

Caracterização de *Cladosporium* sp. e efeito da incidência sobre a germinação de sementes de pinhão manso

Fernanda Luiza Pereira de Souza^{1*}(IC), Ingrid Borges de Lima¹(IC), Ademilson Coneglian²(PQ), Milton Luiz da Paz Lima³(PQ), Daniel Diego Costa Carvalho²(PQ)

¹Acadêmica e bolsista PIVIC do curso de Engenharia Florestal, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ²Professor Doutor, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ³Professor Doutor, Instituto Federal Goiano, Urutaí. *fernandaluiza_12@hotmail.com

Resumo: O conhecimento de patógenos que causam danos a sementes podendo interferir na sua germinação é de extrema importância para seu manejo, esse estudo reside no fato de que o pinhão manso é uma espécie muito pouco estudada e vem se destacando como uma promissora alternativa para produção de biocombustível no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estimar a incidência e realizar a caracterização morfológica de *Cladosporium* sp. encontrados nas sementes e analisar sua interferência na germinação de *Jatropha curcas*. Neste sentido, sementes de pinhão manso foram semeadas em caixa de acrílico do tipo gerbox (08 repetições) e incubadas a 25°C por 14 dias para avaliar a incidência de *Cladosporium*. Em seguida, estruturas do fungo foram removidas para confecção de lâminas semi permanentes e mensuração das estruturas do fungo em microscópio. Outro experimento foi conduzido em rolo de papel para avaliar a germinação aos 14 dias após semeadura e incubação em germinadora. Após mensuração das estruturas do fungo, a espécie foi identificada como *Cladosporium cladosporioides* com incidência nas sementes de 98,43%. Já para o teste em rolo de papel, verificou-se um percentual de 77,34% de plântulas normais, 14,84% de plântulas anormais e 7,78% de sementes mortas.

Palavras-chave: *Jatropha curcas*; Patologia de sementes. Micologia.

Introdução

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é arbusto que chega a atingir até quatro metros de altura, pertence à família Euphorbiaceae, sendo amplamente distribuído em áreas tropicais e subtropicais (SUJATHA et al., 2008). No Brasil o pinhão-manso vem se destacando como uma espécie promissora para a produção de biocombustível a partir de suas sementes (SATURNINO et al., 2005). O pinhão manso é considerado uma cultura rústica, adaptado às mais diversas condições edafoclimáticas, sobrevivendo numa grande diversidade de solos, variando de baixa a alta fertilidade (ARRUDA et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2012)

A planta de pinhão manso produz, em média, 100, 500, 2.000 e 4.000 g de sementes no primeiro, segundo, terceiro e quarto anos de cultivo, respectivamente (TOMINAGA et al., 2007). Tais sementes são utilizadas para propagação da espécie e formação de mudas. Assim, ocorrendo demanda pela obtenção de sementes de boa qualidade, principalmente quanto a sanidade, uma vez que patógenos presentes nas sementes, podem interferir na germinação e, conseqüentemente, na obtenção de plântulas sadias (BENETTI et al., 2009; CARVALHO et al., 2014). Dentre estes patógenos, destacam-se espécies do gênero *Cladosporium* sp., as quais já foram relatadas como contaminantes em sementes de pinhão manso, causando prejuízos na germinação das sementes (SILVA & SILVA, 2000).

Outro fator importante, reside no fato de a semente contaminada consistir em um dos meios mais eficientes para introdução de novos patógenos em áreas indenes, além de ser um eficiente meio de sobrevivência de patógenos na natureza (AGRIOS, 2005). Em decorrência, de a cultura do pinhão manso ser pouco estudada no estado de Goiás, existem grande demanda por estudos abordando a patologia de sementes desta espécie de importância econômica. Este trabalho teve como objetivo estimar a incidência de *Cladosporium* sp. em sementes de pinhão manso, verificar o efeito do fungo na germinação das sementes contaminadas e identificar o patógeno em nível de espécie, mediante caracterização micromorfológica.

Material e Métodos

Sementes de pinhão manso foram coletadas em 28-09-14 em áreas experimentais da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Campus Ipameri (17°43'00.38"S, 48°08'40.96"W, 796 m), extraídas dos frutos no mesmo dia da coleta e armazenadas em saco plástico por dois meses até a realização dos testes subsequentes.

Após armazenamento, as sementes foram submetidas a análise sanitária pelo método *blotter test* (REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES, 2009), em que foram utilizadas 128 sementes não tratadas, as quais foram semeadas em oito caixas acrílicas transparentes do tipo Gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) previamente desinfestadas com álcool 70% e forradas com duas folhas de papel *germitest* umedecidas com água destilada esterelizada (ADE) a 2,5 vezes o seu peso. Em cada Gerbox

(repetição) foram semeadas 16 sementes. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Após 7 dias a 25°C, a incidência de *Cladosporium* sp. foi avaliada em microscópio estereoscópio, com confirmação do gênero do fitopatígeno mediante confecção de lâminas semi-permanentes.

Um teste de germinação foi conduzido com sementes do mesmo lote. Para este teste foi empregado o método do rolo de papel, usando três folhas de papel *germitest* com temperatura alternada de 20-30°C, tomando como referência o recomendado para a mamona (*Ricinus communis* L.). No experimento foram utilizadas 128 sementes (16 sementes por rolo de papel). Os rolos de papel *germitest* foram umidificados com ADE a 2,5 vezes o seu peso e as avaliações foram realizadas aos 7 e 14 dias após a semeadura (REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES, 2009).

Lâminas semi-permanentes contendo o material biológico removido diretamente das sementes infectadas foram utilizadas para o registro de imagens e a caracterização morfológica dos conídios e suas estruturas, pela obtenção de 100 medidas de cada componente, usando o microscópio de luz Leica DM500, com auxílio do programa LAS EZ 2.0 (100x). As preparações microscópicas foram depositadas no Laminário fitopatológico da UEG.

Os resultados relativos à análise sanitária, a germinação das sementes e as medidas das estruturas fúngicas foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

No presente trabalho, foram feitas as observações para a presença do fungo *Cladosporium* sp. em sementes de pinhão manso, as quais apresentavam manchas ou crescimento de micélio de coloração esverdeada na superfície das sementes. Os marcadores morfológicos que mais auxiliaram para identificação do fungo em nível de gênero e espécie foram a cicatriz proeminente nos conídios, conidióforos sem nódulos, conídios sem septos ou com apenas um septo e, principalmente, o formato do conídio elipsoidal ou limoniforme (Figura 1). Após mensuração dos conídios de *Cladosporium* obtidos das sementes, verificou-se que estes possuíam dimensões de 2,3-11,5 x 1,7-5,8 μm (5,0 x 3,1 μm) e a relação comprimento/largura 0,65-4,65

(1,71). De acordo com as características descritas acima, a espécie foi identificada como *Cladosporium cladosporioides* com incidência nas sementes de 98,43%. Após análise de germinação, verificou-se um percentual de 77,34% de plântulas normais, 14,84% de plântulas anormais e 7,78% de sementes mortas.

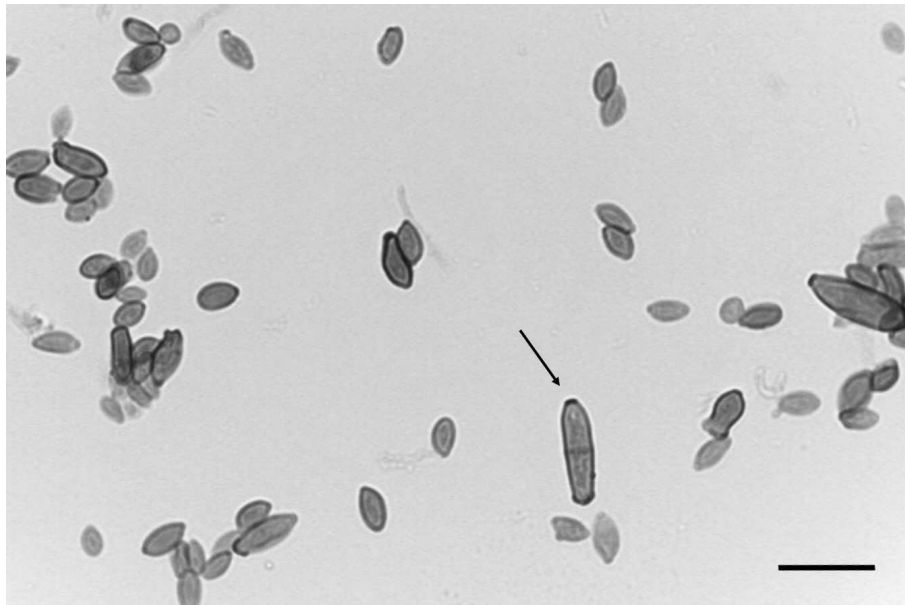


Figura 1. *Cladosporium* provenientes de sementes de pinhão manso. Seta indica uma “cicatriz” nos conídios. (Bars = 14 μ m).

As sementes obtidas de áreas experimentais do campus da UEG em Ipameri, Goiás, apresentaram um percentual de germinação relevante (77,34% de plântulas normais). De forma contrária, NOBRE et al. (2007) avaliaram a germinação de sementes de pinhão em diferentes temperaturas e verificaram que a temperatura de 25°C constante reduziu a germinação das sementes, já o estudo feito por SANTOS et al. (2007) constatou as sementes apresentaram germinação de pinhão manso expressivas (acima de 80%) quando submetidas a 25°C.

As características micromorfológicas verificadas no presente trabalho indicaram que a espécie ocorrente nas sementes de pinhão manso era *C. cladosporioides* (Fig.1). Para confirmar este resultado, foram utilizadas características morfológicas de outras espécies de *Cladosporium* reportadas por ELLIS (1971). As dimensões dos conídios analisados no presente trabalho estão próximas à àquelas descritas por ELLIS (1971), que descreveu para *C. cladosporioides*, como possuindo conídios com dimensões de 3,0-7,0 \times 2,0-4,0 μ m. Adicionalmente,

conforme o mesmo autor, foi possível a observação de conidióforos sem pigmentação ou medianamente marrons oliváceos com superfície lisa e conídios elipsoides a limoniformes sem pigmentações ou de coloração marrom oliváceo com presença de catenulação, apresentando superfície lisa.

O fungo *C. cladosporioides*, quando ocorrente em pinhão manso, tem sido reportando com incidências muito variáveis, isto é, com incidência variando de 4,5% a 85% nas sementes (KOBAYASTI et al 2011). Demais incidências altas desta espécie de fungo em pinhão manso e em outras culturas, corroboram com a incidência verificada no presente trabalho. Para exemplificar, pode-se citar o trabalho de PEREIRA et al. (2005) que caracterizou a dinâmica de colonização de *Cladosporium cladosporioides* com incidência de 60% em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Já MACHADO et al. (2003), em conformidade com o presente trabalho, relatou incidências de 66,5% a 75% em sementes de soja (*Glycine max* L.).

Finalmente, vale destacar que o lote de sementes avaliado, mesmo com alta incidência de fungos (98,43%), apresentou alto número de plântulas normais (77,34%), indicando que este patógeno exerce pouca interferência na germinação (VANZOLINI, 2010).

Considerações Finais

- 1 – O fungo encontrado nas sementes de pinhão-manso trata-se das espécie *Cladosporium cladosporioides*.
- 2 - A taxa de germinação não é afetada pela alta incidência do fungo nas sementes.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e Produção Científica (PROBIP) da Universidade Estadual de Goiás (UEG) por uma bolsa de produtividade em pesquisa.

Referências

AGRIOS, G.N. Plant Pathology. San Diego: **Academic Press** 5 ed, 2005. 922p.

ARRUDA, F.P.; BELTRÃO, N.E.M.; ANDRADE, A.P.; PEREIRA, W.E.; SEVERINO, L.S. 2004. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.8, n.1, p.789-799, 2004.

BENETTI, S.C.; SANTOS, A.F.; MEDEIROS, A.C.S.; JACCOUD FILHO, D.S. Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n.58, p.81-85, 2009.

CARVALHO, D.D.C.; LOBO JUNIOR, M.; MARTINS, I.; INGLIS, P.W.; MELLO S.C.M. Biological control of fusarium oysporum f. sp. *Phaseoli* by *trichoderma harzianum* and its use for common ben seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v.39 p.384-391, 2014.

ELLIS, M.B., Dematiaceous Hyphomycetes, **Commonwealth Mycological Institute**, Surry, England, 1971. 601p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

MACHADO J.C.; OLIVEIRA J.A.; VIEIRA M.G.; ALVES M.C.; Controle da germinação de sementes de soja em testes de sanidade pelo uso da restrição hídrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.2, p.77-81, 2003.

NOBRE, D.A.C.; ANDRADE, J.A.S.; DAVID, A.M.S. de S.; RESENDE, J.C.F. de.; FARIA, M.A.V.R.; DAVID, D.A. Germinação de sementes de pinhão-manso submetidas a diferentes condições de temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.17- 21, 2007.

OLIVEIRA, E.L.; FARIA, M.A.; EVANGELISTA, A.W.P.; MELO, P.C. Resposta do pinhão-manso à aplicação de níveis de irrigação e doses de adubação potássica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.6, p.593-598, 2012

PEREIRA, R.T.G.; PFENNING, L.H.; CASTRO, H.A.; Caracterização e dinâmica de colonização de *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de vries em frutos do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.6, p.1112-1116, 2005.

KOBAYASTI, L.; ADORIAM, I. A.;NETO, V.B.P.; ALVES, C.Z.; ZUFFO, M.C.R.; Incidência de fungos em sementes de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, n.3, p.385-390, 2011.

REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTES – RAS, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF, 395p. 2009.

SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N.P. Produção de oleaginosas para o biodiesel. **Informe Agropecuário**, v.26, p.44-74, 2005.

SILVA, O. F.; SOARES, A. G. **Recomendações para prevenção de perdas pós-colheita do mamão**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2001. 19p.

SILVA, M.A.D.; SILVA, W.R. Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p.599-608, 2000.

SUJATHA, M.; REDDY, T.P.; MAHASI, M.J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. **Biotechnology Advances**, v.26, p.424-435, 2008.

TOMINAGA, N.; KAKIDA, J.; YASUDA, E.K. **Cultivo de pinhão-manso para produção de biodiesel**. Viçosa: CPT, 2007, 220p.

VANZOLINI, S. MEORIN, E.B.K.; SILVA, R.A. NAKAGAWA, J. Qualidade sanitária e germinação de sementes de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.9-14, 2010.