcalino (MEHAN et al., 1991).

Fernandez et al. (1997) constataram diminuição da incidência de *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* com utilização de calagem. Resultado similar foi obtido com a aplicação de gesso, pois de acordo com Reding et al. (1993) e Clavero et al. (1994), com o aumento do teor de cálcio, as vagens tendem a ter o tegumento mais espesso e, como tal, ser menos suscetíveis à contaminação por fungos, o que pode reduzir a produção de toxinas.

### 4 IRRIGAÇÃO

A ocorrência de patógenos em sementes é altamente influenciada por fatores anteriores ao armazenamento, quando a semente se encontra ainda no campo (BRAGANTINI, 2005). Segundo Ribeiro do Vale e Zambolim (1996) por si só, a irrigação não determina o aumento da incidência ou da severidade, mas seu efeito é determinado pelas condições criadas pelo sistema de irrigação, interagindo com as condições ambientais, como temperatura, tipo de solo, intensidade e frequência de irrigação, fatores relacionados ao manejo da cultura, variedade plantada, seu porte e espaçamento.

Vieira-Junior et al. (1998) e Rava et al. (2005) avaliando diferentes sistemas de irrigação, concluíram que a irrigação por aspersão favorece a ocorrência de patógenos na semente, o que não ocorre quando se utiliza a irrigação por sulcos ou subirrigação.

## FATORES DO HOSPEDEIRO

### 1 MORFOLOGIA E ANATOMIA DA SEMENTE

A influência da forma e do tamanho da semente na sua qualidade não é um assunto completamente esclarecido (FERREIRA, 2010). Segundo o mesmo autor as diferenças marcantes entre as classes de sementes foram constatadas apenas em condições de laboratório, onde as sementes redondas caracterizaram-se pela maior incidência de danos, facilitando assim a infecção por patógenos e como consequência reduzindo sua qualidade. No entanto, as plantas provenientes dessa classe, mostraram-se, em geral, tão produtivas quanto às oriundas de sementes achatadas.

### 2 ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO DA PLANTA-MÃE

Alguns patógenos infectam apenas parte da planta, outros, infectam diversas partes, transmitindo a infecção, muitas vezes, a outros órgãos da planta. Segundo Igarashi e Balan (2004) o fungo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., que causa a brusone do trigo, por exemplo, ataca toda a planta, dos colmos e folhas às espigas, e é disseminado por meio de restos de cultura, plantas hospedeiras e principalmente sementes contaminadas, pois estas podem introduzir o patógeno em áreas isentas da doença, bem como ter seu inóculo aumentado em áreas já contaminadas.

Segundo Bocchese et al. (2006) a determinação da época de maior suscetibilidade à infecção e formação da mancha nos grãos durante seu desenvolvimento poderá oferecer subsídios importantes ao controle químico de *Pyrenophora chaetomioides* para produção de grãos com qualidade industrial e sementes sadias. Os mesmos autores, avaliando o processo de infecção e formação de mancha

em grãos de aveia branca com níveis diferenciados de resistência para *P. chaetomioides* constataram que a incidência do fungo nos carpelos aumenta significativamente a partir do estágio de grão leitoso, atingindo valor máximo no estágio de massa e, após, decresce nos estádios seguintes até o de massa dura. A maior incidência de *P. chaetomioides* ocorreu nos componentes florais mais externos, glumas, páleas e lemas, do que nos carpelos, nos estádios iniciais (florescimento e grão aquoso).

### 3 TEOR DE ÁGUA NA SEMENTE

A redução do teor de água em sementes ortodoxas retarda os processos fisiológicos, como a respiração e o consumo das reservas nutritivas armazenadas em seus tecidos de reserva, prevenindo a proliferação de fungos e bactérias. Porém, em sementes recalcitrantes a secagem pode levar à morte do embrião (MEDEIROS e EIRA, 2006).

### 4 TIPO DE CULTIVO

Segundo Agrios (2005), a utilização de populações elevadas de plantas, aliada a desequilíbrios nutricionais e à suscetibilidade dos genótipos, contribui para o aumento da incidência das podridões de espiga (PEs) e de grãos ardidos. Além desses fatores, a intensidade das PEs é aumentada quando se pratica a monocultura, principalmente se associada à prática do plantio direto (FLETT e WEHNER 1991; REIS e CASA, 1996).

A incidência desses fungos que causam PEs em grãos normalmente ocorre pela infecção da espiga sendo favorecida por clima úmido e quente na fase de polinização, mau empalhamento e por injúrias causadas por insetos nas espigas (SHURTLEFF, 1992; REID et al., 1996).

Entre as medidas de controle utilizadas, práticas simples, como rotação de culturas e manejo adequado da população de plantas, podem ser consideradas opções econômicas e eficientes para minimizar os danos causados pelas PEs em milho e, conseqüentemente, a incidência de grãos ardidos (Trento et al., 2002). Esses mesmos autores, avaliando o efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho constataram que as incidências de PEs e de grãos ardidos foram maiores em lavouras conduzidas em sistema de monocultura, quando comparadas com a rotação de culturas e concluíram que a prática da rotação de culturas pode ser considerada uma medida importante de controle para os patógenos causadores das PEs. Observaram ainda que, no sistema de rotação de culturas, as maiores incidências foram observadas para o fungo *Cephalosporium* spp. (16,97%), seguido de *Fusarium tracheiphilum* (4,16%) e *F. gutiforme* (1,78%). Entretanto, no sistema de monocultura, as maiores incidências foram observadas para *F. tracheiphilum* (25,32%), seguido de *Cephalosporium* spp. (9,54%) e *F. gutiforme* (6,86%).

### 5 MANEJO DA CULTURA

Braccini et al. (2008) estudando a produtividade de grãos e qualidade de sementes de café em resposta à densidade populacional, observaram que a elevação da população de plantas aumentou a porcentagem total de sementes infectadas por fungos e que, populações de aproximadamente 10.000 plantas ha<sup>-1</sup> são mais favoráveis à obtenção de sementes de café com melhor qualidade fisiológica e sanitária. Os mesmos autores afirmam que a densidade contribuiu para a diminuição da sanidade das sementes, já que ela não melhorou linearmente, o que indica que grande número de plantas por área proporciona um microclima favorável à proliferação de fungos (como a alta umidade).

Trento et al., (2002) avaliando o efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho observaram que, à medida que se aumentou a densidade de plantas houve também um aumento na incidência de fungos tanto em lavouras conduzidas em sistema de monocultura, quanto em rotação de cultura, e que a utilização de populações elevadas de plantas, aumenta a competição das mesmas por água, nutrientes e luminosidade, o que aumenta a sua vulnerabilidade ao ataque de patógenos.

## 6 MANEJO NA PRÉ-COLHEITA E DURANTE A COLHEITA

Todos os procedimentos que possam contribuir para a preservação da qualidade fisiológica das sementes são benéficos, dentre eles a antecipação da colheita, tendo como uma das alternativas o uso de dessecantes. A prática da dessecação para minimizar os problemas do retardamento da colheita tem sido observada em diversas culturas (Lacerda et al., 2005), com vantagens adicionais como a possibilidade de planejamento da colheita, maior eficiência das máquinas, controle de plantas daninhas que prejudicam o processo de colheita e redução dos danos oriundos de pragas e fungos que possam atacar a cultura no final do ciclo (MARCOS FILHO, 2005).

Lacerda et al. (2003) concordam que o potencial de conservação de sementes de soja depende diretamente da qualidade fisiológica das mesmas no início do período de armazenamento, sendo intimamente relacionada com o momento da colheita.

Os resultados de porcentagem de sementes infectadas por fungos e bactérias internos ao tegumento, em estudo realizado por Braccini et al. (2003) com objetivo de avaliar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de quinze cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) colhidas na época normal e após o retardamento da colheita, demonstraram claramente que à medida que as sementes

foram mantidas no campo após o estágio de maturação  $R_{95}$ , ocorreu aumento na proporção de sementes infectadas por patógenos nas quinze cultivares de soja avaliadas, concluindo que a redução na germinação e vigor das sementes com o retardamento da colheita esteve associada ao aumento na porcentagem de sementes infectadas por microorganismos.

## 7 PÓS-COLHEITA: PROCESSAMENTO, BENEFICIAMENTO E ARMAZENAMENTO

Os danos mecânicos não suficientes para destruir as estruturas essenciais das sementes (danos não visíveis) proporcionam aumento no número de plântulas anormais, maior suscetibilidade à ação dos microrganismos, maior sensibilidade aos tratamentos químicos e diminuição do potencial de armazenamento, principalmente, em safras transcorridas sob condições ambientais desfavoráveis na maturação e na colheita (BEWLEY e BLACK, 1985). O efeito gerado ganha importância em virtude da abertura de canais para a entrada de microrganismos patogênicos (SOAVE e WETZEL, 1987) e é agravado, paralelamente, quando as injúrias se aproximam do embrião (WORTMAN e RINKE, 1951; CARVALHO e NAKAGAWA, 1983).

Estudo realizado por Cicero e Silva (2003) com o objetivo de avaliar os danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho concluíram que os danos, particularmente quando *Aspergillus* sp. e *Fusarium tracheiphilum* se encontram presentes nas sementes, promovem prejuízos qualitativos progressivos à medida que se aproximam do embrião e, quando comparadas entre si, as interferências negativas de *Aspergillus* sp. e de *F. tracheiphilum* são mais evidentes do que as de *Penicillium* sp.

No que se refere ao beneficiamento, alguns trabalhos já foram realizados, como por exemplo, o de Pimenta e Vilela (2001)

que trabalharam com café (*Coffea arabica* L.) lavado e submetido a diferentes tempos de amontoa no terreiro, antes da secagem e constataram haver aumento na infecção por *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. com a elevação no tempo de amontoa. *Penicillium* sp. não demonstrou tendência definida de variação. Pimenta e Chalfoun (2001) avaliando a composição microbiana associada ao café em coco e beneficiado, colhido em diferentes estádios de maturação, perceberam diferenças significativas na porcentagem de grãos infectados por fungos. Os gêneros *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. apresentaram maior porcentagem de infecção no café em coco que no café beneficiado. Observou-se também que, mesmo havendo redução na ocorrência de fungos no café beneficiado em relação ao café em coco, ainda se constatou elevada incidência desses microrganismos, indicando, desta forma, a necessidade de cuidados especiais no armazenamento desses grãos. A análise de café brasileiro de diferentes estádios de maturação e tipos de processamento permitiu detectar alto nível de contaminação fúngica, incluindo *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp. e *Aspergillus* spp. (Urbano et al., 2001).

O período de armazenamento pode ser favorável ao desenvolvimento de fungos, especialmente se for por um período muito longo. Sendo assim, as sementes devem ser armazenadas com umidade em torno de 12% e à medida que se deseja armazenar por um prazo mais longo, menor deverá ser a umidade inicial das sementes. Quando se trata de conservação de banco de germoplasma recomenda-se que as sementes tenham uma umidade em torno de 6-7% e sejam colocadas em ambientes a -18°C (Wetzel, 1987).

Fanan et al. (2009) avaliando a influência da colheita e períodos de armazenamento na qualidade sanitária de sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) observaram que o aumento na porcentagem de sementes infectadas aos 12 meses de armazenamento, coincidiu com a redução da porcentagem de

germinação, o que indica a influência da incidência de fungos na qualidade das sementes. Verificou-se, uma maior incidência do gênero *Cladosporium* spp. (82,6%), seguido dos gêneros *Penicillium* spp. (42,8%), *Fusarium* spp. e *Alternaria* spp. (30,9%), *Arthrotrichum* spp. (14,0%) e *Aspergillus* spp. (9,9%). O tratamento cujos racemos permaneceram mais tempo no campo (5-CRP-T), apresentou a maior porcentagem média de sementes com a presença de *Fusarium* spp, enquanto que a menor porcentagem foi para as sementes que foram colhidas assim que atingiram o ponto de colheita, de forma que um maior período de armazenamento da semente no campo resultou em maior incidência deste fungo. No entanto, apesar do *Fusarium* spp. ter permanecido viável até o final do período de armazenamento, a sobrevivência foi baixa, partindo de incidência inicial de 56% e atingindo média final de 11%. O 5-CRP(T) também apresentou maior porcentagem de sementes com a presença de *Alternaria* spp., o qual permaneceu viável até o final do período de armazenamento, porém, apresentou sobrevivência ainda mais baixa do que a do *Fusarium* spp., observando-se incidência inicial de 61% e final de 7%. Durante o armazenamento, houve aumento na incidência dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* nas sementes de todos os tratamentos até os nove meses.

Estudos visando a avaliação do efeito da umidade e do armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia (*Avena sativa* L.), realizado por Rupollo et al. (2006) observaram que os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* aumentaram em relação ao período de armazenamento. Os fungos do gênero *Aspergillus* apresentaram maiores incidências aos 3 meses e 6 meses de armazenamento. Foi observada ainda, a diminuição da contaminação fúngica a partir do sexto mês armazenamento e explica que isso pode ter sido provocada pela perda da viabilidade dos esporos, que são facilmente sujeitos à dessecação (VALARINI et al., 1990).

## FATORES DO PATÓGENO

Duas propriedades dos organismos fitopatogênicos são utilizadas para prever a ocorrência das doenças: a concentração de inóculo, ou seja, o número de propágulos individuais capazes de infectar o hospedeiro; e o potencial do inóculo, que é a máxima capacidade da população do patógeno em infectar plantas suscetíveis sob condições ótimas. Desse modo, estimulando-se a concentração de inóculo tem-se uma visão estática da quantidade e capacidade da doença (STURZ et al., 1997).

### 1 POTENCIAL DE INÓCULO

O potencial de inóculo e sua localização na semente são de extrema importância no processo infeccioso (Tanaka e Machado, 1985). Lockwood (1988) conceituou potencial de inóculo como: “a energia de crescimento do organismo patogênico que está disponível para a infecção na superfície do órgão do hospedeiro, resultante de quatro componentes: (1) densidade de inóculo ou número de propágulos; (2) energia exógena e endógena dos propágulos por unidade; (3) virulência dos propágulos; (4) fatores ambientais, bióticos e abióticos, determinantes da atividade do inóculo”.

Machado et al. (2004) estudando o uso da restrição hídrica na inoculação dos fungos *Colletotrichum gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, *Botryodiplodia theobromae* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) observaram que a influência de sementes de algodão inoculadas sob restrição hídrica variou em função do período de exposição das sementes à estes fungos. Para infecção destas foi necessário prolongar o tempo de exposição por mais de 48 h, e nestas circunstâncias, estes fungos provocaram a morte de sementes quando expostas a um maior período de tempo, devido ao maior nível de potencial de inóculo.

## 2 CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO

A quantidade de inóculo presente na semente influencia a germinação e a transmissão de patógenos (TANAKA e MACHADO, 1985). Estes, quando associados à semente, podem ser grandes causadores de morte em pré e pós-emergência de plântulas, reduzindo, portanto, a porcentagem de germinação (Tanaka, 1994).

No entanto, é importante salientar que o nível de inóculo não deve ser utilizado como fator isolado para determinar a qualidade sanitária da semente, devendo-se levar em consideração, fatores relacionados ao ambiente, principalmente temperatura e umidade, e fatores intrínsecos a biologia do hospedeiro e do patógeno (TANAKA, 1994).

## 3 PATOGENICIDADE

Estudos realizados por Mendes et al. (2005) com o objetivo de avaliar o levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) observaram que dos fungos encontrados associados às sementes, *Fusarium solani*, quando inoculado, por pulverização, na parte aérea, causou murcha em 10% das plântulas e, *Pestalotiopsis* sp. causou manchas foliares diminutas de coloração branco acinzentado em 6% das plântulas, comprovando assim sua patogenicidade em plântulas de sabiá.

Bellettini et al. (2005) estudando a patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu constataram que foram detectadas as presenças dos fungos *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *Cercospora arachidicola*, *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp. e *Phoma* sp. A patogenicidade desses fungos, determinada pela sua inoculação nas sementes e plântulas, foi comprovada pelos sintomas de tombamentos observados na pré e



pós-emergência. *Aspergillus niger* causou tombamento em pré e pós-emergência e, quando inoculado em sementes observou-se podridão em 65% destas, e 61% das plântulas inoculadas, apresentaram podridão do colo e murcha com consequente morte das mesmas. *Fusarium oxysporum* causou podridão em cerca de 85% das sementes inoculadas e afetou a germinação das mesmas. Quando inoculado nas plântulas, 35% destas tornaram-se infectadas e apresentaram lesões na região do colo e raízes. Os autores ainda afirmam que a patogenicidade de fungos inoculados sobre o desenvolvimento das plântulas foi evidenciada por meio da redução na altura e comprimento de raízes em comparação à testemunha não inoculadas.

#### 4 AGRESSIVIDADE DO PATÓGENO

Os patógenos de campo associados, externa ou internamente, às sementes, também podem causar morte de sementes após o plantio devido à rapidez de desenvolvimento e alta agressividade de determinados grupos que retornam à atividade assim que encontram condições favoráveis (solo, clima), matando a semente antes que ela evidencie os primeiros indícios de ter iniciado a germinação pela ação de enzimas e toxinas (MENTEN, 1995).

#### 5 VIRULÊNCIA

Entende-se por virulência a capacidade de causar doença. Diversos estudos têm sido realizados com o intuito de avaliar a virulência de isolados fúngicos, dentre estes, pode-se citar o realizado por Vieira et al. (2007), cujo os objetivos foram determinar o padrão de virulência/avirulência e as raças de 274 isolados brasileiros de *Colletotrichum gloeosporioides* de populações selvagens de *Stylosanthes* spp. dos estados de Goiás, Bahia e Minas Gerais, em 12 acessos

diferenciadores e agrupar os isolados de acordo com a similaridade em virulência. Neste estudo, os autores observaram que a maioria dos isolados brasileiros de *C. gloeosporioides* de populações selvagens de *Stylosanthes* spp. apresenta baixa capacidade de virulência, e a raça predominante (BBB) não apresenta virulência a nenhum dos acessos diferenciadores avaliados.

#### REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. New York. Academic Press. 2005. 922p.
- ANGELINI, A.C. **Estudo sobre controle de qualidade durante o armazenamento de sementes embaladas**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. 51p.
- BELLETTINI, N.M.T.; ENDO, R. M.; MIGLIORANZA, E.; SANTIAGO, D. C. Patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, vol. 26, n. 2, p. 167-172, abr./jun. 2005.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1985. 367p.
- BOCCHESI, C.A.C.; MARTINELLI, J.A.M.; FEDERIZZI, L.C.; ROSA, C.R.E. Processo de Infecção e Formação de Mancha em Grãos de Aveia Branca com Níveis Diferenciados de Resistência para *Pyrenophora chaetomioides*. **Fitopatologia Brasileira**, 31(3), maio - jun 2006.
- BRACCINI, A. de. L.; SCAPIM, C.A.; LANA, M. do C.; VIDIGAL FILHO, P.S.; ALBRECHT, L.P.; BARRETO, R.R.; RODOVALHO, M. de. A. Produtividade de grãos e qualidade de sementes de café em resposta à densidade populacional. **Revista Ceres**, 55(6): 489-496, 2008.

BRACCINI, A. de. L.E.; ALBRECHT, L. P.; ÁVILA, M. R.; SCAPIM, C. A.; BIO, F. E. I.; SCHUAB, S. R. P. Qualidade fisiológica e sanitária das sementes de quinze cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) colhidas na época normal e após o retardamento da colheita. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v. 25, no. 2, p. 449-457, 2003.

BRAGANTINI, C. **Alguns aspectos do armazenamento de sementes e grãos de feijão**. Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 28 p. (Documentos / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644 ; 187).

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação CARGILL, 1983. 429p.

CICERO, C. M.; SILVA, W. R. da. Danos mecânicos associados a patógenos e desempenho de sementes de milho. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 305-314, 2003.

CLAVERO, M. R.; HARRISON, M. A; HUNG, Y. *Aspergillus parasiticus* NRRL 2667 growth and aflatoxin synthesis as affected by calcium content and initial spore load in single peanuts. **Journal of food protection**, Ames, v.57, n.5, p.415-418. 1994.

FANAN, S.; MEDINA, P.F.; CAMARGO, M.B.P. de.; ITO, M.F.; DUDIENAS, C.; RAMOS, N.P.; GALBIERI, R. Influência da colheita e períodos de armazenamento na qualidade sanitária de sementes de mamoneira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 3, p. 202-209, 2009.

FERNANDEZ, E.; ROSOLEM, C. A.; MARINGONI, A. C.; OLIVEIRA, D. M. T. Fungus incidence on peanut grains as affected by drying method and Ca nutrition. **Field Crops Research**, Amesterdan, v. 52, n.1, p. 9-15. 1997.

FERREIRA, R. L. Etapas do beneficiamento na qualidade física e fisiológica de sementes de milho. 2010. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha

Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção. Ilha Solteira : [s.n.], 49 f. 2010.

FESSEL. S. A.; SADER. R.; PAULA. R. C.; GALLI. J. A. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 2, 2003.

FLETT, B. C.; WEHNER, F. C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. **Journal of Phytopathology**, 133:327-333. 1991.

HELDWEIN, A. B.; CONTERATO, I.F.; TRENTIN, G. NIED, A.H. Princípios para implementar alertas agrometeorológicos e fitossanitários. In: \_\_\_\_\_. **Usos e benefício da coleta automática de dados meteorológicos na agricultura**. 1. ed. Ed. da UFSM, 2007, cap. 5, p. 115-134.

HONG, T. D.; ELLIS, R.H. Chapter 3: Storage. In: **Tropical tree seed manual**. [s.l]: USDA Forest Service's, Reforestation, Nurseries, & Genetics Resources, 2003.

HUBER, L.; GILLESPIE, T. J. Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. **Annual Review of Phytopathology**, Dublin, v. 30, n. 1, p. 553-577, Sept. 1992.

IGARASHI, S.; BALAN, M. G. **Brusone do trigo**. Atualidades Agrícolas da Basf, p. 28-31, dez. 2004.

LACERDA, A. L. S.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E.; VALÉRIO FILHO, W.V. Efeitos da dessecação de plantas de soja no potencial fisiológico e sanitário das sementes. **Bragantia**, v. 64, n.3, p.447-457, 2005.

LACERDA, A. L. S.; LAZARINI, E.; SÁ, M. E.; VALÉRIO FILHO, W. V. Armazenamento de sementes de soja dessecadas e avaliação da qualidade fisiológica, bioquímica e sanitária. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 2, p. 97-105, 2003.

LOCKWOOD, J. L. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 93-12, 1988.

MACHADO, J. da. C.; OLIVEIRA, J. A. de.; VIEIRA, M. das. G. G. C.; ALVES, M. de. C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 62-67, set./dez. 2004.

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

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

MEDEIROS, A. C. S.; EIRA, M. T. S. Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas. **Circular Técnica 127**, Colombo-PR, EMBRAPA, 2006. 13p.

MEHAN, V.K.; MAYEG, C.D.; JAVANTHI, S; McDONALD, D. Preharvest seed infection by *Aspergillus flavus* group fungi and subsequent aflatoxin contamination in groundnuts in relation to soil types. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 136, n. 2, p. 239-248, 1991.

MENDES, S. S.; SANTOS, P. R. dos.; SANTANA, G. da. C.; RIBEIRO, G. T.; MESQUITA, J. B. Levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). **Revista Ciência Agrônômica**, Vol. 36, No1, jan. - abr., 2005: 118 - 122.

MENTEN, J. O. M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico.** 1ed. São Paulo: Ciba Agro, 1995. 321p.

NASCIMENTO, W. M. O.; CRUZ, E. D.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae - Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas-RS, v. 28, n. 1, p. 149-153, 2006.

NEERGAARD, P. **Seed pathology.** London: Mac Millan, 1979. v.1, 839p.

PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M. Composição microbiana associada ao café em coco e beneficiado colhido em diferentes estádios de maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 677-682, 2001.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) lavado e submetido a diferentes tempos de amontoa no terreiro. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, Especial Café, n. 2, p. 03-10, 2001.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. 2.ed. Brasília: [s.n.], 1985. 289p.

RAVA, C. A.; VIEIRA, E. H. N.; MOREIRA, G. A. Qualidade fisiológica de sementes de feijão produzidas em várzeas tropicais irrigadas por subirrigação. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO - CONAFE, 8., 2005, Goiânia. **Anais...** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. v. 2, p. 739-742. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 182).

REDING, C. L. C.; HARRISON, M. A; KVIEN, C. K. *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin synthesis on florunner peanuts grown in gypsum-supplemented soil. **Journal of food protection**, Ames, v. 56, n. 7, p. 593-594, 1993.

REID, L. M.; BOLTON, A. T.; HAMILTON, R. I.; MATHER, D. E. **Screening Maize for Resistance to Gibberella Ear Rot** **Agriculture and Agri-food Canada**. Technical Bulletin Publications, 196-5E. 1996.

REIS, E. M. **Previsão de doenças de plantas:** Passo Fundo: UPF, 2004. 316p.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Manual de identificação e controle de doenças do milho.** Passo Fundo. Aldeia norte Editora. 1996.

RIBEIRO DO VALE, F. X.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e umidade nas epidemias de doenças de plantas. **RAAP**. Passo Fundo, Vol. 4, p. 149-207, 1996.

RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, L. C.; MARTINS, I. R.; ELIAS, M. C. Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 118-125, jan./fev., 2006.

SCHUMACHER, M. V.; HOPPE, J. M.; FARIAS, J. A. Manual de instruções para a coleta, beneficiamento, armazenamento e análise de sementes florestais. Santa Maria: UFSM/AFUBRA, Projeto Bolsa de Sementes de Espécies Florestais, 2002.

SENTELHAS, P. C.; GILLESPIE, T. J.; BATZER, J. C.; GLEASON, M. L.; MONTEIRO, J. E. B. A.; PEZZOPANE, J. R. M.; PEDRO JÚNIOR, M. J. Spatial variability of leaf wetness duration in different crop canopies. **International Journal of Biometeorology**, Berlin, v. 49, n. 6, p. 363-370, Jul. 2005.

SHURTLEFF, M. C. **A compendium of corn disease**. St<sup>a</sup>. Paul, Minnesota. American Phytopathological Society. 1992.

SOAVE, J.; WETZEL, M. V. S. **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480p.

STURZ, A. V.; CARTER, M. R.; JOHNSTON, H. W. A review of plant disease, pathogen interaction and microbial antagonism under conservation tillage in temperate humid agriculture. **Soil e Tillage Research**, Ontario, v. 41, p. 169-189, 1997.

TANAKA, M.A.S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.) **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/FEALQ, 1995. pp.171-178.

TANAKA, M.A.S. Patógenos causadores de tombamento do algodoeiro e seus efeitos sobre a germinação das sementes em diferentes temperaturas. **Fitopatologia Brasileira**, 19:29-33. 1994.

TANAKA, M.A.S.; MACHADO, J.C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário** 11:40-46. 1985.

TRENTO, S.M.; IRGANG, H.H.; REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, 27(6), nov-dez 2002.

URBANO, G.R.; TANIWAKI, M.H.; LEITÃO, M.F.de.F.; VICENTINI, M.C. Occurrence of ochratoxin A – Producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**. v. 64, n. 8, p. 1226-1230, 2001.

VALARINI, P.J.; VECHIATO, M.H.; LASCA, C.C. Sobrevivência de fungos associados a sementes de arroz (*Oryza sativa*) em duas condições de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 173-176, 1990.

VIEIRA, E.A.; CHARCHAR, M.J.d'A.; SILVA, M.S.; ANJOS, J.R.N. dos. Virulência de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* de populações selvagens de *Stylosanthes* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 5, p.661-667, maio 2007.

VIEIRA-JUNIOR, P.A.; DOURADO-NETO, D.; SMIDERLE, O.J.; CICERO, S. M. Efeitos de métodos de irrigação sobre a produção e a qualidade de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 20, n. 1, p.100-105, 1998.

WETZEL, M.M.V.S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. **Patologia de Sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 260-277.

WORTMAN, L.S.; RINKE, E.H. Seed corn injury at various stages of processing and its effect upon cold test performance. **Agronomy Journal**, Madison, v. 43, n. 7, p. 229-305, 1951.

## Causas abióticas de danos em sementes

*Daniela Vieira dos Anjos Sena  
Luciana Cordeiro do Nascimento*

A qualidade de semente é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam sua capacidade de originar plantas de alta produtividade (POPINIGIS, 1985). Segundo Perry (1972) o vigor é uma característica fisiológica determinada pelo genótipo e modificada pelo ambiente, que governa a capacidade de uma semente de produzir rapidamente uma plântula no solo e representa o limite onde a semente tolera uma gama de fatores ambientais.

A utilização de sementes de boa qualidade fisiológica é fator primordial no estabelecimento de qualquer lavoura. Sementes de baixa qualidade, isto é, com potencial de germinação e vigor reduzidos, originam lavouras com baixa população de plantas e em consequência disto acarreta sérios prejuízos econômicos (TEÓFILO et al., 2007).

Tekrony et al. (1984) relataram que o potencial fisiológico de sementes podem ser atribuídas, principalmente, aos efeitos das condições ambientais prevaletentes durante a fase de maturação e colheita do que pelas características da própria cultivar. Hoppe et al. (2004) afirmam que as alterações climáticas interferem na formação de botões florais. Em períodos chuvosos ou déficit hídrico, mudanças significativas das temperaturas, durante a floração pode ocasionar um decréscimo na produção de sementes, por afetar fundamentalmente a polinização.

Segundo Marcos Filho (2005) condições ambientais como fertilidade do solo, disponibilidade de água, temperatura, luminosidade e posição da semente na planta tem influência no desenvolvimento da semente, traduzindo principalmente por variações no tamanho, peso, potencial fisiológico e sanidade.

## 1 GERMINAÇÃO

A germinação ocorre numa sequência de eventos fisiológicos influenciada por fatores externos (ambientais: luz, temperatura, disponibilidade de água e de oxigênio) e internos (inibidores e promotores da germinação) às sementes, que podem atuar por si ou em interação com os demais. (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972). Conforme Marcos Filho (2005) a velocidade, a percentagem e a uniformidade de germinação de uma população de sementes são influenciadas por uma série de condições internas, fatores ambientais e manejo durante e após colheita.

Dentre os principais fatores que afetam a germinação das sementes, merecem destaque a temperatura e a luz (LABOURIAU, 1983). A temperatura pode regular a germinação por três maneiras: determinando a capacidade e taxa de germinação; removendo a dormência primária ou secundária; e induzindo a dormência secundária (BEWLEY e BLACK, 1994). Para cada espécie há uma temperatura adequada e a considerada ideal é aquela com maior taxa de germinação. Para a maioria das espécies tropicais, a temperatura ótima de germinação encontra-se entre 15 °C e 30 °C e a máxima varia entre 35 °C e 40 °C (MACHADO et al., 2002). Há espécies que respondem bem tanto à temperatura constante como à alternada, a exemplos de sementes de *Annona squamosa* L. (ZUCARELI et al., 2007), *Jatropha curcas* L. (MARTINS et al., 2008), *Sebastiania commersoniana* (SANTOS e AGUIAR, 2005) e *Cnidoculus phyllacanthus* (SILVA e AGUIAR, 2004). A alternância de temperatura corresponde,

provavelmente, a uma adaptação às flutuações naturais do ambiente (HOPPE et al., 2004).

De acordo com Marcos Filho (2005) a luz não tem sido incluída como fator imprescindível para a germinação de sementes, a sua presença pode contribuir para atenuar problemas causados pelo baixo potencial de água do solo e os efeitos de temperaturas superiores à ótima. As sementes que germinam na presença de luz são fotoblásticas positivas, enquanto aquelas nas quais a germinação é inibida pela luz são fotoblásticas negativas (BEWLEY e BLACK, 1994). Sementes que germinam com presença ou ausência de luz são denominadas fotoblásticas neutras, como; *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. (HENICKA et al., 2006), *Basella rubra* (LOPES et al., 2005) e *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilger (COELHO et al., 2008).

Além da temperatura e da luz, as sementes estão sujeitas a condições de múltiplos estresses que limitam o seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência sendo, portanto, necessária investigação científica para a determinação da tolerância de tais plantas ao estresse, a partir da observação da capacidade germinativa das sementes nessas condições (LARCHER, 2000).

O fornecimento de água é condição fundamental para que o metabolismo da semente inicie e desenvolva normalmente o processo de germinação. Há um teor de água que a semente deve atingir, o qual varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água, temperatura, pressão hidrostática, área de contato semente/água, forças intermoleculares, composição química e condição fisiológica da semente (PESKE, 2003). O excesso de água limita a entrada de oxigênio, diminuindo a respiração e provocando atraso ou paralisação da germinação ou, ainda, a ocorrência de plântulas anormais (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Em contrapartida, após a semeadura, não havendo disponibilidade hídrica suficiente, o processo de germinação pode ser prejudicado, podendo ocorrer à morte do embrião (MARCOS FILHO, 2005).

## 2 MATURAÇÃO FISIOLÓGICA

A maturação é caracterizada pelo estágio de desenvolvimento da semente no qual é atingido o peso máximo de matéria seca, a semente possui o máximo vigor e germinação (PESKE et al., 2003). Durante este processo, verificam-se alterações no peso da matéria seca, teor de umidade, tamanho, germinação e vigor das sementes, ocorrendo, também, alterações na composição química das sementes (ÁVILA e ALBRECHT, 2010). Nesse ponto, as sementes desligam-se da planta mãe, cessa a translocação de fotossintetizados e, a partir daí, ocorrem alterações fisiológicas que levam à secagem das sementes (BARROS, 1986).

Segundo Hoppe et al. (2004) fatores genéticos e ecológicos adiantam ou atrasam o processo de maturação das sementes, sendo a temperatura um dos fatores mais importantes na aceleração ou retardamento da maturação. Peske et al. (2003) afirmam que altas temperaturas do ar durante a fase de enchimento da semente podem reduzir o vigor, germinação, peso e a qualidade visual. Em soja a exposição da planta a alta temperatura (32/28°C; dia/noite) durante a fase de enchimento da sementes reduziu a germinação destas em 28%, a matéria seca em 24 mg/planta (vigor) e em 26% o nº de sementes descoloridas (qualidade visual), em relação as que se desenvolvem em uma temperatura baixa (27/22°C). Altas temperaturas são responsáveis também, pela maturação forçada em soja, provocando translocação rápida de reservas impedindo a destruição da clorofila e provocando a formação de sementes esverdeadas (MARCOS FILHO, 2005). Zorato et al. (2007), afirmam que a clorofila é indicativo de redução do potencial fisiológico em sementes de soja.

Outro fator importante agindo sobre a maturação de sementes é a umidade, a ocorrência de ventos secos no outono pode favorecer uma rápida maturação e dispersão das sementes, enquanto que condições

de chuva na mesma época prolongam o período de retenção das sementes nos frutos (HOPPE et al., 2004). O excesso de precipitações pluviiais pré-colheita, além de acelerar o metabolismo, favorece a incidência de microrganismos, comprometendo o potencial fisiológico das sementes. Respectivamente, a deficiência hídrica promove a aceleração do processo de acúmulo de reservas e sua complementação prematura e anormal, originando sementes menos densas e com desempenho comprometido (MARCOS FILHO, 2005).

No Brasil, em algumas regiões, comumente observa-se a ocorrência de condições climáticas desfavoráveis durante a fase final de maturação da soja. Frequentemente, o excesso de chuvas, associado à ocorrência de altas temperaturas, nessa fase, ocasiona sérios danos à produção de sementes, as quais, além do processo de deterioração fisiológica, por causa das flutuações do grau de umidade, apresentam altos índices de infecção, causados principalmente por fungos que acompanharão a mesma até o momento da germinação no campo (ÁVILA e ALBRECHT, 2010).

## 3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS SEMENTES

Durante a maturação da semente, observa-se uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e funcionais. Ocorrendo também mudanças na composição química das sementes, ou seja, alterações nos teores de carboidratos, proteínas, lipídios e possivelmente compostos fenólicos como as isoflavonas (ÁVILA e ALBRECHT, 2010).

Alteração na composição química de sementes de várias espécies, em função das condições climáticas em anos agrícolas diferentes, tem sido relatada (MARCOS FILHO, 2005). A deficiência hídrica associada ao efeito da temperatura pode explicar as modificações na concentração de proteínas, tanto entre locais como entre anos em um mesmo local (Rangel et al., 2004).

De acordo com Harris et al. (1978) altas temperaturas durante o desenvolvimento das sementes estão associadas com a redução no teor de óleo total, porém, em condições campo, este efeito é variável de acordo com outros fatores ambientais, tais como o estresse hídrico, que influencia a produção de óleo através de seus efeitos sobre o crescimento e o desenvolvimento da semente.

Ávila e Albrecht (2010) afirmam que os fatores ambientais como altas temperaturas e estresse hídrico, afetam a qualidade fisiológica das sementes de soja, podendo interferir na quantidade de isoflavonas totais e suas diferentes formas.

José et al. (2006) pesquisaram a composição de açúcares solúveis em sementes de milho híbrido e analisaram que a maioria dos híbridos tolerantes à alta temperatura de secagem apresentam menores conteúdos dos monossacarídeos glicose e frutose. A sacarose é o açúcar mais abundante e sua quantidade é maior nas sementes tolerantes.

Eichelberger et al. (2002) afirmam que o retardamento da secagem de sementes de *Lolium multiflorum* Lam., aumentam os teores de aminoácidos e diminuem os de açúcares solúveis, amido solúvel, proteína solúvel e de peso de mil sementes.

#### 4 COLHEITA

O período entre a maturidade e a colheita é crítico, pois as sementes permanecem presas à planta e expostas à ação de fatores bióticos e abióticos, de modo que a intensidade da deterioração depende do nível de adversidade enfrentado pela semente e do período de exposição a essas condições (MARCOS FILHO, 2005).

Segundo Veiga et al. (2007) a antecipação da colheita permite a obtenção de sementes de melhor qualidade fisiológica e sanitária, por evitar danos que possam ocorrer no campo devido às condições climáticas adversas, como chuvas na pré-colheita, bem como ataques

de pragas e de microrganismos. Além disso, a colheita antecipada permite um melhor planejamento de rotação de culturas e a otimização das estruturas de recepção, secagem e beneficiamento de sementes.

Terasawa et al. (2009) afirmam que o momento ideal para a colheita de sementes seria na maturidade fisiológica, ou seja, imediatamente após se desligarem fisiologicamente da planta-mãe; a partir desse estágio, não ocorrem acréscimos significativos na massa seca das sementes. No entanto, o teor de água da semente nesse momento é elevado, o que contribui para acelerar a deterioração devido à elevada atividade metabólica que, além de consumir parte das substâncias de reservas, favorece o desenvolvimento de microrganismos.

Na colheita mecanizada o alto de teor de umidade das sementes dificulta o processo, pois, a presença de grande massa verde na planta, impede o funcionamento dos mecanismos de trilha e separação havendo, conseqüentemente, injúrias mecânicas por amassamento das sementes. A colheita tardia ocorre quando a umidade da semente está baixa, facilitando a trilha e limpeza, entretanto podem ocorrer perdas como deiscência e degrane (PESKE et al., 2003).

Terasawa et al. (2009) avaliaram a influência da colheita antecipada da soja, com diferentes teores de água, sobre a qualidade fisiológica das sementes e concluíram que é possível a colheita antecipada, de alta qualidade fisiológica, com teores abaixo de 22,9% de água.

Sementes de *Thrinax parviflora* germinaram mais lentamente quando semeadas logo após a colheita e mais rapidamente quando colocadas para germinar seis e sete dias após a colheita. Quando colhidas, provavelmente ainda não tinham atingido o ponto de maturidade fisiológica (PIVETTA et al., 2005).

Os grãos de trigo colhidos secos na planta apresentaram qualidade tecnológica inferior e menor conservabilidade ao armazenamento, em comparação com os grãos colhidos com



umidades de 16 e 18%, secos em secador intermitente com ar a 70°C, estacionário com ar a 45°C e estacionário sem aquecimento, durante o período de 12 meses (EIAS et al., 2009).

## 5 SECAGEM

A secagem pós-colheita tem como objetivo reduzir o grau de umidade das sementes até níveis seguros, procurando atenuar a possibilidade da ocorrência de injúrias durante o manejo e permitir conservação adequada do potencial fisiológico durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005).

Segundo Garcia (2011) o intervalo de tempo que separa o final da colheita do início do processo de secagem deve ser o mais reduzido possível porque, nesta fase do processo, as sementes com umidade elevada apresentam altas taxas de atividade respiratória e, o consumo antecipado de reservas provoca um desgaste fisiológico. Apesar das vantagens que apresenta, a secagem é uma operação potencialmente danosa à qualidade das sementes e depende do correto manejo dos teores de água inicial e final, da temperatura, da umidade relativa, fluxo de ar, da taxa de secagem e do período de exposição ao ar aquecido (MIRANDA et al., 1999). De acordo com Pereira (2009) durante a secagem, as sementes sofrem mudanças físicas provocadas por gradientes de temperatura e umidade que ocasionam expansão, contração e alterações na densidade e porosidade.

Chen e Burris (1990), afirmam que os danos de secagem estão relacionados com a ruptura da membrana, com consequente aumento da condutividade elétrica e de lixiviação de açúcares. Baker et al. (1991) reforçaram a hipótese de que a redução da germinação, com secagem a altas temperaturas, é devida à desorganização de componentes celulares.

A secagem natural utiliza as energias solar e eólica para remover a umidade das sementes, este método é pouco suscetível a riscos de danificação mecânica e térmica sendo, no entanto, dependente das condições psicrométricas do ar ambiente, que muitas vezes não são adequadas para a secagem das sementes (GARCIA, 2011). A secagem artificial é um método mais rápido, econômico e seguro, pelo fato de não depender das condições climáticas (MACÊDO e WAGNER, 1984).

José et al. (2005) avaliaram os aspectos anatômicos do pericarpo das sementes de milho associados à tolerância à alta temperatura de secagem e afirmam que sementes de milho que apresentam estrutura do pericarpo mais densa, são mais sensíveis à alta temperatura de secagem.

Zuchi et al. (2009) avaliaram dois períodos de colheita com secagem natural e artificial e a qualidade fisiológica de sementes de mamona e observaram que a colheita antecipada de sementes de mamona (70% dos frutos secos) e o uso de secagem artificial à 40°C propicia a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica, porém temperaturas superiores são danosas.

Garcia et al. (2005) estudaram o efeito da secagem estacionária, sobre a qualidade fisiológica de sementes de trigo e concluíram que é possível efetuar a secagem das sementes com grau de umidade de 17,8% para 13%, em silo secador com altura da camada de sementes de até 5,25 m de altura, sem causar efeitos imediatos prejudiciais à qualidade fisiológica.

## 6 BENEFICIAMENTO

O beneficiamento de sementes constitui-se num conjunto de operações visando melhorar, ou aprimorar, as características de um lote de sementes, uma vez que esse processo promove a eliminação das impurezas, das sementes de outras espécies ou cultivares, das

sementes da espécie ou da cultivar, que por ventura apresentem características indesejáveis e por fim permite a separação em frações mais uniformes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Para a produção de sementes de alta qualidade, estas precisam ser beneficiadas e manipuladas de forma adequada, caso contrário, os esforços anteriores para o desenvolvimento do material genético e as técnicas culturais especializadas para a produção de sementes podem ser perdidas (FESSEL et al., 2003). De acordo com Copeland (1972) os danos mecânicos ocorridos na colheita podem acarretar redução na germinação da ordem de 10% e o beneficiamento inadequado pode elevar este índice para 20%, ou mesmo para 30%.

A injúria mecânica é causada por choques e/ou abrasões das sementes contra superfícies duras ou contra outras sementes, resultando em sementes quebradas, trincadas, fragmentadas, arranhadas e inteiramente danificadas. Não só o aspecto físico da semente é atingido, pois sementes mecanicamente danificadas dificultam as operações de beneficiamento e apresentam menor qualidade fisiológica (ANDREWS, 1965 e DELOUCHE, 1967).

Segundo Fessel et al. (2003) os danos mecânicos podem ocorrer a cada fase do beneficiamento e são cumulativos. Lopes et al. (2011) observaram diferenças significativas de danos mecânicos entre as etapas de colheita e beneficiamento em sementes de soja, com os menores índices de injúrias para a colheita manual.

De acordo com Almeida et al. (1997) o conhecimento do teor de água das sementes é essencial para se determinar às condições adequadas para o correto beneficiamento. Marques et al. (2010) confirmam que o percentual de danos mecânicos, na forma de trincas e de fragmentação dos grãos de milho, foi maior com a redução da umidade de colheita, independente da textura dos grãos.

Almeida et al. (2004) afirmam que sementes de feijão *Vigna* beneficiadas com teor de umidade de 7,3% b.u., são mais susceptíveis

à quebra ocasionada pelos impactos que as sementes beneficiadas com 13,5%.

## 7 ARMAZENAMENTO

A semente após atingir a qualidade fisiológica entra num processo contínuo e irreversível de deterioração que não pode ser evitado, mas que pode decrescer de maneira lenta quando armazenados adequadamente. Segundo Marcos Filho (2005) a longevidade das sementes é variável de acordo com o genótipo, mas o período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, do grau de umidade e das condições do ambiente de armazenamento.

A deterioração das sementes envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que, eventualmente, causam a morte da semente. As alterações são progressivas e determinadas por fatores genéticos, bióticos e abióticos (clima, insetos e microrganismos), procedimento de colheita, de secagem, de beneficiamento, de manuseio e de armazenamento (FERREIRA e BORGHETTI, 2004).

Sementes armazenadas em ambientes com níveis elevados de umidade relativa e/ou temperaturas altas ou oscilantes estão mais predispostas à ação de microrganismos, como as espécies de fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, os quais deterioram as sementes, reduzindo sua germinação e vigor (NASCIMENTO et al., 2006). Com o aumento da temperatura o processo respiratório das sementes é acelerado, portanto, implica no aumento do consumo de reservas, com a conseqüente perda de peso e vigor das sementes (PESKE et al., 2003).

Santos et al. (2005) estudaram alterações em sementes de feijão armazenadas em condições ambientais não controladas de temperatura e umidade relativa do ar e concluíram que existem

cultivares com diferentes aptidões para a manutenção da qualidade fisiológica durante o armazenamento.

Vieira et al. (2008) afirmaram que o teor de umidade de 40%, associado à temperatura de 10°C, favoreceu a melhor conservação das sementes de Camboatã (*Cupania vernalis* Cambess.) por um período de 240 dias, enquanto a elevação da temperatura de armazenamento para 25°C, prejudicou a qualidade fisiológica das sementes.

Souza et al. (2009) ao testar a qualidade fisiológica de sementes de sorgo armazenadas em ambiente controlado, observaram que o grau de umidade das sementes aumentou com o tempo de armazenamento, reduzindo a qualidade fisiológica das sementes.

Sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. quando armazenadas sob condições normais de ambiente (22 ± 7°C) perderam a viabilidade em menos de três meses, enquanto sob temperatura baixa (câmara fria a 7 ± 1°C) foi possível manter a viabilidade das mesmas por até 18 meses, com germinação superior a 80% (BARBEDO et al., 2002).

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. A. C.; HARA, T.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. **Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais**. 1. ed. Campina Grande: UFPB/SBEA, 1997, 291p.

ALMEIDA, F.A.C.; FIGUEIREDO NETO, A.; COSTA, R.F.; GOUVEIA, J.P.G.; OLIVEIRA, M.E.C. Danos mecânicos em sementes de feijão *Vigna*, causados pelas operações na unidade de beneficiamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n.2/3, p. 254-259, 2004.

ANDREWS, C. Mechanical injury on seeds. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMAN, 1965, Mississipi. Proceedings... Mississipi State University, 1965. p.125-130.

ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P. Isoflavonas e a qualidade das sementes de soja. **Informativo ABRATES**, v. 20, n. 1,2, p.15-29, 2010.

BAKER, K. D.; PAULSEN, M. R.; VAN-ZWEDEN, J. Hybrid and drying rate effects on seed corn viability. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 34, n. 2, p. 499-506, 1991.

BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da mata atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 431-439, 2002.

BARROS, A. S. R. Maturação e colheita de sementes. In: CÍCERO, S. M.; MARCOS FILHO, J. ; SILVA, W. R. (Coord). **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 34-107.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CHEN, Y.; BURRIS, J. S. Role of carbohydrate in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. **Crop Science**, v. 30, p. 971-975, 1990.

COELHO, M. F. B.; SALES, D. M.; DOMBROSKI, J. L. D.; AZEVEDO, R. A. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F. Condições de luz e temperatura na germinação de sementes de algodão do campo [*Cochlospermum regium* (Schrank) Pilger – Bixaceae]. **Revista de Biologia Neotropical**. 5(2): 23-31, 2008.

COPELAND, L. O. How seed damage affects germination. **Crops & Soils Magazine**, v. 24, n. 9, p. 9-22, 1972.

DELOUCHE, J. C. Mechanical damage to seed. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMAN, 1967, Mississippi, Proceedings... Mississippi State University. p.69-71.

EICHELBERGER, L.; MAIA, M. S.; PESKE, S. T.; MORAES, D. M. Composição química de sementes de azevém em resposta ao retardamento da secagem e ao armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 693-701, 2002.

ELIAS, M. C.; LOPES, V.; GUTKOSKI, L. C.; OLIVEIRA, M.; MAZZUTTI, S.; DIAS, A. R. G. Umidade de colheita, métodos de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de grãos de trigo (cv. 'Embrapa 16'). **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 25-30, 2009.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FESSEL, S.A.; SADER, R.; PAULA, R. C.; GALLI, J. A. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 25, nº 2, p.70-76, 2003.

GARCIA, D.C.; BARROS, A. C. S. A.; PESKE, S. T.; MENEZES, N. L. Qualidade fisiológica de sementes de trigo submetidas à secagem estacionária com ar ambiente forçado. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 27, nº 1, p.158-166, 2005.

HARRIS, H.C.; McWILLIAM, J.R.; MASON, W.K. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 29, n.3, p.1203-1212, 1978.

HENICKA, G. S.; BRAGA, L. F.; SOUSA, M. P.; CARVALHO, M. A. C. Germinação de sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel.) J. F. Macbr.; temperatura, fotoblastismo e estresse salino. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 4, n. 1, p. 37- 46, 2006.

HOPPE, J. M.; GENRO, C. J. M. ;VARGAS, C. O.; FLORIANO, E. P.; REIS, E. R.; FORTES, F. O. ; MÜLLER, I. ; FARIAS, J. A.; CALEGARI, L.; DACOSTA, L. P. E. Produção de sementes e mudas florestais, **Caderno Didático**, nº 1, 2ª ed./ Santa Maria: [s.n.], 2004. 388 p.

JOSÉ, S. C. B. R.; PINHO, E. V. R. V.; PINHO, R. G. V.; RAMALHO, M. A. P.; SILVA FILHO, J. L. Características físicas do pericarpo de sementes de milho associadas com a tolerância à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, nº 1, p.125-131, 2005.

JOSÉ, S. C. B. R.; PINHO, E. V. R. V.; DIAS, M. A. G. S. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 28, nº 2, p.60-68, 2006.

KRAMER, P. J. ; KOZLOWSKI, T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. OEA, Washington. 1983. 174p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Trad. de C. H. B. A. Prado. São Carlos: Rima, 2000. 531p.

LOPES, J. C.; CAPUCHO, M. T.; MARTINS FILHO, S.; REPOSSI, P. A. Influência de temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de beralha. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 27, nº 2, p.18-24, 2005.

LOPES, M. M.; PRADO, M. O. D. ; SADER, R.; BARBOSA, R. M. Efeitos dos danos mecânicos e fisiológicos na colheita e beneficiamento de sementes de soja. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 230-238, 2011.

MACEDO, L. R.; WAGNER, W. J. **Revisão bibliográfica sobre a cultura da mamona**. Belém: Sudam/DSP, 1984. 35p.

MACHADO, C. F.; OLIVEIRA, J. A.; DAVIDE, A.C.; GUIMARÃES, R. M. Metodologia para condução do teste de germinação em sementes

de Ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson). **Cerne**, v. 8, n. 2, p.17-25, 2002.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 425p.

MARQUES, O. J. ; VIDIGAL FILHO, P. S.; DALPASQUALE, V. A.; RECHE, D. L.; OKUMURA, R.S.; SOUZA, R.S.; QUEIROZ, D.C. Efeito da umidade de colheita sobre os danos mecânicos em grãos de híbridos comerciais de milho. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, **Anais...** Goiânia, 2010.

MARTINS, C.C.; MACHADO, C. G.; CAVASINI, R. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de pinhão-manso. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 863-868, 2008.

MIRANDA, L. C.; SILVA, W. R.; CAVARIANI, C. Secagem de sementes de soja em silo com distribuição radial do fluxo de ar. I-monitoramento físico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 2097-2108, 1999.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F. S.; FREITAS, R. A. Produção de sementes de pimenta. **Informe agropecuário: cultivo da pimenta**, v. 27, n. 235, p. 30-39, 2006.

PEREIRA, C. O. **Qualidade fisiológica de sementes de pimentão em função do estágio de colheita, período de repouso de frutos e armazenamento**. 2009. 76p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2009.

PERRY, D. A. Seed vigor and Field establishment. **Horticulture Abstract**, v. 42, p. 334-342. 1972.

PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M. D. ; ROTA, G. R. M. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: UFPel, 2003. 645p.

PIVETTA, K. F. L.; CASALI, L. P.; CINTRA, G. S.; PEDRINHO, D. R.; PIZETTA, P. U. C.; PIMENTA, R. S.; MATTIUZ, C. F. M. Efeito da temperatura e do armazenamento na germinação de sementes de *Thrinax parviflora* Swartz. (Arecaceae). **CIENTÍFICA**, v. 33, n. 2, p.178-184, 2005.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289p.

RANGEL, M. A. S.; CAVALHEIRO, L. R.; CAVICHIOILLI, D. ; CARDOSO, P. C. **Efeito do genótipo e do ambiente sobre os teores de óleo e proteína nos grãos de soja, em quatro ambientes da região sul de Mato Grosso do Sul, safra 2002/2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 17)

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

SANTOS, S. R. G.; AGUIAR, I. B. Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs separadas pela coloração do tegumento. **Scientia Forestalis**, n. 69, p. 77-83, 2005.

SILVA, L. M. M.; AGUIAR, I. B. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoculus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.9-14, 2004.

SOUZA, G. F. M. V.; SANTOS, C. M.; SANTANA, D. G.; A. SÁ JÚNIOR. Armazenamento de sementes de sorgo submetidas a diferentes graus de umidade de colheita. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 745-752, 2009.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B.; BALLE, J.; TOMES, L. J. & STUCKEY, R. E. Effect of date of harvest maturity on soybean seed quality and

- Phomopsis* sp. seed infection. **Crop Science**, Madison. v. 24, n. 1, p.189-93. 1984.
- TEÓFILO, E. M.; DUTRA, A. S.; DIAS, F. T. C. Potencial fisiológico de sementes de soja produzidas no Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 4, p. 401-406, 2007.
- TERASAWA, J. M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E. ; KOEHLER, H. S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.
- VEIGA, A.D.; ROSA, S. D. V. F.; SILVA, P. A.; OLIVEIRA, J. A.; ALVIM, P. O.; DINIZ, K. A. Tolerância de sementes de soja à dessecação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 773-780, 2007.
- VIEIRA, C. V.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; NERY, F. C.; SANTOS, M. O. Germinação e armazenamento de sementes de Camboatã (*Cupania vernalis* Cambess.) **Sapindaceae**. **Ciência Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 444-449, 2008.
- ZORATO, M. F.; PESKE, S. T.; TAKEDA, C.; FRANÇA NETO, J. B. Presença de sementes esverdeadas em soja e seus efeitos sobre seu potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 29, nº 1, p.11-19, 2007.
- ZUCARELI, V.; FERREIRA, G.; SILVÉRIO, E.R.V.; AMARO, A.C.E. Luz e Temperatura na germinação de sementes de *Annona squamosa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 840-842, jul. 2007.
- ZUCHI, J. ; PESKE, S. T.; BEVILAQUA, G. A. P.; SILVA, S. D. A. Retardamento de colheita, método de secagem e qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, nº 3, p.009-015, 2009.

## Deterioração de sementes por fungos de armazenamento

Dayana Silva de Medeiros  
Luciana Cordeiro do Nascimento

A produção de sementes com alta qualidade é uma exigência do mercado. Entre os atributos que definem a qualidade das sementes tem-se o genético, sendo formado por um conjunto de características atribuídas às sementes na fase de melhoramento e, o sanitário, que pode ser controlado, como exemplo, por técnicas que visem à diminuição da incidência de microrganismos (CARVALHO et al., 2011).

Vários são os fatores determinantes de produtividade, podendo-se destacar a qualidade das sementes e fatores inerentes à sementeira. Segundo Kikut et al. (2003), a qualidade das sementes influencia a velocidade de estabelecimento e a uniformidade do estande, afetando assim a produção. A obtenção de sementes de alta qualidade representa a meta prioritária do processo de produção de sementes. Neste contexto o processo de produção de sementes é constituído de várias etapas e uma delas, não menos importante que as demais, é o armazenamento das sementes. A preservação da qualidade das sementes durante o armazenamento, ou seja, da colheita até o momento da sua utilização, é um aspecto fundamental a ser considerado no processo produtivo, pois os esforços despendidos na fase de produção podem não ser efetivos se a qualidade das sementes não for mantida, no mínimo até a época de sementeira (OLIVEIRA et al., 2003). Para os autores acima citados, sanidade de sementes refere-se à presença ou ausência de patógenos (fungos, bactérias,

vírus, nematóides e insetos), considerando também anomalias fisiológicas, decorrentes de alterações nutricionais e condições climáticas adversas, seja no campo, no processamento ou durante o armazenamento.

A condição sanitária é extremamente importante, considerando-se que as sementes são veículos de agentes fitopatogênicos, que nelas podem se alojar e com elas serem levados ao campo, provocando redução de germinação e vigor e originando focos primários de doenças. A semente assume importante papel na disseminação e transmissão de inúmeros microorganismos, sendo os fungos os de maior ocorrência (GOULART, 2006).

O ataque de fungos durante o armazenamento é uma das principais causas de perdas de grãos em quantidade e qualidade. A contaminação fúngica resulta não somente na diminuição do peso da massa de produto estocado, pelo consumo direto dos fungos, como também em alterações indesejáveis na composição nutricional e nas propriedades químicas, que dificultam a industrialização e a germinação destas sementes (JULIATTI, et al., 2011).

## 1. FUNGOS DE ARMAZENAMENTO

As sementes são vulneráveis à invasão microbiana desde sua concepção até a germinação, quando produz uma nova geração. Durante o desenvolvimento e a maturação das plantas, no campo, estas são invadidas por fungos e outros organismos patogênicos, originando plantas doentes (DINIZ, 2000).

Os fungos presentes nas sementes armazenadas são tradicionalmente divididos em dois grupos: de campo e de armazenamento. Os primeiros invadem as sementes ainda no campo, requerendo para seu crescimento, umidade relativa em torno de 90 a 95%. O tempo de sobrevivência desses fungos nas sementes está diretamente relacionado com as condições de ambiente de

armazenamento. Os fungos de armazenamento, por sua vez, estão presentes nas sementes recém-colhidas, geralmente em percentagens muito baixas. Mas eles são capazes de sobreviver em ambientes com baixa umidade, proliferando em sucessão aos fungos de campo e causando a deterioração das sementes e grãos armazenados (BERJAK, 1987; MERONUCK, 1987).

No armazenamento, os fungos são os principais microorganismos responsáveis pela destruição das sementes, ou quando isso não ocorre, provocam grande perda de vigor. O problema com microorganismos é maior no caso das sementes com baixa qualidade física. Os principais danos causados pelos insetos às sementes são as perdas de peso, de pureza física e da qualidade fisiológica, enquanto que a ação de microorganismos, desde que haja condições de umidade e temperatura satisfatórias, é no sentido de acelerar a taxa de deterioração das sementes durante o armazenamento (DINIZ, 2000).

Os fungos são os principais componentes da microflora presentes nos grãos e sementes armazenados e constituem a principal causa das deteriorações e perdas constatadas durante o armazenamento (ALBRECHT et al., 2008).

Estes fungos não invadem as sementes no campo, pois não sobrevivem à competição com outros fungos e que também crescem bem nas altas taxas de teor de umidade das sementes. Os fungos que atacam as sementes armazenadas são xerófitos, podendo crescer em umidade relativa (UR) de até 70%. Os efeitos da invasão fúngica implicam em significativa perda de qualidade do produto como, por exemplo, de germinação, descoloração, odor, aquecimento da massa, crescimento fúngico e produção de micotoxinas (SILVA et al., 2008).

Os principais fungos de armazenamento são dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Paecilomyces*, geralmente invadem as sementes após a colheita, principalmente quando esta é retardada,

constituindo o inóculo inicial (BERJAK, 1988). Desenvolvem-se mais rapidamente quando a umidade relativa do ar superior 80%, em sementes com teor de água superior a 14%, de acordo com uma sucessão ordenada de espécies (MARCOS FILHO, 2005).

Os fungos de armazenamento são tidos pelos produtores agrícolas como o seu inimigo principal, quando se trata da perda da semente por meios patológicos. Mas a diversidade de espécies fúngicas é uma das maiores no meio biológico, onde os mesmos desempenham diversas funções (SILVA et al. 2010).

## 2 DANOS CAUSADOS POR FUNGOS DE ARMAZENAMENTO

O efeito destes fungos na qualidade das sementes é uma seqüência, que prossegue aproximadamente nas seguintes etapas: Enfraquecimento do embrião; morte do embrião; descoloração do embrião ou da semente inteira; bolor; aquecimento; apodrecimento total e combustão (PRADO et al., 2006).

Os fungos de armazenamento são os principais responsáveis pela perda de viabilidade das sementes armazenadas com teor de umidade acima do valor crítico. Segundo Alves et al. (2001), as sementes são eficientes meios de disseminação e de introdução de patógenos em áreas isentas. O inóculo inicial de epidemias pode depender da transmissão do patógeno pela semente, assim como reduzir a qualidade fisiológica das mesmas.

Danos decorrentes da associação dos microorganismos patogênicos com sementes, não se limitam a perdas diretas da população em campo, mas envolvem outras implicações que podem provocar sérios danos em todo o sistema de produção (MACHADO, 1994; MARCOS FILHO, 2001).

A presença de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* é um indicativo da deterioração das sementes ou grãos de cereais e oleaginosas, e estes patógenos promovem danos ao embrião,

descoloração, alterações nutricionais e perda da massa seca (MARQUES et al., 2009).

## PERDA DO PODER GERMINATIVO

De acordo com Scott et al. (1982), grãos e sementes armazenados com teor de água acima de 13% podem apresentar desenvolvimento fúngico e o aquecimento da massa de grãos. Todos os fungos de armazenamento têm a capacidade de reduzir o poder germinativo da semente e causar a morte do embrião.

Os fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium* estão presentes nas sementes recém-colhidas, em porcentagens muito baixas e são capazes sobreviver em ambientes com baixa umidade, proliferando-se em sucessão fungos de campo e causando a deterioração das sementes, culminando com a perda de viabilidade e do valor comercial das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 1988).

Foi demonstrado, em diversos estudos, que a maioria destes fungos ataca preferencialmente o embrião sendo que alguns, apenas o embrião. Segundo Costa et al., (2010), a presença de fungos pode reduzir a capacidade germinativa de um lote de sementes, além de causar problemas na interpretação dos resultados dos testes de germinação, conduzidos em condições de laboratório.

Sementes de trigo, ervilha, abóbora e tomate foram inoculadas com diferentes isolados de *Aspergillus*. As sementes mais suscetíveis a estes fungos foram as de trigo, embora tivessem apresentado inicialmente 97% de germinação. A porcentagem de germinação foi reduzida em 25% por todos os isolados e 50% dos embriões foram invadidos, se tornaram escurecidos e adquiriram consistência gelatinosa, quando embebidos (HARMAN e PFLEGER, 1974).

Amostras de sementes de trigo, cevada, milho e sorgo estiveram armazenadas à temperatura e umidade favoráveis ao crescimento de fungos de armazenamento livres de inóculos e mantiveram sua



viabilidade por vários meses. As amostras armazenadas nas mesmas condições portadoras de inóculos perderam sua viabilidade em poucos meses (COUTINHO et al., 2007). Semente milho armazenadas com 19% de umidade a 20-25°C, parte das amostras foi inoculada com *A. flavus* e a outra permaneceu livre do fungo. Após 74 dias as amostras “sadias” mantiveram sua germinação em 97% e as inoculadas com *A. flavus* apresentaram somente 14% de germinação (LOPEZ e CHRISTENSEN 1967).

Os gêneros de fungos mais encontrados em sementes de pinhão manso armazenada em temperatura ambiente e controlada foram, *Aspergillus sp.* e *Penicillium*, dentre os quais, apenas *Aspergillus sp.* não foi identificado nas sementes em ambiente controlado onde este obteve um melhor índice de qualidade fisiológica. O gênero *Aspergillus sp.* é o mais comumente encontrado em grãos e sementes armazenados. Desenvolve-se em sementes e grãos cujo teor de água está em equilíbrio com umidades relativas entre 65-90%, correspondendo a 13-14% b.u. Esses microorganismos se adaptam a ambientes com baixa umidade relativa (GOLDFARB et al. 2010).

Analisando a qualidade fisiológica e incidência de fungos de sementes de feijão caupi observaram a presença de fungos *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* No qual sua presença ocasionou baixos percentuais de vigor e germinação (GOMES et al.; 2008).

## DESCOLORAÇÃO

Os fungos de armazenamentos, podem causar descolorações na semente inteira ou em partes dela, particularmente no embrião, local preferido para invasão (MARCOS FILHO, 2005). Em grãos de cereais, os embriões escurecidos são considerados como danificados, e o trigo com tais embriões são classificados como doentes e uma das principais causas é uma grande quantidade de fungos toxigênicos

que pode contaminar os cereais, principalmente em regiões de clima tropical (DUARTE et al.; 2009). Santin et al. (2004) e Marques et al. (2009) demonstraram que o gênero mais encontrado no milho armazenados foram *Aspergillus* e *Penicillium* os denominados fungos de armazenamento.

No laboratório, este tipo de dano pode ser produzido por diversos fatores, mas na prática, o embrião danificado ou escurecido está sempre associado com uma grande incidência de fungos (SILVA et al., 2008).

## AQUECIMENTO DA MASSA DE GRÃOS

Os fungos de armazenamento são os principais e, normalmente os únicos responsáveis pelo aumento da temperatura que ocorre em grão e sementes armazenadas com elevado teores de umidade (RADUNZ, et al. 2006).

Os fungos do gênero *Aspergillus restrictus* e *A. glaucus* atuam no início da deterioração, especialmente em cereais. À medida que a atividade dos fungos se intensifica, há elevação do grau de umidade das sementes, até que, no final da deterioração, com as sementes quase exauridas (MARCOS FILHO, 2005).

## PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

Micotoxinas são substâncias químicas resultantes da atividade metabólica de fungos, que podem intoxicar seres humanos e animais. A intoxicação pode proceder de forma direta ou indireta. A forma direta ocorre quando o produto é diretamente utilizado na alimentação humana ou de animais. Enquanto a forma indireta resulta quanto subprodutos e derivados contaminados são empregados (PITT, 2000).

Dentre as principais micotoxinas encontradas em produtos

alimentícios e grãos têm-se a: aflatoxina, tricotecenos, zearalenona e ocratoxinas. A aflatoxina constitui um grupo de toxinas produzidas pelo fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* e são identificadas como B1, B2, G1 e G2. Sendo que as iniciadas B e G devem ao fato destas apresentarem fluorescência azulada e esverdeada, respectivamente, quando observadas sob luz ultravioleta. Duas outras micotoxinas M1 e M2 foram detectadas no leite, urina e fezes de mamíferos, resultantes do metabolismo das toxinas B1 e B2 (POZZI, 2000).

### 3 CONDIÇÕES QUE FAVORECEM A INVASÃO DAS SEMENTES ARMazenadas POR FUNGOS DE ARMAZENAMENTO

Os fatores que mais favorecem para invasão de fungos de armazenamento nas sementes são: teor de umidade das sementes, umidade relativa do ambiente, temperatura e tempo. Estes fatores estão interrelacionados e devem ser considerados como de ação complexa (MARQUES et al., 2009). Para que haja êxito no armazenamento é preciso conhecer cada fator em si e em conjunto. A umidade é um fator de peso uma vez que a umidade contida nas sementes estabelece uma umidade relativa tal ao seu redor que pode favorecer o crescimento fúngico (KUMAR et al., 2008).

Marcos Filho (2001) ressaltou que temperatura e umidade elevadas podem inibir a manifestação de alguns microrganismos. Os fungos de armazenamentos desenvolvem-se mais rapidamente quando a umidade relativa do ar supera 80% e o com teor de água superior a 14%, de acordo com uma sucessão ordenada de espécies; assim, *Aspergillus restrictus* e *A. glaucus* atuam no início da deterioração, especialmente em cereais. À medida que a atividade dos fungos se intensifica, há elevação do grau de umidade das sementes, até que, no final da deterioração, com as sementes praticamente exauridas, predominam *A. flavus* e *Penicillium spp* (MARCOS FILHO, 2005).

A temperatura ótima para o crescimento da maioria dos fungos de armazenamento é de 28 a 35° C e um mínimo de 0 a 50° C. Algumas espécies de *Penicillium*, comuns em sementes, podem crescer vagarosamente nas temperaturas de -5 a 0° C, mas para isso as sementes devem ter um teor de umidade em equilíbrio com 100% de umidade relativa (MARCOS FILHO, 2005).

Os fungos que invadem as sementes em equilíbrio com 85% umidade reativa crescem lentamente para temperaturas abaixo de 100 C. Dentro de certos limites é possível afirmar que o uso de baixas temperaturas podem controlar ou até mesmo evitar a o crescimento desses fungos. Por exemplo, se a temperatura for baixa, mas o teor de umidade das sementes continua favorável ao crescimento fúngico, a perda de viabilidade das mesmas dependerá do grau de contaminação inicial. Como foi dito antes, a umidade relativa, o teor da umidade das sementes e sua temperatura são interligados em sua ação, e devem portanto, ser considerados em conjunto, quando se analisa a viabilidade das sementes durante o armazenamento Delouche et al. (1983).

Almeida et al. (2000) avaliaram a microbiota fúngica em amostras de três híbridos de milho recém-colhidos, provenientes de três regiões distintas do Estado de São Paulo. Os autores encontraram, em média, 71,1; 46,7 e 22,7% de incidência de *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* e *Aspergillus spp.*, respectivamente, indicando a predominância destes três gêneros sobre outras espécies fúngicas, e concluíram que fatores abióticos, tais como o teor de umidade nos grãos de milho, a atividade de água, a precipitação pluvial e a temperatura do ar influenciam diretamente no nível de contaminação fúngica, bem como na potencialidade toxigênica das cepas de *Aspergillus flavus* e de *Fusarium moniliforme* quanto à produção de micotoxinas.

Dilkin et al. (2010) encontraram contaminações de 23,6; 57,1 e 14,3% de *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* e *Penicillium sp.*, respectivamente, em grãos de cinco híbridos de milho recém-colhidos,

com 18% de umidade, em Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. Os autores constataram, ainda, que o consumo médio de massa seca dos grãos de milho foi de 1,22 e 2,69%, nos períodos de 5 e 10 dias, respectivamente, de incubação do fungo *Aspergillus parasiticus*.

Kikuti et al. (2003), trabalhando com sementes de duas variedades de milho de polinização livre, encontraram infestações de 31,0 e 98,7% de *Fusarium graminearum* e de *Penicillium sp.*, respectivamente, na variedade BRS106, enquanto que, na variedade AL 25, as infestações foram na ordem de 44,8; 100; 0,67 e 0,33% com os fungos *F. graminearum*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger* e *A. flavus*, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, L P.; BRACCINI, A L.; SCAPIM, C A.; ÁVILA, MR.; STULP, M. Qualidade fisiológica e sanitária das sementes sob semeadura antecipada da soja. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 4, p. 445-454, 2008.
- ALMEIDA, A. P.; CORREA, B.; MALLOZZI, M. A. B. Mycoflora and aflatoxin/fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 321-326, 2000.
- ALVES, W. M.; FARONI, L. R. A.; CORRÊA, P. C.; QUEIROZ, D. M.; TEXEIRA, M. M. Influência dos teores de umidade de colheita na qualidade do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 26, n. 2, p. 40-45, 2001.
- BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms. In: **Advanced International Course on Seed Pathology**, Passo Fundo, 1987. Proceedings Passo Fundo: EMBRAPA; ABRATES, 1987. p.93-112.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 429p.
- CHAUHAN, K. P. S. The incidence of deterioration and its localization in aged seeds of soybean and barley. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 13, n. 3, p. 769-73, 1985.
- COUTINHO, W. M.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M. DAS G. G. C.; MACHADO, C.F.; MACHADO, J.C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, vol. 32, n. 6, p.458-464, 2007.
- COSTA, A. R.; FARONI, L. R. A.; ALENCAR, E. R.; CARVALHO, M. C. S.; FERREIRA, L. G. Qualidade de grãos de milho armazenados em silos bolsa. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 41, n. 2 p. 200-207, abr-jun, 2010.
- DELOUCHE, J. C.; SEED DETERIORATION. **Sedd World**, v. 92, n. 4, p. 14-15, 1983.
- DILLKIN, P.; MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; HICKMANN, J. L. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de aflatoxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 137-141, 2010.
- DINIZ, E. Qualidade fisiológica e micoflora de sementes de amendoim CV. BR-1 durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 4, n. 3, p.141-151, 2000.
- DUARTE, R.P.; JUALIATTI, F.C.; LUCAS, B.V.; FREITAS, P.T. Comportamento de diferentes genótipos de milho com aplicação foliar de fungicida quanto à incidência de fungos causadores de grãos ardidos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 112-122, July/Aug. 2009.
- GOMES, D. P.; SILVA, G. C.; KRONKA, A. Z.; SOUZA, J. R. Qualidade fisiológica e incidência de fungos em Sementes de feijão caupi produzidas do estado do Ceará. **Caatinga**, v. 21, n. 2, p. 165 -171 maio/junho de 2008.
- GOULART, A. C. P. Efeito do tratamento de sementes de algodoeiro com fungicidas no controle do tombamento em

relação à densidade de inóculo de *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 360-366, out/dez. 2006.

GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E.; MATA, M. E. R. M.; NASCIMENTO, L. C.; BRITO, N. M.; Souto, F. M. Incidência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) após o armazenamento criogênico. **Biotemas**, 23 (1): 19-26, março de 2010. ISSN 0103 - 1643.

HARMAN, G.E. & PFLEGER, F.L. Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored seeds. **Phytopathology**, Lancaster, 64:1339-1343, Oct. 1974.

JULIATTI, F.C., JUNIOR, R.D.B., MARTINS, J.A.S. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de algodoeiro produzidas nas regiões do Triângulo Mineiro e Sul de Goiás. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 24-31, Jan./Feb. 2011.

KIRUTI, A. L. P.; Vasconcelos, R. C.; Marincek, A.; Fonseca, A. H. Desempenho de sementes de milho em relação à sua localização na espiga. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 765-770, 2003.

KUMAR, V.; BASU, M. S.; RAJENDRAN, T. P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop Protection**, v. 27, n. 6, p. 891-905, 2008.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba:FEALQ, 2005. 292p.

MARCOS FILHO, J. 2001. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, 11: 63-75.

MARQUES, O.J.; FILHO, P.S.V.; DALPASQUALE, V.A.; SCAPIM, C.A.; PRICINOTTO, L.F.; JÚNIOR, M.M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 31, n. 4, p. 667-675, 2009.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Procedimentos para o armazenamento de sementes de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 461-463, 2003.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M.S.; GAZZINELLI, J.E.C.; GODOY, I.J.; CORREA, B.; JUNQUEIRA, R.G.; FERREIRA, S. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B<sub>1</sub> após inoculação com *Aspergillus flavus* Link. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, p.84-87, 2006.

PITT, J. I. Toxigenic fungi: which are important. **Medical Mycology**, v. 38, p. 17-22, 2000.

POZZI, C. R.; CORREA, B.; XAVIER, J. G.; DIREITO, G. M.; ORSI, R. B.; MATARAZZO, S. V. Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. **Mycopathologia**, v. 151, p. 21-27, 2000.

RADUNZ, L. L.; DIONELLO, R. G.; ELIAS, M. C.; BARBOSA, A. F. F. Influência do método de armazenamento na qualidade física e biológica de grãos de milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 31, n. 2, p. 136-143, 2006.

SANTIN, J.A.; REIS, E.M.; MATSUMURA, A.T.S.; MORAES, M.G. Efeito do retardamento da colheita de milho na incidência de grãos ardidos e de fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 2, p. 182-192, 2004.

SCOTT, M. L.; NESHEIM, M. C.; YOUNG, R. J. 1982. **Nutrition of the chicken**. 3ª ed. Ed. Ithaca, New York, USA, 562p.

SILVA, J. O.; Cândido, L. M. B.; Novello, D.; Machado, C. Ocorrência de aflatoxinas em arroz consumido por militares do Exército brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1238-1244, 2008.

## Sobrevivência do patógeno na semente

*Wilza Carla Oliveira de Souza  
Luciana Cordeiro do Nascimento*

Patologia de sementes é o estudo das implicações relativas à associação de patógenos com sementes, considerando todas as etapas do sistema de produção e uso das sementes. Desta forma, as atribuições da patologia de sementes são: levantamento e estudo dos patógenos associados às sementes, caracterização e avaliação de perdas provocadas por patógenos a partir de sementes, estudo sobre a dinâmica e mecanismos de transmissão de patógenos, desenvolvimento de métodos de detecção, sobrevivência e controle de patógenos em sementes e estudo das causas e controle da deterioração de sementes no armazenamento (MACHADO, 1988).

Dentre essas, a sobrevivência do patógeno na semente apresenta-se como um parâmetro importante a ser avaliado, pois conhecendo os fatores que mantêm essa sobrevivência e as condições para manter a viabilidade da semente, pode-se então adotar medidas de controle para diminuir as perdas causadas pela sobrevivência do patógeno na semente.

A sobrevivência de patógenos em sementes deve ser avaliada sob dois aspectos gerais, uma vez que os danos causados são variáveis. Alguns patógenos provocam perdas no campo, com efeitos restritos à redução de rendimento, sem afetar a viabilidade da semente. Outros patógenos se caracterizam por, além de prejudicar o rendimento, causar redução na germinação e no vigor das sementes, com reflexos negativos na aprovação de lotes e, conseqüentemente, na

disponibilidade desse insumo para a semeadura seguinte (LUCCA FILHO, 1985). A associação patógeno-semente é uma das formas que favorecem a sobrevivência e a disseminação destes agentes, já que para as sementes não existem fronteiras (NEERGARD, 1977; TANAKA, 1982; MACHADO, 1988 e WETZEL, 1988). Esta associação é importante por diversas razões: o patógeno sobrevive por mais tempo, mantendo sua viabilidade e características; é facilmente disseminado, podendo ser introduzido em novas áreas e há alta probabilidade do patógeno infectar a plântula em desenvolvimento após a semeadura, causando doenças na fase inicial da cultura (BAKER, 1972 e MENTEN, 1995). Assim, dificilmente existirá meio mais eficiente para a disseminação de doenças de plantas que a própria semente. Estima-se que 20% da produção mundial é anualmente perdida em consequência de doenças fúngicas, cuja maioria dos agentes causais, cerca de 60%, são transmitidos por sementes (FEODOROVA, 1991).

## 1. SOBREVIVÊNCIA DO PATÓGENO NA SEMENTE

O patógeno encontra na semente proteção e nutrição, garantindo a sua sobrevivência, no entanto o patógeno pode infectar desde os órgãos reprodutores das flores, para posterior sobrevivência na semente. Reis (1990) verificou em sementes de triticales, trigo e centeio a infecção pelo fungo *Fusarium graminearum* Schwabe, cuja forma telemórfica é a *Giberella zeae* (Schwein) Petch, essa infecção iniciou nas anteras das flores, que havendo a concepção para desenvolvimento das sementes causou nestas a fusariose, a mais importante dentre as doenças da espiga, pelos prejuízos ao rendimento e à qualidade das sementes ou grãos.

A sobrevivência do patógeno na semente ainda no campo é verificada sob alta umidade relativa do ar. Trabalhos conduzidos por Dhingra (1985), mostra essa relação, em que o teor de umidade a 25%, nas sementes de trigo, milho e cevada em equilíbrio com alta

umidade relativa do ar em torno de 95%, verificou-se nessas sementes altos índices de infecção por patógenos, e essas sementes ao serem colhidas e secas para o armazenamento, ou seja, a umidade relativa do ar sendo diminuída, e conseqüentemente o teor de umidade das sementes, a maioria desses fungos já detectados no campo paralisaram o seu crescimento e morreram gradualmente, comprovando que a taxa de sobrevivência dos patógenos nas sementes depende do grau de umidade e temperatura a que essas sementes estão condicionadas. Alguns estudos em sementes de cevada mostraram que quase todos os fungos de campo morreram com alguns meses de armazenamento (LUTEY e CHRISTENSEN, 1965). Resultados semelhantes foram obtidos com sementes de arroz, milho e soja. Rodrigues e Menezes (2002) observaram o comportamento da população fúngica de feijão caupi, em dois municípios, sendo que em Serra Talhada (com precipitação pluviométrica de 140,83 mm) apresentou maior número de colônias em relação a Caruaru (com precipitação pluviométrica de 70,87 mm), ocorrendo diferença significativa entre as duas localidades. Gonçalves e Lima (1988) relacionaram sementes em período chuvoso com maiores índices de infecção e menor frequência de germinação, quando comparadas com sementes em período seco. Hamawaki et al. (2002) afirmam que a antracnose e a seca da haste e da vagem tem atingido proporções epidêmicas nas regiões mais quentes e úmidas dos cerrados onde a temperatura é mais elevada e as chuvas são mais intensas e freqüentes. Ainda afirmam que variedades de soja cultivadas em temperaturas, com média anual acima de 30°C, e chuvas no período da maturação à colheita, são predispostas a infecções. Sementes de faveleira, coletadas no período chuvoso, apresentaram maiores índices de contaminação e menores percentuais de germinação, do que aquelas coletadas no período seco (RIBEIRO e BRITO, 2010), podendo-se afirmar que o baixo percentual de germinação das sementes coletadas no período chuvoso, está diretamente relacionado com a contaminação

de sementes por fungos. Neergaard, (1979) ressalta as condições climáticas como importantes fatores na infecção de sementes em geral.

Segundo Lazzari (1993), existe pouco ou nenhum controle sobre as condições que favorecem o desenvolvimento e sobrevivência de fungos de campo, pois eles invadem a cultura durante os estádios finais de amadurecimento. Os fungos de campo mais comuns são *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Helminthosporium*.

Essas sementes infectadas no campo tornam-se inoculo primário da doença, apresentando sintomas como: descoloração, enrugamento e manchas. Neergard 1979, caracterizou sintomas em sementes com indício de sobrevivência de diversos fungos no campo, provocando aborto, deformações, podridões, descolorações e necroses, com reflexos na diminuição da viabilidade e da germinação das mesmas.

Na fase de armazenamento, os níveis de danos em sementes dependem das condições do lote por ocasião do início do armazenamento e do controle da temperatura e umidade durante essa fase. Estes fatores estão inter-relacionados e devem ser considerados como de ação complexa. Para que haja êxito no armazenamento é preciso conhecer cada fator em si e em conjunto. O tempo de sobrevivência dos fungos de armazenamento nas sementes está diretamente relacionado às condições do ambiente a que estão sendo condicionadas (Berjak, 1987; Carvalho e Nakagawa, 2000). A umidade do ambiente por sua vez determina o teor de umidade das sementes, quando em equilíbrio. A temperatura e umidade relativas devem ser ajustadas de tal forma que não permitam a sobrevivência de patógenos infectantes e infestantes. Na maioria dos armazéns a umidade relativa é diminuída, nesses casos fungos de campo não conseguem sobreviver em tal condição, porém os fungos de armazenamento em que os mais comuns são *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. atacam sementes com teor de umidade acima do valor crítico para sementes armazenadas, e a cada elevação do teor de umidade da semente há um fungo particular,

que consegue sobreviver na semente, estabelecendo uma susseção ecológica bem definida de sobrevivência.

Em trabalhos conduzidos por Dhingra 1985, em varias culturas foi verificado em condições de armazenamento *Aspergillus restrictus*, nas sementes, cujo teor de umidade está em equilíbrio com 70% UR, o que representa um teor de umidade de 13,5% nas sementes de cereais (milho, trigo, cevada, etc.); 12,5% em soja e 9,5% em girassol, em temperaturas de 25 a 30° C. Assim, abaixo dessas umidades, o fungo não consegue infectar. *Aspergillus flavus*, por outro lado, só infecta as sementes quando estas se encontram em equilíbrio com 85% UR, o que representa 18% de teor de umidade nas sementes de milho, trigo, cevada e soja e 13,5% em girassol a 25-30° C. Abaixo destes valores o fungo não infecta. Entretanto se a semente estiver em equilíbrio com 70% de UR, que permite o crescimento de *A. restrictus* e não de outros, a água metabólica aumenta o teor de umidade da semente, permitindo a invasão por fungos que necessitam de teores de umidade elevados. Por exemplo, a invasão de *A. restrictus* em soja armazenada com 12,5% de umidade e temperatura de 25-30°C, aumenta sua umidade acima do valor crítico para *A. glaucus*, que, por sua vez, aumenta seu teor de umidade acima do critico para *A. candidus*, o qual, com seu desenvolvimento aumenta o teor de umidade até 18% permitindo a invasão por *A. flavus* continuando a cadeia. Notamos que ocorre uma sucessão ecológica, quando se inicia o ataque destes fungos nas sementes armazenadas. Nestas circunstâncias, esses fungos podem depreciar a qualidade das sementes na forma de: perda do poder germinativo, descoloração, apodrecimento, aumento da taxa de ácidos graxos provocando a oxidação de óleos, aquecimento da massa de sementes com o conseqüente aumento da taxa respiratória e com isso uma deterioração mais rápida das sementes e produção de micotoxinas, que podem ser letais ao homem e aos animais (MACHADO, 1988).

A viabilidade das sementes, desenvolvida por Ellis & Roberts (1980) dá ênfase à viabilidade inicial e final das sementes. Quando as sementes de milho com 95% de germinação inicial e 85% de germinação final, vão ser armazenadas por 240 dias, há várias combinações de temperatura e teor de umidade de sementes. Com teor de umidade de 8,5% podem ser armazenadas a 35°C, e, com teor de umidade de 10,7% podem ser armazenadas a 25°C. Quando há redução da “temperatura de armazenamento”, pode-se aumentar o teor de umidade. Embora os estudos de Ellis & Roberts não provem que a morte das sementes tenha sido causada por fungos, ainda assim, os dados destes estudos podem ser aplicados, com cautela, para prever a invasão fúngica nas sementes. Um estudo similar foi feito com sementes de soja (Dorworth) & Christensen (1968), que confirmou esta relação de temperatura e teor de umidade. Harrington (1960) nos fornece um guia mais simples: 1) Para as sementes de cereais e oleaginosas, com teor de umidade de 5 a 14%, cada decréscimo de 1% de umidade, aproximadamente, dobrará a vida das sementes; 2) Cada decréscimo de 5°C na temperatura de armazenagem dobrará a vida das sementes.

No entanto, de acordo com Tanaka *et al.* (2001), as mesmas condições de armazenamento que permitem a manutenção da viabilidade das sementes podem favorecer a sobrevivência de muitos patógenos importantes para cultura. Trabalhos conduzidos por Siddiqui *et al.* (1983) e Raj *et al.* (1989) verificaram que várias espécies do gênero *Colletotrichum* sobreviveram em sementes, por períodos de até 10 anos sob condições de armazenamento a 5°C que é, usualmente, a temperatura mais usada em bancos de germoplasma. Trabalho conduzido por Tanaka & Balmer (1980) constatou a ocorrência acentuada de tombamento de plântulas de milho provocado por *Fusarium moniliforme* sob condições sub-ótimas para a germinação (10°C a 20°C). Por outro lado, Bedendo (1978) e

Pinto (1992) não verificaram relação entre a presença do patógeno e redução da germinação das sementes.

Portanto é de suma importância o aumento de estudos em que se procure um limite entre a viabilidade da semente e a diminuição das condições de sobrevivência do patógeno nesta, chegando assim a um ponto de equilíbrio.

## 2 LOCAL DE SOBREVIVÊNCIA DO PATÓGENO NA SEMENTE

As sementes são consideradas um dos meios mais eficientes na disseminação de patógenos, os quais podem estar infestando-as ou infectando-as, dependendo da sua localização. A localização de sobrevivência do inoculo na semente tem efeito decisivo na transmissão e na severidade de sintomas em plântulas. Quanto mais profundo o local de sobrevivência do patógeno nos tecidos das sementes, maiores são as chances de ser produzida uma plântula infectada (DHINGRA, 2005). De maneira geral, tem sido demonstrado que patógenos quando localizados no interior da semente podem sobreviver por períodos de tempo mais prolongados do que em outras partes da planta (Machado, 2000). Provavelmente, tal fato ocorra pela existência de camadas protetoras e do acúmulo de reservas nutritivas dos quais muitos patógenos se beneficiam. As sementes contendo patógenos em seu interior têm se constituído em um dos meios mais eficientes de se preservar inoculo (MACHADO, 1987, p. 9). A posição do patógeno nas sementes é um aspecto de muito interesse na patologia de sementes, tendo em vista que o conhecimento neste sentido possibilita definir métodos de detecção e de tratamento de sementes quando necessário (MACHADO, 1988, p. 16). Quando o patógeno está localizado externamente à semente, este fica aderido à superfície da semente sem infectá-la. Isto torna-o relativamente fácil de ser controlado pelo tratamento das sementes com fungicidas protetores. O maior problema do controle de patógenos de sementes



é constituído por aqueles que sobrevivem internamente. Estando presentes internamente ficam protegidos contra a maioria dos tratamentos que controlam com eficiência os patógenos de sementes transmitidos externamente. O patógeno pode estar presente no endosperma, no embrião e no tegumento da semente (DHINGRA; MUCHOVEJ; CRUZ FILHO, 1980).

Após a infecção, estabelecendo a sobrevivência, geralmente os fungos xerófilos ou tolerantes às condições secas produzem propágulos de resistência, como clamidósporos, esclerócios ou micélios dormentes, capazes de permanecer viáveis por muito tempo nas sementes. A qualidade sanitária das sementes interfere em seu poder germinativo e na formação de mudas. Os microrganismos presentes na semente podem causar sua deterioração, anormalidades, lesões e morte de plântulas (FAIAD et al., 2003).

A sobrevivência do patógeno na semente depende de uma série de fatores, como condições do ambiente, estruturas de resistência envolvida, localização do patógeno na semente, entre outras, tendo esses fatores que ser analisado de uma forma conjunta, para obtenção de um produto sadio.

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, V.K.; SINCLAIR, J.B. **Principles of seed pathology**. Boca raton, FL: CRC. v. 1, 176p. Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 68 p., 1978.

BAKER, K. Seed pathology. In: KOZLOWSKI, T.(ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, v. 2, p. 317-416, 1972.

BEDENDO, I. P. Doenças do arroz (*Oryza sativa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agrônômica Ceres, v. 2 p. 85- 99, 1997.

BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms. In: **ADVANCED COURSE ON SEEN PATHOLOGY**, Passo Fundo: EMBRAPA; ABRATES, p. 93- 112, 1987.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 588 p., 2000.

DHINGRA, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes In: Zambolim, L. **Sementes: Qualidades Fitossanitária**. Viçosa: UFV; DFP, p. 75-112, 2005

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes**. Controle de patógenos. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 607p., 1980.

DHINGRA, O. O.Prejuizos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista brasileira de sementes**, Viçosa, v. 7, n. 1, p. 139- 146, 1985.

DORWORTH, C. E.; CHRISTENSEN, C. M. Influence of moisture content, temperature and storage time upon changes in fungus flora, germinability and fat acidity values of soybeans. **Phytopathology**, 58:1457, 1968.

ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. The improved equations for prediction of seed longevity. **Annals of Botany**, 45:13-30, 1980.

**EMBRAPA TRIGO**. Comunicado Técnico. Fungos de grãos de cereais de inverno em função de épocas de colheita. ISSN 1517- Nº 56, dez./00

FAIAD, M.G.R.; SALOMÃO, A.N.; PADILHA, L.S.; MUNDIM, R.C. Sobrevivência de *Colletotrichum gloeosporioide* (Penz.) Sacc. em sementes de feijoa (*Accasellowiana* Burr.) durante o armazenamento. **EMBRAPA (Comunicado técnico 80)**. Brasília. 2003.

- FEODOROVA, R. N. Situação da sanidade de sementes na União Soviética - URSS. **Informativo ABATES**, Londrina. v. 1, n. 3, p. 35-36. 1991.
- GONÇALVES, N. F. B.; LIMA, J. A. A. Fungos associados a sementes de caupi produzidos em épocas distintas no Estado do Ceará. **Ciência Agrônômica**, 19(1):p. 141-145, 1988.
- HAMAWAKI, O. T.; JULIATTI, F. C.; GOMES, G. M.; RODRIGUES, F. A. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de genótipos de soja do ciclo precoce/médio. Uberlândia, Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, 27(2):201-205, 2002.
- LUCCA-FILHO, O.A. Importância da sanidade na produção de sementes de alta qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n. 1, p.113-123, 1985.
- LUTEY, R.W.; CRRISTENSEN, C.M. Influence of moisture content, temperature and length of storage period upon survival of fungi in barley. **Phytopathology**, 53:713- 717, 1965.
- MACHADO, J. C. **Tratamentos de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/ UFLA/ FAEPE, 138p., 2000.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 107p.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: ESAL/FAEPE, 1987. 107p.
- MENTEN, J. O. M. (ed.). **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: Ciba Agro, 1995. p.115-136.
- NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The MacMillan Press, 1977. v. 2, 1191p.
- PINTO, N. F. J. A. Patogenicidade de fungos de solo em sementes de milho. In: **produzidas no Estado de São Paulo**. Piracicaba, 1992

- RAJ, K.; RATHI, Y. P. S.; MUKHOPADHYAY, A. N. Survival of *Colletotrichum capsici* (Syd) Butler and Bisby withurd bean (*Phaseolus mungo* L.) seeds. **Current Science**, v. 58, n. 5, p. 259-260, 1989.
- REIS, E.M. **Caracterização dos fatores determinantes de epidemias de *Gibberella zeae***, em trigo. Passo Fundo: Embrapa-CNPT. EMBRAPA-PNP de trigo, 22p. , 1990.
- RIBEIRO, V. V.; BRITO, N. M. de. Fungos associados a sementes de *cnidoscolus quercifolius pohl* ET. **BIOFAR**, v. 4, n. 1, 2010.
- RODRIGUES, A.A.C.; MENEZES, M. (2002). Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, 27 (5):532-537.
- SIDDIQUI, M. R.; MATHUR, S. B.; NEERGAARD, P. Plant longevity and pathogenicity of *Colletotrichum* spp in seed stored at 5°C. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 11, p. 353-361, 1983.
- TANAKA, M. A. S.; MAEDA, J. A.; ALMEIDA, I. H. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamentos. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 3, p. 501-508, 2001
- TANAKA, M. A. S.; BALMER, E. Efeito da temperatura e dos microrganismos associados do tombamento na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Fitopatologia Brasileira** 5:87-93.1980.
- TANAKA, M. A. S. Importância da utilização de sementes sadias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v .8, n. 91, p. 31-34. 1982.
- TANAKA, M. A. S.; CORREIA, M. V. Efeito do tratamento de feijão de diferentes qualidade sanitárias com fungicidas e antibióticos sobre a emergência e "stand". **Fitopatologia Brasileira**, v. 7, p. 339-347, 1982.

WETZEL, M.M.V.S. Controle sanitário na importação de sementes. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 3, Lavras, 1988. Resumos. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.48-57.

## Principais doenças causadas por sementes infectadas

*José George Ferreira Medeiros  
Luciana Cordeiro do Nascimento*

A semente é um meio de disseminação e sobrevivência de fitopatógenos por longos períodos de tempo (Almeida, 2008). Patógenos associados a sementes podem reduzir a germinação, o vigor, deteriorá-las em armazéns, introduzir patógenos em novas áreas e aumentar o inóculo em lavouras já estabelecidas. Se o inóculo primário, transportado via-semente, encontrar ambiente favorável e o hospedeiro for suscetível, pode-se estabelecer focos iniciais de infecção. A partir daí poderá ocorrer o progresso da doença no espaço e no tempo, devido ao inóculo secundário, produzido nas lesões das plantas infectadas (TALAMINI et al., 2001).

Dessa forma, conhecer o progresso de uma doença ao longo do tempo e do espaço, a partir da fonte de inóculo, possibilita conhecer a dinâmica da interação de patógenos com hospedeiros, auxilia a estabelecer padrões de tolerância para patógenos em sementes, contribui para o manejo da doença e conseqüente aumento da produtividade das culturas (Bergamin Filho et al. 2004). A disseminação do patógeno e o progresso da doença ao longo do espaço são dependentes do arranjo das plantas, da intensidade da doença na fonte de inóculo e da sua forma de disseminação (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

A semente constitui-se no meio mais eficiente de transmissão de patógenos, uma vez que não existem barreiras geográficas capazes de impedir a disseminação dos mesmos. O comércio internacional

de sementes serve como exemplo deste fato, no qual são registrados inúmeros casos de importações de lotes de sementes contaminados com microrganismos patogênicos vindos de outros continentes (FRANCA NETO, 2003).

## 1 INFECÇÃO E TRANSMISSÃO DE PATÓGENOS POR SEMENTES

O processo de infecção das sementes ocorre durante o desenvolvimento da doença nas infrutescências (espigas e panículas) onde o patógeno causa sintomas de manchas em glumas ou branqueamento de espiguetas (ALMEIDA, 2008). Segundo Machado (2000) a transmissão diz respeito à passagem de um patógeno de uma geração a outra, seja a partir de uma ou mais sementes às plantas emergentes oriundas de um mesmo lote, seja a partir de plantas doentes no campo de produção, às sementes em formação. O transporte de patógenos por sementes não implica na sua eventual transmissão entre gerações subseqüentes. Por outro lado, a passagem ou transferência de inóculo entre plantas de uma mesma geração, ou entre sementes de um mesmo lote, implica em disseminação ou dispersão de patógenos (ALMEIDA, 2008).

Muitas vezes, a disseminação de doenças em uma lavoura é ocasionada pela própria semente infectada, uma vez que a semente pode transmitir, tanto interna como externamente, fungos, vírus e bactérias patogênicas, além de levar externamente fungos saprófitas que podem diminuir o seu poder germinativo. Tais patógenos tanto influenciam na emergência e vigor da planta como constituem-se em fonte de inóculo primário, que podem dar origem a epidemias graves, se as condições climáticas forem favoráveis (ARAÚJO, 2009).

Após a germinação da semente e a emergência da plântula em campo, o micélio reassume sua atividade e atinge o coleóptilo. O micélio pode crescer tanto interna quanto externamente, quando

então infecta a plúmula. Alguns dias após a emergência da primeira folha esta pode apresentar lesões. A frutificação do patógeno ocorre sobre as lesões com posterior disseminação de propágulos a novos sítios de infecção, como folhas da própria planta ou de plantas vizinhas. Desta forma, o patógeno reintroduz-se na lavoura, e volta a reencontrar os órgãos fotossintéticos do hospedeiro, completando seu ciclo biológico (MARTINELLI et al., 2003).

## 2 PRINCIPAIS DOENÇAS CAUSADAS POR SEMENTES INFECTADAS

### 2.1 Doenças fúngicas

#### 2.1.1 Antracnose

Patógenos do gênero *Colletotrichum* têm sido relatados como parasitas de várias espécies de plantas. A antracnose, causada por fungos deste gênero, é uma das doenças de maior importância para muitas plantas cultivadas (TOZZE JÚNIOR et al., 2006).

A antracnose em frutíferas é considerada uma doença economicamente importante, ela ataca os ramos novos, folhas, inflorescências e frutos. Nas folhas ha o aparecimento de manchas escuras e de contornos irregulares. As inflorescências afetadas apresentam flores escuras, tomando o aspecto de queimadas pelo fogo, morrendo em seguir. As lesões na ráquis podem levar a queda dos frutos, antes da maturação fisiológica, ou mumificação quando ainda novos. No período de maturação, há o aparecimento de lesões escuras e deprimidas na superfície do fungo, que podem atingir também a polpa. A doença pode ocasionar prejuízos que variam em função do grau de suscetibilidade da planta hospedeira e das condições ambientais (SERRA et al. 2008).

Entre as medidas de controle desse patógeno, destacam-se: o uso de sementes certificadas, rotação de cultura, controle químico e a resistência genética, sendo esta a mais eficaz, por minimizar os custos de produção e reduzir os danos causados ao ambiente (SILVA, 2004).

### 2.1.2 Mancha Angular

A mancha-angular é uma doença fúngica causada por *Phaeoisariopsis griseola*. O patógeno provoca lesões em folhas, vagens, ramos e pecíolos e pode causar grave desfolhamento (Jesus Júnior et al. 2003). Sem controle adequado da doença, as perdas podem chegar a 70% (SARTORATO e RAVA, 1992), dependendo da susceptibilidade da cultivar das condições ambientais (REIS-PRADO et al. 2006).

Plantas cultivadas em sistemas orgânicos, via de regra, apresentam maior tolerância ao ataque de pragas e doenças, devido a fatores como a utilização de espécies ou variedades mais rústicas e adaptadas ao local de cultivo, tipo de solo selecionado, uso de adubos orgânicos ou adubos minerais de baixa solubilidade (SOUZA, 2006). Os problemas fitossanitários mais persistentes, como é o caso da doença supracitada, necessitam de tratamento, para viabilizar produções satisfatórias, com qualidade comercial (GUIRADO et al. 2004).

### 2.1.3 Ferrugem

Esta doença é causada por fungos do gênero *Uromyces* sp. As ferrugens são assim denominadas em razão das lesões amareladas, de aspecto ferruginoso, que causam nos hospedeiros atacados. Estas lesões, também referidas como pústulas, são constituídas, na maior parte, por estruturas reprodutivas do fungo, que emergem do tecido vegetal atacado através do rompimento

da epiderme do hospedeiro. As pústulas são geralmente salientes em relação à superfície vegetal e liberam facilmente os propágulos do fungo (AMORIM, 2005).

Os sintomas da ferrugem manifesta-se predominantemente nas folhas, embora possam ocorrer, em alguns casos, em outras partes vegetais, como bainhas, colmos, ramos novos, órgãos florais e frutos em início de desenvolvimento. As plantas doentes têm seu processo fotossintético afetado tanto pela retirada de nutrientes promovida pelo fungo como pela destruição de áreas foliar, decorrente da formação de pústulas e da queda de folhas provocada pelo patógeno (CAIXETA et al., 2009).

O número de espécies fúngicas associadas a doenças do tipo ferrugem que ocorrem em Ginnospermas e Angiospermas aproxima-se de cinco mil, distribuídos em cerca de cento e trinta gêneros. Dentre estes, alguns merecem destaque como *Puccinia*, *Hemileia*, *Uromyces*, *Phakopsora*, *Phragmidium*, *Cronartium*, e *Melampsora*, pela ocorrência freqüente e importância econômica das doenças por eles causadas (KIMATI, 2005).

O controle da ferrugem tem sido desenvolvido com base em variedades resistentes, utilização de produtos químicos e erradicação de hospedeiros intermediários. Apesar da disponibilidade de materiais resistentes e de ferrugens e de fungicidas eficientes, as ferrugens continuam causando sensíveis reduções na produção de alimentos em todo o mundo (LIMA et al., 1997).

### 2.1.4 Mofo Branco

O agente causal do mofo branco (*Sclerotinia sclerotium*) é considerado um dos patógenos mais importantes no mundo e está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam temperadas, subtropicais ou tropicais. O fungo é capaz de infectar qualquer parte

da planta, porém, as infecções iniciam-se com mais frequência a partir das inflorescências e das axilas das folhas e ramos laterais (KIMATI, et al, 2005).

Este fungo têm a capacidade de persistir no solo durante longos períodos, pois, sob condições normais, crescem na matéria orgânica, e em ambientes favoráveis, mantém-se viáveis através das estruturas de resistência (GÖRGEN et al., 2009).

A partir da fonte de inóculo, representadas por restos de cultura e matéria orgânica, por plantas daninhas, pode ocorrer a disseminação, ativa ou passiva, das estruturas fúngicas. Na disseminação ativa, os zoósporos deslocam-se através da água presente no solo. A forma passiva é realizada através da água (enxurrada ou respingos), do movimento do solo (aração e gradagem) e do transporte de material infectado (mudas e sementes), promovendo a disseminação dos propágulos a longas distâncias (NUNES JÚNIOR et al., 2007).

Em áreas de ocorrências de mofo branco é recomendado: a rotação de culturas; eliminação das plantas daninhas; incorporação de restos culturais para evitar a fase saprofítica do fungo; fazer adubação adequada; aumentar o espaçamento entre linhas; reduzir a população ao mínimo recomendado para cada variedade (ALVES et al., 2010).

### 2.1.5 Podridão-do-colo

Esta doença está distribuída em regiões de clima tropical e subtropical, em locais onde ocorrem temperaturas altas e umidade seguida de períodos de seca. O agente causal (*Sclerotium rolfsii*) afeta um grande número de hospedeiros em diversos gêneros de plantas cultivadas e silvestres (BIANCHINI et al., 2005).

A podridão-do-colo ocorre de forma generalizada em todo o Brasil, atingindo diversos cultivos de grande importância econômica.

Embora bastante disseminada, a doença geralmente não ocasiona prejuízos elevados, pois o patógeno depende fundamentalmente das condições favoráveis para o seu desenvolvimento (ALVES e DEL PONTE, 2010).

Segundo Mendes (2010), a doença pode ser encontrada nas diversas espécies e famílias como no pimentão, amendoim, beterraba, soja, milho, arroz, trigo, cevada, girassol, alface, couve-flor, cebola, quiabo, alho, Anacardiáceas, diversas Cucurbitáceas e muitos outros hospedeiros.

O principal dano causado pela doença é o tombamento, sendo, muitas vezes, necessário o replantio, que elevam os custos de produção da cultura. A maioria dos fungos causadores de tombamento possui uma enorme gama de hospedeiros, principalmente *R. solani* e *S. rolfsii*. (SUASSUNA e COUTINHO, 2006).

Segundo Cardoso (2004), a disseminação do patógeno de um campo para outro se verifica principalmente pelo transporte de materiais infestados (solo, esterco, mudas e sementes), pelo homem, animais, vento, água e tratos culturais. O micélio pode passar pelo solo de uma planta para outra.

A redução da severidade da doença em solos pobres e ácidos tem sido obtida através de adubação equilibrada e calagem do solo, além do uso de variedades com certo nível de resistência como Rio Tibagi e IPA-10. A solarização pode ser uma medida eficiente para redução do número de escleródios viáveis no solo (Bianchini et al., 2005).

### 2.1.6 Murcha de Fusarium

Esta doença é causada por *Fusarium oxysporum*. Os sintomas se caracterizam por um amarelecimento nas folhas inferiores e murcha da planta. Os rizomas apresentam escurecimento do sistema vascular e podridão cortical que progride e forma depressões no rizoma (TRUJILLO, 2004).

O controle da doença representa um sério problema, pois o patógeno é disseminado por meio de rizomas infectados. Depois de introduzido na área, o fungo pode sobreviver por muitos anos e dificilmente a erradicação é obtida. O método químico é dificultado devido a pouca eficiência dos fungicidas para o controle da doença e à ausência de produtos registrados para a cultura (Kimati et al., 1997). Além disso, o mercado externo tem preferência pelo sistema orgânico de produção, onde tais produtos não são permitidos.

### 2.1.7 Podridão Cinzenta do Caule

A podridão cinzenta do caule é incitada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* Goid., um habitante natural do solo, de grande variabilidade patogênica e alta capacidade de sobrevivência sob condições adversas. É uma doença que se caracteriza pela grande influência dos fatores climáticos no seu progresso e, conseqüentemente, na sua importância econômica (VIEIRA, 2001).

Quando a infecção ocorre precocemente, seja por proceder de semente contaminada ou por escleródios e/ou micélio do fungo que sobreviveram no solo, as plântulas apresentam cancrios pretos, deprimidos, com margens bem definidas, freqüentemente com anéis concêntricos, os quais podem rodear completamente o caule. Acima da lesão, a plântula amarelece e murcha, podendo quebra-se ao nível da mesma. Em plantas já desenvolvidas, a doença progride mais lentamente, causando raquitismo, clorose e desfolhamento prematuro, particularmente do lado onde se localiza a lesão, na qual podem aparecer massas de escleródios. O centro da lesão torna-se cinzento e aparecem numerosos corpos frutíferos denominados picnídios macroscópicos, porém de tamanho menos que os escleródios. As vagens em contato com o solo contaminado são invadidas pelo fungo, infectando as sementes (SOUZA et al., 2003)

O controle da podridão cinzenta do caule, apesar de pouco estudado nas condições de cultivo do feijoeiro no Brasil, deve incluir o emprego de semente de boa qualidade sanitária, o tratamento da semente com fungicida e a adoção de algumas práticas culturais que visem a redução do potencial de inoculo do patógeno, como a aração profunda para enterrar resíduos contaminados (ARAÚJO, 2006).

## 2.2 DOENÇAS BACTERIANAS

### 2.2.1 Crestamento Bacteriano Comum

Vários tipos de patógenos afetam as culturas causando doenças e acarretando perdas significativas na produção. Entre estes têm se preocupado com a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano comum, que possui grande importância para a cultura, devido sua distribuição quase generalizada, transmissão pela semente, ineficiente controle químico, insatisfatórios níveis de resistência em cultivares avaliadas e os danos severos na produtividade, principalmente sob cultivo protegido (BARROS et al., 2000).

Os primeiros sintomas surgem na forma de manchas aquosas, com crescimento irregular, na face inferior dos folíolos, tornando-se de coloração parda e aspecto necrótico, circundadas por halo de tecido amarelo, coalescendo e originando o crestamento. Quando as lesões adquirem grandes proporções pode ocorrer o desfolhamento das plantas. (BIANCHINI et al., 2005).

Para a redução na severidade desta doença e obtenção da produtividade esperada, recomenda-se manejo integrado da cultura, utilizando várias medidas de controle que incluem o uso de cultivares resistentes ou tolerantes, rotação de culturas e sementes certificadas

(LOLLATO, 2002); aração profunda para incorporação de restos culturais infectados, bom preparo e fertilidade do solo, época de semeadura e manejo da irrigação (MARINGONI, 2002).

### 2.2.2 Mancha bacteriana

A mancha-bacteriana, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* é uma das principais doenças causada por bactérias na cultura do maracujazeiro (GONÇALVES e ROSATO 2002). No Brasil, a mesma foi constatada na região de Araraquara, no Estado de São Paulo, em 1967 (FISCHER et al., 2005). Também chamada de mancha-oleosa, crestamento bacteriano, morte precoce ou simplesmente bacteriose do maracujá, essa doença provoca perdas expressivas durante os períodos mais quentes e úmidos do ano. Ocorre em todas as regiões, sendo mais severa nas regiões mais quentes e úmidas (JUNQUEIRA, 2007). O nome de morte precoce reflete a drástica redução da vida da planta afetada, que passa de 3 a 4 anos para 12 a 18 meses (VIANA et al., 2003).

Nas folhas, o patógeno induz pequenas lesões encharcadas e translúcidas, as quais necrosam, assumindo tonalidade marrom-avermelhada, principalmente na face dorsal da folha, podendo também formar um halo clorótico ao redor da mancha (VIANA et al., 2003). Com o desenvolvimento da doença, ocorre seca das folhas e, posteriormente, a desfolha, reduzindo consideravelmente a produtividade. A bactéria pode atingir os feixes vasculares e se propagar por todos os tecidos da planta, provocando a seca e até a morte de plantas em cultivares muito susceptível (JUNQUEIRA, 2007; VIANA et al. 2003).

A principal medida de controle da mancha-bacteriana é a exclusão, evitando-se a introdução do patógeno na área de cultivo (HALFELD VIEIRA; NECHET, 2006a), com a utilização de mudas e sementes livres do patógeno. O tratamento das sementes com

água quente a 50 °C por 30 a 60 minutos tem sido eficiente para a erradicação da bactéria (SANTOS; SANTOS FILHO, 2003).

### 2.2.3 Murcha-de-Curtobacterium

A bactéria *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones, agente causal da murcha-de-Curtobacterium, foi constatada pela primeira vez no Brasil, na safra das águas de 1995, no Estado de São Paulo (MARINGONI e ROSA, 1997). Trata-se de um patógeno vascular, transmissível por sementes e de controle restrito, praticamente, através da utilização de cultivares resistentes e de sementes sadias. Essa doença tem ocorrido com frequência nos Estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, causando grandes problemas (LEITE JR. et al., 2007).

Os sintomas típicos da doença são principalmente murcha, escurecimento vascular e morte da parte aérea (HEDGES, 2000). A murcha na parte aérea é devido à falha no transporte de seiva provocada pela degradação das paredes dos vasos de xilema (DINESEN, 1999).

## 2.3. VÍRUS COMO CAUSADOR DE DOENÇAS

### 2.3.1 Mosaico Comum

O vírus do mosaico comum pertence a família Potyviridae. Trata-se de um vírus altamente transmissível pelas sementes, onde a doença pode ocorrer principalmente em espécies leguminosas (CADLE DAVISON, 2006).

O vírus possui grande variabilidade e suas estripes estão classificadas em grupos e subgrupos. Em áreas onde não são usadas variedades resistentes o vírus pode causar sérios danos. A expressão dos três tipos de sintomas que podem ser incitados por esse vírus:



mosaico, necrose sistêmica e lesões locais variam dependendo da estirpe do vírus, do grau de resistência da variedade, da idade e das condições de ambiente (DALBOSCO, 2002). Quando a planta é infectada de maneira sistêmica os sintomas de mosaico são visíveis, bem como, redução no crescimento da planta. Quando doentes as plantas produzem vagens enrugadas, pequenas e em menor número (REIS et al., 2001).

Sementes de plantas infectadas servem como fonte de inóculo inicial da doença. Os vírus podem sobreviver nas sementes por período de até trinta anos, onde o inóculo pode ser transmitido de uma planta a outra através de afídeos de maneira não circulativa (PASCHOLATI, 2002).

Para o controle da doença recomenda-se utilização de cultivares resistentes, além de práticas culturais como a erradicação de plantas doentes a fim de diminuir os focos de infecção (DALBOSCO, 2002).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Mirella Figueiró De. **Drechslera avenae: QUANTIFICAÇÃO DA**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitopatologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2008.
- ALVES, R. C., DEL PONTE, E. M. Requeima da batata. In: Del Ponte, E.M. (Ed.) Fitopatologia.net - herbário virtual. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/agronomia/fitossan/herbariovirtual/ficha.php?id=101>. Acesso em: 02 ago 2010.
- AMORIM, L., KIMATI, H., REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A., **Manual de Fitopatologia**, vol. 2, doenças das plantas cultivadas 4º ed. cap. 53, pág 469, São Paulo: Agronômicas Ceres, 2005.

ARAUJO, L. H. A.; SOARES, J. J. Doenças e seu controle. In: BELTRÃO, N. E. de M.; VIEIRA, D. J. (Coord.) **O agronegócio do gergelim no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 323p.

ARAÚJO, S. A.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Potafos: Piracicaba. 638p. 2006.

BARROS, B. C.; OLIVEIRA, S. H. F.; LEITE, L. G.; ITO, M. F.; CAMPOS, T. B.; OLIVEIRA, C. M. G.; SANAZZARO, A. M.; CASTRO, J. L. & PINZAN, N. R **Manejo integrado de pragas e doenças do feijoeiro**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000. v. 3, 39 p. (Manual Técnico, Série Especial).

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2004. 289 p.

BIANCHINI, A.; CARNEIRO, S. M. T. P. G.; LEITE JÚNIOR, R. P. Doenças do feijoeiro e seu controle. In: INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Feijão: tecnologia de produção**. Londrina: IAPAR, 2000. p. 55-75. (Informe da Pesquisa, 135).

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C. e CARNEIRO, S. M. T. P. G.; Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4ª Ed. Vol. 2, p. 344-345 – São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

CADLE DAVIDSON, L. and S. M. Gray. **Soil-borne wheat mosaic virus**. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0424-01. 2006.

CAIXETA, M.F; ARINGONI, A. C; COUTINHO, W.M. MANEJO DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DA SOJA. In: **Tropical Brazilian Phytopathological**. 116 p., março 2009.

CAMPBELL, C. L. & MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York. J. Wiley & Sons. 1990.

CARDOSO, J. E. Podridão do colo. In: Sartorato, A. & Rava, C. A. (Eds.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília: Embrapa -Arroz e Feijão. 2004. p. 165-173.

DALBOSCO, MARISA. Effects of Soil-borne wheat mosaic virus on yield in wheat and triticale cultivars. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 27, n. 1, 2002.

DINENSEN, I. G. The movement of *Corynebacterium flaccumfaciens* in bean plants. In: **Anais**, IV International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Angers, 1978. pp.929-933.

FISCHER, I. H.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A. M. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, p. 467-474.

FRANÇA NETO, J. B. & MENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária: diagnóstico completo em sementes de soja**. Londrina, 2003.

GONÇALVES, E. R.; ROSATO, Y. B. Detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* utilizando-se sondas de DNA e "primers" específicos. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 20-27, 2002.

GÖRGEN, C.A., LOBO JR., M., GONTIJO, G.H.A., PIMENTA, G., CARNEIRO, L.C. Manejo integrado do mofo branco da soja utilizando *Trichoderma harzianum* e palhada de *Brachiaria ruziziensis*. Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí. **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, Vol. 32, p. 367, 2009.Suplemento.

GUIRADO, N. et al. Controle de pragas e doenças em sistemas de cultivo orgânico. In: ISHIMURA, I. **Manual de agricultura orgânica**. Piracicaba: JICA, 2004. p. 122-136.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L. **Mancha-bacteriana do maracujá: sintomas, danos e medidas de controle**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2006a. 4 p. (Embrapa Roraima. Comunicado técnico, 03).

HEDGES, F. Bacterial wilt of beans (*Bacterium flaccumfaciens* Hedges), including comparisons with *Bacterium phaseoli*. **Phytopathology** 16:1-22. 2000.

JESUS JUNIOR, W. C. et al. Relationships between angular leaf spot, healthy leaf area, effective leaf area and yield of *Phaseolus vulgaris*. **European Journal of Plant Pathology**, New York, v. 109, n. 3, p. 625-632, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Manejo das principais doenças do maracujazeiro. In: SUSSEL, A. A. B.; MEDEIROS, F. H. V.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; UCHOA, C. N.; AMARAL, D. R.; MEDEIROS, F. C. L.; PEREIRA, R. B.; SANTOS, J.; LIMA, L. M.; ROSWALKA, L. C. **Manejo integrado de doenças de fruteiras**. Lavras: Ufla, 2007. 1 CD-ROM.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas** 4ª Ed.vol. 2, p. 580- São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

KIMATI, H.; GIMENES-FERNANDES, N.; SOAVE, J.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. **Guia de fungicidas: recomendações por cultura**. 2. ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997.

LEITE JÚNIOR, R. P., MENEGUIM, L. BEHLAU, F., RODRIGUES, S. R. & BIANCHINI, A. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Paraná e Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira** 26:303-304. 2007 (resumo).

LIMA, J. R., Camargo, L. E. A. & Rezende, J. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia**. 3 ed. 2v. Ceres. 1997. p.376-405.

LOLLATO, M. A. Manejo de campos de feijão em plantio direto. In: DIA DE CAMPO DE FEIJÃO, 17/18, 2001/2002, Capão Bonito. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, p. 43- 49, 2002.

MACHADO, J. da C. **Tratamento de sementes no controle de doenças.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.

MARINGONI, A. C. & ROSA, E. F. Ocorrência de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica** 23:160-162. 1997.

MARINGONI, A. C. Controle das principais doenças bacterianas e fúngicas do feijoeiro. In: DIA DE CAMPO DE FEIJÃO, 17/18, 2001/2002, Capão Bonito. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, p. 51-59, 2002.

MARTINELLI, J. A. Manejo integrado de doenças da aveia. **Fitopatologia Brasileira**, São Paulo, v. 28, p. 98-101, 2003. Suplemento.

MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; **Fungos relatados em plantas no Brasil, Laboratório de Quarentena Vegetal.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2010.

NUNES JÚNIOR, J., PIMENTA, C. B., NUNES SOBRINHO, J. B., FERREIRA, L. C., COSTA, N. B., ANDRADE, P. J. M., MEYER, M. C.. Avaliação da eficácia de fungicidas no controle de mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, no Estado de Goiás. CTPA, SEAGRO-GO. **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, Vol. 32, p. 367, 2007. Suplemento

PASCHOLATI, S. F. Resultados com resistência induzida no Brasil. In: SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A PATÓGENOS: APLICAÇÕES NO MANEJO INTEGRADO DE FITODOENÇAS, 1., 2002, Lavras: **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. p. 120-124.

RAVA, C. A. Influência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular em feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica** 28:65-69. 2002.

REIS-PRADO, F. G. et al. Reação de cultivares de feijoeiro comum à mancha angular em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 306-309, 2006.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno.** Londrina: ES Comunicação, 2001. 94 p.

SANTOS, C. C. F.; SANTOS FILHO, H. P. Doenças causadas por bactérias. In: SANTOS FILHO, H. P.; JUNQUEIRA, N. T. V. (Ed.) **Maracujá: fitossanidade.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 22-24. (Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil, 32).

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 17, n. 2, p. 247-251, 1992.

SERRA, IMRSS, COELHO, R. S. B; MENEZES, M. M. Caracterização fisiológica, patogênica e análise isoenzimática de isolados monospóricos e multiespóricos de *Colletotrichum*. Universidade Federal de Pernambuco. UFRPE. Departamento de Agronomia/ Fitossanidade. **Summa Phytopatho.** vol. 34. BOTUCATU Apr/June 2008.

SILVA, K. J. D. **Distribuição e caracterização de isolados de *Colletotrichum linde muthianum* no Brasil;** Lavras: UFLA, 2004. 88. p: il.

SOUZA, F. F.; SOUZA. M. G. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de feijão comum avaliados em Rondônia, no biênio

2001/2002. **Boletim de pesquisa**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2003.

SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. MANEJO DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DA MAMONEIRA. In: **Tropical Brazilian Phytopathological**. 31 (suplemento), 76 p., agosto 2006.

TALAMINI, V., POZZA, E. A., MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. **Epidemiologia de doenças associadas a Colletotrichum spp. transmitidas por sementes**. Revisão Anual de Patologia de Plantas 10:219-248. 2001.

TOZZE JÚNIOR, H.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n.1, p. 71-79, 2006.

TRUJILLO, E.E. Fusarium yellows and rhizome rot of common ginger. *Phytopathology*, v.53, p.1370-1371, 2004.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 12 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado técnico, 86).

VIEIRA, C. **Doenças Pragas do Feijoeiro**. Viçosa: UFV. 2001. 197p.

## Micotoxinas produzidas por patógenos em sementes

*Kedma Maria Silva Pinto*

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

Todo organismo produz metabólitos primários e secundários. Os primários são considerados essenciais para os organismos e estão relacionados ao seu crescimento e constituição biológica, os metabólitos secundários, por sua vez, são produzidos a partir dos metabólitos primários dos organismos e que os beneficiam por atuarem como substâncias tóxicas contra competidores, predadores e parasitas, como bactérias, fungos, plantas, amebas, insetos e vírus (DEMAIN, 1992).

O termo micotoxina é derivado da palavra grega "mykes", que significa fungo e da palavra "toxicum" de origem latina que significa veneno. As micotoxinas compreendem um grupo de substâncias químicas produzidas durante o metabolismo secundário de alguns fungos denominados toxigênicos, sendo os principais representantes os dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2005).

Sabe-se que cerca de 25% de todos os produtos agrícolas produzidos no mundo estão contaminados com alguma micotoxina. A crescente preocupação dos países importadores quanto à presença destas substâncias nos alimentos tem levado à elaboração de legislações cada vez mais rígidas, no que concerne aos níveis máximos de micotoxinas permitidos (FREIRE et al., 2007).

Os piores efeitos destas substâncias tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados. Os

principais efeitos registrados são indução do câncer, lesão renal e depressão do sistema imune (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

A contaminação de rações e outros alimentos por micotoxinas pode variar de acordo com as condições ambientais (umidade do substrato e temperatura do ambiente), métodos de processamento, produção e armazenamento dos produtos (ZLOTOWSKI et al., 2004).

Não se sabe quantas micotoxinas e metabólitos fúngicos tóxicos existem ao certo, no entanto, desde 1978, eles vêm sendo catalogados. Em 1978 foram relatadas a existência de aproximadamente 1200 metabólitos secundários produzidos por fungos e mais tarde, foram catalogados mais de 2000 metabólitos produzidos por aproximadamente 1100 espécies (TURNER e ALDERIDGE; 1983). Estes pesquisadores listaram aproximadamente 300 compostos tóxicos, mas estima-se que possam existir entre 20000 a 300000 (CAST, 2003).

Os efeitos das micotoxinas tem sido ao longo da história drásticas em muitos lugares do globo, causando além de muitos problemas econômicos, verdadeiras epidemias e muitas mortes. A problemática das micotoxinas e micotoxicoses está sendo atualmente regulamentada em diversos países por leis que asseguram uma quantidade máxima de micotoxinas permitidas no alimentos para o consumo sem maiores riscos a saúde animal ou humana, ainda assim muitas medidas no campo e nas condições de armazenamento ainda são indispensáveis para reduzir ou evitar a produção destes metabólitos secundários.

## 1 PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

Os fungos são capazes de produzir em condições naturais e laboratoriais, metabólitos secundários tóxicos, que são compostos biossintetizados e excretados através de um conjunto de vias metabólicas (que constituem o metabolismo secundário), mas que

não são essenciais para o crescimento e sobrevivência do organismo (BETINA, 1989).

Eles são produzidos a partir de precursores presentes universalmente nos organismos, muito freqüentemente a acetyl-CoA e aminoácidos, e são produzidos de modo mais intenso e variado por microrganismos, em ambientes muito povoados, e por plantas, fungos e animais sésseis como esponjas, onde as defesas químicas são mais eficientes do que a fuga (CAVALIER-SMITH, 1992)

Alguns destes metabólitos secundários fúngicos têm propriedades antibióticas e alguns demonstram toxicidade para animais, estes por sua vez, produzidos por fungos filamentosos, que demonstram propriedades tóxicas em animais são designados genericamente de micotoxinas (CAST, 2003).

Assim, o termo micotoxina é usado comumente na agricultura com o sentido de “metabólitos secundários produzidos por fungos que ocorrem naturalmente como contaminantes de produtos agrícolas, e que demonstram toxicidade quando administrados por uma via natural, essencialmente por via oral” (ABRAMSON, 1998).

As micotoxinas são produzidas somente quando certas condições ambientais, tais como temperatura e umidade, além das características bioquímicas dos produtos que servem como substrato, são propícias para a sua produção (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2005).

Apesar de haver variações geográficas e climáticas na produção e ocorrência de micotoxinas, a exposição a estas substâncias ocorre em todo o mundo e estima-se que muitos dos alimentos mundiais estejam contaminados em alguma extensão. A contaminação dos alimentos com micotoxinas é especialmente relevante quando uma dada população baseia a sua alimentação num único tipo de produto (CAST, 2003).

Em quase todas as matérias-primas destinadas a gêneros alimentícios, tais como: arroz, milho, feijão, trigo, cevada, soja, castanha-do-pará, nozes, amendoim, café, sorgo, semente de algodão,

frutas, presunto, queijo, leite e até vinho, já foram detectados um ou mais tipos de micotoxinas (FREIRE, 2007).

A facilidade e frequência com que as micotoxinas contaminam os produtos agrícolas, bem como a exposição de animais à dieta contaminada, podem significar a diferença entre o lucro e o prejuízo em muitas atividades da agroindústria (CHARMLEY et al., 1995; GARCIA et al., 1995).

Os efeitos destas micotoxinas são variáveis e podem ser divididos em efeitos bioquímicos e biológicos. Bioquimicamente, podem afetar o metabolismo de carboidratos, de lipídeos, dos ácidos nucleicos e das proteínas. Já os efeitos biológicos envolvem carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, hepatotoxicidade e micotoxicoses (ELLIS et al., 1991; BRADBURN e COKER, 1993).

## 1.2 ASPECTOS HISTÓRICOS

Os primeiros metabólitos secundários identificados foram provavelmente antibióticos produzidos por microorganismos (CAVALIER-SMITH, 1992). A descoberta mais relevante para a humanidade sobre a importância destes metabólitos deu-se por Alexander Fleming em 1928-1929, ao descobrir as potencialidades antibióticas da penicilina (FLEMING, 1929).

De forma negativa, desde há muito tempo, é conhecido que a ingestão de alguns cogumelos (macrofungos) pode apresentar sérios riscos à saúde humana. Entretanto, apenas mais recentemente é que se confirmou que metabólitos produzidos por fungos filamentosos (microfungos), ao entrarem na cadeia alimentar, têm sido responsáveis por verdadeiras epidemias em humanos e animais (MATOSSIAN, 1981).

O caso mais antigo e mais conhecido é o do ergotismo, atingiu proporções epidêmicas, responsável por incidentes traumáticos da história do Ocidente, mutilando e matando milhares de pessoas

na Europa no milênio passado (AGARWAL e SINCLAIR, 1987). Os focos de ergotismo foram causados pela contaminação do centeio *Secale cereale* por alcalóides produzidos por *Claviceps purpurea*, o ingrediente ativo dos alcalóides do ergot é conhecido por alcalóide da cravagem do centeio, derivado do ácido lisérgico, principal ingrediente utilizado na fabricação do LSD, uma droga ilícita, que causa inúmeros distúrbios psíquicos. A doença ficou conhecida como fogo de Santo Antônio, devido a crença de que um peregrinação ao santuário de Santo Antônio aliviaria a sensação de queimação intensa produzida pelas lesões da gangrena, causada pela toxina (CÉSAR, 2006).

Outros surtos relatados incluem a stachybotryotoxicose, provocando a morte de milhares de cavalos na Rússia, em 1930 (MOREAU, 1979), a aleuquia alimentária tóxica (ATA), que matou cerca de 100.000 russos entre 1942 e 1948 (JOFFE, 1978).

Uma outra epidemia de bastante reflexo mundial foi a aflatoxicose que matou 100.000 perus jovens no Reino Unido, em 1960, sendo também responsabilizada pela morte de outros animais e até, provavelmente, de humanos (RODRICKS et al., 1977; PITT e HOCKING, 1986). O surto ficou conhecido como Turkey x disease e chegou-se a conclusão de que a contaminação havia sido em rações produzidas com amendoim importado da África e do Brasil (BLOUT, 1961).

Foi a partir daí, que se atraiu a atenção para as micotoxinas e as suas implicações na saúde humana e animal, impulsionando verdadeiramente a micotoxicologia e quando foi identificada a primeira micotoxina, a aflatoxina, produzida por *Aspergillus flavus* (CAST, 2003).

No Japão, uma doença afligia os consumidores de arroz contaminado com fungos, conhecida desde o século XIX: o beri-beri cardíaco. Sakaki conduziu estudos pioneiros em 1891 e estabeleceu a etiologia da doença. Ao administrar arroz com bolor a coelhos, verificou que este tinha efeitos neurotóxicos. O problema continuou

a ser investigado nos anos seguintes, e culminou na descoberta da presença de fungos tóxicos no arroz, *Penicillium citreonigrum*. O metabolito tóxico responsável pela doença foi isolado em 1947 por Hirata, sendo descrito como Citreoviridina (SUBRAMANIAN, 1983).

A Ocratoxina A (OTA) foi a segunda micotoxina isolada e identificada a partir de uma cultura de *Aspergillus ochraceus* por van der Merwe (1965). Os principais efeitos tóxicos observados foram danos no fígado e nos rins em aves (KROGH, 1987).

De forma geral, o número crescente de micotoxinas detectadas em alimentos levanta questões de saúde pública. A ocorrência de micotoxicoses suscita preocupação, mas ainda se sabe pouco sobre potenciais efeitos sinérgicos ou antagônicos com outras substâncias. A determinação das doses máximas de micotoxinas que se podem ingerir sem causar riscos para a saúde são difíceis de determinar, mas a avaliação do risco das micotoxinas para a saúde é necessário para a proteção do consumidor e para o estabelecimento de limites legais quanto à presença destes contaminantes nos alimentos (CAST, 2003).

### 1.3 PRINCIPAIS TIPOS DE MICOTOXINAS

Um grande número de fungos é capaz de produzir micotoxinas, algumas destas, apresentam capacidade mutagênica e carcinogênica, enquanto outras apresentam toxicidade específica a um órgão ou são tóxicas por outros mecanismos. No mínimo 14 destas substâncias são carcinogênicas, sendo as aflatoxinas as mais potentes (Instituto ADOLF LUTZ, 2005)

#### AFLATOXINAS (AFLS)

Até de 1960 o interesse nas espécies do gênero *Aspergillus* se concentrava apenas no uso de algumas estirpes no processamento

de alimentos na Europa e no Oriente, além da habilidade de alguns isolados no parasitismo de insetos (BEUCHAT, 1978).

A descoberta da aflatoxina ocorreu em 1960 na Inglaterra, devido ao surto da doença X do peru. Durante a epidemia, milhares de aves morreram após o consumo de torta de amendoim e o principal fungo encontrado no alimento foi o *Aspergillus flavus* (WOGAN, 1992).

O termo aflatoxina foi formado a partir do nome do seu principal agente produtor (*Aspergillus flavus* toxina), no entanto há muito se relata a produção desta micotoxina também por *A. parasiticus* e somente mais recentemente as espécies *A. nominus*, *A. bombycis*, *A. pseudotomari* e *A. ochraceoroseus* tenham também se mostrado aflatoxigênicas (MOSS, 2002).

São conhecidos, atualmente, pelo menos 17 compostos similares designados pelo termo aflatoxina, dentre eles, destacam-se quatro, B1, B2, G1, G2; sendo que sua biotransformação, em diversas espécies animais, resulta na produção de M1 e M2. As aflatoxinas M1 e M2 foram isoladas inicialmente no leite e urina de animais que consumiram AFLs (OLIVEIRA et al., 1997).

Estas micotoxinas se desenvolvem naturalmente em produtos alimentícios como: amendoim, milho, feijão, arroz, trigo, entre outros. Um dos cereais mais sensíveis ao fungo é o amendoim, cuja invasão de microrganismos neste alimento pode ocorrer no solo, durante o processo de formação de sementes, na colheita, nas fases de secagem, beneficiamento e armazenamento (BRUNO, 2000; ROSSETTO et al, 2003).

O uso de alimentos contaminados pela aflatoxina, para fabricar rações, tem sido relatado como um problema importante e com sérias implicações econômicas para a indústria avícola, bem como de outras espécies domésticas de interesse econômico (BATINA et al., 2005).

Desta forma, todos os cereais, sem exceção, devem ser alvos de controle, pois podem estar contaminados, mas o arroz e feijão, embora não sejam um dos alimentos mais suscetíveis a AFLs, exigem

um olhar mais atento, por se tratar de alimentos que diariamente estão na mesa do brasileiro (NUNES et al, 2003).

Os seres humanos e várias espécies domésticas são sensíveis aos efeitos tóxicos das AFLs que podem ser agrupados como: agudos, mutagênicos, neoplásicos e teratogênicos (GROOPMAN et al., 1988; HARRISON et al., 1993).

A toxicidade em frangos, por exemplo, é caracterizada pela diminuição das concentrações de proteína total, albumina, colesterol, glicose, ácido úrico, fósforo inorgânico e cálcio e no aumento da atividade enzimática da alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST), indicativos de lesões hepáticas (SANTURIO, 1999).

De modo análogo, em saúde pública, as AFLs têm sido associada a etiologia de neoplasias hepáticas em humanos, mediante à ingestão de alimentos contaminados. Além disso, evidências demonstraram que elas podem estar associadas ao desencadeamento de outras doenças, tais como: síndrome de Reye, causa de encefalopatias e o Kwashiorkor, severa forma de desnutrição (OLIVEIRA et al., 1997).

## OCRATOXINA A (OCA)

A ocratoxina A foi descoberta em 1965 como um metabólito de *Aspergillus ochraceus* (Van Der Merwe et al., 1965). Ela é produzida também por *A. alliaceus*, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. meleus* e *A. niger*, além de *Penicillium nordicum* e *P. verrucosum* (CIEGLER et al., 1972; PITT, 1987).

*Aspergillus niger* é uma espécie utilizada amplamente na indústria, para a produção de enzimas e ácido cítrico para o consumo humano, sendo assim, é importante se certificar que os isolados industriais não sejam produtores de ocratoxina A (HEENAN et al., 1998; TREN et al., 1996).

Esta micotoxina tem sido encontrada em aveia, cevada, centeio, trigo, grãos de café e em outros produtos para consumo humano e animal e ainda se estuda a possibilidade de ocorrência em vinhos produzidos por uvas infectadas por *A. carbonarius* (PITT, 2000).

Além de ser reconhecidamente nefrotóxica, a ocratoxina A comporta-se, também, como hepatóxica, imuno-supressora, teratogênica e cancerígena (SCHLATTER et al., 1996).

Ela tem sido encontrada no sangue e em outros tecidos animais e no leite, inclusive em leite humano (Marquardt e Frohlich, 1992), bem como em carne suína para consumo humano (FINK-GREMMELS, 1999).

De forma geral, a Ocratoxina A está associada a nefropatias em todos os animais estudados até o momento e é no ser humano, entretanto, onde essa substância tem a mais longa meia-vida para sua eliminação (Creppy, 1999). A Agência Internacional para Pesquisa do Câncer classificou a ocratoxina A como um possível cancerígeno humano (BEARDALL e MILLER, 1994).

Em suínos, esta toxina tem sido responsabilizada pela nefropatia, uma doença endêmica da Dinamarca, onde também está associada à morte de aves (Hamilton et al., 1982; Burns e Dwivedi, 1986; Krogh, 1987). A mortalidade pode chegar a 90% nos lotes suínos afetados (DILKIN e MALMAN, 2004).

## TRICOTECENOS

Tricotecenos são produzidos por uma série de gêneros de fungos: *Cephalosporium*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichotecium* e *Verticimonosporium*. Entretanto, a maioria das toxinas tem sido isoladas e caracterizadas a partir de colônias de *Fusarium* (AGARWAL e SINCLAIR et al., 1987)..



Estas micotoxinas constituem um grupo de aproximadamente 150 metabólitos conhecidos (COLE; COX, 1981), mas as informações a cerca de contaminações em produtos alimentares são limitadas a ocorrência principalmente de desoxinivalenol (vomitoxina) (DON), nivalenol (NIV), toxina T-2, toxina HT-2 e diacetoxiscirpenol (DAS), todas produzidas por espécies do gênero *Fusarium* (FREIRE et al., 2007).

Os efeitos dos tricotecenos são reconhecidos pela forte capacidade de inibição da síntese protéica eucariótica, interferindo nos estágios inicial, de alongamento e do terminal da síntese protéica (STAFFORD e MCLAUGHLIN, 1973; WEI et al., 1974).

O DON, especificamente, é uma das micotoxinas mais comumente encontradas em grãos, quando ingerida em doses elevadas por animais, ela causa náuseas, vômitos e diarreia em suínos e outros animais, pequenas doses, podem provocar perda de peso e recusa alimentar (MILLER et al., 2001).

Tem sido levantada a hipótese de que a toxina T2 e o DAS estariam associados à doença Aleuquia Tóxica Alimentar, a qual afetou milhares de pessoas em Orenburg, uma região da antiga União Soviética, durante a Segunda Guerra Mundial. As pessoas doentes teriam se alimentado de grãos infectados por *F. sporotrichioides* e *F. poae* (JOFFE, 1978). DON e a toxina T2 têm sido detectadas, no Brasil, associadas a grãos de milho, a farelo de trigo e a produtos de panificação (OLIVEIRA e SOARES, 2001).

## ALCALÓIDES ERGÓTICOS

A produção dos alcalóides ergóticos ocorre nos escleródios de diversas espécies do gênero *Claviceps*. Os efeitos desses alcalóides sobre o homem são conhecidos desde a Idade Média depois da morte de milhares de pessoas em 994, no sul da França provocadas pela ingestão de grãos de cereais infectados por *Claviceps purpurea* (KRUPPA, 2004).

O consumo de alcalóide pode resultar em gangrena, levando a necrose de extremidades e afeta também o sistema nervoso central, resultando em convulsões e paralisia, além de desordens gás gastroentestinais (AGARWAL e SINCLAIR et al., 1987). Os escleródios desses fungos possuem uma gama de alcalóides, dos quais os mais importantes são os derivados do ácido lisérgico. Além desses ocorrem, ainda, a ergometrina, a ergotamina e a ergotoxina (uma mistura de ergocornina, ergocristina e ergocriptina, todos tripeptídeos cíclicos derivados do ácido lisérgico). As espécies produtoras desses alcalóides, além de *Claviceps purpurea* (centeio, e outros cereais), inclui *C. paspali* (gramíneas forrageiras), *C. fusiformis* (em *Pennisetum typhoides*), *C. gigantea* e *Sphacelia sorghi* (forma anamórfica de *Claviceps*) (HAWKSWORTH et al., 1995).

Atualmente, os casos de ergotismo são bastante raros em virtude de a maioria dos escleródios ser eliminada durante o processamento nos moinhos. Somente níveis muito baixos de alcalóides ergóticos podem ser ainda detectados, mas são relativamente termolábeis, sendo quase sempre destruídos no processo de panificação (PERAICA et al., 1999).

Embora o problema do ergotismo tenha sido praticamente eliminado da cadeia alimentar humana, ainda é considerada uma ameaça sob o aspecto veterinário. Dentre os animais suscetíveis de intoxicação, incluem-se bovinos, ovinos, suínos e aves e os sintomas clínicos do ergotismo nesses animais se manifestam na forma de aborto, convulsões, supressão da lactação, hipersensibilidade e ataxia (perda da coordenação dos movimentos musculares voluntários), além da gangrena (LORENTZ, 1979).

## ZEARALENONA

Existem cinco espécies de zearalenonas de ocorrência natural, as quais são produzidas por *Fusarium* spp., principalmente

*F. graminearum* e *F. tricinctum*. Associados ao milho, esses organismos invadem a planta no estágio de floração, principalmente durante períodos chuvosos. Se os níveis de umidade permanecem suficientemente altos após a colheita, o fungo cresce e produz a toxina (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009)

A ação desta toxina se dá pelo estímulo aos receptores estrogênicos citoplasmáticos, incrementando a síntese protéica no aparelho reprodutor. Estas alterações podem levar à pseudogestação e leva a quadros caracterizados por vulvovaginite, leitões fracos e natimortos. Também pode-se observar uma redução nas taxas de concepção, acompanhadas da repetição de cio. Em machos jovens a toxina causa feminização, atrofia testicular e aumento da glândula mamária, redução da libido e uma discreta redução sobre a qualidade espermática (DILKIN e MALLMANN, 2004).

## OUTRAS MICOTOXINAS

Além das micotoxinas já citadas, existe ainda uma grande variedade de metabólitos secundários produzidos por fungos que associados a produtos alimentares são considerados tóxicos a humanos e animais como as patulinas, fumonisinas, citrinas, ácidos penicílicos, entre outros.

A **Patulina**, produzida por espécies fúngicas dos gêneros *Aspergillus* (*A. clavatus*) e *Penicillium* (*P. patulum* e *P. expansum*) era comumente associada a cura do resfriado, no entanto, mais tarde foi considerada demasiadamente tóxica para o uso, sendo considerada carcinogênica, o que ainda é questionado (AGARWAL e SINCLAIR et al., 1987).

As **fumonisin**as foram descritas e caracterizadas em 1988 e são produzidas por uma grande diversidade de fungos do gênero *Fusarium*. A presença desta micotoxina em grãos de milho tem sido associada a casos de câncer de esôfago em habitantes das regiões

de Transkei (Sul da África), China e nordeste da Itália (PERAICA et al., 1999). São responsáveis, também, pela leucoencefalomácia em eqüinos e coelhos (FANDOHAN et al., 2003); edema pulmonar e hidrotórax em suínos (HARRISON et al., 1990) e efeitos hepatotóxicos, carcinogênicos e apoptose (morte celular programada) em fígado de ratos (POZZI et al., 2000).

## 1.4 FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

As micotoxinas são produzidas somente quando certas condições ambientais, tais como temperatura e umidade, além das características bioquímicas dos produtos que servem como substrato, são propícias para a sua produção. Outro fator muito importante é a integridade física da semente ou grão. A contaminação poderá ocorrer mesmo em material armazenado, porque lesões mecânicas provocadas por insetos ou durante o processamento, tornam os cereais muito susceptíveis à proliferação de fungos (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2005)

Em campo, o estado da cultura é apontado por Pitt e Hocking (1997) como o principal fator que governa a ecologia da biodeterioração dos alimentos por fungos. No entanto, em tecidos doentes, dormentes, ou mortos, os fatores que governam a biodeterioração e a produção de micotoxinas são físicos e químicos e os principais são: temperatura; umidade, composição nutricional do substrato e outros como tensão de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e pH (CAST, 2003).

Em grãos, a faixa viável de temperatura para a produção de micotoxinas situa-se entre 11 e 37°C. Períodos de seca durante o cultivo do milho também são apontados como predisponentes a produção de aflatoxinas (MALLMANN et al. 1994).

No que se refere a umidade, os principais fungos toxigênicos são capazes de crescer em substrato com 13 a 18% de umidade (JARVIS, 1971). Em 1967, Lopez e Christensen constataram umidade

mínima de 17,5% para o desenvolvimento de *A. flavus*. Já para Puzzi (1986), a umidade mínima para o crescimento desta mesma espécie está entre 16 e 16,5%.

Os fungos toxigênicos podem infectar os cultivos em crescimento, em consequência de danos causados por insetos e outros agentes e produzir toxinas antes da colheita, durante essa e após seu armazenamento (MALLMANN et al. 1994).

Assim, o manejo da cultura no campo e após a colheita também pode ser crucial na produção destes metabólitos e características como tipo de solo, época de plantio, uso de fertilizantes, estresse hídrico e condições de colheita e armazenamento são apontadas como as mais importantes. No que se refere aos fungos, o processo de infecção e o tipo de invasão também podem interferir na produção destes metabólitos. Em infecções mais severas, ocorre uma grande produção de metabólitos secundários (AGARWAL; SINCLAIR et al., 1987).

## 1.5 CONTROLE

Na posição de um dos países líderes na produção de alimentos agrícolas e de commodities, o Brasil possui condições ambientais excelentes para o crescimento de todos esses fungos micotoxigênicos e possui inúmeros relatos de problemas acarretados por micotoxinas sendo necessário a adoção de medidas de controle (FREIRE et al., 2007).

De uma forma geral, a melhor forma de impedir a produção de micotoxinas e seus efeitos deletérios está em controlar o crescimento de fungos, empregando medidas, tais como diminuir a presença de insetos nas plantações e a umidade durante a armazenagem das matérias-primas e rações, além de diminuir as perdas nutricionais aos grãos (ROSMANINHO et al., 2001).

A secagem eficiente dos grãos e sua conservação sem umidade é sem dúvida a principal medida de controle de produção de micotoxinas quando se fala em pós-colheita. No entanto, ainda há muito a se fazer em condições de campo e medidas tais como a irrigação, por exemplo, como alternativa para controlar a umidade é fator crucial para a sanidade do grão produzido (AGARWAL e SINCLAIR et al., 1987). Após a colheita, além da secagem dos grãos, a classificação destes também pode ser eficiente, pois elimina grãos com danos mecânicos, mais suscetíveis ao ataque de fungos. O controle químico e biológico também podem ser apontados como importantes alternativas, além da detoxificação, adotada quando ocorre a infecção pelo fungo toxigênico e a consequente produção de micotoxina (AGARWAL e SINCLAIR et al., 1987).

Caso o controle preventivo tenha sido ineficiente, uma vez produzidas as micotoxinas, deve-se recorrer a possibilidade de redução do seu impacto sobre o desempenho dos animais e para isto, tem-se feito uso de adsorventes de toxinas (KRABBE, 1995), que são substâncias que não são absorvidas no trato gastrointestinal e tem a capacidade de ligar-se a micotoxinas e transportá-las sem absorção para fora do trato digestivo das aves e, conseqüentemente impedir a intoxicação (BELLVER, 2000).

No Brasil, com base nos conhecimentos então disponíveis, estabeleceu-se, a legislação brasileira sobre micotoxinas para alimentos de consumo humano e animal (BRASIL, 1998). São determinados níveis aceitáveis de contaminação nas rações animais, por exemplo, para o caso das aflatoxinas, dos quais não deve conter mais de 0,03g de escleródios por 100g de alimentos, exceto para a alimentação de suínos, coelhos e chinchilas na gravidez e lactação, onde as rações devem ser completamente livres de estruturas do fungo (ROSMANINHO et al., 2001).

## REFERÊNCIAS

- ABRAMSON, D. Factors in mycotoxin formation. In: SINHA, K. K.; BHATNAGAR, D. (Eds.), **Mycotoxins in agriculture and food safety**. New York: Marcel Dekker, p. 255-277, 1998.
- AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. Mycotoxins and Micotoxícoses. In: AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. v. 2, p. 363-408, 1987.
- BATINA, P. N., LOPES, S. T. A., SANTURIO, J. M., et al. Efeitos da Adição de Montmorilonita Sódica na Dieta Sobre o Perfil Bioquímico de Frangos de Corte Intoxicados com Aflatoxina. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 35, n. 4, 2005. [www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a12v35n4.pdf](http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a12v35n4.pdf)
- BEARDALL, J. M.; MILLER, J. D. Disease in humans with mycotoxins as possible causes. In: MILLER, J. D.; TRENHOLM, H. L. (Ed.). **Mycotoxins in grains: compounds other than aflatoxin**. St. Paul: Eagen Press. 1994. p. 487-539.
- BELLAVER, C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: Congresso Mercosul de Produção Suína, **Anais**: EMBRAPA. Buenos Aires, p.93-108, 2000.
- BETINA, V. **Bioactive molecules**. Mycotoxins - chemical, biological and environmental aspects. Amsterdã: Elsevier, v. 8, 1989.
- BEUCHAT, L. R. Traditional fermented food products. In: BEUCHAT, L. R. (Ed.). **Food and beverage mycology**. Westport: AVI, p. 224-253, 1978.
- BLOUT, W. P. Turkey "X" disease. *Turkeys*, v. 9, p. 52-58, 1961. <http://toxicology.usu.edu/endnote/Blount-original-Tukey-X-paper-1961.pdf>
- BRADBURN, N.; COKER, R.D. Aflatoxin contamination in maize. **Tropical Science**, v. 33, n. 44, p. 418-428, 1993.
- BRASIL. Leis, decretos, etc. Ministério da Agricultura. Portaria nº 354, de 18 de julho de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, 1998.
- BRUNO, R. L. A. Qualidade fisiológica e microflora de sementes de amendoim cv. Br-1 durante o armazenamento. **Revista de Oleaginosa e Fibrosa**, Campina Grande. n. 4, v. 3, p. 141-152, 2000. <http://www.cnpa.embrapa.br/rbof/fasciculos.php>
- BURNS, R. P.; DWIVEDI, P. The natural occurrence of ochratoxin A and its effects in poultry. A review. Part II. Pathology and immunology. **World Poultry Science**, v. 42, p. 48-62, 1986.
- CAST. Mycotoxins: risks in plants, animals and human systems. Council for Agricultural Science and Technology. **Ames**, n. 139, p. 199, 2003.
- CAVALIER-SMITH, T. Origins of secondary metabolism. In: **Secondary Metabolites: their Function and Evolution**, p. 64±87. CIBA Foundation Symposium no. 171, p. 64-87, 1992.
- CÉSAR, D. Micotoxícoses. **Revista del Plan Agropecuario**. Uruguay: n. 101, p. 46-50, 2006.
- CHARMLEY, L.L.; TRENHOLM, H.L.; PRELUSKY, D.B.; ROSEMBURG, A. Economics losses and descontamination. **Natural Toxins**, v. 3, p.199-303, 1995.
- CIEGLER, A.; CENNEL, D. J.; MINTZLAFF, H. J.; LEISTHNER, L. Ochratoxin synthesis by *Penicillium* species. **Naturwissenschaften**, v. 59, p. 365-366, 1972.
- COLE, R. J., COX, R. H. **Handbook of toxic fungal metabolites**. New York: Academic Press, 987 p., 1981.
- CREPPY, E. E. Human ochratoxicosis. **Journal of Toxicology and Toxin Review**, v. 18, p. 277-293, 1999.

DEMAIN, Arnold L. Microbial secondary metabolism: a new theoretical frontier for academia, a new opportunity for industry. In: CIBA Foundation Symposium 171. **Secondary metabolites: their function and evolution.** West Sussex: John Wiley & Sons Ltd., p. 3- 23, 1992.

DILKIN, P. & MALLMANN C.A. Sinais clínicos e lesões causadas por micotoxinas. **Anais do XI Encontro Nacional de Micotoxinas,** Piracicaba-SP, 2004.

ELLIS, W. O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K.; OLDHAM, J.H. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v.30, n.4, p.403-439, 1991.

FANDOHAN, P.; HELL, K.; MARASAS, W. F. O.; WINFGIELD, M. J. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. **African Journal of Biotechnology,** v. 2, n. 12, p. 570-579, 2003.

<https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/.../1/jb03108.pdf>

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins: their implications for human and animal health. **Veterinary Quarterly,** v. 21, p. 115-120, 1999.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. "**British Journal of Experimental Pathology**", v. 10, p. 226-23, 1929.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Micotoxinas, n. 92, 2009. <http://www.revista-fi.com/materias/90.pdf>

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. **Micotoxinas: Importância na saúde humana e animal.** Documento 110. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 48p., 2007.

GARCIA, R.P.; PADILHA, M. SIDIL, B.M.; REJESUS, B.M.; GARCIA, R.P.; CHAMP, B.R.; BENGSTON, M.; DHARMAPUTA, O.S.; HALID, H. Mycotoxins and its significance in the implementation of general agreement on tariff and trade (GATT). In: SYMPOSIUM ON PEST MANAGEMENT FOR STORED FOOD AND FEED, Bogor, Indonésia. **Proceedings...** Bogor, Indonésia: Briotrop, v. 59, p.33-51, 1995.

GROOPMAN J. D., CAIN L. G., KENSLER T. W. exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. **CRC Crit. Rev. Toxicol.** n. 19, p. 113-45, 1987.

HAMILTON, P. B.; HUFF, W. E.; HARRIS, J. R.; WYATT, R. D. Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. **Poultry Science,** v. 61, p. 1.832-1.836, 1982.

HARRISON J. C.; CARVAJAL M.; GARNER R. aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute cancer risk? **Environ. Health Perspect.** n. 99, p. 99-105, 1993.

HARRISON, L. R.; COLVIN, B. M.; GREENE, J. T.; NEWMAN, L. E.; COLE, J. R. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,** v. 2, p. 217-221, 1990.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON, B. C.; PEGLER, D. N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi.** 8. ed. Wallingford: CAB International, 616 p, 1995.

HEENAN, C. N.; SHAW, K. J.; PITT, J. I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology,** v.1, p. 67-72, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo - Brasil). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos:** normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4ª ed. Brasília (DF): ANVISA; 1018p, 2005.

- JARVIS, B. Factors affecting production of mycotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 34, n. 1, p. 199-213, 1971.
- JOFFE, A. Z. *Fusarium poae* and *F. sporotrichioides* as principal causal agents of alimentary toxic aleukia. In: WILLIE, T.D.; MOREHOUSE, L.G. (Ed.). **Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses**. New York: Marcel Dekker, v. 3, p. 21-86, 1978.
- KRABBE, E. L., 1995, **Efeito do Desenvolvimento Fúngico em Grãos de Milho durante o Armazenamento e do uso de Ácido Propiônico sobre as Características Nutricionais e o Desempenho de Frangos de Corte** – Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre, RS, 176p.
- KROGH, P. Ochratoxin in foods. In: KROGH, P. (Ed.). **Mycotoxins in foods**. London: Academic Press. p. 97-110, 1987.
- KRUPPA, P. C. *Claviceps*. **Biológico**, v. 66, n. 1/2, p.35-37, 2004.
- LOPEZ, L. C.; CHRISTENSEN, C. M. Effect of moisture content and temperature on invasion of stored corn by *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, v. 57, p. 588-590, 1967. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.../aplmicro00103-0091.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/.../aplmicro00103-0091.pdf)
- LORENTZ, K. Ergot on cereal grains. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.11, p. 311-354, 1979.
- MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; VIEIRA, I. G. P. Aflatoxinas – Aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. **Ciência Rural**, v. 24, n. 3, p. 635-643, 1994. [www.lamic.ufsm.br/papers/18b.pdf](http://www.lamic.ufsm.br/papers/18b.pdf)
- MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3.968-3.988, 1992.
- MATOSSIAN, M. K. Mold poisoning: an unrecognized English health problem, 1150-1800. **Medical History**, England, n. 1, v. 25, p. 73-84, 1981.

- MILLER, J. D.; APSIMON, J. W.; BLACKWELL, B. A.; GREENHALGH, R.; TAYLOR, A. Deoxynivalenol: a 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In: SUMMERELL, B. A.; LESLIE, J. F.; BACKHOUSE, D.; BRYDEN, W. L.; BURGESS, L. W., (Ed.). **Fusarium**. St. Paul: APS Press, p. 31-319, 2001
- MOREAU, C. **Molds, toxins and food**. Chichester: John Wiley, 477 p., 1979.
- MOSS, M. O. Mycotoxin review – 1. *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologist**, v. 16, p. 116-119, 2002.
- NUNES I. L., MAGAGUIN G., BERTOLIN T. E. Arroz comercializado na região sul do brasil: Aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, n. 23, v. 2, p.190-194, 2003. [www.scielo.br/pdf/cta/v23n2/v23n2a15.pdf](http://www.scielo.br/pdf/cta/v23n2/v23n2a15.pdf)
- OLIVEIRA, A. Q.; SOARES, L. M. V. Avaliação de métodos para determinação de tricotecenos em milho por cromatografia gasosa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 129-134, 2001.
- OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L.; BIRD, C.; PINTO, C. A. Immunochemical assessment of aflatoxin M1 in milk powder consumed by infants in São Paulo, Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 14, n. 1, p. 7-10, 1997.
- PERAICA, M.; RADIC, B.; LUCIC, A.; PAVLOVIC, M. Toxic effects of mycotoxins in humans. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 77, p. 754-766, 1999.
- PITT, J. I. Toxigenic fungi: which are important? **Medical Mycology**, v. 38, p. 17-22, 2000.
- PITT, J. I. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A. **Applied Environmental Microbiology**, v. 53, p. 266-269, 1987.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. Mycotoxins in foods: implications for human health. In: WAHLQVIST, M. L.; TRUSWELL, A. S. (Ed.).

- Recent advances in clinical nutrition.** London: John Libby, p. 161-168, 1986.
- POZZI, C. R.; CORREA, B.; XAVIER, J. G.; DIREITO, G. M.; ORSI, R. B.; MATARAZZO, S. V. Effects of prolonged oral administration of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in rats. **Mycopathologia**, v. 151, p. 21-27, 2000.
- PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos.** Campinas: Ica, 603 p., 1986.
- RODRICKS, J. V.; HESSELTINE, C. W.; MEHLMAN, M. A. (Ed.). **Mycotoxins in human and animal health.** Park Forest South: Pathotox, 1977. p. 37-50.
- ROSMANINHO, J. F., OLIVEIRA, C. A. F., BITTENCOURT, A. B. F. **Efeitos das Micotoxicoses Crônicas na Produção Avícola.** 3Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 68, n. 2, p.107-114, jul./dez., 2001.
- ROSSETTO, C. A. V., VIEGAS, E. C., LIMA, T. M. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e das épocas de amostragem. **Bragantia**, Campinas, n. 3, p. 437-445, 2003.  
<http://www.scielo.br/pdf/brag/v62n3/v62n3a10.pdf>
- SANTURIO J.M. *et al.* Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. **British Poultry Science**, v. 40, p. 115-119, 1999.
- SCHLATTER, C. H.; STUDER-ROHR, J.; RÁSONYI, T. H. Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. **Food Additives and Contaminants**, v. 13, p. 43-44, 1996.
- STAFFORD, M. E.; McLAUGHLIN, C. S. Trichodermin, a possible inhibitor of the termination process of protein synthesis. **Journal of Cell Physiology**, v. 82, p. 121-124, 1973.

- SUBRAMANIAN, C. V. Hyphomycetes and mycotoxicoses. In: **Hyphomycetes: taxonomy and biology.** London: Academic Press, p. 329-348, 1983.
- TEREN, J.; VARGA, J.; HAMARI, Z.; RINYU, E.; KEVEI, F. Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. **Mycopathologia**, v. 134, p. 171-186, 1996.
- TURNER, W. B.; ALDRIDGE, D. C. **Fungal Metabolites II.** Academic Press, Londo, 1983.
- VAN DER MERWE, K. J.; STEYNE, P. S.; FOURIE, L. F.; SCOTT, D. B.; THERON, J. J. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. **Nature**, v. 205, p. 1112-1113, 1965.
- ZLOTOWSKI, P.; CORRÊA, A. M. R.; ROZZA, D. B.; DRIEMEIER, D.; MALLMANN, C. A.; MIGLIAVACCA, F. A. Surto de aflatoxicose em suínos no Estado do Rio Grande do Sul, **Pesq. Vet. Bras.** n. 24, v. 4, p. 207-210, 2004.
- WEI, C. M.; CAMPBELL, I. M.; McLAUGHLIN, C. S.; VAUGHN, M. H. Binding of trichodermin to mammalian ribosomes and its inhibition by other 12,13 - epoxytrichothecenes. **Molecular Cell Biochemistry**, v.3, p. 215-219, 1974.
- WOGAN, G. N. Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. **Prog. Clin. Biol. Res.** n. 374, p. 123-137, 1992.

# Mecanismos de defesa da planta hospedeira contra fitopatógenos

*Lidiany Aparecida Barbosa*

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

A infecção de uma planta por um microrganismo parasita ocorre logo em seguida à penetração e colonização deste nos tecidos do hospedeiro, quando retiram os nutrientes necessários para sua sobrevivência e neutralizam as reações de defesa das plantas. Para isso, utiliza-se principalmente de substâncias tais como enzimas, toxinas e hormônios, cuja importância varia grandemente nas interações hospedeiro-patógeno. Por outro lado, as plantas necessitam se defender dos microrganismos potencialmente invasores utilizando-se de diferentes mecanismos de resistência (AGRIOS, 2005).

Tendo em vista a inexistência de resposta imune mediada por anticorpos, as plantas desenvolveram durante o processo de evolução, mecanismos diferenciados de defesa que, quando acionados (na maioria das vezes por fungos, bactéria e vírus) percebem a agressão, traduzindo a percepção em uma resposta apropriada e de forma adaptativa (PIETERSE et al., 2005; SHEWRY e LUCAS, 2007).

A ativação do mecanismo de defesa da planta ocorre por meio de sucessivos eventos e sinais que se iniciam no reconhecimento pela planta do agente agressor e culmina com a ativação das barreiras físicas e químicas envolvidas no processo (FERNANDES et al., 2009).

De acordo com Pinheiro-Margis et al. (1999) o complexo sistema de defesa e adaptação das plantas pode agir de três formas. A primeira, a resistência constitutiva, ocorre mesmo sem a ação de agentes agressores: recebida por herança dos ancestrais, torna as



plantas imunes (ou não-hospedeiras) à maioria dos patógenos. As outras formas são a resistência localizada, ativada no ponto onde ocorre a agressão, e a resistência sistêmica adquirida, que protege a planta contra ataques subseqüentes.

O emprego da indução da resistência, com especial destaque dentro de um sistema integrado de controle, visando redução de perdas ocasionadas pela doença desponta como uma alternativa de redução de agrotóxicos e melhoria da qualidade do produto final. Como uma alternativa mais racional em programas de manejo de doenças de plantas, em associação com os tratamentos culturais, os produtos de indução da resistência da planta, apresenta um mecanismo de ação alternativa que não causa dano ao meio ambiente (CAMPOS, 2009).

## 1 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

A resistência induzida é dependente do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (tratamento indutor) e a subseqüente inoculação do patógeno (tratamento desafiador) (FRANZENER, 2003). Essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese e/ou acúmulo de substâncias são importantes no fenômeno da resistência induzida (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

A indução de resistência foi conceituada como sendo a ativação de um mecanismo de resistência contra doenças, o qual é induzido sistemicamente em plantas pela utilização de agentes externos (indutores) bióticos ou abióticos, sem qualquer alteração no genoma da planta, ocorrendo de maneira não específica, por meio da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa (STADNIK, 2000; HAMMERSCHMIDT et al., 2001).

É importante salientar que, a atividade do agente indutor não é devida a ação antimicrobiana ou a sua transformação em agentes antimicrobianos, mas sim devida à capacidade do mesmo

em sensibilizar a planta e a mesma ativar os seus mecanismos de defesas estruturais e bioquímicos em resposta à presença de um patógeno em potencial. Usualmente é complexa e tem como base, a ação combinada de diversos fatores e não apenas um componente (SOARES e MACHADO, 2007).

Os principais tipos de resistência são: a resposta hipersensitiva (HR), a resistência sistêmica adquirida (RSA) e a resistência sistêmica induzida (RSI).

## RESPOSTA HIPERSENSITIVA (HR)

A resposta hipersensitiva ou reação de hipersensibilidade em plantas envolve sucessivos eventos e sinais que compreendem desde o reconhecimento entre patógeno e o hospedeiro até o colapso celular vegetal localizado. Ela se constitui na primeira etapa da resposta de defesa da planta, sendo seguida de outras alterações, quer seja no sítio de infecção ou em toda a planta. (SILVA et al., 2008; FERNANDES et al., 2009).

Os aspectos fisiológicos e morfológicos da HR incluem o aumento rápido de agentes oxidantes, perda de íons potássio e ganho de íons hidrogênio pelas células, espessamento das paredes celulares e da cutícula, inchamento da mitocôndria por causa da formação de poro de transição de permeabilidade (PTP) precedendo a morte celular programada (JONES, 2000; AGRIOS, 2004), além da síntese de fitoalexinas e proteínas relacionadas à defesa (VERBENE et al., 2000; DURRANT, W. E.; AGRIOS, 2004; DONG, 2004;).

O papel da HR em interações com patógenos biotróficos obrigatórios, os quais formam associações haustoriais íntimas com as células hospedeiras, causando a morte celular no sítio de infecção, pode impedir que estes tenham acesso a nutrientes, o que os levaria à morte. Nas interações envolvendo patógenos hemibiotróficos ou necrotróficos, o papel da HR ainda não está totalmente esclarecido,

visto que estes patógenos podem obter nutrientes a partir de células mortas (FERNANDES, 2004).

## **RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA (SAR) & RESISTÊNCIA SISTÊMICA INDUZIDA (RSI)**

Apesar de aos longos dos anos serem consideradas sinônimas e de funções análogas, atualmente, estudiosos concordam sobre a distinção das formas através das quais esses mecanismos de resistência são induzidos. Portanto a resistência sistêmica adquirida (SAR) e a resistência sistêmica induzida (RSI) são fenômenos distintos, embora fenotipicamente semelhantes (SILVA et al., 2008).

A SAR é explicada pela manifestação ou produção de um sinal liberado a partir do sítio de infecção que provoca a necrose e a translocação deste sinal para outras partes da planta, induzindo reações de defesa que protegerá a planta contra agressões subseqüentes (SILVA et al., 2008).

NaRSI não há acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas), não há alterações visuais perceptíveis, o agente indutor é, usualmente, um não-patógeno, sua indução não é o salicilato-dependente, parecendo haver uma outra rota de sinalização mais associada a jasmonatos e etileno (PIETERSE et al., 1998; VAN LOON et al., 1998), no entanto a planta também protege-se sistemicamente (STICHER et al., 1997; VAN LOON et al., 1998; SILVA et al., 2008).

O mecanismo da SAR deve envolver uma cascata de eventos e sinais, os quais iniciam-se no momento da interação planta/patógeno ou do tratamento com fatores abióticos, levando a alterações no seu metabolismo celular, culminando com a emissão de sinais moleculares dirigidos para outras partes da planta, atuando de forma inespecífica, promovendo a redução da severidade da doença. Em resposta à distribuição dos sinais dentro da planta,

esta seria induzida a sintetizar agentes de defesa, incluindo as PR-Proteínas, além da formação de barreiras estruturais, como a lignina. A participação de compostos, como o óxido nítrico, etileno, ácido jasmônico (JA) e ácido salicílico (SA), tem sido sugerida como sinalizadores da SAR. A participação do SA na SAR deve-se à sua presença, em altos níveis, em plantas que apresentam esta resposta (DOREY et al., 1997; DURNER et al., 1997; DIAS, G. B.; RANGEL, T. B. A., 2007). Para que ocorra a SAR, a infecção inicial precisa resultar na formação de lesões necróticas, decorrentes da HR (acúmulo de peróxido de hidrogênio) ou como sintoma da doença (HAMMOND-KOSACK, K. E., JONES, J. D. G., 2000).

O espectro de efetividade de RSI e SAR sobrepõem-se parcialmente, mas também diverge, sugerindo que as respostas defensivas ativadas durante os dois tipos de resistência induzidas, são no mínimo diferentes.

## **MECANISMOS DE RESISTÊNCIA**

A resposta das plantas ao ataque de patógenos trata-se de um sistema altamente complexo, capaz de resistir ao ataque por patógenos. A constituição da superfície exterior das plantas (cutículas cerosas e compostos antimicrobianos pré-formados) compreende a primeira barreira encontrada pelo patógeno. A parede celular constitui-se uma segunda barreira para prevenir a entrada de possíveis invasores. Os patógenos que conseguem superar as barreiras físicas deparam-se com as respostas induzidas e o sistema basal de defesa é o primeiro a ser ativado na interação microrganismo-planta e constitui-se de respostas de defesa gerais e localizadas (CHISHOLM et al., 2006). Os mecanismos de resistência são divididos em duas categorias: pré-formados e pós-formados. Cumpre ressaltar que ambos podem ser subdivididos em estruturais e bioquímicos (DIAS e RANGEL, 2007). O resultado

final da atuação desses diferentes mecanismos é evitar ou atrasar a entrada de um microrganismo no interior da planta, bem como criar condições adversas para a colonização dos tecidos vegetais pelo mesmo.

## PRÉ-FORMADOS ESTRUTURAIS E BIOQUÍMICOS

Dentre os pré-formados estruturais, destacam-se a presença de cutícula, tricomas, tipo de estômatos, fibras e forma dos vasos condutores. Entre os bioquímicos, encontram-se os fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, fitotoxinas e inibidores protéicos (DIAS e RANGEL, 2007).

Lima e Lara (2004) averiguaram se a densidade dos tricomas presentes nos diferentes genótipos de soja estudados poderia estar correlacionada com a preferência da mosca branca (*Bemisia tabaci* (Genn.)) para oviposição e concluíram com o trabalho que havia a tendência do inseto em ovipositar nos genótipos com maior número de tricomas. Em tomates, uma espécie silvestre tem-se mostrado uma promissora fonte de resistência a artrópodes e esta resistência esta ligada é atribuída a elevados teores da 2-tridecanona (2-TD), uma metil-cetonapresente apenas em pequenas quantidades em *L. esculentum* Mill. (FERY e KENNEDY, 1987). A 2-TD está localizada em tricomas glandulares presentes nos folíolos do tomateiro. Aragão et al. (2000) com seu trabalho chegou a conclusão que a espécie silvestre *Lycopersicon. hirsutum* var. *glabratum* Mill. ('PI 134417') apresentou, de modo geral, maior densidade de tricomas glandulares em seus folíolos e maiores concentrações da 2-tridecanona, se comparada à espécie cultivada *L. esculentum* Mill. ('TOM 556') e que a seleção de genótipos com alto teor de 2-TD levou, portanto, a um aumento no nível de repelência ao ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch.

## PÓS-FORMADOS ESTRUTURAIS E BIOQUÍMICOS

Nos pós-formados podem ser encontrados mecanismos estruturais: papilas, halos, lignificação, formação de camadas de cortiça, calose, silício, tiloses em vasos, etc; e bioquímicos: produção de fitoalexinas, proteínas-RP, glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, inibidores de proteases, peroxidases, entre outros. (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Dentre as barreiras estruturais, a lignificação é uma das respostas ativas de defesa da planta mais importantes, induzida por agente biótico ou abiótico sendo, provavelmente, uma característica de resistência que confere reforço a parede celular. A lignificação ocorre com a acumulação da lignina e sua biossíntese se dá na via metabólica dos fenilpropanóides, envolvendo a enzima fenilalanina amônia liase (FAL) na etapa inicial responsável pela conversão da fenilalanina em ácido cinâmico e peroxidase na etapa final (FUKUDA e KOMAMINE, 1982; HELDT, 1997). A lignificação da parede celular propicia uma barreira física ao avanço do fitopatógeno, impedindo que as enzimas hidrolíticas secretadas por estes dissolvam as células vegetais. A indução da lignificação tem sido relacionada como uma resposta de defesa em hospedeiros suscetíveis (STICHER et al., 1997). Enzimas vegetais, como as quitinases e  $\beta$ -1,3 glicanases, atuam degradando a parede celular do patógeno e, conseqüentemente, liberam esses compostos, os quais ativam o sistema de defesa da planta (HAMMERSCHMIDT, R., 1999).

O termo RP-Proteínas foi primeiramente utilizado para descrever numerosas proteínas extracelulares que se acumulavam em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) infectadas com o vírus do mosaico do fumo (TMV) (VAN LOON e VAN KAMMEN, 1970). Bowles (1990) ampliou esta definição incluindo proteínas localizadas intra e extracelularmente que se acumulavam em tecidos vegetais intactos ou em cultura de células após o tratamento com elicitores ou ataque

de patógenos. Algumas dessas RP-Proteínas encontram-se expressas, embora em baixos níveis, de forma constitutiva em plantas, ou seja, sob condições normais. Entretanto, seus níveis são aumentados quando as plantas são submetidas a condições de estresses. Há outras que, embora não sejam detectadas em condições fisiológicas normais, têm seus genes correspondentes ativados, vindo a ser detectadas nos tecidos vegetais após injúria, após o ataque de patógenos e/ou pragas e sob condições de estresses ambientais do tipo salinidade, seca e baixas/altas temperaturas (BERNARDS et al., 1999; MARTINS-MIRANDA, 2002). A indução destas proteínas é mediada pela ação de substâncias sinalizadoras que são classificadas em dois tipos, conforme sua origem: elicitores endógenos, da própria planta; e elicitores exógenos, do patógeno (WYATT et al., 1991; REPKA, 1996; THORDAL-CHRISTENSEN et al., 2000; CHRISTENSEN et al., 2002).

Muitas RP-Proteínas possuem tanto atividade antifúngica como atividade antibacteriana *in vitro* como, por exemplo, quitinases, glucanases e proteínas que se ligam à quitina. A degradação de polissacarídeos estruturais da parede celular de fungos ou alterações na sua arquitetura, promovidas por estas enzimas, podem prejudicar o desenvolvimento do microrganismo, impedindo seu crescimento (ZAREIE et al., 2002).

As fitoalexinas são definidas como compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, que são sintetizados pelas plantas após estresse químico, físico ou biológico e que se acumulam nas células vegetais em resposta à infecção microbiana (PAXTON, 1981; PASCHOLATI e LEITE, 1994; KUC, 1995; HAHN, 1996). Esta constitui-se na resposta de defesa a patógenos mais bem estudada nas plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

A síntese de fitoalexinas ocorre em inclusões citoplasmáticas próximas ao local da tentativa de penetração do patógeno. Sua ação nos fungos se dá por desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos

refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e inibição do crescimento micelial (LO et al., 1996).

O mecanismo de ativação das rotas e a produção das fitoalexinas parece ser um ponto comum de resistência a microrganismos patogênicos em uma grande variedade de plantas. Em geral, as fitoalexinas estão presentes em baixa concentração nas plantas antes da infecção, aumentando rapidamente a sua concentração após o ataque do microrganismo (HAIN et al., 1993) devido a ativação de novas rotas biossintéticas. O ponto de controle da reação é o início da transcrição do gene.

Esta explicação serve de indicativo para afirmar que as plantas possuem complexo arsenal enzimático para ativar a síntese de fitoalexinas. Uma vez incitado logo após a infecção do hospedeiro, provavelmente desencadeará a transcrição de m-RNAs específicos para a produção das proteínas de resposta correspondentes (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Bonaldo et al. (2004) desenvolveu um trabalho cujo objetivo foi verificar o potencial do extrato aquoso de eucalipto em inibir a germinação de esporos e apressórios de *Colletotrichum langenarium* (Pass.) Ells e Ralst; induzir a síntese de fitoalexinas em bioensaio de mesocótilos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e cotilédones de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e induzir resistência em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) contra o patógeno *C. lagenarium* agente causal da antracnose onde foi constatado o efeito elicitador de fitoalexinas nos bioensaios com mesocótilos de sorgo e cotilédones de soja indicando que o eucalipto possui a capacidade de ativar mecanismos de defesa nessas plantas.

Peiter-Beninca et al. (2008) avaliando a indução de fitoalexinas em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* concluíram que os extratos orgânicos diclorometânico, hexânico e etanólico de basidiocarpos de *P. sanguineus* não possuem atividade indutora de fitoalexinas em

cotilédones de soja, mas induzem a síntese de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo.

## 2 COMPOSTOS ENVOLVIDOS NA DEFESA DE PLANTAS

### Ácido salicílico (SA)

O principal papel fisiológico atribuído ao SA na planta é o de funcionar como uma molécula sinalizadora, induzindo o hospedeiro a expressar resistência contra o ataque de patógeno. Esta função foi sugerida em decorrência do SA se acumular em plantas submetidas a condições adversas, quer seja por ataque patogênico, quer pelo tratamento da planta com elicitores químicos, e por sua propriedade de induzir a expressão de genes ligados a várias PR-Proteínas (MARTINEZ et al., 2000).

A biossíntese de SA nas plantas, assim como o da maioria dos compostos fenólicos, depende da biossíntese de fenilalanina que é sintetizada a partir da eritrose 4-fosfato e do fosfoenolpiruvato, através de uma série de reações que compõem a via do Shikimato/Arogenato. A fenilalanina formada se converte, por sua vez, em transcinamato, por meio da ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL). O transcinamato parece, então, seguir duas vias. Numa delas, haveria formação do ácido benzóico que, após a ação da enzima ácido benzóico 2-hidroxilase, se converteria em SA. Na outra, o transcinamato seria hidroxilado a ácido 2-cumárico que seria, então, oxidado a SA (RYALS et al., 1994; STRACK, 1997).

Além de sua participação na SAR, o SA é tido como responsável pela ativação das funções efetoras da resistência no local da infecção. Tal observação sugere que o SA é requerido tanto para respostas sistêmicas específicas como não-específicas, estando, assim, aberta uma série de questões, tais como: quantos mecanismos sinalizadores

da resistência são dependentes do nível de SA; quantos não são; e através de que mecanismos estes sinalizadores induzem a SAR (GODIARD et al., 1994). Estudos recentes mostraram que o óxido nítrico é requerido para que o SA funcione como um indutor da SAR (SONG; GOODMAN, 2001).

### Peróxido de hidrogênio

É uma molécula intermediária formada pela reação de dismutação de  $O_2$  catalisada pela enzima SOD, pela redução de dois elétrons na molécula de  $O_2$  e pela ação de diversas enzimas oxidases, localizadas nos peroxissomas. É altamente difusível tanto no ambiente intra como no extracelular. Reage lentamente com tióis, sais de ferro, proteínas heme e peroxidases para iniciar reações que geram radicais livres e peroxidações lipídicas. Em presença de metal de transição gera  $\bullet OH$  via reação de Fenton (VASCONCELOS, 2007).

O peróxido de hidrogênio era visto, até pouco tempo, apenas como um composto tóxico para a célula. Atualmente, sabe-se que ele é muito mais do que isso. O  $H_2O_2$  atua como uma molécula sinalizadora que controla diferentes respostas e estímulos, tanto em células animais como vegetais (FINKEL, 2000). A geração de  $H_2O_2$  é aumentada em resposta a diferentes condições de estresse, sugerindo que este composto desempenha papel importante no processo de aclimação e tolerância cruzada, na qual uma exposição prévia a um determinado estresse pode induzir tolerância a subsequentes exposições ao mesmo estresse ou a outro diferente (NEILL et al., 2002). Trata-se também de uma molécula capaz de exercer influência sobre vários processos, como germinação, florescimento em plantas (LAMOTTE et al., 2005; SIMPSON, 2005), lignificação da parede celular (Ferrer e Ros, 1999), morte celular (POLVERARI et al., 2003), sinalização durante injúria, entre outros (HUANG, 2004).

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5. Ed. San Diego, California: Elsevier Academic Press, 2004. 922p.
- ARAGÃO C.A.; MALUF, W.R.; DANTAS, B.F.; GAVILANES, M.L.; CARDOSO, M.G. Tricomas foliares associados à resistência ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch.) em linhagens de tomateiro com alto teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciênc. sagrotec.**, Lavras. V. 24 (Edição Especial), p. 81-93, 2000. [http://www.editora.ufla.br/site/\\_adm/upload/revista/24-E-2000\\_10.pdf](http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/24-E-2000_10.pdf).
- BERNARDS, M. A.; FLEMING, D. W.; LLEWELLYN, D. B.; PRIEFER, R.; YANG, X.; SABATINO, A.; PLOURDE, G. L. Biochemical characterization of the suberisation-associated anionic peroxidase of potato. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 121, p. 135-146, 1999.
- BONALDO, Solange M. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatol. bras.** vol. 29, n. 2, p. 128-134, 2004. <http://www.scielo.br/pdf/fb/v29n2/19554.pdf>
- BOWLES, D. J. Defense-related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 873-907, 1990.
- CAMPOS, A. D. **Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 28p. — (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 264).
- CHISHOLM, S. T., COAKER, G., DAY, B. E STASKAWICZ, B. J. **Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response**. *Cell* 124, 2006, p. 803-814.
- CHRISTENSEN, A. B.; CHO, B. H.; NÆSBY, M.; GREGERSEN, P. L.; BRANDT, J.; MADRIZ-ORDEÑA, K.; COLLINGE, D. B.; THORDAL-CHRISTENSEN, H. The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-

- related proteins. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 3, n. 3, p. 135-144, 2002.
- DIAS, G. B.; RANGEL, T. B. A. Indução de Resistência em Plantas: O Papel do Óxido Nítrico. **Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia**, Vitória, n. 3, p.1-8, 2. sem.2007
- DOREY, S.; BAILLIEUL, F.; PIERREL, M. A.; SAINDRENAN, P.; FRITIG, B.; KAUFFMANN, S. Spatial and temporal induction of cell death, defense genes, and accumulation of salicylic acid in tobacco leaves reacting hypersensitively to a fungal glycoprotein elicitor. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, St. Paul, v. 10, p. 646-655, 1997.
- DURNER, J.; SHAH, J.; KLESSIG, D. F. Salicylic acid and disease resistance in plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 266-274, 1997.
- DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review Phytopathologist**, Palo Alto, North Carolina, v. 42, p.185-209, 2004.
- FERNANDES, C. F. **Expressão de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo e ao mecanismo de defesa do feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. 2004. 162f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC, Fortaleza.**
- FERNANDES, C.F.; VIEIRA JUNIOR, J.R.; SILVA, D.S.G.; REIS, N.D.; ANTUNES JUNIOR, H. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2009. 14p.-(Documentos / Embrapa Rondônia, 0103-9865; 133). [http://www.cpafrro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/133\\_fitopatogenos.pdf](http://www.cpafrro.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/133_fitopatogenos.pdf)

FERRER, M. A.; ROS BARCELÓ, A. Differential effects of nitric oxide on peroxidase and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production by the xylem of *Zinnia elegans*. **Plant Cell Environ**, Spain, v. 22, p. 891-897, 1999.

FERY, R. L.; KENNEDY, G. G. Genetic analysis of 2-tridecanone concentration, leaf trichome characteristics and tobacco hornworm resistance in tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 112, n. 5, p. 886-891, 1987.

FINKEL, T. Redox-dependent signal transduction. **FEBS Letters**, v. 476, p. 52-54, 2000.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. G. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorate*. **Maringá**, v. 25, no. 2, p. 503-507, 2003.

FUKUDA, H., KOMAMINE, A. Lignin synthesis and its related enzymes as markers of tracheary element differentiation in single cells isolated from mesophyll of *Zinnia elegans*. **Planta**, Berlin, v.155, p. 423-430 1982.

GODIARD, L.; GRANT, M. R.; DIETRICH, R. A.; KIEDROWSKI, S.; DANGL, J. L. Perception and response in plant disease resistance. **Current Opinion in Genetics & Development**, London, v. 4, p. 662-671, 1994.

HAHN, M. G. Microbial elicitors and their receptors in plants. **Annual Review of Phytopathology**, n.34, p.387-412, 1996.

HAIN, R.; REIF, H. J.; KRAUSE, E.; LANGEBARTELS, R.; KINDL, H.; VORNAM, B.; WIESE, W.; SCHMELTZER, E.; SCHREIER, P. H.; STOCKER, R. H.; STENZEL, K. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. **Nature**, v. 361, p. 153-156, 1993.

HAMMERSCHMIDT, R. Induced resistance: how do induce plants stop pathogens? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, USA, v. 55, p.77-84, 1999.

HAMMERSCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J.P.; VAN LOON, L.C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the first international symposium on induce resistance to plant disease , corfu. **European Journal plant of pathology**, Dordrecht, v.107, p.1-6, 2001.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W., JONES, R. (Ed.) **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville, Maryland, American Society of Plant Physiologists, 2000. cap. 21, p. 1102-1157.

HELDT, H.W. **Plant biochemistry & molecular biology**. Oxford: University Press, 1997, 552 p.

HUANG, H., Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Germany, v. 218, p. 938-946, 2004.

JONES A. Does the plant mitochondion integrate cellular stress and regulate programmed cell death? **Trends in Plant science Perspectives**, USA, v. 5, p. 225-230, 2000.

KUC, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p. 275-297, 1995.

LAMOTTE, O. et. al. Nitric oxide in plants: the biosynthesis and cell signaling properties of a fascinating molecule. **Planta**, France, v. 221, p. 1-4, 2005.

LIMA, A.C.S.; LARA, F.M. Resistência de soja à mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae).

**Neotropical Entomology**, n. 33, v. 1, p. 071-075, 2004. <http://www.scielo.br/pdf/ne/v33n1/19398.pdf>.

LO, S.C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R.L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 21-31, 1996.

MARGIS-PINHEIRO et al. A defesa das plantas contra as doenças. **Ciência Hoje on line**, v. 147, mar. 1999. <http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/search.do>.

MARTINEZ, C.; BACCOU, J. -C.; BRESSON, E.; BAISSAC, Y.; DANIEL, J. -F.; JALLOUL, A.; MONTILLET, J. -L.; GEIGER, J. -P.; ASSIGBETSÉ, K.; NICOLE, M. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 122, p. 757-766, 2000.

MARTINS-MIRANDA, A. S. **Atividade de enzimas relacionadas com estresses bióticos e abióticos em plântulas de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] expostas à salinidade e deficiência hídrica**. 2002. 85f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

NEIL, S. J.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R. D.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signal molecules in Planting. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1237-1247, 2002

PASCHOLATI, S F. LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia** - Princípios e conceitos. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. p. 417-454.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismo de resistência, 1995. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM,

L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, cap.22, p.417-454, 1995.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 2, p.1-51, 1994.

PAXTON, J.D. Phytoalexins - a working redefinition. **Phytopathology**, v. 101, p. 106-209, 1981.

PEITER-BENINCA, C.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; COSTA, V.C.; NOGUEIRA, M.A.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de fitoalexinas em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocorpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arq.Inst.Biol.**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 285-292, 2008. [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v75\\_3/beninca.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v75_3/beninca.pdf)

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN, WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.W.M.; LEON-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEFF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L.C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 277-295, 2005.

PIETERSE, C.M.J.; VAN WEES, S.C.M.; VAN PELT, J.A.; KNOESTER, M.; LAAN, R.; GERRITS, N.; WEISBEEK, P.J.; VAN LOON, L.C. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in *Arabidops*. **Plant cell**, Rockville, v. 10, p. 1571-1580, 1998.

POLVERARI A. et al. Nitric oxide-mediated transcriptional changes in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe interactions**, Italy, v. 16, p. 1094-1105, 2003.

REPKA, V. A virus-inducible cucumber anionic peroxidase has a serological counterpart in different plant species. **Acta Virologica**, Bratislava, v. 40, p. 121-125, 1996.



RYALS, J.; UKNES, S.; WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 104, p. 1109-1112, 1994.

SHEWRY, P.R.; LUCAS, J.A. Plant proteins that confer resistance to pest and pathogens. **Advance in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology**, v. 26, p. 135-192, 1997

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. **Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 49p. (Documentos / Embrapa Agrobiologia, 1517-8498; 250).

SIMPSON GG. NO flowering. **bioessays**, UK, v. 27, p. 239-241, 2005.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**. Chapadinha, MA, v.1, n.1, p.9, 2007.

SONG, F.; GOODMAN, R. M. Activity of nitric oxide is dependent on, but is partially required for function of, salicylic acid in the signaling pathway in tobacco systemic acquired resistance. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 14, n. 12, p. 1458-1462, 2001.

STADINK, M. Indução de resistência oídios. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 23, 2000, Campinas. **Anais ...** Campinas: GPF, 2000. p.176-181.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.M.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, North Carolina, v. 35, p. 235-270, 1997.

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M., HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, 1997. p. 387-416.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a. edição. Porto Alegre: Artmed, 820p. 2009.

THORDAL-CHRISTENSEN, H.; GREGERSEN, P. L.; COLLINGE, D. B. The barley/Blumeria (syn. Erysiphe) graminis interaction. In: SLUSARENKO, A. J.; FRASER, R.; VAN LOON, K. (Ed.) **Mechanisms of Resistance to Plant Disease**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 77-100 2000.

VACONCELOS, S. M. L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F. **"Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, Antioxidantes e Marcadores de Dano Oxidativo em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos para sua Determinação."** Quim. Nova 30(5): 1323-1338, 2007.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M. & PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, North Carolina, v.36, p. 453- 483, 1998.

VAN LOON, L. C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var 'Samsun' and 'Samsun NN'. Changes in protein constitution after infection with TMV. **Virology**. New York, v. 40, p. 199-211, 1970.

VERBENE, M. C.; VERPOORTE, R.; BOL, J. F.; MERCADO-BLANCO, J.; LINTHORST, H. J. M. Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. **Nature Biotechnology**, New York, v. 18, p. 779-783, 2000.

WYATT, S. E.; PAN, S. Q.; KUC, J.  $\beta$ -1,3-Glucanase, chitinase, and peroxidase activities in tobacco tissues resistant and susceptible to blue mould as related to flowering, age and sucker development.

**Physiological and Molecular Plant Pathology**, Orlando, v. 39, p. 433-440, 1991.

ZAREIE, R.; MELANSON, D. L.; MURPHY, P. J. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 15, n. 10, p. 1031-1039, 2002.

## Controle de patógenos em sementes: métodos culturais, químicos e biológicos

*Daniel Ferreira*

*Luciana Cordeiro do Nascimento*

A qualidade sanitária em sementes é fator que a cada dia tem despertado maior atenção do setor produtivo. A semente por sua vez, constitui um dos mais eficientes veículos de disseminação de patógenos para áreas até então isentas. Os efeitos do uso de uma semente infectada ou mesmo o uso de sementes saudáveis em áreas infestadas por patógenos nocivos podem ser identificados pela presença de podridões de uma forma geral, redução no stand, perda de produtividade, morte de plântulas e infecções em plantas adultas (LUCCA FILLHO, 1985).

Nesse sentido para que se produzam sementes em escala comercial e com qualidade desejada se faz necessário um planejamento e adoção de medidas que são iniciadas desde o campo de produção até o armazenamento que passam pelos métodos culturais, químicos e biológicos os quais abordaremos nesse capítulo.

### 1 MÉTODOS CULTURAIS

De acordo com Casela & Ferreira (2001) o controle cultural de patógenos consiste de práticas agrícolas que visam reduzir e até eliminar o inóculo presente seja ele na superfície das sementes ou

mesmo em uma área de produção, criando um ambiente desfavorável para a proliferação do inóculo.

Na figura 01, pode-se observar as diversas práticas agrícolas que podem ser utilizadas na produção de sementes.



Figura 01- Práticas empregadas no controle cultural de patógenos

## ROTAÇÃO DE CULTURAS

O uso da rotação de culturas em campos de produção proporciona diversas vantagens, além de promover o melhor uso da área de produção por diversificar a produção local, proporciona melhor controle de patógenos na área, pois existe uma mudança no substrato ideal do patógeno (REIS et al. 2005).

De acordo com Almeida et. al. (2008) estudando o efeito da rotação de culturas na especialização e diversidade genética de *Macrophomina phaseolina*, identificou que a espécie é geneticamente variável e que por sua vez pode ser afetada pela rotação de culturas

haja visto que existem diferenças entre solos não cultivados e os agrícolas utilizando a rotação de culturas. Já Berni et, al. (2002) avaliando a influência do preparo de solo e da rotação de culturas na severidade de podridões radiculares no feijoeiro comum, verificou que a combinação entre a rotação de culturas milho-feijão e o preparo de solo com grade diminui a incidência de *Fusarium solani* f. sp. phaseoli.

Toledo-Souza et al. (2008) avaliando sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo afirma que plantios prévios de gramíneas, em geral, são supressores das populações de *Rhizoctonia spp.* e de *Fusarium spp.* em áreas infestadas; plantios prévios de leguminosas, em geral, favorecem o aumento nas populações desses patógenos.

## ELIMINAÇÃO DE RESTOS CULTURAIS

A eliminação de restos culturais favorece a diminuição da fonte de inóculo promovendo assim a menor possibilidade de disseminação de doenças. Essa eliminação pode ser realizada por via física, por meio da retirada dos restos culturais ou mesmo por meio químico, utilizando para isto tratamento com o intuito de minimizar o inóculo presente (REIS et al. 2005).

Kunieda-Alonso et al.(2005) avaliando a sobrevivência de micélio e escleródios de *Rhizoctonia solani* tratados com *Trichoderma spp.*, em restos de cultura de *Eucalyptus sp*, identificaram que a mistura captan + hipoclorito de sódio é efetiva no controle do patógeno durante, pelo menos, 30 dias. O ligeiro aumento na recuperação do fungo ao longo do tempo pode ser explicado pela remoção do princípio fungitóxico pela água de chuva no período experimental e ainda que os isolados de *Trichoderma spp.* não interferem na sobrevivência de *R. solani* em folhas infetadas de eucalipto, porém reduzem a viabilidade dos escleródios do

patógeno, equiparando-se ao tratamento com fungicida (captan + cloro).

## INCORPORAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA

O processo de incorporação de fontes orgânicas no solo favorece a manutenção de microorganismos antagonistas o que promove um maior controle da fonte do inóculo presente na área.

Ghini et al. (2002) avaliando a solarização (presença e ausência) do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica (lodo de esgoto, cama de frango, casca de *Pinus* e sem matéria orgânica), no controle de *Pythium spp*, constatou que a adição de cama-de-frango ao solo induz a supressividade a *Pythium* e que o lodo de esgoto e a casca de *Pinus*, não induzem a supressividade do solo a *Pythium*.

Com isso podemos ainda avaliar que não basta apenas incorporar fontes orgânica, mas a fonte utilizada é de extrema importância na supressão do patógeno.

## PREPARO DO SOLO

O preparo do solo é prática frequente na agricultura em especial as altamente técnicas ao que o referido processo pode servir para disseminação patógenos situados pontualmente em pontos de uma área produtiva para todo um campo de produção. No entanto os métodos de preparo podem também ajudar no controle e na diminuição da fonte de inóculo já presente na área de produção.

Berni, et al. (2002) avaliando a influência do preparo de solo e da rotação de culturas na severidade de podridões radiculares no feijoeiro comum utilizando preparo de solo com arado+grade (P1), arado (P2), grade (P3) e plantio direto (P4) associado a rotações de cultura com arroz-feijão (R1), milho-feijão (R2), arroz/calopogônio

(*Calopogonium muconoides*)-feijão (R3) e milho-feijão-milho-feijão-arroz-feijão (R4), pode concluir que a combinação entre a rotação de culturas milho- feijão e o preparo de solo com grade diminui a incidência de *Fusarium solani* f. sp. phaseoli ao passo que o sistema de plantio direto propicia menor severidade do fungo *Rhizoctonia solani* às plantas de feijoeiro do que o preparo de solo com grade.

## FERTILIZAÇÃO ADEQUADA

O estado nutricional de uma planta é sem dúvida um dos fatores que influenciam de forma direta nos mecanismos de defesa contra a entrada de patógenos ao passo que plantas com deficiência nutricional as torna mais vulneráveis a pragas. No entanto, o desequilíbrio nutricional pode também acarretar maior suscetibilidade.

Conforme observado por Tanaka et al. (2008) doses progressivas de N podem se correlacionar com aumentos da produtividade, mas tornar as plantas e as sementes mais suscetíveis a patógenos. Os resultados mostraram que a adubação da cultura, visando altos rendimentos, nem sempre se traduz na obtenção de sementes de melhor qualidade. A dose de 60 kg/ha de N foi a que proporcionou o maior retorno em produtividade para a cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.), porém, os resultados mostraram que esta dose pode também favorecer a severidade de doenças como a mancha marrom e a transmissão de *B. sorokiniana* para as sementes.

## DENSIDADE DE SEMEADURA

O arranjo populacional de plantas é fator preponderante no sentido de potencializar maiores produções em menores unidades de área, no entanto atenção deve ser dada, uma vez que o adensamento pode criar ambiente ideal para proliferação e desenvolvimento de patógenos.

Muitas das doenças em plantas podem ser controladas ou até mesmo combatidas utilizando o espaçamento adequado que permita aeração e maior incidência de luminosidade nas plantas.

Casa et al.(2007) avaliando a incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbrido de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas verificou que incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbrido de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas e que o incremento na densidade de plantas é uma das maneiras para aumentar a interceptação da radiação solar e elevar o rendimento de grãos da cultura do milho. Entretanto, essa prática de manejo também pode favorecer a incidência de podridões de colmo e de grãos ardidos.

## ÉPOCAS DE PLANTIO

A escolha da época de plantio adequada antes de se iniciar uma atividade agrícola é fator primordial na decisão, pois diversos aspectos tem que ser levado em consideração como a disponibilidade de água durante todo ciclo, se haverá condições climáticas satisfatórias para um melhor aproveitamento sem que haja depreciação da produção final. Uma escolha inadequada poderá proporcionar aparecimento de doenças devido a condições climáticas desfavoráveis, ou mesmo em perda de produtividade (REIS et al. 2005).

Pegoraro et al.(2001) estudando o efeito de época de semeadura e adubação na mancha-foliar de *Phaeosphaeria* (PLS) em milho, concluíram que o cultivo do milho na Região Sul do Brasil após o mês de outubro apresenta riscos na produtividade, uma vez que a severidade da mancha-foliar de *Phaeosphaeria* aumenta com o atraso na semeadura e que para semeadura a partir de novembro, é importante a escolha de híbridos resistentes à PLS.

## ELIMINAÇÃO DE PLANTAS VIVAS DOENTES

O processo de eliminação de plantas doentes ou “Roguing”, é o processo que consiste na purificação do campo de produção, com isto a fonte de inóculo é eliminada evitando assim a disseminação do patógeno para o restante da área por meio de suas estruturas reprodutivas.

Para o sucesso deste procedimento se faz necessária a presença diária e criteriosa do produtor no sentido de identificar o quanto antes o aparecimento de qualquer sintoma evitando que se atinja o nível de dano.

## USO DE MATERIAL PROPAGATIVO SADIO

Dos meios culturais, o mais eficiente é sem dúvida o uso de material propagativo resistente. Essa resistência consiste no fato da cultura não sofrer danos expressivos na presença do agente patogênico.

Garrido et al.(2008) avaliando os fitonematóides associados à rizosfera e raízes da mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) cultivada em rotação com inhame, cultivar da costa (*Dioscorea cayennensis* Lam.), puderam concluir após teste de hospitalidade que o fato do nematóide *Scutellonema bradys* não parasitar as cultivares “cigana e “talo roxo” provavelmente ocorreu devido a hospitalidade do patógeno está ligado a cultivar avaliada.

## 2. PROCESSOS FÍSICOS

Esses processos são caracterizados pelo uso de meios que necessariamente se utilizem de produtos químicos ou biológicos para seu sucesso dentre eles pode-se citar:

## Meios Mecânicos

Caracterizado pelo uso de equipamento os meios que promovam a separação por meio de diferença de densidade, peso e forma das sementes. Nesse processo é possível inclusive separar das sementes algumas estruturas reprodutivas de patógenos (MAUCH, 2003).

## Envelhecimento

Neste processo usa-se o armazenamento de sementes para controlar a presença do patógeno, sendo a viabilidade da semente maior do que a patogenicidade do agente causador. Com isso é possível que sementes recém colhidas apresentem alta incidência de determinado patógeno ao passo que se armazenadas, essa patogenicidade irá sendo reduzida mediante morte ou inviabilidade do agente causal (MAUCH, 2003).

## Termoterapia

É o processo que consiste na utilização de calor agindo na sensibilidade do patógeno à temperatura. É um dos processos mais eficientes no controle de patógenos, mas depende entre outras coisas da tolerância ao calor que as sementes ou estruturas reprodutivas possuem. No entanto Coutinho et al. (2007) alertam para o fato da termoterapia ser uma medida que pode provocar alterações fisiológicas e bioquímicas nas sementes em diferentes intensidades, podendo comprometer o desempenho das mesmas nas condições de cultivo

Os métodos de termoterápicos conhecidos são os que se seguem:

## Tratamento com água quente

Consiste na imersão da estrutura reprodutiva em água quente por período pré determinado com o intuito de eliminar o agente patogênico sem danificar as características fisiológicas das sementes (MAUCH, 2003).

Segundo Coutinho et al. (2007), avaliando a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico pode-se verificar que os tempos de tratamento térmico de 10 e 20 minutos, os quais foram os mais eficazes no controle dos fungos, principalmente de *F. verticillioides*, afetaram adversamente a qualidade fisiológica das sementes de milho, colocando as sementes em questão fora dos padrões de certificação e comercialização.

Já Marroni et al. (2009) avaliando o efeito do tratamento com calor seco e água quente sobre a germinação e controle de patógenos associados às sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.), verificou que as maiores temperaturas (46 e 50°C) foram mais eficientes para o controle de microrganismos, como *Fusarium spp.*, pois, na testemunha, sua incidência foi de 94,4%, enquanto para temperatura de 50°C foi de, apenas, 5,2 e 7,2% de contaminação nos tempos de exposição de 15 e 30 minutos, respectivamente. Esse tratamento com água quente mostrou-se mais eficiente do que o fungicida carbendazim + thiram, que teve 19,2% de sementes contaminadas por *Fusarium spp.*

## Tratamento com calor seco

Não tão eficiente quanto à termoterapia utilizando o calor úmido, este método consiste no uso de uma estufa com controle de temperatura na qual são depositados o material propagativo por tempo suficiente a eliminação do patógeno.

Durigon et al. (2009) avaliando o tratamento térmico de sementes de trigo via calor seco ou úmido concluíram que o tratamento das sementes via calor úmido comprometeu a germinação das sementes de forma significativa. No tratamento utilizando o calor seco, a germinação não foi afetada e a incidência de fungos variou durante os tempos observados, podendo-se utilizar esse tipo de tratamento para reduzir determinados patógenos presentes nas sementes de trigo.

### Tratamento com vapor arejado

Consiste num tratamento intermediário que tem como princípio a circulação de vapor, a temperatura é regulada por válvulas de entradas e saídas de ar na massa de semente, não permitindo que haja diferenças superiores a 1,5°C, (MAUCH, 2003).

### Tratamento com energia solar

Pouco utilizado e geralmente empregado para sementes de cereais em países cujo verão é bem quente. Os grãos são imersos em água, durante 4 horas, na sombra, à temperatura ambiente. Ao meio dia, as sementes são espalhadas em camadas finas, sobre folhas de papel e sob a ação da luz solar, aí permanecendo até as 4 horas da tarde (MAUCH, 2003).

O método obteve sucesso no controle do “carvão voador” em trigo e cevada no norte da Índia e no Paquistão e para o “carvão” do sorgo e painço na Índia, Burma e Tanzânia (MAUCH, 2003).

## 3 MÉTODOS BIOLÓGICOS

Consiste na utilização de meios que promovam a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença,

através de um ou mais organismos. De acordo com Ritzinger & Fancelli (2006), a utilização do controle biológico pode seguramente reduzir a população de doenças e favorecer a longevidade das culturas, porém sua eficiência esta relacionada entre outros fatores ao nível populacional da praga, estado nutricional e idade do cultivo.

Dentre os métodos conhecidos pode-se identificar conforme figura 02 os tipos de controle biológico.

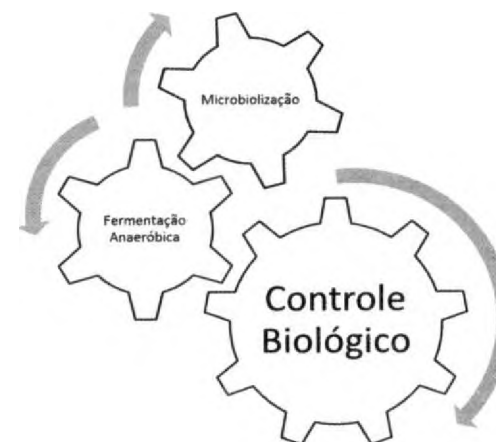


Figura 02- Tipos de controle biológico existente para tratamento de sementes

### FERMENTAÇÃO ANAERÓBICA

O método teve início em 1953 e, de tempos em tempos, sofre modificações. Causa menos danos do que a termoterapia, porém seu uso ainda é bastante restrito, como para o controle do “carvão” do trigo e da cevada. As sementes são colocadas em um saco de pano de algodão poroso, até a metade de sua capacidade. A seguir, é imerso em água à temperatura de 21°C ou pouco menos, durante 4 horas. Após, o saco é pendurado para escorrer o excesso de água, durante cerca de 30 minutos. Posteriormente, é colocada em um

barril seco, o qual deverá ser bem fechado e nele permanece por um período de 30 a 80 horas, dependendo da temperatura média (MAUCH, 2003).

No controle de *Corynebacterium michiganense* (cancro bacteriano), em sementes de tomateiro, também é eficiente o uso da fermentação. Os frutos são fermentados anaerobicamente, por 96 horas, a 21°C. Durante o processo de fermentação, há produção de ácido que inativa a bactéria. O método é utilizado quando se espera que grande porcentagem das sementes esteja contaminada e seja feita semeadura direta no campo (MAUCH, 2003).

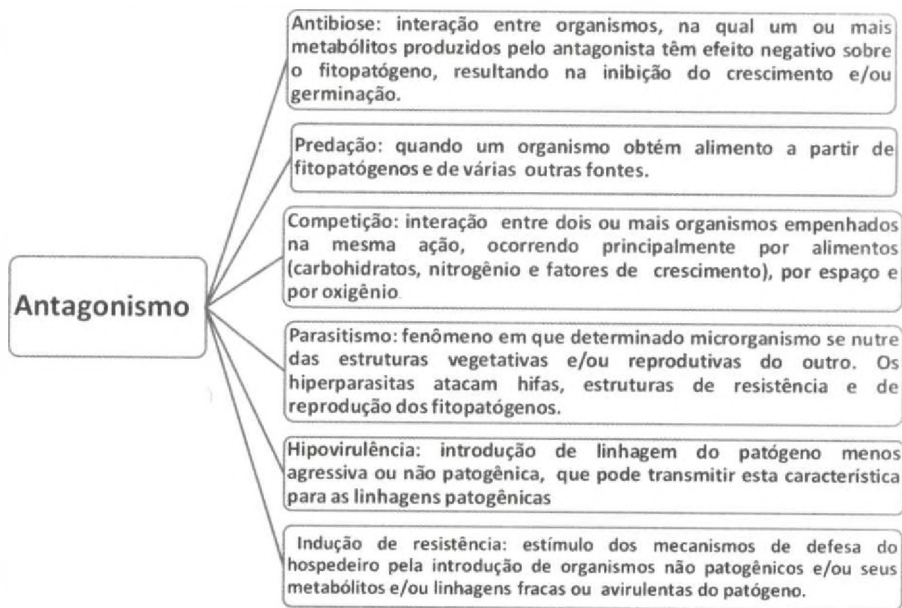


Figura 03 – Mecanismos das interações antagonicas (adaptado Mariano et al. 2005).

Visando ainda resultados satisfatórios no que diz respeito ao uso de antagonistas no controle de doenças, existem características que são desejáveis a um microorganismo antagonista que são: Ser

geneticamente estável; Ser efetivo a baixas concentrações; Não ser exigente em requerimentos nutricionais; Ter habilidade para sobreviver sob condições adversas; Ser eficiente contra uma vasta gama de patógenos em várias hospedeiras; Ser hábil para desenvolver em um meio de cultura barato em fermentadores; Ser preparável em uma forma de efetivo armazenamento; Ser tolerante a pesticidas; Ser compatível com outros tratamentos físicos e químicos; Não ser patogênico ao homem.

Atualmente já são conhecidos diversos agentes causais e antagonistas estudados para o controle biológico conforme descrito por Mariano et al. 2005 na figura 04.

Doenças	Agentes causais	Antagonistas
Tombamento de plântulas	<i>Rhizoctonia solana</i> , <i>Pythium</i>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i>
Podridões de sementes, raízes e caules	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sclerotium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Thielaviopsis</i> , <i>Sclerotinia</i> , <i>Gaeumannomyces</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Verticillium</i>
Murchas vasculares	<i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Talaromyces</i> , <i>Fusarium</i>
Manchas e queimas foliares	<i>Cercospora</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Venturia</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Athelia</i> , <i>Alternaria</i>
Ferrugens	<i>Puccinia</i> , <i>Uromyces</i> , <i>Melampsora</i> , <i>Cronartium</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Darluca</i> , <i>Scytalidium</i> , <i>Verticillium</i>
Míldios e oídios	<i>Sphaerotheca</i> , <i>Podosphaera</i>	<i>Ampelomyces</i>
Cancros de caule	<i>Nectria</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Trichoderma</i>
Podridões de frutos	<i>Botrytis</i> , <i>Monilinia</i> , <i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , leveduras
Declínios de árvores	<i>Heterobasidium</i> , <i>Chondrostereum</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Cryphonectria</i> , <i>Peniphora</i>

Figura 04 – Doenças de plantas, agentes causais e antagonistas estudados para controle Biológico.

No tratamento de sementes os principais organismos utilizado são fungos (*Aspergillus spp.*, *Chaetomium spp*, *Gliocladium spp.* e *Trichoderma spp.*) e bactérias (*Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus spp.* e *Pseudomonas spp.*). A nível mundial, são registrados e utilizados para tratamento de sementes: *Agrobacterium radiobacter*, para o controle da galha da coroa das rosáceas, causada por *Agrobacterium tumefaciens*; *Pseudomonas fluorescens*, para o



controle de *Rhizoctonia* e *Pythium* do algodoeiro; *Bacillus subtilis*, para o controle de *Rhizoctonia solani* em amendoim (MARIANO et al. 2005).

Harthmann et al. (2009) avaliando o tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola (*Allium cepa*) verificaram que o tratamento de sementes de cebola com rizobactérias influencia o desenvolvimento da cultura, e os isolados que promovem melhor rendimento de bulbos são *Pseudomonas spp. W6* e *Bacillus cereus* UFV40, os quais apresentam potencial para multiplicação e uso como bioinoculantes que podem ser utilizados na produção de cebola. Já Corrêa et al. (2008) estudaram a influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.) e concluíram que o isolado DFs912 apresentou características que possibilitam o seu uso em programas de controle biológico de *C. lindemuthianum*. Porém, estudos posteriores fazem-se necessários, na busca dos mecanismos utilizados, bem como estudos de outras combinações entre isolados, que possibilite maior espectro de ação sobre outras doenças do feijão.

#### 4 MÉTODOS QUÍMICOS

O tratamento de sementes é considerado o método mais utilizado, basicamente é realizado com substâncias químicas com ação fungicida que tem por finalidade reduzir e até mesmo eliminar os agentes patogênicos que causam doenças as plântulas (Mauch, 2003).

Existem atualmente dois seguimentos dentro da metodologia química de combate a patógenos que são a de origem química tradicional com o uso dos conhecidos produtos industrializados tradicionais e ainda a de origem alternativa baseada no uso de extratos e óleos essenciais.

#### MÉTODO QUÍMICO TRADICIONAL

Os métodos químicos tradicionais são os que usam os produtos industrializados por grandes empresas e registrados para determinadas culturas estes por sua vez podem ser protetores, erradicantes e sistêmicos, de acordo com seu mecanismo de ação.

Podem ainda ser aplicados via seca, onde as sementes são misturadas a um fungicida em pó revolvendo ou agitando para que todas as sementes sejam recobertas, ou via úmida que pode ser por imersão das sementes em uma solução ou suspensão aquosa do fungicida, por tempo definido e em seguida são postas para secar, outra maneira é a de pulverização que difere da anterior pois ao invés das sementes serem imersas na solução de fungicida elas são pulverizadas com a mesma (SALES JUNIOR et al. 2005).

Segundo a legislação brasileira por meio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA é possível identificar fungicidas registrados para determinada cultura, com as dosagens e métodos de aplicação.

#### MÉTODO QUÍMICO ALTERNATIVO

É um método que vem tomando grandes proporções no tratamento de sementes e no controle de doenças de uma forma geral, baseado no uso de produtos naturais com extratos e óleos essenciais.

Vários têm sido os estudos neste campo de atuação com resultados que muitas vezes são superiores aos encontrados com o uso de métodos químicos tradicionais.

Silva et al. 2010 avaliando extrato de alho e nim em diferentes concentrações com efeito fungicida em sementes de chorão (*poecilanthe ulei*) verificou que os extratos foram significativos para os fungos *A. niger* e o *Penicillium sp.* e que o substrato mais eficiente foi

o composto por 30% de extrato de nim com 70% de extrato de alho, sendo certamente o alho constituído de propriedades anti-fúngicas.

Silva et al., 2006, avaliando o efeito alelopático de extrato aquoso de *Amburana cearensis* A. Smith, na germinação e crescimento de sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), constatou que a espécie *Amburana cearensis* apresenta efeito alelopático na germinação e crescimento de plântulas de sorgo, e que provavelmente esse efeito foi devido ao seu princípio ativo “cumarina”.

Nesse sentido são necessários estudos que verifiquem os efeitos positivos e negativos do uso de extrato, e maiores investigações principalmente a cerca de alelopatia são necessárias para que o referido método, pois em alguns casos já se possui a comprovação científica, mas via de regra maiores estudos devem ser realizados.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. DE; CORREIA, M. E. F. Efeito de restos da cultura do abacaxizeiro e de agrobio na fauna do solo. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, Edição Especial, p. 1610-1616, 2010.

ALMEIDA, A. M. R.; SOSA-GOMEZ, D. R.; BINNECK, E.; MARIN, S. R. R.; ZUCCHI, M. I.; ABDELNOOR, R. V. & SOUTO, E. R.; Effect of crop rotation on specialization and genetic diversity of *Macrophomina phaseolina*. **Tropical Plant Pathology** 33 (4) July - August 2008.

BERNI, R.F.; SILVEIRA, P.M.DA; COSTA, J.L. da S. Influência do preparo de solo e da rotação de culturas na severidade de podridões radiculares no feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 32 (2): 69-74, 2002-71.

CASA, R.T.; MOREIRA, E.N.; BOGO, A.; SANGOI, L. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbridos de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 353-357, 2007.

CASELA, C. R. & FERREIRA A. S. **O Míldio do Sorgo**. Circular Técnica nº 12. Embrapa. Sete Lagoas-MG, Dezembro 2001.

CORRÊA, B.O.; MOURA, A.B.; DENARDIN, N.D'A.; SOARES, V.N.; SCHÄFER, J.T.; LUDWIG, J. Influência da microbiolização de sementes de feijão sobre a transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac e Magn.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 30, nº 2, p.156-163, 2008.

COUTINHO, W.M.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M.G.G.C.; MACHADO, C.F. & MACHADO, J.C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas a termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira** 32:458-464. 2007.

DURIGON, M.R.; GIRARDI, L.; SANTOS, R. F. DOS; WEBER, M.N.D.; MÜLLER, J.; BLUME, E.; MUNIZ, M.F.B. Tratamento térmico de sementes de trigo via calor seco ou úmido. **Rev. Bras. De Agroecologia/nov. 2009** Vol. 4 No. 2.

GARRIDO, M. DA S.; COIMBRA, J. L.; SOARES, A. C. F.; ALMEIDA, N. S. DE & SOUSA, C. DA S. Fitonematóides associados à rizosfera e raízes da mandioca cultivadas em rotação com inhame cultivar da Costa. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 2, p. 181-182, 2008.

GHINI, R.; SCHOENMAKER I. A. S.; BETTIOL, W. Solarização do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica no controle de *Pythium* spp. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1253-1261, set. 2002.

Harthmann, O.E.L; Mógor, A.F; Filho, J.A.W; Luz, W.C.da; Biasi, L.A. Tratamento de sementes com rizobactérias na produção de cebola. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2009.

MARIANO, R. L.R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle Biológico de Doenças Radiculares In: Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T.; Menezes M. (Ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais- Recife** : UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398p.

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** 30:164-168. 2005.

LUCCA FILHO, O. A. Importância da sanidade na produção de sementes de alta qualidade. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 7, nº 1, p. 113-124, 1985.

MARRONI, I.V.; ZANATTA, Z.G.C.N.; CASAGRANDE JUNIOR, J.G.; UENO, B.; MOURA, A.B. Efeito do tratamento com calor seco e água quente sobre a germinação e controle de micro-organismos associados às sementes de mamoneira. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.4, p.761-767, out./dez., 2009.

MAUCH, N. **Tratamento de Sementes**. Apostila Técnica. Universidade Federal de Pelotas-RS. 27p. dezembro 2003.

PEGORARO, D.G.; VACARO, E.; NUSS, C.N.; SOGLIO, F.K. DAL; SERENO, M.J.C. DE M.; NETO, J.F.B. Efeito de época de semeadura e adubação na mancha-foliar de *Phaeosphaeria* em milho. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 8, p. 1037-1042, ago. 2001.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; HOFFMANN, L. L. CONTROLE CULTURAL DE DOENÇAS RADICULARES. IN: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES M. (Ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais- Recife** : UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.

RITZINGER, C. H. S .P. & FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 331-338, Agosto 2006.

SALES JUNIOR, R.; MEDEIROS, E. V.; ANDRADE D. E.G.T.; PERUCH, L. A.M.; RODRIGUES, V. J.L.B. Controle Químico de Doenças Radiculares. In: Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T.; Menezes M. (Ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais- Recife** : UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.

SILVA, G.H. DA; SOUZA, P.F. DE; HENRIQUES, Í.G.N.; CAMPELO, J.G.; ALVES, G.S. Extrato de alho e nim em diferentes concentrações com efeito fungicida em sementes de chorão (*Poecilanthe ulei*). **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v. 5, n. 4, p. 76 – 81. Outubro/dezembro de 2010.

SILVA, W.A. DA; NOBRE, A.P.; LEITES, A.P.; SILVA, M. DO S.C. DA; LUCAS, R.C.; RODRIGUES, O.G. Efeito alelopático de extrato aquoso de *Amburana cearensis* A. Smith na germinação e crescimento de sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.). **Agropecuária Científica no Semi-árido**, Patos, v.2, n.1, p. 48-57, Set – Dez, 2006.

TANAKA, M.A.S; FREITAS, J.G.; MEDINA, P.F. Incidência de doenças fúngicas e sanidade de sementes de trigo sob diferentes doses de nitrogênio e aplicação de fungicida. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.313-317, 2008.

TOLEDO-SOUZA, E.D.DE; SILVEIRA, P.M.DA; JUNIOR, M.L.; FILHO, A.C.C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 971-978, ago. 2008.

EU

Este livro foi diagramado pela Editora da UFPB em 2015,  
utilizando a fonte Cambria.  
Impresso em papel Offset 75 g/m<sup>2</sup>  
e capa em papel Supremo 250 g/m<sup>2</sup>.