



Controle Alternativo de *Aspergillus flavus* em Sementes de *Acacia mangium*

Alternative control of Aspergillus flavus in seeds of Acacia mangium

SORATO, Adriana Matheus da Costa¹; SILVA, Thamirys Gabriela Martins¹; PERES, Walmor Moya¹; MATOS, Dilânia Lopes¹; DAVID, Grace Queiroz¹.

¹Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT, adrianasorato@unemat.br; thamyrsgm@hotmail.com; walmorperes@hotmail.com; dilan_lopes@hotmail.com; gracequeirozdaavid@hotmail.com

Resumo: Neste trabalho objetivou-se analisar a eficiência de óleos essenciais de mamona e tintura de romã no controle do fungo *Aspergillus flavus* em sementes de *Acacia mangium*. Foi instalado experimento em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, tendo os tratamentos: água destilada estéril; fungicida orthocide; tintura de romã; óleo de mamona. As variáveis analisadas foram as taxas de germinação e contaminação. Em relação à germinação, não houve diferença significativa no emprego dos quatro tratamentos. Óleo de mamona apresentou menor incidência do fungo (35%) em relação ao tratamento de tintura de romã, que apresentou maior incidência de *Aspergillus flavus* (64,00%). Desse modo, a tintura de romã caracteriza-se como o tratamento que menos inibiu o crescimento do fungo ao qual foi exposto. Conclui-se que os tratamentos apresentaram comportamento semelhante quanto à germinação das sementes de *Acacia mangium*. No entanto, ao avaliar a contaminação pelo patógeno, o óleo de mamona se mostrou eficiente no controle de *Aspergillus flavus*.

Palavras-chave: óleo de mamona, tintura de romã, incidência.

Abstract: This work aimed to analyze the efficiency of castor oils and essences of pomegranate dye in control of fungus *Aspergillus flavus* in seeds of *Acacia mangium*. The experiment was a completely randomized design with four treatments: sterile distilled water; fungicide orthocide; tincture pomegranate; castor oil. The variables were germination and contamination rates. Regarding germination, there was no significant difference in the use of four treatments. The contamination, showed lower incidence of the fungus (35%) when treated with the castor oil in relation to the processing of pomegranate dye, with the highest incidence of *Aspergillus flavus* (64,00%). Thus, pomegranate dye is characterized as treatment less inhibited growth of the fungus, which was exposed. It is concluded that the treatments showed similar effects on the seed germination of *Acacia mangium*, however, when assessing the contamination by the pathogen, castor oil has proven effective in controlling *Aspergillus flavus*.

Keywords: castor oil, pomegranate dye, incidence

Introdução

A demanda de sementes de espécies florestais vem crescendo, devido às compensações ambientais, visto que as leis federais e estaduais exigem a reposição obrigatória das matas nativas nas propriedades rurais e também a recuperação das áreas degradadas (IUCN e ITTO, 2005).

Devido à baixa qualidade das sementes e também por conta de limitações nutricionais no solo, as mudas, após o plantio apresentam taxas de sobrevivência baixas e desenvolvimento ineficiente das mudas. Dessa maneira, para se implantar empreendimentos florestais são necessárias sementes que apresentem uma boa qualidade, sendo esse um dos fatores fundamentais para o sucesso de povoamentos florestais (ARAÚJO et al., 2007).

Assim, desenvolver estudos que objetivem aprimorar técnicas que visam solucionar problemas de manejo e de desenvolvimento de espécies florestais são fundamentais. Um fator que desperta interesse é a associação dos patógenos as sementes, visto que, a mesma pode afetar a germinação e o vigor das mudas, reduzir consideravelmente a população de plantas e causar infestação de epidemias (MENTEN, 1995).

A epidemia de diversas doenças no mundo vegetal pode começar com o inóculo contido na semente, o que torna o controle da sanidade e da qualidade da semente utilizada no plantio, necessário para a obtenção de uma muda de alta qualidade, já que a mesma pode servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos (MENDES et al., 2005). Desse modo, conhecer os agentes, as causas e as consequências devida a essa contaminação pode fornecer informações para construção de modelos epidemiológicos, que compreende o período entre o armazenamento e a produção de mudas (SANTOS et al., 2001).

Existe uma diversidade de fungos que são responsáveis pela contaminação das sementes de espécies florestais, entre os quais *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Trichoderma* (SANTOS et al., 2000).

Espécies de *Aspergillus* spp. são consideradas indicadoras da deterioração das sementes e grãos, o que causa danos, descoloração e alterações nutricionais. Mais de vinte espécies de *Aspergillus* produzem micotoxinas, porém as mais comuns são as da divisão *flavi*, que incluem *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* (SALEEMULLAH et al., 2006).

Produtos alternativos utilizados no controle de fitopatógenos, como os subprodutos das plantas medicinais, são analisados para o controle de doenças em plantas e frutos, por não apresentarem risco ambiental, e geralmente serem inócuas aos animais e seres humanos, e ainda por apresentar custo reduzido (MOREIRA et al.,

2008). Além disso, o uso de tais produtos visa reduzir o uso de produtos químicos que causam a elevação dos custos de produção e prejuízos ao meio ambiente, o que justifica a busca por métodos alternativos de controle de fungos, dentre os se quais incluem o controle biológico, e o uso de extratos vegetais e óleos essenciais (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005).

Atualmente, existe grande diversidade de óleos essenciais ou extrato bruto de plantas medicinais e aromáticas que apresentam potencial de controle de fitopatógenos. Em específico, o óleo de mamona e a tintura de romã são produtos aromáticos de metabolismo secundário de plantas, normalmente produzidos por células secretoras ou grupos de células, tais compostos podem ser encontrados em todas as estruturas vegetais, geralmente, mais frequentes em folhas, flores, frutos e menos frequentes em raízes, rizomas, lenhos, córtex ou sementes (HENRIQUES et al., 2007).

Diversos estudos já comprovaram o efeito de compostos extraídos de óleos essenciais de plantas medicinais na capacidade de controlar doenças em diversas outras plantas, inibindo a atividade do fungo, indicando que tais compostos são eficazes (CHAO e YOUNG, 2000).

O setor madeireiro, no cenário atual, busca por espécies florestais que apresentem crescimento rápido e também de fácil cultivo. Uma espécie promissora é a *Acacia mangium*, nativa da parte noroeste da Austrália, de Papua Nova-Guiné e do oeste da Indonésia, cujo gênero compreende aproximadamente 700 a 800 espécies (LAMPRECHT, 1990), sendo uma espécie nitrificadora, que apresenta crescimento rápido (VEIGA et al., 2000).

A espécie também desperta interesse por não ser uma planta exigente em quando se trata de solo, por possuir capacidade de adaptação as condições ambientais do país e por apresentar habilidade de desenvolvimento em grades amplitudes territoriais (ANDRADE et al., 2000), desse modo, apresenta uma opção razoável para a pratica silvocultural no Brasil (BALIEIRO, 2004).

Dessa maneira, este trabalho objetivou-se analisar a eficiência de óleos essências de mamona e tintura de romã no controle do fungo *Aspergillus flavus* em sementes de *Acacia mangium*.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, localizado na rodovia MT 208, *Campus I* de Alta Floresta, MT. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições,



tendo os tratamentos: água destilada estéril; fungicida orthocide; tintura de romã; óleo de mamona. A parcela experimental foi de 25 sementes de *Acacia mangium*.

Os extratos vegetais foram adquiridos no comércio local, para a tintura de romã, foram 3 mL do composto, para 10 mL de água, no caso do óleo de mamona foi utilizado 3 mL do óleo, 3 mL de Tween 20, para 10 mL de água, e para o fungicida foi adicionado o Orthocide, com a proporção de 0,12mm a cada 100g de sementes. As sementes da espécie florestal *Acacia mangium*, foram cedidas pela empresa Caiçara Comércio de Sementes LTDA, de Brejo Alegre- SP. Foi utilizado o pré-teste de sanidade das sementes, via método de incubação em papel filtro “Blotter Test”, para detectar o fungo *Aspergillus flavus* associado às sementes de *Acacia mangium*, a partir da qual se obteve a colônia pura.

Inicialmente, as sementes passam pelo processo de desinfestação superficial, que é de suma importância, pois tal procedimento elimina fungos existentes na superfície, e permite verificar a ocorrência de fungos internos às sementes. Nesse processo, as sementes foram imersas em álcool 70%, e desinfestadas com hipoclorito de sódio 2,5% ambos por um período de 3 minutos, em seguida lavadas três vezes em água destilada esterilizada. Posteriormente, por meio do método de água quente, as sementes foram imersas em água a 100°C por 1 (um) minuto para a quebra de dormência. Em seguida, as sementes foram postas para secar em temperatura ambiente, e depois mergulhadas nas soluções dos produtos de extratos vegetais e fungicida, que constituíram os tratamentos, e para cada um deles, as sementes permaneceram submersas durante vinte minutos (JARDINETTI et al., 2011).

Com o auxílio de uma pinça, as sementes foram acondicionadas em 16 placas de Petri (12 mm Ø), contendo o patógeno com 25 sementes cada. Em seguida as placas foram vedadas e armazenadas em câmara BOD a 28 ± 1 °C com fotoperíodo de 12 horas, expostas ao fungo durante 48 horas. Findo o período de exposição ao fungo, as sementes foram transladas em novas placas de Petri (12mm Ø) de forma, em câmara de fluxo laminar, onde cada placa foi forrada com folha de papel filtro, autoclavadas e umedecidas com água destilada estéril na proporção de duas vezes o peso do papel seco. Em seguida, essas placas foram vedadas com plástico filme, e acondicionadas em câmara de germinação BOD sob temperatura de 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 horas durante dez dias.

Foi realizada a contagem diária das sementes germinadas e contaminadas, onde germinadas eram as sementes que emitiram radícula com comprimento $\geq 0,5$ cm ou que expuseram os cotilédones tendo ou não radícula $\geq 0,5$ cm. Os dados foram expressos em porcentagem, e as variáveis analisadas foram as taxas de germinação feita diariamente, e contaminação, que foi contabilizada no final do período de avaliação, calculadas conforme proposto por Jardinetti et al. (2011):

$$P = \frac{\text{Número de sementes contaminadas ou germinadas}}{\text{Número de grão total da amostra}} \times 100\%$$

Para avaliar os dados obtidos foi realizada a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, por meio do programa SISVAR® (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

Os testes de germinação e contaminação em sementes da espécie *Acacia mangium* após aplicação dos tratamentos alternativos e exposição das sementes ao patógeno *Aspergillus flavus*, são apresentados na Tabela 1.

É possível inferir que em relação à germinação, no decorrer dos dez dias de avaliação, não houve diferença significativa no emprego dos quatro tratamentos, ou seja, os quatro tratamentos proporcionaram a mesma porcentagem de germinação. No entanto, é interessante notar que a porcentagem de germinação é superior a 50%, para todos os tratamentos, e tal fato remete a influencia positiva da qualidade da semente.

Tabela 01. Testes de germinação e contaminação para diferentes tratamentos aplicados em sementes de *Acacia mangium* para controle do fungo *Aspergillus flavus*.

Tratamento	Germinação (%)	Contaminação (%)
Água destilada	59,00 a	44,00 ab
Fungicida	61,00 a	57,00 ab
Tintura de Roma	79,00 a	64,00 b
Óleo de Mamona	71,00 a	35,00 a
CV (%)	11,93	11,68

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores transformados por $\sqrt{x+0,5}$

O lote de sementes de acácia foi adquirido com Certificado de inscrição no registro nacional de sementes e mudas RENASEM, produzidos de acordo com as normas e padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e Analisados pelo laboratório da EMBRAPA, sendo classificadas com (99%) de pureza e (92%) de potencial germinativo, pelo fornecedor, e aprovada para semeio.

Mesmo que os extratos utilizados nesse trabalho não apresentaram diferenças significativas em relação a testemunha, o uso de produtos naturais no tratamento de sementes é de fundamental importância, produtos esses que utilizam plantas com comprovadas atividades antimicrobianas na forma de extratos e óleos vegetais (VON PINHO et al., 1995). De acordo com Carvalho et al. (1999), sementes que são

propensas ao ataque de microorganismos, quando recebem tratamento, potencializam a longevidade e o poder germinativo das sementes, além de garantir vigor das mudas.

Já para ao analisar a contaminação, percebe-se que houve diferença significativa entre os tratamentos, conforme pode ser observado na Tabela 1. O tratamento com óleo de mamona apresentou menor incidência do fungo (35%) em relação ao tratamento de tintura de romã, que apresentou maior incidência do *Aspergillus flavus* (64,00%). Desse modo, a tintura de romã caracteriza-se como o tratamento que menos inibiu o crescimento do fungo ao qual foi exposto.

Tal fato referente ao tratamento tintura de romã indica que o mesmo não apresenta potencial de controle sobre o crescimento micelial do fungo *Aspergillus flavus*, além disso, indica que tal tratamento é susceptível ao ataque de patógenos, principalmente pelo fato de ser um composto hidroalcoólico e apresentar dificuldade de adesão nas sementes. Trabalhos realizados por Pereira et al. (2004), demonstraram que romã tem ação sobre *Streptococcus mittis*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. sabinis* e *Lactobaccillus casei*, onde todas as cepas foram sensíveis frente ao extrato.

Contudo, o óleo de mamona, nesse trabalho, apresentou o melhor efeito fúngico, com menor percentual de contaminação pelo fungo *Aspergillus flavus*, em relação à tintura de romã. Dessa forma é possível inferir que esse composto é um produto alternativo promissor no controle do desenvolvimento de fitopatógenos.

Lins Júnior et al. (2007), constataram mortalidade de 86,60% nos tratamentos com óleo de nim a 2,00% e mortalidade de 79,90% no tratamento com óleo de mamona a 2,00% no controle de *Anthonomus grandis*, com resultados promissores que mostram a potencialidade da utilização desses óleos no controle alternativo de fungos, o que demonstra que a quantidade do composto também influencia na amplitude do controle.

De acordo com Takano et al. (2007), o detergente derivado do óleo de mamona apresenta potencial para o controle de doenças em plantas, tais como antracnose, brunose e giberela, pois tem efeito inibitório sobre o desenvolvimento *in vitro* dos patógenos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Pyricularia grisea* e *Fusarium graminearum* e *P. grisea*.

O tratamento das sementes com o óleo de mamona viabilizou uma melhora na qualidade fisiológica da semente. Porém, fatores o mau armazenamento das sementes após sua aquisição, presença do fungo *Aspergillus flavus*, dentre outros, impediu que a germinação fosse mais ainda mais elevada.

Conclusões

Os tratamentos apresentaram comportamento semelhante quanto à germinação das sementes de *Acacia mangium*. No entanto, ao avaliar a contaminação pelo patógeno, o óleo de mamona se mostrou eficiente no controle de *Aspergillus flavus*. Portanto, um produto alternativo é tão eficiente quanto um fungicida, pois são ótimos agentes antimicrobianos, protegendo as plantas de fungos fitopatogênicos e podem ser usados no controle alternativo de doenças em sementes de espécies florestais.

Referências bibliográficas

ANDRADE, A.G.; COSTA, G.S.; FARIA, S.M. Deposição e decomposição da serapilheira em povoamentos de *Mimosa caesalpinifolia*, *Acacia mangium* e *Acacia holosericea* com quatro anos de idade em Planossolo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.24, p.777-785, 2000.

ARAÚJO, G.M.; ARAÚJO, E.L.; SILVA, K.A.; RAMOS, E.M.N.F.; LEITE, F.V.; PIMENTEL, R.M.M. Resposta germinativa de plantas leguminosas da caatinga. **Revista de Geografia**, Recife, v. 24, n.2, p. 139-153, 2007.

BALIEIRO, F. C.; DIAS, L.E.; FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.C.; FARIA, S.M. Acúmulo de nutrientes na parte aérea, na serapilheira acumulada sobre o solo e decomposição de filódios de *Acacia mangium* Willd. **Ciência Florestal**, Rio Grande do Sul, v.14, p.59-65, 2004.

CARVALHO, R.A.; CHOIRY, S.A.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F. Effect of plants with antibiotic properties on the control of *Fusarium sp.* Abstracts, **International Plant Protection Congress**, Israel, 1999, 28 p.

CHAO, S.C.; YOUNG, D.C. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. **Journal Essential Oil Research**, v.12, n.4, p.856-62, 2000.

EMBRAPA, 2000. Hortaliças: Tratamentos de sementes. NASCIMENTO W.M. - Ph. D., Fisiologia de Sementes. **Embrapa Hortaliças**.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2011.

HENRIQUES, A.T; SIMÕES-PIRES, C.A.; APEL, M.A. Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R.A.; CECHIMEL FILHO, V. (orgs.). Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia. 2.ed. **Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí**, 2009. p.219-256.



IUCN – The World Conservation Union e ITTO – International Tropical Timber Organization. Restoring Forest Landscapes: An introduction to the art and Science of forest landscape restoration. **Technical series 23**, 2005. Disponível em: www.itto.int/direct/.../topics_id=10640000&no=1&disp=inline. Acesso em: 24 de out. de 2016.

JARDINETTI, V.A.; CRUZ, M.E.S.; MAIA, A.J.; OLIVEIRA, J.S.B.; SANTOS, E.M. Efeito de óleos essenciais no controle de patógenos e na germinação de sementes de milho (*Zea Mays*). In: **VII Encontro Internacional de Produção Científica**, Maringá, 2011.

LAMPRECH, H. Silvicultura nos trópicos. **Eschborn: GTZ**, 1990, 343p.

LINS JUNIOR, J.C.; NASCIMENTO, M.L.; MENEZES, A.M.S.; RODRIGUES, I.J.S.; LIMA, E.S.A.; DIAS, T.K.R.; DIAS, P.C.; CARDOSO, U.P.; SÃO JOSÉ, A.R. Controle alternativo do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* (Coleoptera Curculionidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n. 2, p. 987-990, 2007.

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

MENTEN, J. O. M. Tratamento de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES. 4. 1996, Gramado. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 3-23.

MOREIRA, C.G.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; BONALDO, S.M.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 332-337, 2008.

PEREIRA, E. R. T.; PAULA, J. R.; VALADARES, M. C. Investigação do potencial quimioprotetor da *Punica granatum*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 2, n. 2, p. 168-171, 2004.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Eds). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. **Piracicaba: FEALQ**. Cap. 5, 2005, p.125-138.



SALEEMULLAH, A. I.; KHALIL, I.A.; SHAH, H. Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 699-703, 2006.

SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C. G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Revista Floresta**, Curitiba: PR. v. 30 n. 1, p. 119-128, 2000.

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

TAKANO E. H.;BUSSOC.;GONÇALVES E. A. L.; CHIERICEG. O.;GUIMARÃES; S. A.C.; PRADO M. A. A. C. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1235-1240, 2007.

VEIGA,R.A.A.; CARVALHO, C.M.; BRASIL, M.A.M. Determinação de equações de volume para árvores de *Acacia mangium*. **Cerne**, Lavras, v.6, n.1, p.103-107, 2000.

VON PINHO, E. V. R.; CAVARIANI, C.; ALEXANDRE, A. D.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zeamays* L). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.17, n.1, P.23-28, 1995.