

CONTROLE ALTERNATIVO DE PATÓGENOS NA DESINFESTAÇÃO E GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE *LIBIDIBIA FERREA*

Vitória Ferreira Gomes¹, Mariana Ribeiro de Almeida², Serli de Oliveira Cabral², Rafael Lara Rezende Cabral², Emanuelle Bezerra dos Santos², Tamyris de Mello¹, Rodrigo Sobreira Alexandre¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo/ -Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Avenida Av. Gov. Lindemberg, 316, Centro - 29550-000 - Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, Vitória Ferreira Gomes vitória.eng.for@gmail.com, tamyrisdemello@gmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com.

²Universidade Federal do Espírito Santo/ -Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário, S/Nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, mariribeiro11@hotmail.com, biologiaserli@gmail.com, rafaelaraaa@gmail.com, emanuelle.santos.bio@gmail.com.

Resumo

Objetivou-se com este trabalho investigar tratamentos de desinfestação e sua influência na germinação de sementes de *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul., popularmente conhecida como “pau-ferro”. As sementes foram submetidas aos seguintes tratamentos: ácido sulfúrico por 20 min + tríplice lavagem em água destilada/autoclavada (T1); Controle imersão em álcool 70 1 min + NaClO e Tween 20 por 30 min + tríplice lavagem em água destilada/autoclavada (T2); Across (2 ml/L) por 30 min com resíduo (T3); Extrato de cravo 10% por 30 min com resíduo (T4), Extrato de cravo 25% por 30 min com resíduo (T5); Extrato de cravo 50% por 30 min com resíduo (T6), Extrato de cravo 75% por 30 min com resíduo (T7), Extrato de cravo 100% por 30 min com resíduo (T8). Em sequência, as sementes foram submetidas ao teste de germinação em meio MS, sendo registrado sementes contaminadas por bactérias e/ou fungos (%), germinação (%), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). As sementes imersas em água quente a 80 °C por 1 minuto apresentaram maior percentual de germinação e IVG.

Palavras-chave: Pau-ferro. Extrato vegetal. Germinação.

Introdução

Embora a dormência seja uma estratégia adaptativa das espécies, é um dos principais problemas para a produção de mudas de espécies florestais nativas, a utilização de métodos pré-germiantivos variam em função do tipo de dormência apresentada (Oliveira *et al.*, 2003). Um dos tipos de dormência mais comum em espécies tropicais é a física ou tegumentar, a qual restringe a entrada de água na semente, os métodos mais empregados para superação são a escarificação, imersão em água quente e imersão em ácido sulfúrico (Ferreira; Borghetti, 2004).

Associação com microorganismos, é outro fator que interfere na germinação, os fungos são os principais responsáveis pela baixa germinação em sementes florestais nativas, aborto de sementes, redução de viabilidade, redução do tamanho, podridão das sementes, (Peske; Rosenthal; Rota, 2012; Siqueira, 2022). Visando evitar a disseminação de patógenos, pode-se recorrer a tratamentos químicos, biológicos, físicos ou utilização de extratos vegetais com propriedades antifúngicas (Lazarotto, 2010).

Dentre as plantas exploradas para pesquisas de defensivos naturais, pode-se mencionar a espécie *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry, popularmente conhecido craveiro-da-Índia, o seu botão floral seco é utilizado desde os tempos antigos, pois, além de possuir uma característica marcante como o seu sabor, apresenta múltiplo uso de suas propriedades, sendo seu principal componente o eugenol, que é um forte agente antialérgico, antimicrobiano, anti-séptico, bactericida e fungicida (Affonso *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2018; Sousa; Rodrigues; Alvarenga, 2020).

A espécie *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul., popularmente conhecida como “pau-ferro”, “jucá” e “imirá-itá”, é uma espécie endêmica, com distribuição na região Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil, é considerada uma espécie característica do bioma Caatinga, ocorrendo também na Mata Atlântica e Cerrado, pertencente à família Fabaceae, sua utilização é diversificada, sendo possível enfatizar seu

uso na medicina tradicional, como ornamental, forrageira e madeireira (Machado, 2018; Silva; Loges, 2018). A germinação das sementes ocorre entre 3 à 72 dias, na qual sementes não tratadas possuem uma taxa de germinação que varia de 0,5% a 30%, para as sementes que receberam tratamento, a taxa varia entre 61% a 99% (Silva *et al.*, 2024).

Objetivou-se com o presente trabalho investigar a eficiência entre fungicida comercial e extrato vegetal de cravo na desinfestação de sementes de *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul., e avaliar a quebra de dormência em imersão em água quente e imersão em ácido sulfúrico.

Metodologia

Os frutos de *L. ferrea* utilizados na pesquisa foram colhidos no início de julho de 2024, em diversas árvores adultas no Município de Jerônimo Monteiro - ES, e com auxílio de um martelo foi realizada a retirada das sementes no Laboratório de Sementes Florestais no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Inicialmente fez-se uma pré-seleção das sementes, visando uniformizar o tamanho e a qualidade das mesmas, eliminando-se aquelas de tamanho reduzido ou fungadas. Para a quebra de dormência, 50 sementes foram submetidas à imersão em ácido sulfúrico (1N), em agitação constante por 20 minutos, e lavadas 3 vezes com água destilada estéril e 350 sementes foram imersas em água quente a 80 °C por 1 minuto em agitação constante.

Em seguida, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, e em câmara de fluxo laminar todas as sementes submetidas a quebra de dormência em água quente, foram tratadas com álcool 70% durante 1 minuto, tríplice lavagem em água destilada estéril, hipoclorito de sódio 2,5% NaClO (Candura®) com Tween 20 (6 gotas 100 mL⁻¹) por 30 minutos, tríplice lavagem enxágue em água destilada estéril, para serem submetidas aos tratamentos descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Descrição dos tratamentos empregados na assepsia de sementes de *Libidibia ferrea*.

Tratamentos	Descrição
T1	Ácido sulfúrico por 20 min
T2	Controle – sem tratamento
T3	Across por 30 min com resíduo
T4	Extrato de cravo 10% por 30 min com resíduo
T5	Extrato de cravo 25% por 30 min com resíduo
T6	Extrato de cravo 50% por 30 min com resíduo
T7	Extrato de cravo 75% por 30 min com resíduo
T8	Extrato de cravo 100% por 30 min com resíduo

Fonte: autores (2024).

As sementes tratadas foram transferidas para tubos de ensaios, com 7 ml de meio MS (Murashige; Skoog, 1962), (Sigma-Aldrich®), com vitaminas Gamborg (Sigma®), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose (Dinâmica®), 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol (Sigma-Aldrich®), 5,5 g L⁻¹ de ágar (Kasvi®), com pH ajustado a 5,7 ± 0,1 com a adição de hidróxido de potássio (KOH) 0,1 M e/ou ácido clorídrico (HCl) 1 M. Foram semeadas uma semente por tubo e cada tratamento com cinco repetições totalizando 50 tubos por tratamento. Os frascos foram então identificados conforme o tratamento e a repetição, vedados com plástico filme para evitar possíveis contaminações, e levados para uma sala de crescimento. A temperatura média desta sala foi de 27 ± 2°C, fotoperíodo de 8/16, sendo a intensidade luminosa de 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria.

As avaliações iniciaram seis dias após a semeadura, seguindo diariamente durante 30 dias, que consistiu na observação e contagem individual das sementes contaminadas por bactérias e/ou fungos (%), germinação (%) (Brasil, 2009), índice de velocidade de germinação (IVG) (Maguire, 1962) e tempo médio de germinação (TMG) (Laboriau, 1983). Foram consideradas germinadas às sementes que apresentaram emissão de raiz (cerca de 2 mm). A germinação foi calculada a partir da expressão: $G (\%) = N/A * 100$, em que:

N = número de sementes germinadas;

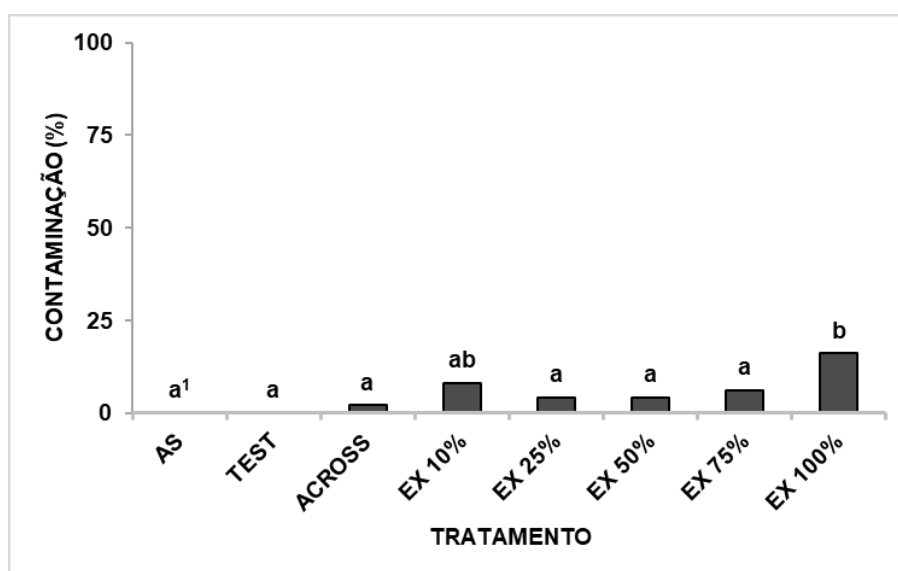
A= número total de sementes colocadas para germinar.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo no total de 8 tratamentos com 5 repetições cada, totalizando 400 tubos contendo uma semente cada. Os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade e posteriormente à análise de variância (ANOVA). Havendo significância ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A análise estatística foi realizada mediante o uso do programa estatístico R (CORE TEAM, 2024).

Resultados

Os resultados que correlacionam os tratamentos na inibição de patógenos estão representados na Figura 1, segundo o teste, estatisticamente apenas os tratamentos T4 e T8 contrastaram com os demais, ao apresentarem desempenho inferior no controle de patógenos.

Figura 1- Influência dos tratamentos empregados na assepsia de sementes de *Libidibia ferrea*.



Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
Fonte: autores (2024).

Consoante os dados apresentados na (Tabela 2), através dos resultados da análise de variância, foi possível observar interação entre os fatores testados método de quebra de dormência e tratamento, no qual as sementes que tiveram a quebra de dormência realizada no método de água obtiveram maiores índices de germinação (%) e IVG, o tratamento T4 (extrato de cravo 10%), foi responsável pelo maior IVG (0,2391). Para variável TMG, não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 2- Qualidade fisiológica de sementes de *Libidibia férrea*-média dos tratamentos.

Tratamento	G(%)	IVG	TMG
T1	6 c ¹	0.02874 c	12.8000 a
T2	12 bc	0.0957 bc	13.4000 a
T3	26 ab	0.1693 abc	17.7340 a
T4	30 a	0.2391 a	14.3660 a
T5	22 abc	0.1900 ab	17.6340 a
T6	22 abc	0.1445 abc	14.3320 a
T7	26 ab	0.1596 abc	18.2500 a
T8	26 ab	0.2115 ab	13.5000 a

Medias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
Fonte: autores (2024).

Discussão

A desinfestação de sementes é vital para manter a taxa de germinação elevada, uma vez que os fungos e bactérias podem reduzir tanto o vigor como a capacidade germinativas das sementes. Com a análise estatística é possível verificar que apesar de ocorrer contaminação nas sementes tratadas com o extrato vegetal de cravo, para as concentrações de 25%, 50%, 75% não ocorre diferença estatística significativa. Apenas as concentrações de 10% e 100% divergiram, indicando assim a eficiência do extrato vegetal na redução de patógenos.

O extrato vegetal de cravo da Índia apresenta alguns componentes que demonstram ação fungicida, sendo o principal desses o eugenol (Affonso *et al.*, 2012). Esse, exerce seu efeito fungicida danificando a membrana celular, podendo ser considerado um agente antifúngico poderoso e natural, sendo necessário mais estudos sobre os mecanismos por trás da diversidade de suas atividades biológicas.

No que se refere a quebra de dormência, tratamentos com água quente a 80 °C é um dos métodos para quebra de dormência de sementes de *L. ferrea*, em virtude de uma maior porcentagem de embebição de água pelas sementes (Gnoatto; Cruz-Silva, 2011). O que é reforçado no presente trabalho, considerando que, independente do tratamento, as sementes que tiveram sua dormência quebrada em água quente a 80 °C, obtiveram maior porcentagem de germinação quando comparado as sementes que tiveram a quebra de dormência realizada em ácido sulfúrico.

Conclusão

Para as sementes de *L. ferrea*, o método mais adequado para a quebra de dormência foi a imersão em água quente.

Não há necessidade do uso de fungicida ou extrato de cravo nas sementes de *L. ferrea*.

Se faz necessário acompanhar a germinação da espécie por um período maior, uma vez que a espécie possui como características germinação desuniforme podendo variar entre 3 à 72 dias.

Agradecimentos

A UFES pelo suporte e estrutura e a CAPES pelo apoio financeiro, permitindo a execução desse trabalho.

Referências

AFFONSO, R.S, RENNÓ, M.N, SLANA, G.B.C.A, FRANÇA. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**. 2012; 146–161. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120012>. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/254>. Acesso em: 17 jul. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. MAPA/DAS/ACS. 395p. 2009.

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

GNOATTO, F.L; SILVA, C.T.A da C. Superação da dormência em sementes de pau-ferro (*Caesalpinia férrea* Mart.ex Tul. Var *leiostachya* Benth). **Revista Cultivando o Saber**. Cascavel, v. 4, n .2, p 81 -94, 2011.

GOMES-COPELAND, K. K. P.; LÉDO, A. S.; DAVID, J. P.; ARAÚJO, A. G.; ALMEIDA, F. T. C. *In vitro* callogenesis of *Poincianella pyramidalis* (catingueira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 525-528, 2017.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

LAZAROTTO, M. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cedro e patogenicidade de *Rhizoctonia* spp.** UFSM, RS, Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), 90 p. 2010.

MACHADO, F. A. *Libidibia ferrea* (jucá). In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F.G.C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro: Região Nordeste.** Brasília, DF: MMA, 2018. p. 542-547.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. **Plant Physiol.**, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, L. M., DAVIDE, A. C., CARVALHO, M. L. M. Avaliação de métodos para quebra de dormência e para a desinfestação de sementes de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Revista Árvore**.2003; 27 597–603.

PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M.D.; ROTA, G.R.M. **Sementes:** Fundamentos científicos e tecnológicos. 3ª edição. Pelotas: Editora rua Pelotas, p.573, 2012.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. R version 4.2.2. 2024.

SILVA, S.S.L.; LOGES, V. *Libidibia ferrea* (pau-ferro). In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F.G.C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro: Região Nordeste.** Brasília, DF: MMA, 2018. p. 542-547.

SILVA, B.Y.L.V. *et al.* **Ficha de espécies para produção de mudas florestais da caatinga.** Aracaju: Criação Editora, 2024. 48 p.

SIQUEIRA, U. R. **Tratamento em sementes de espécies florestais nativas visando ao controle de fungos: uma revisão bibliográfica.** Monografia (graduação em Engenharia Florestal) – Departamento de Ciências Florestais, Centro de Ciências Agrárias Aplicadas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2022. Disponível em: <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/17266>. Acesso em: 12 jul. 2024.

SOUSA, P. S. de A.; RODRIGUES, M. G.; ALVARENGA, E. M. Prospecção Tecnológica, com Ênfase nas Atividades Biológicas Nematicida e Larvicida, do Óleo Essencial do Cravo-da-Índia e do Eugenol. **Cadernos de Prospecção**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 154, 2020. DOI: 10.9771/cp.v13i1.29624. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/29624>. Acesso em: 11 jul. 2024.