



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

HERNESISE MAYARD

**TANINOS NA INIBIÇÃO DE FUNGOS E NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES
DE *Pinus taeda* L.**

JERÔNIMO MONTEIRO – ES
2020

HERNESISE MAYARD

**TANINOS NA INIBIÇÃO DE FUNGOS E NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES
DE *Pinus taeda* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Gomes Gonçalves

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

M466t Mayard, Hernessise, 1988-
Tanino na inibição de fungos e na germinação de sementes
Pinus taeda L. : Tanino comercial de Acácia mearnsii no
controle de fungos / Hernessise Mayard. - 2020.
80 f. : il.

Orientador: Fabrício Gomes Gonçalves.
Coorientador: Rodrigo Sobreira Alexandre.
Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias.

1. Microorganismo. 2. Semente. 3. Qualidade fisiológica. 4.
Polifenóis. I. Gonçalves, Fabrício Gomes. II. Alexandre, Rodrigo
Sobreira. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 630

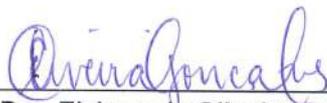
TANINOS NA INIBIÇÃO DE FUNGOS E NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

DE *Pinus taeda* L.

Hernesise Mayard

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

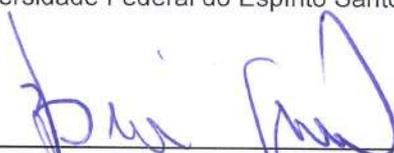
Aprovada em 29 de Julho 2020.



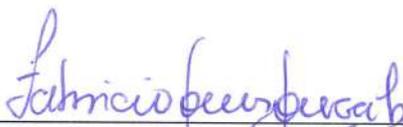
Profa. Dra. Elzimar de Oliveira Gonçalves
(Examinadora interna)
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Humberto Fantuzzi Neto
(Examinador externo)
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Juarez Benigno Paes
(Examinador interno)
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Fabricio Gomes Gonçalves
(Orientador)
Universidade Federal do Espírito Santo

Dedico a Deus primeiramente, aos meus amados pais, aos meus irmãos, meus amigos e a minha querida igreja que eu amo muito.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a meu Bom Deus, por todo amor, misericórdia, proteção, por me dar suporte para vencer todos os obstáculos que encontrei no meu caminho, por estar sempre ao meu lado, e por todas as oportunidades concedidas na minha vida.

À Universidade Federal do Espírito Santo, ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, pela oportunidade para a realização deste trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) pelas sementes doadas.

À empresa Seta S.A. Extratora de Taninos, pelo tanino fornecido.

A empresa Klabin S.A., pela amostra de substrato e pela doação das sementes.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo - FAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador, Professor Dr. Fabricio Gomes Gonçalves, que sempre me tratou com espírito de igualdade, mostrando que carreira, profissão e *status*, não significam nada quando comparados à simplicidade e humildade. Muito obrigada por todo apoio, paciência, pela orientação incomparável que eu recebi, por todo suporte, por ser para mim um “pai” e por ter contribuído tanto para o meu crescimento durante todo esse período de estudo.

Ao meu coorientador, Professor Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre por toda atenção, orientação, conselhos, ideias, disponibilidade, paciência e conhecimentos transmitidos.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, que estão sempre dispostos a ajudar e pelo carinho.

A todos os alunos do Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas do Departamento de Agronomia, especialmente ao Jean, Lucas e Breno que me ajudaram bastante.

Ao Professor William Bucker Moraes, por ter aberto as portas do Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas para o meu trabalho.

Ao Professor Juarez Benigno Paes por ter aberto as portas do Laboratório de Biodeterioração e Proteção da Madeira e contribuindo na realização do trabalho.

Aos meus pais Fita Larochelle e Mevilhomme Mayard, que estão sempre ao meu lado, apoiando todas as minhas decisões, mesmo quando não compreendidas. Pelo amor, carinho, dedicação, conselhos, oração, exemplo e apoio.

Aos meus irmãos Louinor, Guerby, Jean Kindley, Bergenaud, e minha irmã Yolene, por serem para mim pessoas incríveis, carinhosas e por estarem sempre presentes nos momentos que eu precisava, com amor, paciência, conselhos e suportes.

Ao meu irmão Raynord Mayard a quem não tenho palavras para exprimir meu reconhecimento, pois, as nossas histórias como irmãos são incontáveis, sempre está disponível para me ajudar de qualquer forma, fisicamente, economicamente, com seus conselhos, na oração e nas atividades acadêmicas. Enfim, a única palavra que eu posso falar é obrigada!

Ao meu amigo Paul André pela amizade, compreensão, conselhos, carinhos, força, que mesmo a distância participa no meu estudo com a suas ideias.

Às meninas do Laboratório de Painéis (Alice e Isabela) pela ajuda cada vez que eu precisei; do Laboratório de Sementes Florestais pelo respeito, amor, e todas as suas ajudas inesperadas e risadas (Tamyris, Ingridh, Carol, Thuanny e a bolsista de Apoio Técnico da FAPES, Yanara).

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de participação, pelas contribuições e ensinamentos.

A técnica do laboratório de Biodeterioração e Proteção da Madeira, Damielle pela ajuda, respeito e carinho.

Aos meus colegas da faculdade (Haiti) Joel, Nehemie, Luckson, Dief, Hedsonn, Zamor e Donald pela amizade, conselhos, amor e todas as dedicações mesmo a distância. Enfim, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente pela realização deste sonho.

Eu te louvarei Senhor, de todo o meu coração, contarei todas as tuas maravilhas.

(Salmos 9: 1).

RESUMO GERAL

MAYARD, HERNESISE. **Taninos na inibição de fungos e na germinação de sementes de *Pinus taeda* L.** 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro – ES. Orientador: Prof. Dr. Fabricio Gomes Gonçalves. Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

Os taninos são complexos polifenólicos conhecidos por possuírem propriedades antimicrobianas e antifúngicas e também evitam que as sementes germinem precocemente, bem como a protegem do ataque de pragas, sendo assim, utilizados na defesa da planta, e exercendo efeitos negativos sobre possíveis predadores. Objetivou-se analisar o potencial de taninos comerciais proveniente de *Acacia mearnsii* De Wild., na inibição de fungos e na germinação das sementes de *Pinus taeda* L.. No Capítulo I foram realizados três experimentos. No primeiro foram colocadas amostras de substrato de viveiro comercial em placas de Petri esterilizadas e, umedecidas com água destilada para efetuar a semeadura (80% da capacidade de campo). Em seguida, folhas de eucalipto contendo pequenos orifícios foram dispostas sobre este substrato. As placas foram mantidas em câmara com Demanda bioquímica de oxigênio (BOD) a 25 °C até o surgimento de frutificação dos esporos de possíveis fungos. Foi realizada a repicagem dos mesmos para placa de Petri contendo aproximadamente 10 mL de meio de cultura batata dextrose ágar (BDA). Estas foram incubadas em BOD a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas até a obtenção de novas colônias de fungos presentes no substrato. No segundo experimento, foram utilizadas seis concentrações de tanino (0; 4; 8; 12; 16 e 20%) diluídos em água destilada. Foram utilizados quatro fungos (*Pythium* spp., *Penicillium* sp, *Fusarium* sp. e *Rhizopus* spp.) e sementes de *P. taeda* com três repetições de 12 sementes para cada fungo, mais o controle. Primeiramente as sementes foram desinfestadas e embebidas nas concentrações de tanino por 10 minutos. Na sequência, foram vertidos diretamente em uma placa de Petri, 10 mL de BDA previamente preparado e mantido em BOD por 15 dias. Os fungos *Rhizopus* spp. e *Fusarium* sp. se desenvolveram mais rápido durante o experimento. O aumento das concentrações de tanino reduziu o desenvolvimento dos fungos testados. Para o terceiro experimento, com base nos resultados obtidos (experimento II), optou-se em utilizar a concentração de 20% de tanino, mais um controle (0% de tanino), e estas colocadas junto com os fungos *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pythium* spp. e *Rhizopus* spp. Foram utilizadas 160 sementes por tratamento as quais foram embebidas na solução tânica e distribuídas em placas de Petri juntamente com os fungos. Com a utilização de tanino, as sementes germinam mais na presença dos fungos testados. No Capítulo II foram conduzidos quatro experimentos básicos (teste tetrazólio, condutividade elétrica, curva de embebição e teste de germinação com avaliação de parâmetros de qualidade de plântulas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por seis concentrações de taninos (0; 4; 8; 12; 16 e 20%), com quatro repetições de 25 sementes. Um lote de 100 sementes foi embebido em cada concentração por um período de 10 minutos e colocado em rolo de papel e mantido no BOD para germinar a uma temperatura de 25 °C. Foi aplicada análise de regressão para os parâmetros estudados com base nas concentrações tânicas (0; 4; 8; 12; 16 e 20%). Segundo o teste tetrazólio, as sementes apresentaram uma viabilidade média de 75%. Na condutividade elétrica as maiores concentrações de tanino proporcionaram maiores liberações de íons. A curva de embebição seguiu o padrão trifásico. As características de qualidade das plântulas apresentaram resultados de tendências variadas à medida que se aumentou a concentração de tanino. Foram obtidos aumento, no comprimento da parte aérea e o diâmetro do colo. A porcentagem

de germinação, plântulas normais e a deterioração da semente apresentam comportamento de queda com aumento da concentração de tanino.

Palavras-chave: microrganismo, qualidade fisiológica, semente, polifenóis.

GENERAL ABSTRACT

MAYARD, HERNESISE. **Tannins in the fungi inhibition and the seed germination of *Pinus taeda* L.** 2019. Dissertation (Master in Forest Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro - ES. Advisor: Prof. D. Sc. Fabricio Gomes Gonçalves. Co-advisor: Prof. D. Sc. Rodrigo Sobreira Alexandre.

Tannins are complex polyphenols known to have antimicrobial and antifungal properties and also prevent seeds from germination early, as well as protecting them from pest attack, thus being used in plant defense, and having negative effects on predators in seeds. The objective of this work was to analyze commercial tannins from *Acacia mearnsii* De Wild., inhibition of fungi and germination of *Pinus taeda* L. seeds. In Chapter I, two experiments were carried out: Experiment I: identification of possible fungi in commercial nursery substrate where soil samples were placed in sterilized petri dishes and moistened with water distilled and sterilized for sowing (80% of field capacity). Then, eucalyptus leaves were placed on the ground with small holes. The plates were kept in biochemical oxygen demand camera (BOD) at 25 °C until the appearance of fruiting of possible fungi. The fungi were seeded in a Petri dish containing approximately 10 mL of potato dextrose agar (PDA) culture medium. These were incubated in BOD at a temperature of 25 °C with a photoperiod of 12 hours until obtaining pure colonies; Experiment II: were used six tannin concentrations (0; 4; 8; 12; 16 and 20%) diluted in distilled water. Four fungi (*Pythium* spp., *Penicillium* sp, *Fusarium* sp. and *Rhizopus* spp.) and *P. taeda* seeds were used with three repetitions of 12 seeds per repetition for each fungus, plus the control. First, the seeds were disinfected and soaked in the tannin concentrations for 10 minutes. Next, 10 mL of PDA previously prepared and kept in BOD for 15 days were placed in a petri dish. Experiment III: it was idealized in experiment II, the concentration of 20% tannin was applied plus a control (without the presence of tannin), and these were placed together with the fungi *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pythium* spp. and *Rhizopus* spp. Two replications were used, 80 seeds per repetition, totaling 160 seeds per treatment. A batch of 160 seeds was embedded in the tannic solution and distributed in Petri dishes, along with the fungus. The fungi *Rhizopus* spp. and *Fusarium* sp. are the ones that develop faster during the experiment. The tannin reduced the development of the tested fungi with increased concentrations. With the use of tannin the seeds germinate more in the presence of the fungus. In Chapter II, four basic experiments were carried out (tetrazolium test, electrical conductivity, imbibition curve and germination test with evaluation of seedling quality parameters). A completely randomized design was applied, consisting of six concentrations of tannins (0; 4; 8; 12; 16 and 20%) with four repetitions of 25 seeds. A batch of 100 seeds was soaked in each concentration for a period of 10 minutes and placed on a paper roll and kept in the BOD to germinate at a temperature of 25 °C. According to the tetrazolium test, the seeds have a viability of 75%. In electrical conductivity, higher concentrations provide greater results. The imbibition curve follows the three-phase pattern. The quality characteristics of the seedlings showed results of varied tendencies as the tannin concentration increased. There were highlights of increase, or shoot length and neck diameter. A percentage of germination, normal seedlings and deterioration of the seed show a falling behavior with increased tannin concentration.

Keywords: *Acacia mearnsii*, microorganisms, physiological seed quality, polyphenols.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	4
GENERAL ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO GERAL	9
2. OBJETIVOS	10
3.1. Características gerais da semente	11
3.2. Importância das sementes	12
3.3. Estrutura das sementes.....	13
3.4. Germinação da semente	13
3.4.1. Condições necessárias à germinação.....	14
3.4.2. Aspectos morfofisiológicos da germinação	15
3.5. Deterioração de sementes agrícolas e florestais.....	16
3.5.1. Detecção de fungos em sementes florestais	17
3.5.2. Fungos deterioradores de sementes florestais	17
3.5.2.1. O gênero <i>Penicillium</i>	18
3.5.2.2. O gênero <i>Fusarium</i>	18
3.5.2.3. O gênero <i>Pythium</i>	19
3.6. Taninos na proteção da deterioração de sementes	20
3.6.1. Taninos condensáveis.....	22
3.6.2. Taninos hidrolisáveis.....	22
3.7. Atividade antimicrobiana de taninos.....	23
3.8. A espécie <i>Pinus taeda</i> L. (Pinaceae)	23
3.8.1. Clima e temperatura ideais de cultivo.....	24
3.8.2. Importância da espécie <i>Pinus taeda</i> no Brasil.....	24
3.8.3. Produção e armazenamento de sementes florestais	25
4. REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO I: Tanino comercial de <i>Acacia mearnsii</i> no controle de fungos	37
RESUMO.....	37
1. INTRODUÇÃO.....	38

2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1 Origem das sementes, substrato para mudas florestais e fungos.....	39
2.2 Isolamento e repicagem dos fungos do substrato de viveiro comercial	39
2.3 Avaliação do tanino na inibição dos fungos.....	40
2.4 Efeito do tanino na germinação de sementes na presença de fungos	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.2 Efeitos da embebição das sementes no tanino no crescimento dos fungos	46
3.3 Efeitos do tanino na germinação das sementes em presença de fungos	50
4. CONCLUSÕES	53
5. REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO II: Tanino comercial de <i>Acacia mearnsii</i> na qualidade fisiológica de sementes de <i>Pinus taeda</i>	58
RESUMO.....	58
ABSTRACT	58
1. INTRODUÇÃO.....	60
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	61
2.1 Origem das sementes, do tanino e local do experimento.....	61
2.2 Análise da qualidade das sementes pelo teste de tetrazólio.....	61
2.3 Condutividade elétrica das sementes tratadas com tanino	62
2.4 Curva de embebição das sementes de <i>Pinus taeda</i>	63
2.5 Teste de germinação das sementes tratadas com tanino	63
2.6 Análise estatística	64
3. RESULTADOS E DISCUSSAO	64
3.1. Teste tetrazólio, condutividade elétrica, umidade e absorção de água	64
3.2. Parâmetros de qualidade das plântulas de <i>Pinus taeda</i>	67
4. CONCLUSÕES	70
5. REFERÊNCIAS	71

1. INTRODUÇÃO GERAL

As espécies de gênero *Pinus* foram inicialmente introduzidas no Brasil para fins ornamentais, por imigrantes europeus, sendo as primeiras experiências relacionadas à sua silvicultura no Brasil por volta de 1948, iniciadas pelo Serviço Florestal do Estado de São Paulo, com a introdução de espécies de pinheiros americanos (SHIMIZU, 2008). Adicionalmente, passaram a desempenhar papel fundamental para a economia e desenvolvimento da Região, consistindo na principal matéria-prima para a movimentação do setor florestal da região, conforme a Indústria Brasileira de Árvores - IBÁ (2017) e Vasques et al. (2007).

Dentre as espécies do gênero, o *Pinus taeda* L., é uma espécie originária dos Estados Unidos da América, cultivada em extensas áreas no Brasil para fins de florestamento e reflorestamento (MARCHIORI, 1996), para produção de papel, celulose e madeira serrada no Brasil (EMBRAPA, 2011). Principalmente nas Regiões Sul e Sudeste, incluindo as partes serranas do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, bem como as áreas mais chuvosas do sul dos estados de São Paulo e Minas Gerais (CONSTANTINO, 2009). Sendo uma das espécies florestais mais cultivadas para fins de florestamento e reflorestamento, e segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA (2011). Marchiori (1996) destaca a qualidade de sua madeira para a produção de produtos sólidos e painéis reconstituídos.

Assim, para atender à demanda, plantios florestais de alta produtividade são indispensáveis para o desenvolvimento de sistemas silviculturais rentáveis. No setor florestal, a técnica de cultura de tecidos denominada propagação *in vitro* é a mais difundida, apresentando aplicações comprovadas (XAVIER et al., 2009). Essa alta produtividade depende das condições edáficas do sítio (FERNÁNDEZ et al., 2012). No entanto, muitas espécies florestais ainda são propagadas por via seminal, principalmente as nativas e aquelas que produzem sementes grandes, com é o caso das pertencentes ao gênero *Pinus*. Assim, a ocorrência por patógenos pode comprometer o vigor das sementes e o desenvolvimento das plantas.

A contaminação das sementes de espécies florestais por patógenos pode ocorrer tanto naturalmente, no seu local de produção, principalmente nos estágios de floração e formação das sementes, como também nos processos de colheita e beneficiamento (JACCOUD FILHO; DABUL, 2011). Alguns dos problemas associados à utilização de produtos químicos para o controle de doenças em plantas incluem

frequentes falhas no controle pela aquisição de resistência por parte dos fitopatógenos e contaminação ambiental (HILLEN et al., 2012).

Em função destas preocupações houve incentivo para que os pesquisadores e produtores buscassem novos caminhos para o controle de doenças nas mais diferentes culturas (VENZON, 2006). Uma possível solução pode ser encontrada na própria natureza, visto que as plantas produzem diversos compostos orgânicos, denominados de metabólitos secundários, que possuem direta associação com a relação planta/meio ambiente (SIMÕES et al., 2007), e que podem ser extraídos dos vegetais.

Os extratos vegetais podem inibir diretamente os patógenos, como também induzir resistência nas plantas (CELOTO et al., 2008). Dentre os materiais extraídos, podem ser citadas as substâncias tânicas. O uso de tanino adicionado nas sementes pode ajudar na prevenção do ataque de fungos (LAMICHANEY; KATIYAR, 2017). Taninos são compostos polifenólicos que são conhecidos por terem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e também por evitar que as sementes germinem precocemente, assim como e reduzir a susceptibilidade a insetos (SAITOH et al., 2007).

As propriedades antimicrobianas dos taninos são bem conhecidas, pois atuam como estimulante de crescimento das plantas, além de possuírem efeitos contra o crescimento de bactérias e leveduras, em uma gama de patógenos em produtos de origem alimentar e microrganismos infecciosos aos seres vivos (AGUILERA-CARBO et al., 2008; AKHTAR et al., 2015).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o efeito de extratos de tanino no controle de fungos e na germinação das sementes de *Pinus taeda*.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar possíveis fungos em substrato comercial para viveiro florestal;
- Analisar o possível desenvolvimento de fungos na presença de tanino;
- Determinar a viabilidade e a germinação das sementes de *Pinus taeda*;
- Avaliar a eficiência do tanino no teste de condutividade elétrica e a capacidade de embebição em sementes de *P. taeda*.

- Analisar o efeito do tanino na germinação de sementes *Pinus taeda*

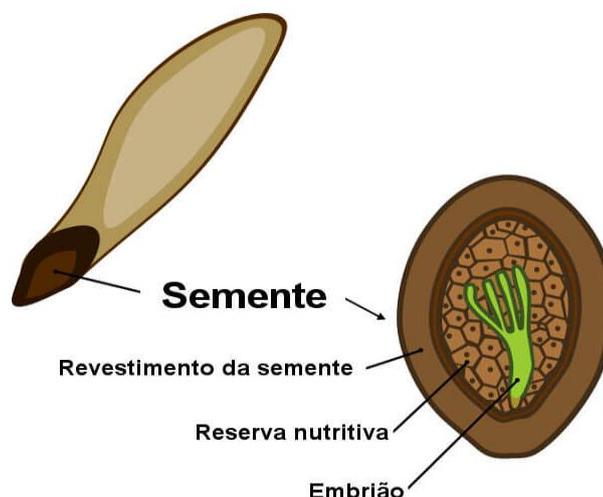
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Características gerais da semente

A semente é um óvulo fertilizado e desenvolvido após a fecundação, com grandes diferenças físicas entre espécies. Suas características morfológicas, biológicas e bioquímicas desempenham importante papel no sucesso da plântula, capaz de reproduzir uma planta, constituída de tegumento, tecidos de reserva e embrião (OLIVEIRA, 2012).

Nas sementes de pinus (*Pinus taeda* L.), Figura 1, o embrião se encontra dentro da cavidade de corrosão da matriz haploide, conhecido por tecido mega gametófito. O embrião está intimamente associado, mas não faz parte de um tecido contíguo ao mesmo. Ele abriga a maioria das reservas de armazenamento das sementes, que consistem em triacilgliceróis, armazenamento de carbono, de proteínas e reserva de nitrogênio da semente (STONE; GIFFORD 1997, 1999).

Figura 1. Ilustração das partes fisiológicas de uma semente de *Pinus*.



Fonte: OLIVEIRA (2012).

Após a germinação, essas reservas são decompostas em açúcares e aminoácidos, respectivamente. Estes se movem rapidamente para as mudas, para apoiar o crescimento durante o seu desenvolvimento inicial. As reservas embrionárias, um componente menor, também são decompostas quando a germinação é completa (STONE; GIFFORD 1999).

A análise da qualidade de sementes de espécies florestais tem recebido muita atenção, uma vez que a maioria delas é propagada por via sexuada, visando à obtenção de informações que expressem a qualidade fisiológica das sementes, tanto para sua preservação como para utilização, com os mais variados interesses (REGO et al., 2010). Assim, as sementes de espécies florestais ganharam importância para a formação de mudas a serem utilizadas em programa de reflorestamento, recuperação de áreas degradadas, arborização urbana e a preservação das espécies em risco de extinção, que necessitam deste insumo (VECHIATO, 2013).

Entretanto, para várias espécies florestais, ainda não há métodos adequados para a coleta, beneficiamento, armazenamento e superação da dormência, o que limita a disponibilidade e uso das sementes (GOULART et al., 2011). Além disso, muitas espécies florestais apresentam características diferenciadas quanto à tolerância a dessecação de sementes. De acordo com Garcia e Nogueira (2008), estas características são comuns em várias espécies arbóreas tropicais e, portanto, fundamentais para a sua classificação quanto ao grau crítico de umidade, tendo em vista ser uma das informações básicas, quando se visa preservar a longevidade de uma semente.

3.2. Importância das sementes

A semente é considerada o mais importante insumo agrícola, em primeiro lugar, porque conduz ao campo as características genéticas determinantes do desempenho do cultivar; ao mesmo tempo, é responsável ou contribui para o sucesso do estabelecimento do estande desejado, fornecendo a base para a produção rentável (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes podem ser consideradas como a principal forma de propagar as espécies, bem como de propiciar a sobrevivência das plantas em condições adversas. Souza (2009) afirma que em ambientes favoráveis, como na presença de água, o metabolismo na semente, que se encontrava baixo, apenas para manter o embrião vivo, aumenta e as reservas começam a ser consumidas.

Outro importante papel das sementes é que elas servem como depósito de genes, participando da conservação da biodiversidade e sendo fonte de material que pode ser utilizado para o melhoramento genético. Considerando-se a pirâmide alimentar, elas representam um importante papel, pois as reservas acumuladas servem de alimento para vários seres vivos (SOUZA, 2009).

No ciclo de vida das plantas as sementes são responsáveis pelas novas gerações, por meio da dispersão e perpetuação das espécies, sendo a dispersão facilitada por diversas estruturas, como por exemplo, as asas, que permitem que elas sejam levadas a outras áreas e proporcionam as espécies atingir novas áreas (DAVIDE; SILVA, 2008).

As sementes permitem a continuação da vida após a senescência da planta-mãe, pois a vida embrionária pode ser quase suspensa e posteriormente recomeçada para o novo desenvolvimento, resistindo a condições que seriam fatais a planta-mãe e a outros organismos de propagação, culminando com a formação da planta (MARCOS FILHO, 2005).

Elas são ao mesmo tempo o início e a fim do ciclo da vida da planta, pois desempenham a função essencial no desenvolvimento das primeiras civilizações e hoje, são ainda a base de alimentação. A característica específica muito importante da semente é o seu pequeno tamanho e a sua durabilidade, elas podem se conservar e serem transportadas a grande distância, o que facilita a difusão e adaptação de um lugar a outro (TURNER, 2010).

3.3. Estrutura das sementes

A estrutura de semente geralmente está presente em algum momento do desenvolvimento ou na semente madura. O embrião que consiste de dois sistemas de órgãos, o Hipocótilo, o qual dará origem ao corpo da planta adulta, e os cotilédones, os quais funcionam como órgãos de reserva de importantes macromoléculas, que serão utilizados durante o estabelecimento da plântula (DAVIDE; SILVA, 2008).

Nas coníferas, a semente é nua, não há fruto, o que protege a semente é um tecido lignificado, que a envolve fazendo a sua proteção, geralmente essas sementes são providas de asa membranosa que irá facilitar sua dispersão, essa estrutura pode levar mais de ano para atingir a maturação (HOPPE et al., 2004).

3.4. Germinação da semente

A germinação é um processo eficaz que envolve a degradação das reservas da semente para fornecer energia durante a respiração e síntese de novas células antes do desenvolvimento embrionário, o qual é responsável pelo aumento da digestibilidade

e aumento dos valores nutritivos, culminando na elevação do teor de proteínas, ácido ascórbico e outras vitaminas (MIGLANI; SHARMA, 2016).

Ela pode ser definida como a soma dos processos que se iniciam com a embebição de água e termina com a protrusão da raiz primária pelo endosperma ou tegumento (DAVIDE; SILVA, 2008; TAIZ; ZEIGER, 2009). Do ponto de vista da tecnologia de sementes, deve-se considerar germinada aquela que apresentar emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para a formação de uma plântula normal em condições favoráveis (BRASIL, 2009).

Para germinar, a semente deve estar viável, madura morfofisiologicamente e não apresentar dormência. Segundo Taiz e Zeiger (2009), a germinação de sementes viáveis não dormentes é desencadeada por uma sequência de reações metabólicas relacionadas com a síntese e degradação de moléculas que culminam na protrusão da raiz primária.

As sementes de essências florestais possuem, de maneira geral, baixas porcentagens de germinação, pois os microrganismos podem causar anormalidades e lesões nas plântulas, bem como deterioração de sementes (VECHIATO, 2013). Também apresentam comportamento muito variável em relação à temperatura (BRANCALION et al., 2010).

3.4.1. Condições necessárias à germinação

A germinação das sementes é influenciada por fatores ambientais, como temperatura e luz, os quais podem ser manipulados, a fim de aperfeiçoar a porcentagem, velocidade e uniformidade de germinação, resultando na obtenção de plântulas mais vigorosas e na redução de gastos de produção (NASSIF et al., 2017). No entanto, o efeito do envelhecimento na germinação de sementes em condições iluminadas pode ser diferente que na escuridão (DELGADO-SANCHEZ et al., 2011).

Para que a germinação ocorra, uma série de eventos fisiológicos, influenciados por fatores internos e externos devem agir sobre a semente. Eles podem atuar isoladamente ou em interação com os demais, sendo de grande importância conhecer sua ação no processo germinativo. Para otimizar a porcentagem de germinação, a velocidade e a uniformidade, resultando na produção de mudas mais vigorosas (OLIVEIRA, 2012).

A germinação é o estabelecimento da plântula que ocorre quando as condições intrínsecas (da própria semente) e extrínsecas (do ambiente) são favoráveis, para a retomada do crescimento do embrião. De acordo com Delgado-Sanchez (2013) e Souza (2009) é necessário que as sementes não apresentem inibidores, como ácido abscísico (ABA), e que as condições ambientais sejam favoráveis (disponibilidade de água, presença de oxigênio, luz e temperatura). Assim, para que a semente germine, há a necessidade de certas situações ideais, as quais constituem as chamadas condições intrínsecas e extrínsecas (OLIVEIRA, 2012).

As condições intrínsecas são aquelas internas da própria semente, determinadas por suas características genéticas (SILVA et al., 2007). São elas: a semente deve estar viva (naturalmente esta é uma condição primordial e indiscutível); ter desenvolvimento e maturidade (a semente deve estar completamente desenvolvida e madura); e ser completa (deve estar totalmente formada, pois caso a semente venha apresentar carência de alguma de suas estruturas essenciais, não ocorrerá à germinação). Enquanto as condições extrínsecas são as proporcionadas pelo meio ambiente as quais as sementes estão sujeitas (umidade, temperatura, luz e oxigênio) (OLIVEIRA, 2012).

A padronização destas condições, consideradas ótimas, é importante para que os resultados dos testes de germinação possam ser reproduzidos e comparados, dentro de limites tolerados pelas Regras para Análises de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Nos testes de germinação em laboratório, as sementes são consideradas germinadas quando, em condições ideais, demonstram sua aptidão para produzir uma plântula normal (BRASIL, 2009).

3.4.2. Aspectos morfofisiológicos da germinação

A maioria das sementes germina por ruptura irregular do tegumento, o que ocorre nas proximidades da micrópila; ou o tegumento seminal se rompe por meio de fendas bem definidas, formando duas ou mais valvas. Pode ser também pela formação de um opérculo; nesse caso, a parte micropilar da semente é descartada ou empurrada pelo embrião emergente (SOUZA, 2009).

A germinação tem início com a absorção de água pela semente e termina com o alongamento do eixo embrionário, em que a protrusão da raiz primária através do tegumento é o ponto crucial que identifica esse processo. Existem sementes que, pelas características físicas e químicas do tegumento, apresentam estrutura e consistência

compactas e impermeáveis à água e gases, que constituem inibições mecânica e química da germinação (BEWLEY; BLACK, 1994).

O estudo dos aspectos morfológicos da germinação contribui para a propagação das espécies, pois aborda a classificação da germinação em relação à posição dos cotilédones. Além de auxiliar na interpretação e padronização dos testes de germinação, bem como permite a identificação das espécies em campo (BELTRATI, 1995).

3.5. Deterioração de sementes agrícolas e florestais

Denomina-se deterioração da semente toda e qualquer alteração degenerativa que ocorre nesta, motivado pelo desequilíbrio funcional dos tecidos ativos, provocando a inativação progressiva do seu metabolismo (OLIVEIRA, 2012). Ela é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, que ocorre de maneira progressiva, determinando a queda da qualidade e culminando com a morte da semente (MARCOS FILHO, 2005; OLIVEIRA, 2012).

Da maturidade fisiológica até o momento de sua utilização na semeadura, as sementes estão sujeitas à perda da qualidade fisiológica pelas mudanças bioquímicas e fisiológicas que passam a ocorrer. A deterioração, em muitos casos imperceptíveis na fase inicial, se manifesta no decorrer do tempo, pelos reflexos negativos no vigor (GARCIA et al., 2004).

Assim, um grande problema para a produção de sementes são os patógenos e insetos que degradam a semente, assim como os fungos que invadem o embrião e o endosperma ocasionando a podridão, além de comprometer as raízes e colo, conseqüentemente comprometendo a produção, qualidade, palatabilidade e a germinação das sementes (SACHS et al., 2012). A deterioração da semente não pode ser evitada, porém a sua velocidade pode ser controlada até certo ponto, pelo emprego de técnicas adequadas de produção, coleta, secagem, beneficiamento e armazenamento (OLIVEIRA, 2012).

O uso racional dos recursos naturais é uma alternativa viável para as famílias agricultoras, que entre os recursos naturais disponíveis, pode-se citar a utilização de plantas medicinais que são acessíveis em suas propriedades (SOUSA, 2012). Os

extratos vegetais podem inibir diretamente os patógenos, como também induzir resistência nas plantas (CELOTO et al., 2008).

3.5.1. Detecção de fungos em sementes florestais

A identificação do patógeno é realizada com base nas suas características, tanto macroscópica, quanto microscópica. Os produtos químicos fungistáticos ou bacteriostáticos podem ser usados quando se quer detectar, respectivamente, a presença de fungos ou bactérias nas sementes (PARISI; SANTOS, 2011).

Os métodos utilizados para detecção de fungos anamórficos, recomendados e que podem ser utilizados em sementes florestais compreendem os métodos do papel de filtro (*blotter-test*), papel de filtro modificado com congelamento (*deep-freezer*) e do plaqueamento em meio de cultura (SANTOS et al., 2011; VECHIATO, 2013).

A maioria dos patógenos transmitidos por sementes não pode ser detectada por inspeções visuais, estando esses normalmente contaminando-as por esporos invisíveis a olho nu ou pela presença de micélios, infectando internamente (SANTOS et al., 2011).

3.5.2. Fungos deterioradores de sementes florestais

Os fungos são os agentes causais mais importantes, e podem ser disseminados por meio de sementes, permanecendo viáveis por períodos prolongados de tempo (LAZARETTO; MUNIZ; SANTOS, 2010). Após a infecção, geralmente os fungos xerófilos ou tolerantes às condições secas produzem propágulos de resistência, como clamidósporos, ou micélios dormentes, capazes de permanecer viáveis por longos períodos nas sementes (RIBEIRO; BRITO 2010).

Os danos mais frequentes causados por fungos são manchas necróticas, as descolorações de cascas, deformações, apodrecimentos, como consequência, diminuição do vigor, perda do poder germinativo da semente, problemas na formação das mudas, além de se constituírem em focos primários de infecção no viveiro e no campo (OLIVEIRA et al., 2011).

Os fungos associados às sementes podem ser diferenciados entre aqueles encontrados no campo, que se estabelecem na semente durante o período de crescimento e maturação, ou seja, antes da colheita e os denominados de fungos de armazenamento, os quais podem invadir a semente durante tal período. Os gêneros

Aspergillus e *Penicillium*, que causam podridão e deterioração das sementes com teor de umidade em torno de 25%, são os mais representativos (VECHIATO, 2013).

Nas regiões tropicais, a umidade e a temperatura inapropriada são favoráveis ao crescimento e desenvolvimento de patógenos, fazendo com que sementes das espécies originárias dessas regiões tornem-se vulneráveis ao ataque dos mesmos (NASCIMENTO et al., 2006).

Os fungos que atacam as sementes de espécies florestais não têm sido estudados devida atenção ao longo dos anos; consequentemente há desconhecimento sobre os mecanismos de transmissão, método de penetração na semente, modos de ação e danos causados pelos mesmos (SINGH, 1997). Santos et al. (1997) observaram a presença dos fungos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Chaetomium* sp., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Penicillium* sp., *Pestalotia* sp., *Rhizopus* sp. e *Trichoderma* sp., sendo o *Phomopsis* sp. responsável pelas maiores perdas na germinação de sementes de baru (*Dipteryx alata*).

3.5.2.1. O gênero *Penicillium*

Segundo Monteiro, 2012; Houbraken e Samson, (2014), o gênero *Penicillium* é dividido, atualmente em três subgêneros (*Talaromyces*, *Aspergilloides* e *Penicillium*). As espécies desse gênero estão presentes no mundo todo e são caracterizadas por não serem tão exigentes quanto ao aspecto nutricional e toleraram uma gama de condições físico-químicas para o crescimento. A maioria das espécies é sapróbia, comumente encontrada no solo, sementes, grãos, no ar, e, inclusive, em ambientes aquáticos (PITT, 1979; 2014).

Penicillium é um típico fungo de armazenamento, relatado em vários gêneros florestais como *Pinus*, *Peltophorum*, *Acacia*, *Eucalyptus* e *Cedrella* (SANTOS et al., 2001). No aspecto macromorfológico do gênero, pode-se observar que as colônias são, geralmente, de crescimento rápido e radial, em tons de verde, às vezes branco ou rosado, em sua maioria composta por uma densa rede de conidióforos (PITT, 1979; 2014).

3.5.2.2. O gênero *Fusarium*

Fusarium é um gênero cosmopolita de fungos filamentosos de ascomiceto (*Sordariomyce*, *Hypocreales* e *Nectriaceae*) que inclui muitos patógenos vegetais produtores de toxinas de importância agrícola. Coletivamente, as doenças de *Fusarium*

incluem murchas, apodrecimentos e cancos de muitas culturas hortícolas, de campo, ornamentais e florestais, em ecossistemas agrícolas e naturais (ABDEL-AZEEM et al., 2019).

Os membros do gênero *Fusarium* são componentes predominantes de diferentes ecossistemas em uma gama de zonas ambientais e climáticas, pois podem colonizar uma grande variedade de substratos. E também um gênero típico do solo, amplamente distribuído e geralmente abundante em todos os tipos de solos ao redor do mundo (BACKHOUSE et al., 2001). Além disso, ele pode ser encontrado em habitats aquáticos, incluindo água doce e salgada (PALMERO et al. 2009).

O gênero *Fusarium* foi classificado por Link em 1809 como espécies com fusiformes, esporos não septados carregados em estroma, tendo como base o *Fusarium roseum*. Todavia, o principal argumento de que a taxonomia do gênero *Fusarium* ainda é complexa é que várias espécies pertencentes a esse gênero é embasada em vários fatores morfológicos, fisiológicos, e características ecológicas (EDELI-HERMANN et al., 2015).

3.5.2.3. O gênero *Pythium*

O *Pythium* é um gênero nocivo de patógenos vegetais encontrado em todo o mundo. Mais de 120 espécies de *Pythium* foram identificadas, e a maioria delas é de origem saprófita e patógenos vegetais com amplas faixas de hospedeiros (MARTIN; LOPER, 1999). São de hábitos saprotróficos e podem sobreviver por um período longo de tempo em matéria vegetal em decomposição (OWEN-GOING et al., 2008).

O método tradicional usado para a identificação e discriminação de espécies de *Pythium* é a inspeção microscópica de características morfológicas (PETTITT et al., 2002).

A maioria das espécies de *Pythium* são patógenos terrestres que causam podridão radicular devastadora e amolecimento de doenças em cultivos terrestres importantes, e alguns deles expandem seu espectro hospedeiros de fungos, algas e mamíferos, incluindo humanos (GAASTRA et al., 2010).

3.5.2.4. O gênero *Rhizopus*

Dentre as espécies do gênero *Rhizopus*, tem-se *R. oligosporus*, *R. arrhizus*, *R. circicans*, *R. delemar*, *R. oryzae*, *R. microsporus*, *R. formosa* e *R. stolonifer* (RHANDIR; SHETTY, 2007). Os fungos deste gênero podem causar a mucormicose em seres humanos. A maioria dos sintomas da doença resulta de lesões necróticas invasivas; cutânea, pulmonar, gastrointestinal e rino-órbito-cerebral, esta última considerada a forma mais comum da patologia (PRABHU; PATEL, 2004). Elas possuem uma enzima chamada cetona redutase, que permite o crescimento do fungo em ambientes ricos em glicose. Portanto, pacientes diabéticos, principalmente aqueles com cetoacidose, estão susceptíveis à proliferação do agente (ANDRADE et al., 2013).

O gênero *Rhizopus*, é considerado cosmopolita, pois suas espécies são capazes de ocorrerem em diversos ecossistemas e condições que cumprem várias funções biológicas, sendo de interesse científico nos campos biotecnológico-gastronômico, já que espécies como *R. oryzae* e *R. oligosporus*, por processos de fermentação de grãos de soja produzem produtos com efeitos metabólicos, fisiológicos ou efeitos benéficos à saúde humana (EGOUNLETY; AWORH, 2003; ZHANG-FENGYING, 2007).

3.6. Taninos na proteção da deterioração de sementes

Os taninos são complexos polifenóis conhecidos por terem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e também possuem ação de proteção em sementes para inibir sua germinação precoce. São compostos que atuam ainda reduzindo a susceptibilidade ao ataque de insetos, uma vez que por serem adstringentes, exercem efeitos negativos sobre predadores em sementes (SAITOH et al., 2007).

Conforme mencionado por Battestin et al. (2004), os taninos são metabólicos que ocorrem em uma ampla variedade de vegetais, podendo ser encontrados nas raízes, casca, folhas, frutos, sementes e seiva da planta. A ausência de tanino torna as sementes propensas a ataques de fungos e insetos antes da germinação; logo, o uso de tanino adicionado nas sementes pode ajudar na prevenção ao ataque de fungos e fornecer suporte de campo (LAMICHANEY; KATIYAR, 2017).

Muitos metabólitos naturais são biossintetizados pelas plantas como consequência ao ataque de bactérias patogênicas e fungos. Estes compostos antimicrobianos, envolvidos no mecanismo de defesa das plantas, pertencem a diferentes classes de compostos naturais como terpenóides, saponinas, fenóis e

fenilpropanóides, pterocarpanos, estilbenos, alcalóides e glucoinolatos (OSBOURN; LANZOTTI, 2009).

Dessa forma, os compostos fenólicos vegetais (polifenóis) são biologicamente ativos, incluindo várias classes como ácidos fenólicos, flavonóides, antocianinas e taninos propriamente dito. Estes compostos exibem atividades antioxidantes e antirradicais, que proporcionam redução dos riscos de desenvolvimento de várias doenças (BEHAMMOU et al., 2008; ATMANI et al., 2009).

Atividade fitotóxica de alguns destes polifenóis contra espécies vegetais, bem como seu potencial como herbicidas e fungicidas naturais são conhecidos pela comunidade científica e já foram descritos (PIZZI 2008; STEVANOVIC et al., 2009; ROYER et al., 2013; ZILLICH et al., 2015).

Alguns polifenóis isolados dos exsudatos da raiz empregado em um método alternativo para o controle biológico de plantas parasíticas foi discutido e elucidado por Cimmino (2013), sendo a estrutura de algumas fitoalexinas pertencentes a diferentes subgrupos de polifenóis, bem como sua potencial atividade antifúngica. Alguns desses compostos estão também presente no tecido de plantas doentes como sua quantidade aumentada pela consequência do ataque de fungos e de bactérias patogênicos, sendo estes polifenóis (fitoalexinas) um dos mecanismos mais eficazes da defesa da planta (ECHEVERRI et al., 2012).

As espécies florestais mais utilizadas na produção comercial de taninos são a acácia-negra (*Acacia mearnsii*) e o quebracho (*Schinopsis* sp.). Além dessas espécies, Paes et al. (2006) citaram como grandes produtoras o *Eucalyptus adstringens* (a casca contém de 40 a 50% de taninos), o mangue-vermelho e o mangue-branco, respectivamente *Rhizophora candelaria* e *Rhizophora mangle* (casca com 20 a 30% de taninos). A eficácia antibacteriana dos taninos deve-se, provavelmente, à alteração da funcionalidade da membrana biológica em função do desacoplamento da fosforilação oxidativa pelas suas propriedades lipofílicas, causando a perda de conteúdo citoplasmático (CABRAL et al., 2013; PANE et al., 2016; GUPTA, BIRDI, 2017).

Além disso, o termo tanino inclui substâncias fenólicas poliméricas caracterizadas por suas propriedades de combinação com proteínas. Eles representam uma classe muito importante de polifenóis, cujo peso molecular é entre 500 e 3000 Daltons. Os taninos são divididos em taninos hidrolisáveis e condensados (PIZZI, 1994; IGNAT et al., 2011).

3.6.1. Taninos condensáveis

Os taninos condensados (também chamados proantocianidinas poliméricas) são substâncias polifenólicas naturais encontradas em abundância em muitas plantas lenhosas (PIZZI, 1994). Certos taninos condensados são produzidos comercialmente a partir de madeiras e cascas de plantas lenhosas, sendo utilizados como matéria-prima para a produção de adesivos para a colagem em madeira desde a década de 1970 (KADOKAWA et al., 2008). De acordo com Sereme et al. (2008) algumas plantas produtoras de taninos são pertencentes às famílias Anacardiaceae, Combretaceae, Fabaceae-Mimosoideae.

Eles são oligômeros complexos ou polímeros de flavan-3-ol derivados da catequina e caracterizam-se pela resistência à hidrólise e somente ataques químicos fortes podem degradá-los (GARON; GUÉGUEN, 2014), sendo encontrados em quantidades significativas na casca de várias espécies de árvores, dentre elas àquelas pertencentes ao gênero *Pinus* (PEPINO et al., 2001). São resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo de sua estrutura (BATTESTIN et al., 2004).

Os taninos condensados em particular são mais resistentes ao ataque microbiano do que os hidrolisáveis e têm efeitos tóxicos mais fortes sobre as populações microbianas (PANNO et al., 2013).

3.6.2. Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis são ésteres de D-glicose e ácido gálico e seus derivados, caracterizam-se pelo fato de poderem ser degradados por hidrólise química (alcalina ou ácida) ou enzimática (GARON; GUÉGUEN, 2014). Estão presentes, principalmente em extratos de cascas e madeiras das árvores dos gêneros *Terminalia*, *Phyllanthus* e *Caesalpinia*. São constituídos de misturas de fenóis simples, como pirogalol e ácido elágico, e também ésteres do ácido gálico ou digálico com açúcares, principalmente glicose (HERGERT, 1989).

As propriedades antimicrobianas de taninos hidrolisáveis são bem conhecidas. Eles atuam como inibidores de crescimento para muitos microrganismos incluindo bactéria, leveduras, uma gama de patógenos de origem alimentar e microrganismos infecciosos (AGUILERA-CARBO et al., 2008; AKHTAR et al., 2015).

3.7. Atividade antimicrobiana de taninos

Taninos são considerados poluentes muito recalcitrantes em águas residuais de origem industrial diversa, como por exemplo, vinícolas, cervejarias e também de águas residuárias em oficinas mecânicas (MOREIRA et al., 2015). Uma vez que, as bactérias são ineficazes de remoção de compostos caracterizados pela alta toxicidade e recalcitrância (LOFRANO et al., 2013).

Conforme Panno et al. (2013), os taninos possuem atividades antimicrobianas contra alguns fungos filamentosos, leveduras e bactérias, sendo resistentes aos mesmos pela falta do desenvolvimento de mecanismos adaptativos em nichos ecológicos diversos e vias para sua degradação em habitats naturais.

A presença de compostos fenólicos tem sido determinada por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas e por métodos colorimétricos, sendo esses últimos mais comuns (RIBEIRO, 2011).

3.8. A espécie *Pinus taeda* L. (Pinaceae)

Espécies do gênero *Pinus* são originárias das planícies adjacentes do Golfo do México e Costa Atlântica dos Estados Unidos da América (EUA). Representam as mais importantes espécies presentes nas florestas da Europa, EUA e Canadá. Em sua região de origem, as principais espécies ocorrentes são o *P. taeda*, *P. elliottii* e o *P. patula* (MARCHIORI, 2005).

O Brasil, conforme dados da Industria Brasileira de Árvores - IBÁ (2017), possui 7,84 milhões de hectares de florestas plantadas, sendo 1,6 milhões com espécies de *Pinus*, concentrando-se no estado do Paraná (42%) e em Santa Catarina (34%). Nos últimos cinco anos, a área plantada com esse gênero vem caindo a uma taxa de 0,7%, principalmente, pela substituição por eucalipto.

Apesar de existirem diversas técnicas de propagação vegetativa utilizadas atualmente, como a cultura de tecidos, de embriões, a polinização *in vitro*, a cultura de protoplastos e a microenxertia. Além das mais tradicionais como a estaquia, enxertia, alporquia e mergulhia. O *P. taeda* pode ser propagado por meio de sementes, já que estas são produzidas em grande escala (XAVIER et al., 2013). Pelas sementes serem aladas e dispersas pelo vento a longas distâncias. Além da planta possuir tolerância à

sombra, curto período de juvenildade e maior longevidade, Zenni e Ziller (2011) e o Instituto Hórus, (2016), inclui a espécie como de risco de invasão biológica.

3.8.1. Clima e temperatura ideais de cultivo

O clima da maioria das formações naturais de *P. taeda* é úmido, com precipitação média anual variando de 1.020 a 1.520 mm e temperatura média entre 13 e 24 °C (LORENZI et al., 2003). É considerada uma espécie pioneira nas regiões onde ocorre naturalmente, apresentando ampla capacidade de adaptação, crescimento rápido, baixa exigência nutricional e rusticidade (AGUIAR et al., 2011).

O *P. taeda* é uma espécie monoica, apresentando flores unissexuais, mas distribuídas no mesmo indivíduo; seu sistema reprodutivo é alógamo, sem a presença de autofecundação (SHIMIZU, 2008). Os grãos de pólen têm câmaras aeríferas, que lhes permitem o transporte pelo vento (polinização anemófila) (PALLARDY, 2008), sendo liberado no período de agosto a setembro no Brasil (SHIMIZU; SEBBENN, 2008).

O pólen apresenta alta viabilidade quando armazenado a baixas temperaturas (-18 a - 20 °C) e baixa umidade. As sementes também apresentam alta viabilidade quando mantidas em baixas condições de temperatura (3 - 5 °C) e de umidade (6 e 10%) (PALLARDY, 2008). O *P. taeda* se adaptou muito bem aos sítios da Região Sul do Brasil, principalmente por ter boa resistência ao frio. Algumas procedências, como Carolina do Norte, apresentam grande tolerância a invernos rigorosos (SHIMIZU, 2008).

3.8.2. Importância da espécie *Pinus taeda* no Brasil

A introdução de espécies exóticas florestais no Brasil trouxe grande incremento ao desenvolvimento socioeconômico do país, principalmente nas áreas não adequadas ao cultivo agrícola, pelos fatores como clima e solo (SAMPAIO et al., 2000). Dentre as espécies de *Pinus* plantadas, segundo a Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas - ABRAF (2012), o *P. taeda* ocupa a maior área e está presente em 11 estados brasileiros.

Grande parte do sucesso dos plantios dessas espécies ocorre pela alta produtividade (WEAR; GREIS 2002) e a qualidade da sua madeira, utilizada nas indústrias de painéis reconstituídos, laminadoras, serrarias, celulose e papel e na forma

roliça (construção civil, postes e moirões), (LORENZI et al., 2004, ABRAF, 2012). Esta espécie é plantada também em outros países para a produção de madeira destinada ao processamento industrial (AGUIAR et al., 2014).

Na Região Sul do Brasil o *P. taeda* tem sido uma das espécies florestais exóticas mais expressivas economicamente (GONÇALVES; BENEDETTI, 2005). Principalmente, pela sua utilização como fonte de matéria-prima para várias indústrias do setor florestal brasileiro (ANDREJOW; HIGA, 2009). Ele é a espécie preferida a produção de celulose e papel, uma vez que, além de seu bom desenvolvimento e rendimento, apresenta baixo teor de resina na madeira (SHIMIZU, 2008). Essa espécie também se tornou a principal matéria-prima de bioenergia, usada para a produção de etanol de segunda geração (FREDERICK JUNIOR et al., 2008).

3.8.3. Produção e armazenamento de sementes florestais

A produção e a qualidade das sementes florestais são afetadas por diversos fatores, como temperatura ambiente, ação dos dispersores, presença de pragas e doenças, e intervenção antrópica (ARAÚJO et al., 2014). Além disso, as deficiências minerais e hídricas do solo e a incidência de pragas e doenças, ocorridas durante a maturação das mesmas, podem impedi-las de atingirem a qualidade desejável e acelerar a deterioração no armazenamento (POPINIGIS, 1985). Além destes fatores, há também a influência das variações meteorológicas, como a irregularidade e má distribuição das chuvas, que são capazes de comprometer a produção e qualidade, pois a maioria dos frutos poderá apresentar sementes malformadas ou inviáveis para a germinação (OLIVEIRA, 2011).

Assim, a conservação das sementes pode ser influenciada por fatores como a qualidade inicial teor de água, secagem, ataque de pragas, grau de injúria mecânica, embalagem e condições ambientais de armazenamento, principalmente temperatura e umidade relativa (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O armazenamento de sementes florestais pode ser definido como a utilização de um conjunto de condições e técnicas que concorrem para manter a qualidade fisiológica da semente, por meio da minimização da velocidade dos processos de deterioração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Diversas técnicas são estudadas em busca de melhores condições de armazenamento, e a principal delas é, ainda, a redução do seu metabolismo, seja pela diminuição da temperatura ou remoção da água (KOHAMA et al., 2006).

A temperatura tem influência direta na velocidade das reações bioquímicas acelerando a respiração e o desenvolvimento de microrganismos nas sementes. Dessa forma, a melhor maneira de conservar a qualidade das sementes é o armazenamento em condições que mantenham o embrião em baixa atividade metabólica, e as condições de baixa umidade relativa e temperatura são, geralmente, indicadas para esta finalidade (MARCOS FILHO, 2005). Segundo Berbert et al. (2008), o teor de água é o fator de maior significância na prevenção da deterioração da semente ou grão durante o armazenamento. Assim, mantendo-se baixas a umidade e temperatura, o ataque de microrganismos e a respiração terão seus efeitos minimizados.

Alguns autores como KONG et al. (2008) e MALAKER et al. (2008) destacam que o controle da temperatura e a umidade são fatores importantes para se evitar e alterações na qualidade da semente ou grão e, em contrapartida, dos subprodutos gerados. Mesmo assim, o processo de deterioração é inevitável, mas pode ser retardado dependendo das condições de armazenamento e das características da semente (CARDOSO et al., 2012).

Destaca-se que o manejo pós-colheita é também de fundamental importância para garantir a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes (SANTOS 2015). Normalmente, após a colheita é necessário o beneficiamento, uma vez que, em geral, permanecem materiais aderidos ou misturados às sementes (ARAUJO et al., 2009; SANTOS, 2015).

4. REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.V.; SOUZA, V.A.; FRITZSONS, E.; PINTO JUNIOR, J.E. **Programa de melhoramento de pinus da Embrapa Florestas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. 83p. (Documentos, 233).

AGUIAR, A. V.; VALDERES, A.S.; SHIMIZU, J.U. Espécies de pinus mais plantadas no Brasil. In: **Sistemas de produção Embrapa: cultivo do pinus**. Colombo: Embrapa Florestas, 2014. Disponível em: <<https://www.spo.cnptia.embrapa.br/home>>. Acesso em: 20 set. 2019.

AGUILERA-CARBO, A.; AUGUR, C.; PRADO-BARRAGAN, L.A.; FAVELA-TORRES, E.; AGUILAR, C.N. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 78, n. 2, p.189-199, 2008.

AKHTAR, S.; ISMAIL, T.; FRATERNALE, D.; SESTILI, P. Pomegranate peel and peel extracts: chemistry and food features. **Food Chemistry**, v. 174, p. 417-425, 2015. Doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.035.

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. 382p.

AMORIM, E.L.C.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J.M.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; ARAUJO, T.A.S.; ALBUQUERQUE, U.P. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008.

ABDEL-AZEEM, A.M.; ABDEL-AZEEM, M.A.; DARWISH, A.G.; NAFADY, N.A.; IBRAHIM, N.A. *Fusarium*: biodiversity, ecological significances, and industrial applications. **Nonparametric Statistics**, v. 8, p. 201-261, 2019.

ANDRADE, F.M. **Diagnóstico da cadeia produtiva da (*Ilex paraguariensis*) erva-mate**. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/>>. Acesso em: 25 jun. 2019.

ANDRADE, V.; VELEZ, J.; XAVIER, B. Mucormicose - caso clínico. **Revista de Saúde Amato Lusitano**; v. 33, p.16-20, 2013.

ANDREJOW, G.M.P.; HIGA, A.R. Potencial de enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. provenientes de brotação apical de mudas jovens. **Floresta**, v. 39, n. 4, p. 897-903, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF 2012: ano base 2011**. Brasília, 2012. 150p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF. **Anuário estatístico da ABRAF 2013: ano base 2012**. Brasília; 2013. 142p.

ARAÚJO, E.F.; VIGGIANO, J.; SILVA, R.F. Beneficiamento de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W.M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 105-134.

ARAÚJO, V.K.R.; SANTOS, D.M.; SANTOS, J.M.F.F.; SILVA, K.A.; SOUZA, D.N.N.; ARAÚJO, E.L. Influência do status da floresta e da variação sazonal sobre o banco de sementes no semiárido brasileiro. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 136-149, 2014.

ATMANI, D.; CHAHER, N.; BERBOUCHA, M.; AYOUNI, K.; LOUNIS, H.; BOUDAUD, H.; DEBBACHE, N.; ATMANI, D. Antioxidant capacity and phenol content of selected algerian medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 303-309, 2009.

AZEVEDO, T.K.B.; PAES, J.B.; CALEGARI, L.; NASCIMENTO, J.W.B. Qualidade dos taninos de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) para a produção de adesivo tanino formaldeído. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 2, p. 507-514, 2015.

BACKHOUSE, D.; BURGESS, L.W.; SUMMERELL, B.A. Biogeography of *Fusarium*. In: SUMMERELL, B.A.; LESLIE, J.F.; BACKHOUSE, D.; BRYDEN, W.L.; BURGESS, L.W. (Eds.). **Fusarium Paul E. Nelson memorial symposium**. St. Paul: American Phytopathological Society Press, 2001.p.122-137.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L.K.; MACEDO, G.A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2004.

BELTRATI, C.M. **Morfologia e anatomia de sementes**. In: CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA DE BIOLOGIA VEGETAL. Apostila. Rio Claro: Departamento de Botânica / Instituto de Biociências /UNESP, 1995. 98p.

BENHAMMOU, N.; BEKKARA, F.A.; PANOVSKA, T.K. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 22-28, 2008.

BERBERT, P.A.; SILVA, J.S.; RUFATO, S.; AFONSO, A.D.L. Indicadores da qualidade dos grãos. In: SILVA, J.S. (Ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. p. 63-107.

BERJAK, P. Report of seed storage committee working group on the effects of storage fungi on seed viability. **Seed Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 233-253, 1984.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BHÉRING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.N.F.S.; PENA, M.F. **Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 38p. (Boletim Técnico).

BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 15-21, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

CABRAL, L.D.; PINTO, V.F.; PATRIARCA, A. Applications of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal Food Microbiology**, v. 166, n. 1, p. 1-14, 2013.

CARDOSO, R.B.; BINOTTI, F.F. DA S.; CARDOSO, E.D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 272-278, 2012.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas à *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

CIMMINO, A.; ANDOLFI, A.; ABOUZEID, M.; EVIDENTE, A. Polyphenols as fungal phytotoxins, seed germination stimulants and phytoalexins. **Phytochemistry Reviews.**, v. 12, n. 4, p. 653-672, 2013.

CONSTANTINO, V. **Efeitos de métodos de produção de mudas e equipes de plantadores na arquitetura do sistema radicular e no crescimento de *Pinus taeda* Linnaeus**. 146f. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

CUESTA, C.; ORDÁS, R.J.; FERNÁNDEZ, B.; RODRÍGUEZ, A. Clonal micropropagation of six selected half-sibling families of *Pinus pinea* and somaclonal variation analysis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 95, n. 1, p. 125-130, 2008.

DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: UFLA, 2008. 175p.

DELGADO-SANCHEZ, P.; ORTEGA-AMARO M.; JIMENEZ-BREMONT, J.F.; FLORES, J. Are fungi important for breaking seed dormancy in desert species? Experimental evidence in *Opuntia streptacantha* (Cactaceae). **Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 154-159, 2011.

DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.

EICHEVERRI, F.; TORRES, F.; QUIÑONES, W.; ESCOBAR, G.; ARCHBOLD, R. *Phenylphenalenone phytoalexins*, will be a new type of fungicide? **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 1, p.1-12, 2012. Doi: 10.1007/s11101-010-9205-x

EDEL-HERMANN, V.; GAUTHERON, N.; MOUNIER, A.; STEINBERG, C. *Fusarium* diversity in soil using a specific molecular approach and a cultural approach. **Journal of Microbiological Methods**, v. 111, p. 64-71, 2015.

EGOUNLETY, M.; AWORH, O.C. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms.). **Journal of Food Engineering**. v. 56, p.249-254, 2003.

EVIDENTE, A.; ANDOFI, A.; CIMMINO, A. Fungal phytotoxins for control of *Cirsium arvense* and *Sonchus arvensis*. **Pest Technology**, v. 5, special number 1, p. 1-17, 2011.

FERNÁNDEZ, R.A.; LUPI, A.M.; PEZUTTI, R.; MARTIARENA, R.; PAHR, N.; VON WALLIS, A. Respuesta del crecimiento de *Pinus taeda* y *Pinus elliotti* a los 10 años de edad a técnicas de establecimiento en suelos hidromórficos del noreste de Argentina. In: JORNADAS TÉCNICAS FORESTALES Y AMBIENTALES, 15., 2012, Misiones. **Anales...** Misiones: Facultad de Ciencias Forestales, UNAM - EEA Montecarlo, INTA, p 1-7, 2012.

FRANÇA NETO, J.B.; KRYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa-Cnpq, 1998. 72p. (Documentos, 116).

FREDERICK JR., W.J.; LIEN, S.; COUCHENE, C.; DEMARTINI, N.; RAGAUSKAS, A.; IISA, K. Production of ethanol from carbohydrates from loblolly pine: a technical and economic assessment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 5051-5057, 2008.

GAASTRA, W.; LIPMAN, L.J.; DE COCK, A.W.; EXEL, T.K.; PEGGE, R.B.; SCHEURWATER, J.; VILELA, R.; MENDOZA, L. *Pythium insidiosum*: an overview. **Veterinary Microbiology**. v. 146, p. 1-16, 2010.

GARCIA, D.C.; BARROS, A.C.S.A.; PESKE, S.T.; MENEZES, N.L. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 603-608, 2004.

GARCIA, L.C.; NOGUEIRA, A.C. Resposta de sementes de *Podocarpus lambertii* e *Podocarpus selowii* - (Podocarpaceae) a dessecação. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 3, p. 353-358, 2008.

GARON, D.; GUÉGUEN J.C. **Biodiversité et évolution du monde végétal**. Les Ulis: EDP Sciences, 2014. 289p.

GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. São Paulo: IPEF, 2005. 427p.

GOULART, A.C.P. **Controle do tombamento de plântulas de algodoeiro causado por *Rhizoctonia solani* pelo tratamento de sementes com fungicidas**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 31p. (Boletim de Pesquisa, 45)

GOULART, P.B.; BRANCALION, P.H.S.; MONDO V.H.V.; NOVENBE, A.D.L.C. Escarificação química para a superação da dormência de sementes de saguaraji-vermelho (*Colubrina glandulosa* PERK). (RHAMNACEAE). **Revista Árvore**, v. 35, n. 1, p. 119-124, 2011.

GOULART, S.L.; MORI, F.K.; ALMEIDA, N.F.; MENDES, R.F.; MENDES, L.M. Obtenção de taninos a partir das folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em diferentes granulometrias visando a produção de adesivos. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: UEL, p 7-9, 2008.

GUPTA, P.D.; BARDI, T.J. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 8, n. 4, p. 266-275, 2017.

HERGERT, H.J. Condensed tannic in adhesives: introduction and historical perspectives. In: HEMINGWAY, R.W.; CONNER, A.H., BRANHAM, S.J. (Eds.). **Adhesives from renewable resources**. Washington: American Chemical Society, 1989. p. 155-171.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngico *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 439-445, 2012.

HOPPE, J.M.; MALLMANN GENRO, C.J.; VARGAS, C.O.; FLORIANO, E.P.; REIS, E.R.D.; FORTES, F.O.; MÜLLER, I.; FARIAS, J.A.; CALEGARI, L.; DACOSTA, L.P.E.

Produção de sementes e mudas florestais. 2. ed. Santa Maria: UFSM/PPGEP, 2004. 388p. (Caderno Didático, 1).

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBÁ. **Relatório 2017**. Brasília, 2017. 80p. Disponível em: <http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2019.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p.1821-1835, 2011.

INSTITUTO HÓRUS. **Espécies exóticas invasoras**: fichas técnicas. Pinus [online]. São João de Meriti: Instituto Hórus; 2016. Disponível em: <http://www.institutohorus.org.br/index.php?modulo=inf_ficha_pinus_sp>. Acesso em: 23 maio 2019.

JACCOUD FILHO, D.S.; DABUL, A.N.G. Novos métodos de detecção de fungos em sementes florestais. In: SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O.M. (Eds.). **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011, p. 69-86.

JIANG, Y.N; HAUDENSHIELD, J.S; HARTMAN, G.L. Characterization of *Pythium* spp. from soil samples in Illinois. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 34, p. 448-454, 2012.

KADOKAWA, J.I.; SHINOHARA, D.; TAKEGAWA, A.; MURAKAMI, M.; KANEKO, Y.; MATSUO, T. Preparation of tannin gel by enzyme-mimetic reaction of condensed tannin without use of crosslinking agent. **Colloid and Polymer Science**, v. 286, n. 4, p. 481-485, 2008.

KOHAMA, S.; MALUF, A.M.; BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* LAM. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

KONG, F.; CHANG, S.K.C.; LIU, Z.; WILSON, L.A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 134-144, 2008.

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

LAMICHANEY, A.; KATIYAR, P.K. Plant emergence and t50 responses of two chickpea cultivar differing in seed coat colour to PEG-osmopriming at suboptimal temperature. **The National Academy of Sciences**, v. 40, n. 6, p. 399-403, 2017.

LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; SANTOS, A.F. Detection, transmission, pathogenicity and chemical treatment of fungi in *Ceiba speciosa* seeds. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 2, p. 134-139, 2010.

LIMA-JUNIOR, M.J.V. **Manual de procedimentos para análise de sementes florestais**. Manaus: UFAM, 2010. 146p.

LOFRANO, G.; MERIC, S.; ZENGİN, G.E.; ORHON, D. Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewaters: a review. **Science and Total Environment**, v. 461-462, p. 265-281, 2013.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; TORRES, M.A.V.; BASHER, L.B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 368p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MALAKER, P.K.; MIAN, I.H.; BHUIYAN, K.A.; AKANDA, A.M.; REZA, M.M.A. Effect of storage containers and time on seed quality of wheat. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, v. 33, p. 469-477, 2008.

MARCHIORI, J.N.C. **Dendrologia das gimnospermas**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2005. 161p.

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

MARQUES, M. A.; PAULA, R.C.; RODRIGUES, T.J.D. Efeito do número de sementes e do volume de água na condutividade elétrica de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 254-262, 2002.

MARTIN, F.N.; LOPER, J.E. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, p. 111-181, 1999.

MIGLIORINI, P.; LAZAROTTO, M.; MÜLLER, J.; ORUOSKI, P.; BOVOLINI, M. P.; BARBIERI, M.; VANUSSA, L.; TUNES, M.; MUNIZ, M. F. B. Qualidade fisiológica, sanitária e transmissão de patógenos em sementes de canola. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. 3, p. 67-76, 2017.

MOREIRA, F.; BOAVENTURA, R.A.R.; BRILLAS, E.; VILAR, V.J.P. Remediation of a winery wastewater combining aerobic biological oxidation and electrochemical advanced oxidation processes. **Water Research**, v. 75, p. 95-108, 2015.

MONTERIO, M.C.P. Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do cerrado. 2012. 76f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras.

PITT, J.I.; SAMSON, R.A.; FRISVAD, J.C. List of accepted species and their synonyms in the family Trichocomaceae. In: SAMSON, R. A.; PITT, J.I. (Eds.). **Integration of modern taxonomic methods of *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. Amsterdam: CRC Press, 2000. p. 9-49.

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**, v. 28, n. 1, p. 149-153, 2006.

NASSIF, S.M.L.; VIEIRA, I.G.; FERNANDES, G.D. **Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes**. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.html>>. Acesso: em 12 fev. 2019.

OLIVEIRA, A.C.S.; MARTINS, G.N.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H.D. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Revista Científica Internacional**, v. 1, n. 4, p. 1-21, 2009.

OLIVEIRA, O.D.S. **Tecnologia de sementes florestais**: espécies nativas. Curitiba: UFPR, 2012. 404p.

OLIVEIRA, T.M.; AMARAL, G.C.; FARIAS, S.G.G.; ALVES, A.R.; MAIRA, E.L.; SANTOS, L.M. Superação de dormência de sementes de mororó (*Bauhinia forficata* Linn.). **Scientia Plena**, v. 8, n. 4, p. 1-5, 2011.

OSBOURN, A. E.; LANZOTTI, V. (Eds.). **Plant-derived natural products**: synthesis, function and applications. New York: Springer-Verlag, 2009. 597p.

OWEN-GOING, T-N; BENINGER, C.W; SUTTON J.C; Hall, J.C. Accumulation of phenolic compounds in plants and nutrient solution of hydroponic peppers inoculated with *Pythium aphanidermatum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 30, p. 214-225, 2008.

PAES, J.B.; DINIZ, C.E.F.; MARINHO, I.V.; LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, v. 12, n. 3, p. 232-238, 2006.

PALLARDY, S.G. **Physiology of woody plants**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2008. 464p.

PALMERO, D.; IGLESIAS, C.; DE CARA, M.; LOMAS, T.; SANTOS, M.; TELLO, J.C. Species of *Fusarium* isolated from river and sea water of southeastern Spain and pathogenicity on four plant species. **Plant Disease** v. 93, p. 377-385, 2009.

PANE, C.; FRATIANNI, F.; PARISI, M.; NAZZARO, F.; ZACCARDELLI, M. Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. **Crop Protection**, v. 84, p. 81-87, 2016.

PANNO, L.; BRUNO, M.; VOYRON, S.; ANASTASI, A.; GNAVI, G.; MISERERE, L.; VARESE, G.C. Diversity, ecological role and potential biotechnological applications of marine fungi associated to the seagrass *Posidonia oceanica*. **New Biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 685-694, 2013.

PARISI, J.J.D.; SANTOS, A.F.D. Métodos convencionais de detecção de fungos em sementes. In: SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O. (Eds.). **Patologia de Sementes Florestais**. Colombo: Embrapa Florestais, 2011. p. 105-114.

PEPINO, L.; BRITO P.; JORGE, F.C.; DA COSTA, R.P.; GIL, M.H.; PORTUGAL, A. Comparison of quantification methods for the condensed tannin content of extracts of *Pinus pinaster* bark. In: CHIELLINI, E.; GIL, H.; BRAUNEGG, G.; BUCHERT, J.; GATENHOLM, P.; van der ZEE, M. (Org.). **Biorelated polymers**: sustainable polymer science and technology. Biorelated polymers. Boston: Springer, 2001. p. 359-369.

PETTITT, T.R.; WAKEHAM, A.J.; WAINWRIGHT, M.F.; WHITE, J.G. Comparison of serological, culture, and bait methods for detection of *Pythium* and *Phytophthora* zoospores in water. **Plant Pathology**. v. 51, p. 720-727, 2002.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FREIRE, J.M.; LELES, P.S.S.; BREIER, T.B. **Parâmetros técnicos para produção de sementes florestais**. Seropédica: EDUR/UFRJ, 2007. 188p.

PITT, J.I. *Penicillium* and *Talaromyces*: Introduction. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v. 3, p. 6-13, 2014.

PITT, J.I. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London: Academic Press Inc., 1979. 634p.

PIZZI, A. Natural phenolic adhesives I: Tannin. In: PIZZI, A.; MITTAL, K.L. **Handbook of Adhesive Technology**. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 347-358.

PIZZI, A. Tannins: major sources, properties and applications. In: BELGACEM M.N.; GANDINI, A. (Eds.). **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Oxford: Elsevier, 2008. p. 179-199.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2.ed. Brasília: Agiplan, 1985. 289p.

PRABHU, R.M.; PATEL, R. Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, p. 31-47, 2004.

RANDHIR, R.; SHETTY, K. Mung beans by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management. **Inovative Food Science Emerging Technologies**, p.197-204, 2007.

REGO, S.S.; NOGUEIRA, A.C.; KUNIOSHI, Y.S. Caracterização morfológica do fruto, das sementes e do desenvolvimento da plântula de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 52-60, 2010.

RESENDE, M.L.V.; PADUA, M.A.; TOYOTA, A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**: Manejo das doenças associados a viveiros florestais. Lavras: UFLA, 2008. 175p.

RIBEIRO, O.A. **Análise anatômica e quantificação de taninos de *Stryphnodendron adstringens* (MART.) Coville em diferentes estratos da copa e entre períodos de coleta**. 2011. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

RIBEIRO, V.V.; BRITO N.M. Fungos associados a sementes de *Cnidocolus quercifolius* Pohl et Baile em épocas distintas. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 73-76, 2010.

ROYER, M.; PRADO, M.; GARCÍA-PÉREZ, M.E.; DIOUF, P.N.; STEVANOVIC, T. Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian forest species. **Pharma Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 158-167, 2013.

SAITOH, T.; OSAWA, J.; TAKANISHI, T.; HAYAKASHI, S.; OHMORI, M.; MORITA, T.; UEMURA, S.; VIK, J.O.; STENSETH, N.C.; MAEKAWA, K. Effects of acorn masting on population dynamics of three forest-dwelling rodent species in Hokkaido, **Population Ecology**, v. 49, n. 3, p. 249-256, 2007.

SAMPAIO, P.T.B.; RESENDE, M.D.V.; ARAÚJO, A.J. Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2243-2253, 2000.

SANTOS, F.E.M.; SOBROSA, R.C.; COSTA, I.F.D.; CORDER, M.P.M. Detecção de fungos patogênicos em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Ciência Florestal**, v. 11, n. 1, p. 13-20, 2001.

SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O.M. **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestais, 2011. 236p.

SANTOS, M.F.; RIBEIRO, R.C.W.; FAIAD, M.G.R.; SANO, S.M. Fungos associados às sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 135-139. 1997.

SANTOS, S.R.G. Secagem, extração e beneficiamento. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. (Eds.). **Sementes florestais tropicais: da ecologia à produção**. Londrina: Abrates, 2015. p. 206-218.

SEREME, A.; MILLOGO-RASOLODIMBY, J.; GUINKO, S.; NACRO, M. Propriétés therapeutiques des plantes a tanins du burkina faso. **Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines**, v. 15, p. 41-49, 2008.

SHIMIZU, J.S. (Ed.). **Pínus na silvicultura brasileira**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 223p.

SHIMIZU, J.Y.; SEBBENN, A.M.; AGUIAR, A.V. Produção de resina de pinus e melhoramento genético. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. p. 193-206.

SILVA, B.K.; ALVES, E.U.; GONCALVEZ, E.P.; FRANCA, P.R.C.; NASCIMENTO, I.L.; LIMA, C.R.; BRUNO, R.L.A. Substratos para germinação e vigor em sementes de *Crataeva tapia* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 111-113, 2007.

SIMÕES C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC, 2007, 821p.

SINGH, P. Tree seed pathogens and seed diseases: their detection and management in sustainable forestry. In: PROCHÁZKOVÁ, Z.; SUTHERLAND, J.R. (Eds.). **Proceedings of the ISTA tree seed pathology meeting**. Opocno: ISTA, p. 9-22, 1997.

SIWELA, M.; TAYLOR, J.R.N.; MILLIANO, W.A.J.; DUODU, K.G. Influence of phenolics in finger millet on grain and malt fungal load, and malt quality. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 443-449, 2010.

SOUSA, M.C.F.; VIEIRA, C.G.; MARTIN, M.S.; MUZA, D.N.; CANTOS, A.A.; SILVA, C.S. Extrato bruto autoclavado de *Eucalyptus* sp. sobre o crescimento fúngico de *Penicillium* sp. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA, 21., 2012, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2012. Cd-Rom.

SOUZA, L.A. **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa: Toda Palavra, 2009. 280p.

STEVANOVIC, T.; DIOUF, P.N.; GARCIA-PEREZ, M.E. Bioactive polyphenols from healthy diets and forest biomass. **Current Nutrition & Food Science**, v. 5, n. 4, p. 264-295, 2009.

STONE, S.L.; GIFFORD, D.J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early seedling growth. I. Storage protein reserves. **International Journal of Plant Sciences**, v. 158, p. 727-737, 1997.

STONE, S.L.; GIFFORD, D.J. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early seedling growth. II. Storage

triacylglycerols and carbohydrates. **International Journal of Plant Sciences**, v. 160, p. 663-671, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Castelló de La Plana: Universitat Jaume, 2009, v. 1., 819p. (Ciències Experimentals, 10).

TURNER, M. **Les semences**. Versailles: Cta Presse Agronomique de Gembloux, 2010. 217p. (Agricultures Tropicales en Poche).

Van Der PAATS-NITERINK, A. J. **Monograph of the genus *Pythium***. Baarn: Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn and Del / Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 1981a. 242p.

Van Der PLAATS-NITERINK, A.J. Proposal for additional conservation of the generic name *Pythium* Pringsheim 1858 vs. *Artotrogus* Mont. apud Berk 1845. **Taxon**, v. 30, p. 336, 1981b.

VASQUES A.G.; NOGUEIRA, A.S.; KIRCHNER, F.F.; BERGER, R. Uma síntese da contribuição do gênero *Pinus* para o desenvolvimento sustentável no sul do Brasil. **Floresta**, v. 37, n. 3, p. 445-450, 2007.

VECHIATO, M. H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas**. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm>. Acesso: 30 dez. 2018.

VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM/UFV, 2006. 360p.

VISWANATH, V.; UROOJ, A.; MALLESHI, N. G. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (*Eleusine coracana*). **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 340-346, 2009.

WEAR, D.; GREIS, J. Southern forest resource assessment: summary of findings. **Journal of Forestry**, v. 100, n. 7, p. 6-14, 2002.

XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PANCHEL, R.M. Micropropagação e enxertia in vitro de espécies florestais. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia florestal**. Viçosa: UFV, 2009. p. 55-74.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura Clonal: princípios e técnicas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2013. 279 p.

ZHANG-FENGYING, Y.B. Isolation and identification of predominant fungi from traditional sake koji of Zhaoqing Guangdong. **Journal of China Institute of Food Science and Technology**, v. 1, p. 21-30, 2007.

ZENNI, R.D.; ZILLER, S.R. An overview of invasive plants in Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 3, p. 431-446, 2011.

ZILLICH, O.V.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U.; EISNER, P.; KERSCHER, M. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. **Internation Journal Cosmetic Science**, v. 37, n. 5, p. 455-464, 2015.

CAPÍTULO I: Tanino comercial de *Acacia mearnsii* no controle de fungos

RESUMO

Extratos vegetais tem sido utilizados como método alternativo para o controle preventivo de patógenos associados às sementes de algumas espécies florestais. Assim, objetivou-se analisar o efeito de Taninos comercial de *Acacia mearnsii* no controle de fungos de sementes de *Pinus taeda*. O experimento foi conduzido com seis concentrações de taninos (0; 4; 8; 12; 16 e 20%) em quatro fungos (*Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Pythium* spp. e *Rhizopus* spp.). As sementes de *Pinus taeda* foram desinfestadas em álcool 70% por um minuto e após, lavadas três vezes com água destilada. Um lote de 144 sementes foi embebido em cada concentração tânica por 10 minutos. Após, 12 sementes de cada lote foram colocadas em placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), previamente preparado, e adicionado uma amostra de cada fungo no centro da placa, totalizando 12 placas por fungo. As placas foram mantidas em câmara com demanda bioquímica de oxigênio (BOD) a 25 °C por um período de 25 dias, sendo observado o desenvolvimento dos fungos nas placas. As avaliações visuais mostraram que as soluções de taninos reduziram o crescimento dos fungos e, quanto maior a concentração de taninos menor a velocidade do crescimento dos microrganismos, com destaque para a solução contendo 20% de taninos.

Palavras-chave: Microorganismos, Extrato vegetais, plântulas.

ABSTRACT

Plant extracts have been used as an alternative method for the preventive control of pathogens associated with the seeds of some forest species. The objective of this work was to analyze commercial tannins of *Acacia mearnsii* in the control of *Pinus taeda* seed fungi. The experiment was conducted in a completely randomized design in a factorial scheme consisting of six concentrations of tannin (0; 4; 8; 12; 16 and 20%) of three replicates and four fungi (*Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Pythium* spp. and *Rhizopus* spp.). The seeds of *Pinus taeda* were disinfected in 70% alcohol for one minute, later washed three times with distilled water. A batch of 144 seeds was soaked in each tannic concentration for 10 minutes. After 12 seeds were placed in Petri dishes containing BDA medium previously prepared with a sample of the fungi in the center, totaling 12 plates. The plates were kept into biochemical oxygen demand camera (BOD) at 25 °C for a period of 25 days, observing the development of fungi in the plates. Visual evaluations showed that tannin reduced the growth of fungi and the higher the tannin concentration, the lower the growth speed of microorganisms, with emphasis on the solution containing 20% tannins.

Keywords: Microorganisms, Plant extract, seedlings

1. INTRODUÇÃO

Em algumas regiões, a umidade e a temperatura elevadas são favoráveis ao desenvolvimento de fitopatógenos, fazendo com que sementes de espécies florestais se tornem vulneráveis ao ataque de fungos. Este ataque tem impacto nas sementes, podendo causar danos e, até a morte das mesmas. Por isso, o tratamento profilático é um fator importante que ajuda a protegê-las contra a deterioração e manter a qualidade sanitária. Este é um fator importante na germinação, a fim de diminuir as perdas por meio da deterioração, anormalidades, lesões em plântulas bem como, promover a redução da produção de mudas em viveiros e diminuir os custos dos reflorestamentos (SILVAR et al., 2013).

Os fitopatógenos podem estar associados às sementes na sua superfície, no seu interior ou misturados às mesmas. Eles se apresentam nas mais variadas formas de propagação, desde o esporo até estruturas de resistência, o micélio, e outras estruturas específicas dos diversos grupos de fungos, bactérias, nematóides e vírus (SANTOS et al., 2011). Algumas sementes possuem compostos secundários que auxiliam na sua resistência a tais organismos.

Assim, a atividade de compostos secundários de plantas tem se tornado uma alternativa no controle de fitopatógenos, com potencial ecológico para substituir o emprego de produtos sintéticos, por meio da utilização de subprodutos de plantas medicinais, como extratos etanólicos, uma vez que apresentam em sua composição substâncias com propriedades fungitóxicas (VENTUROSOSO et al., 2011).

Dessa maneira, a preocupação de encontrar um produto natural para o controle dos fungos fitopatógenos é de grande interesse na área. Desta forma, alguns pesquisadores acreditam que a utilização dos extratos vegetais na inibição ou redução da velocidade do ataque dos fungos deterioradores possa vir a ser uma estratégia importante. Nesse contexto, a utilização de extratos tânicos e de outros fitoextrativos, pode ser uma proteção efetiva contra o ataque dos fungos em sementes agrícolas e florestais, com menos impactos negativos ao meio ambiente, que os agentes antifúngicos de origem sintética.

Assim, a procura por novos agentes antifúngicos, a partir de plantas, é intensa pela crescente resistência dos microrganismos aos produtos sintéticos. Isto torna um benefício para as pesquisas com extratos vegetais e uma crescente melhoria para o meio ambiente, pois ocorre uma redução no consumo de agrotóxicos (PIVETA et al., 2007). Como a utilização de alguns extratos vegetais tem sido utilizada como método

alternativo para inibir o desenvolvimento de fungos, e o controle de patógenos associados as sementes (MEDEIROS et. al., 2013), e em decorrência da importância de espécies do gênero *Pinus* para a silvicultura brasileira, objetivou-se analisar o efeito do tanino comercial de *Acacia mearnsii* no controle de fungos de sementes de *Pinus taeda*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem das sementes, substrato para mudas florestais e fungos

As sementes de *Pinus taeda* L. foram doadas pelo Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), Piracicaba, estado de São Paulo, por meio do setor de sementes e mudas, sendo provenientes de um Pomar Clonal de Sementes (PCS). O tanino foi fornecido pela empresa Seta S.A. Extrativa Tanino de Acácia, localizada no estado do Rio Grande do Sul, sendo este oriundo de acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild.), estando na forma de pó.

Uma amostra de substrato utilizado na produção de mudas do viveiro florestal comercial da empresa Klabin S.A., localizada no município de Telêmaco Borba, estado do Paraná, foi fornecida visando isolar e identificar possíveis fungos causadores de tombamento de mudas e com potencial de ataque em sementes de *Pinus taeda*.

Os fungos fitopatológicos, *Fusarium* sp. e *Rhizopus* spp. foram doados pelo Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas Agrícolas e Florestais (LEMP) do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnologia em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), localizado no município de Alegre, estado do Espírito Santo, ambos integrantes do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

2.2 Isolamento e repicagem dos fungos do substrato de viveiro comercial

O substrato foi cultivado para identificação de possíveis fungos com potencial ataque nas sementes de pinus. Este procedimento foi realizado no LEMP. Para tanto, foram colocadas amostras do substrato em placas de Petri, até a metade do seu volume, adicionou-se água destilada o suficiente para efetuar a semeadura (80% da capacidade de campo), conforme método descrito por Alfenas e Mafia (2007). Folhas de eucalipto foram dispostas sobre o solo, realizaram-se sobre as mesmas, pequenos

orifícios, com uma pinça de 4 mm de diâmetro. As placas foram mantidas em incubadora com demanda bioquímica de oxigênio (BDO), EL202/4LED, a 25 °C até o aparecimento de frutificação dos fungos (5-8 dias).

Para a obtenção de cultura pura, foi realizada a repicagem dos fungos que se desenvolveram sobre as folhas de eucalipto, para placa de Petri contendo aproximadamente 10 mL de meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), conforme método descrito por Alfenas e Mafia (2007). Foi utilizada uma pinça, devidamente flambada para inserir a amostra do fungo na superfície do meio de cultura. As placas estas foram mantidas em BOD a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, e realizadas observação de três em três dias, até a obtenção do crescimento da colônia (15 dias).

2.3 Avaliação do tanino na inibição dos fungos

Foram utilizadas seis concentrações de tanino (0; 4; 8; 12; 16 e 20%), diluídos em água destilada. Foram utilizados quatro fungos (*Pythium* spp., *Penicillium* sp, *Fusarium* sp. e *Rhizopus* spp.) e sementes de *P. taeda* com três repetições de 12 sementes por repetição para cada fungo, mais o controle. Para tanto, as sementes foram desinfestadas em álcool 70% por um minuto e, lavadas três vezes em água destilada e, embebidas nas soluções contendo o tanino por 10 minutos.

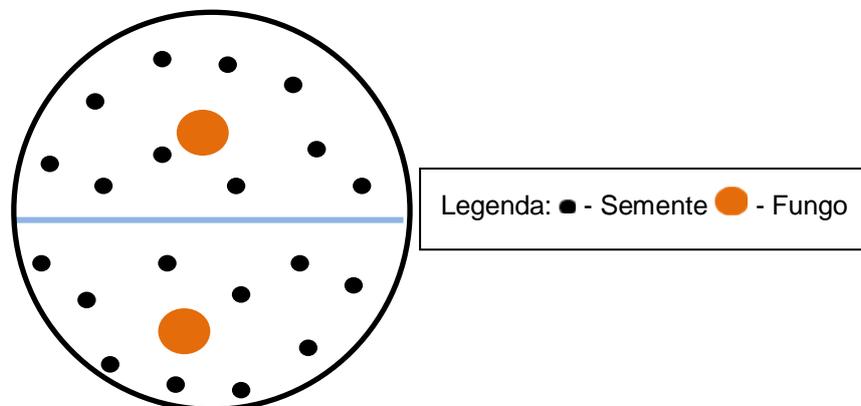
Foram vertidos em uma placa de Petri 10 mL de BDA previamente preparado e mantidas em BOD por 15 dias. Posteriormente, 12 sementes provenientes de cada concentrações de tanino foram dispostas nas placas de Petri, contendo uma amostra de fungo no centro das mesmas. As placas foram envolvidas com filme plástico incolor e mantidas em BOD a 25 °C até o desenvolvimento dos fungos nas sementes controle (0% de taninos). Esta etapa durou aproximadamente 15 dias.

2.4 Efeito do tanino na germinação de sementes na presença de fungos

Como a concentração de 20% apresentou melhores resultados em termos de inibição do desenvolvimento dos fungos, ela foi utilizada para tratar as sementes a serem dispostas em contato com os fungos *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pythium* spp. e *Rhizopus* spp. Foram utilizadas duas repetições, contendo 80 sementes, totalizando 160 amostras por tratamento. Um lote de 160 sementes foi embebido na solução tânica e distribuído em placas de Petri (Figura 2), juntamente com o fungo, enquanto o outro na solução controle (0% de tanino). Esta etapa foi desenvolvida no Laboratório de

Biodeterioração e Proteção da Madeira, UFES, município de Jerônimo Monteiro, estado do Espírito Santo.

Figura 2. Esquema de distribuição das sementes na placa de *Petri*.



As sementes foram acomodadas sobre 20 mL de meio BDA. Depois de inoculadas, as placas de Petri foram protegidas com filme plástico e dispostas em sala de crescimento, mantida a 25 °C, e sob observação diária até a germinação das sementes.

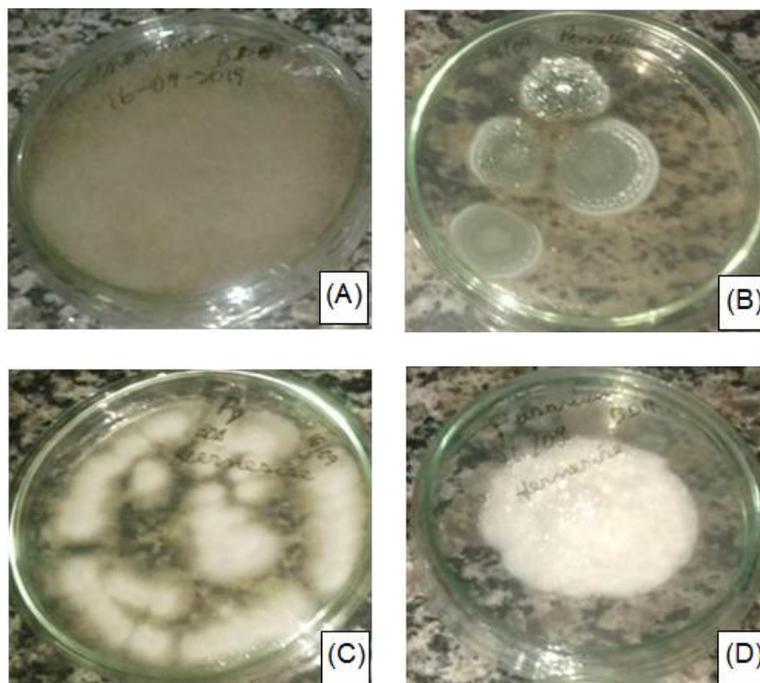
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Detecção dos fungos e crescimento em meio de cultura

Na amostra do substrato obtido junto à empresa Klabin S.A. foram encontrados os fungos *Pythium* spp. e *Fusarium* sp. Aqueles dos gêneros *Rhizopus* spp. e *Penicillium* sp. foram obtidos no Laboratório de Epidemiologia e Manejo de doenças das Plantas (LEMP) e inseridos ao experimento, por causarem danos a sementes de espécies agrícolas e florestais. O comportamento da colonização dos fungos no meio BDA está ilustrado nas Figuras 3 a 6. Nota-se que os fungos tiveram um bom desenvolvimento ao final do período avaliado. Observa-se que o *Rhizopus* spp. teve um rápido desenvolvimento, completando seu crescimento em toda placa, tendo finalizado a avaliação após o período de três dias (Figura 3A).

Os resultados demonstram que o *Rhizopus* spp. teve grande capacidade de desenvolvimento no meio BDA na temperatura de 25 °C. Segundo Velásquez et al. (2008) isso se deve a velocidade de crescimento diferente que cada fungo apresenta.

Figura 3. Ilustração da primeira observação realizada após três dias de inoculação com os fungos no meio BDA. A) *Rhizopus* spp.; B) *Penicillium* sp.; C) *Pythium* spp; D) *Fusarium* sp.

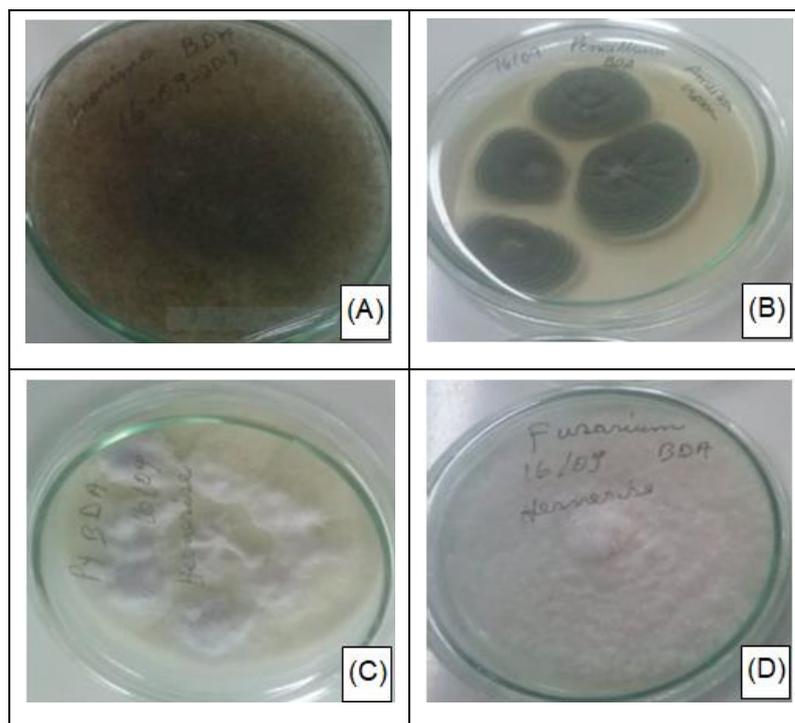


Fonte: A autora.

No entanto, de acordo com Barba et al. (2002), o desempenho no meio BDA pode ser inferior, a presença do fungo de crescimento rápido, como *Rhizopus* spp. e *Fusarium* spp., podem, em pouco tempo, cobrir completamente o recipiente, dificultando a identificação e detecção de outros fungos. Segundo Reboux et al. (2010), as temperaturas ideais para um bom desenvolvimento de *Rhizopus* spp. variam entre 20-25 °C, as colônias mostram um desenvolvimento aéreo muitas vezes importante. Uma vez que, o *Rhizopus* tem capacidade de invadir totalmente as placas de Petri, contendo o meio cultura, em menos que 5 dias.

Na segunda avaliação, realizada após seis dias, o *Fusarium* sp. cobriu completamente a placa de Petri (Figura 4D) demonstrando boa velocidade de crescimento micelial no meio BDA, diferindo visualmente dos demais. Segundo Martins (2005), o gênero *Fusarium* é caracterizado pelo seu crescimento rápido, formando colônias de coloração pálida ou colorida (violeta à púrpura escuro ou do creme ao alaranjado), com micélio aéreo e difuso.

Figura 4. Ilustração da segunda observação realizada após seis dias de inoculação com os fungos. A) *Rhizopus* spp.; B) *Penicillium* sp.; C) *Pythium* spp; D) *Fusarium* sp.



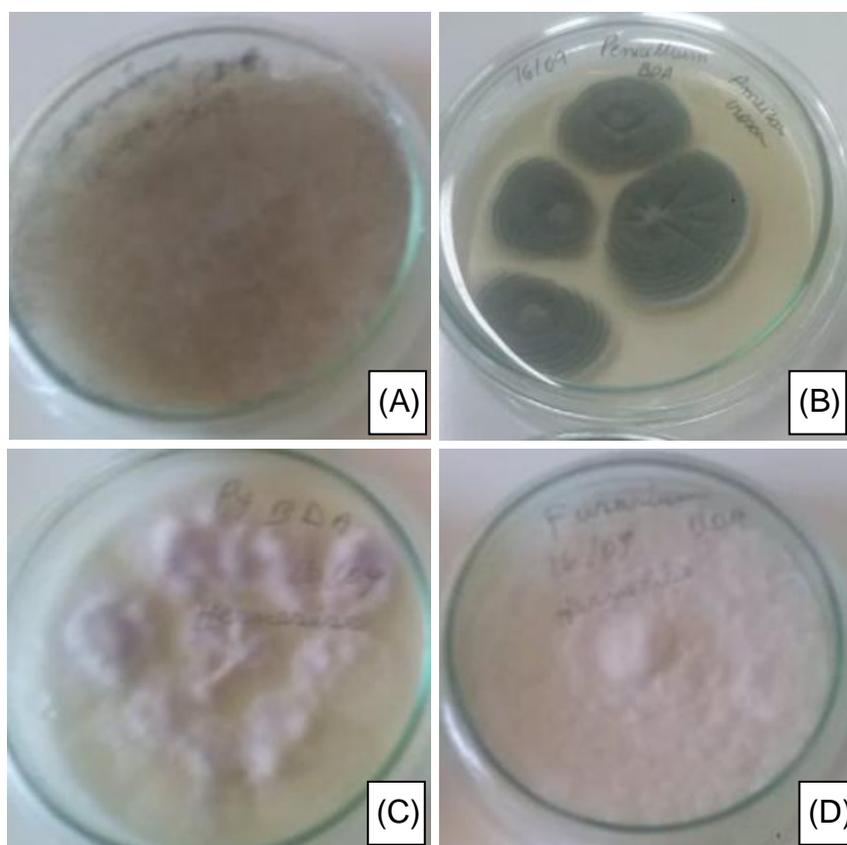
Fonte: A autora.

De acordo com Dhingra e Sinclair (1995) e Mehta et al. (2015), a composição do meio de cultura, a temperatura e a luminosidade determinam a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação dos fitopatógenos. Os resultados proveram que o *Fusarium* sp. tem um rápido desenvolvimento no meio BDA à temperatura de 25 °C. Por outro lado, Siou (2013) destaca que fatores climáticos, em particular umidade e temperatura desempenham um papel essencial no desenvolvimento de *Fusarium*, condicionando a germinação e infecção deste patógeno. De acordo com Bérubé et al. (2009), o clima é o fator mais decisivo no desenvolvimento de fungos do gênero *Fusarium*.

A terceira avaliação, após nove dias indicou que os fungos *Penicillium* sp. e *Pythium* spp. (Figuras 5B e 5C) demonstraram crescimento reduzido no meio BDA em comparação aos fungos *Rhizopus* spp. e *Fusarium* sp. No entanto, Nozaki et al. (2004) afirmam que nem sempre as condições que favorecem o crescimento micelial são as mesmas para a esporulação. Uma vez que, a luz exerce efeito direto sobre o fungo, induzindo ou inibindo a formação de estruturas reprodutivas. Alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros, por apresentarem

carboidratos complexos que são menos adequados para a produção de hifas vegetativas.

Figura 5. Ilustração da terceira observação realizada após nove dias de inoculação com os fungos. A) *Rhizopus* spp.; B) *Penicillium* sp.; C) *Pythium* spp; D) *Fusarium* sp.



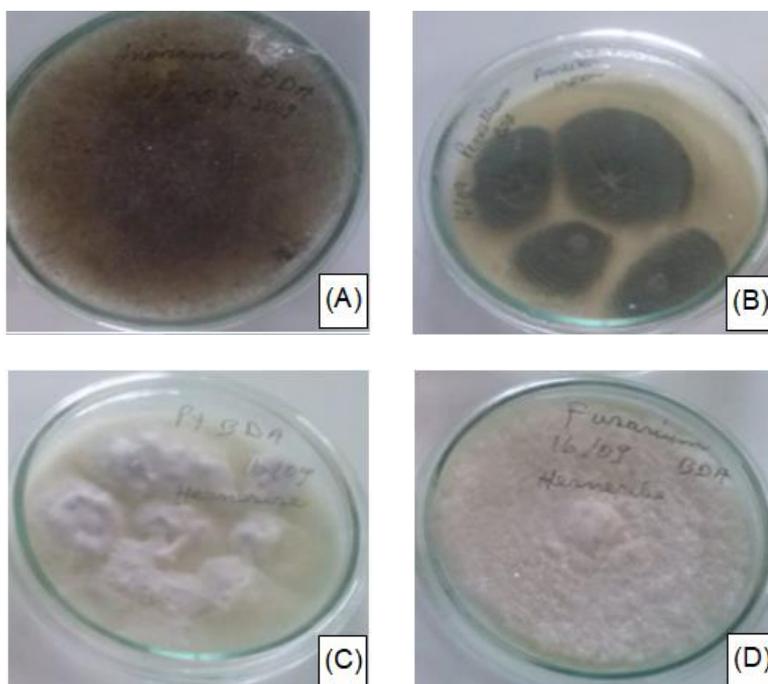
Fonte: A autora.

Na quarta e última avaliação (Figuras 6B e 4C), o comportamento foi idêntico a observação anterior, em que os fungos *Penicillium* sp. e *Pythium* spp. tiveram uma velocidade de crescimento micelial reduzida no meio BDA em comparação aos *Rhizopus* spp. e *Fusarium* sp., sendo necessário mais tempo de incubação para atingir a extensão máxima das placas, nas condições de temperatura utilizadas.

A influência da temperatura no crescimento de *Pythium* é um fator estudado por diversos autores ao redor do mundo. A importância desse fator no desenvolvimento de *Pythium* spp. foi ressaltada por Favrin et al. (1988), Sutton et al. (2006) e Teixeira et al. (2006) ao investigarem a faixa de temperatura ideal para o crescimento micelial de *Pythium*, encontraram que o patógeno desenvolve-se melhor em temperaturas entre 18 e 22°C, temperaturas mais baixas entre 15-18 °C. Segundo Ribeiro (1983); Serrano et

al. (2008); Pateskoski e Pires-Zottarelli (2009), a temperatura é um fator crítico para o desenvolvimento de propágulos infectivos de fitopatógenos.

Figura 6. Ilustração da quarta observação realizada após nove dias de inoculação com os fungos. A) *Rhizopus* spp.; B) *Penicillium* sp.; C) *Pythium* spp; D) *Fusarium* sp.



Fonte: A autora.

Quanto a influência da temperatura sobre o desenvolvimento de *Pythium*, Middleton (1943) e Serrano et al. (2008) verificaram que a temperatura ótima do desenvolvimento, em meio de BDA está entre 28 - 34 °C e a máxima de 40 °C, sendo que a temperatura utilizada no presente estudo inferior às citadas por esses autores. Assim, isso pode ter causado a redução na velocidade do crescimento de *Pythium* spp., testado no presente estudo.

No Brasil, segundo Baptista (2011), poucos foram os estudos sobre a influência da temperatura no crescimento micelial de *Pythium* spp. A temperatura de incubação de 25 °C mostrou melhor capacidade dos fungos *Rhizopus* spp. e *Fusarium* sp. se desenvolverem e terem uma velocidade de crescimento micelial diária maior, em comparação a *Pythium* spp. e *Penicillium* sp. Apesar dessa diferença, pode-se afirmar que todos os fungos utilizados no experimento obtiveram crescimento satisfatório. Assim, dos obtidos no substrato do viveiro da Klabin S.A., apenas o *Fusarium* sp. teve

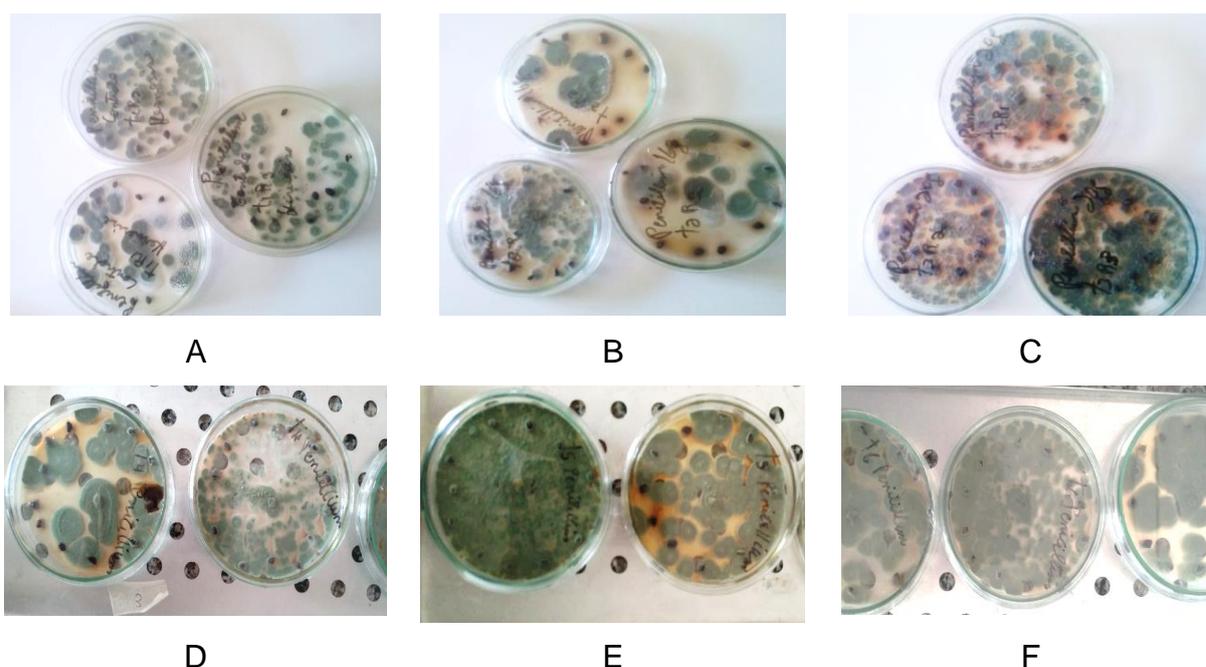
bom desenvolvimento e crescimento micelial rápido na temperatura de 25°C, no meio de BDA.

3.2 Efeitos da embebição das sementes no tanino no crescimento dos fungos

Os resultados da avaliação visual do tanino no controle de crescimento micelial dos fungos, após sete dias, demonstram redução do crescimento micelial. Verifica-se também, um comportamento diferenciado entre as concentrações utilizadas e a redução da velocidade crescimento de um fungo para o outro (Figuras 7 a 10).

Na avaliação visual do *Penicillium* sp. (Figura 7), observa-se que o desenvolvimento do fungo foi reduzido à medida que a concentração do tanino foi aumentada e, portanto, as concentrações com menores propiciaram o maior desenvolvimento. Na análise do efeito inibidor do tanino para este fungo, observa-se uma redução do ataque, de forma progressiva, com o aumento da concentração. Este comportamento, segundo Cannas (2011), deve-se a capacidade do tanino em isolar fibras naturais contra fungos e bactérias. Segundo Kirker et al. (2013), o tanino, por apresentar certo nível de toxidez, causada pelos seus componentes químicos, pode ser aplicado no controle de fungos fitopatógenos.

Figura 7. Ilustração do desenvolvimento do fungo *Penicillium* spp. nas diferentes concentrações de tanino (A: 20%; B: 16%; C: 12%; D: 8%; E: 4%; F: 0%), após sete dias.

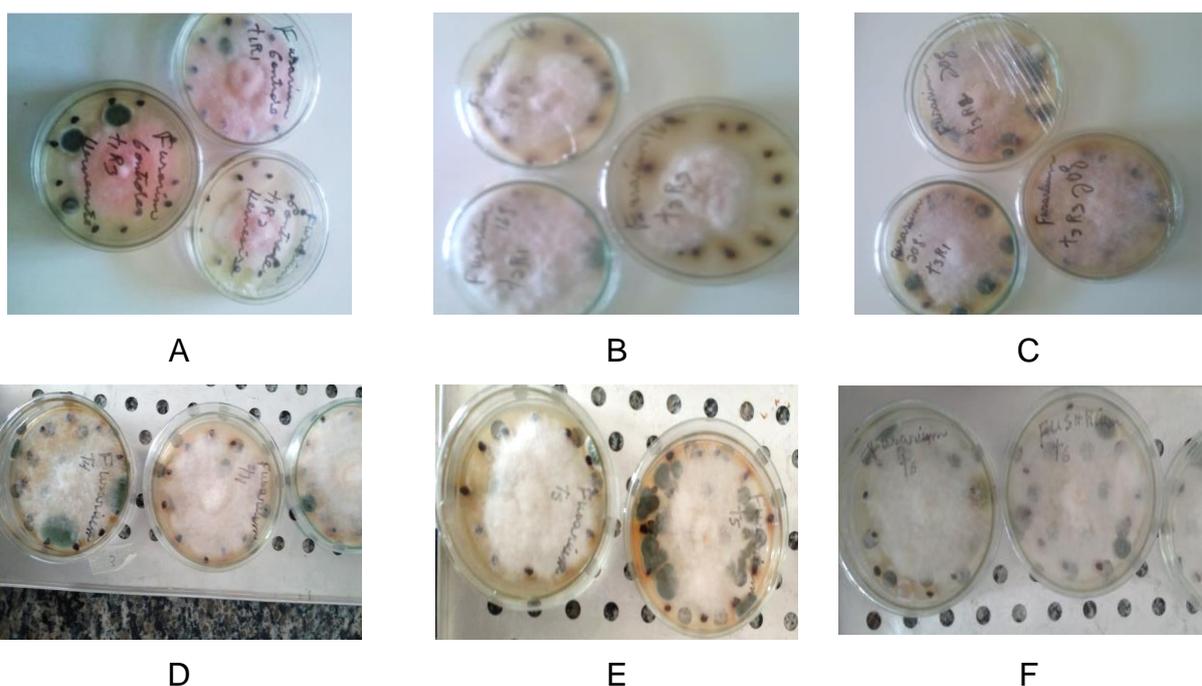


Fonte: A autora.

Diversos extratos vegetais obtidos de plantas medicinais têm sido indicado por Lazarotto et al. (2009), Benini et al. (2010) e Venturoso et al. (2010) no controle de fitopatógenos. De acordo com Schwan-Estrada et al. (2003) isso ocorre tanto por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, que agem contra quaisquer tipos de invasões predadora. O tanino demonstrou, mesmo nas menores concentrações, certa atividade antifúngica sobre o crescimento micelial de *Penicillium* sp.

O crescimento micelial de *Fusarium* sp. (Figura 8) foi influenciado pelas concentrações do tanino, avaliadas visualmente, e o aumento da dosagem resultou no menor crescimento do fungo, apesar de algumas contaminações terem ocorrido, o que não interferiram no desenvolvimento do fungo alvo.

Figura 8. Ilustração do desenvolvimento do *Fusarium* sp. na presença de diferentes concentrações de tanino (A: 20%; B: 16%, C: 12%; D: 8%; E: 4 %; F: 0%), após sete dias.



Fonte: A autora.

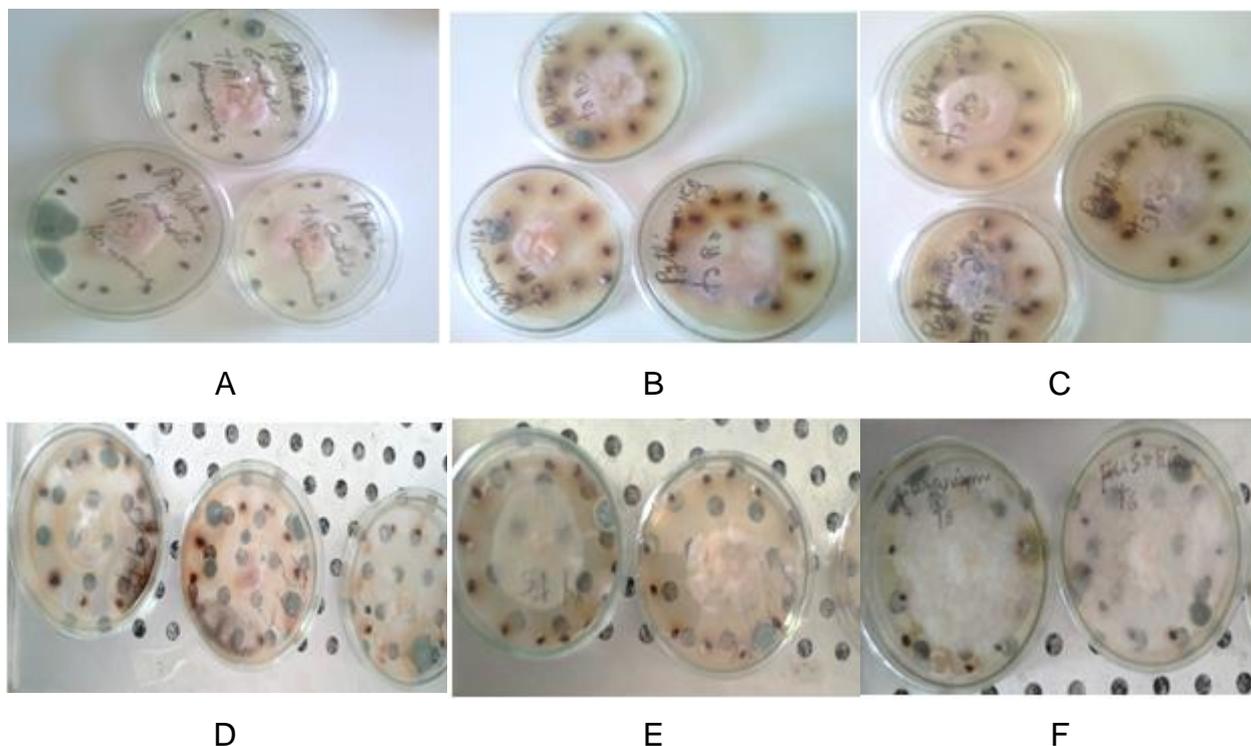
O potencial tóxico do extrativo de acácia negra foi visível, uma vez que, enquanto na testemunha (0% de tanino), o fungo preencheu completamente a placa em aproximadamente seis dias, os tratamentos contendo o extrativo tiveram um crescimento reduzido. Essa constatação foi observada desde a menor concentração (4% de tanino), e tornou-se mais expressiva com o aumento das proporções de tanino. Esse resultado está de acordo com He et al. (2007) e Lofrano et al. (2013), ao

relatarem que os fungos são ineficazes de promoverem a remoção de compostos caracterizado por alta toxicidade e recalcitrância, como os taninos.

Os efeitos de extratos vegetais no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, para Stangarlin et al. (1999) e Celoto et al. (2008), são atribuídos aos diferentes compostos existentes nas plantas. Assim, as plantas geralmente apresentam diversidade de substâncias em sua composição, muitas vezes com potencial fungicida. Barrera e García (2008) e Udomsilp et al. (2009) afirmam que vários óleos essenciais, também podem causar inibição do crescimento em espécies de *Fusarium*. O crescimento micelial de *Fusarium* sp. foi influenciado pelas concentrações de tanino, e o aumento da concentração resultou no menor crescimento do fungo.

Para o fungo *Pythium* spp. (Figura 9), o mesmo comportamento foi observado, em que as maiores concentrações do tanino impediram o desenvolvimento do fungo. Apesar de algumas contaminações, as menores concentrações teve menor efeito na redução e inibição dos fungos.

Figura 9. Ilustração do desenvolvimento de *Pythium* spp. na presença de diferentes concentrações de tanino (A: 20%; B:16%, C: 12%; D: 8%; E: 4%; F: 0%), após sete dias.



Fonte: A autora.

O tanino apresentou certo controle no desenvolvimento do fungo, de acordo com Serrano et al. (2009), os taninos tiveram a capacidade de interferirem no crescimento fúngico, ao promoverem a inibição de enzimas extracelulares; por meio de danos na membrana; na privação de substratos essenciais para o crescimento; na ação direta sobre o metabolismo; pela da vedação da fosforilação oxidativa; e complexação de íons metálicos em ambiente de crescimento fúngico.

Algumas plantas, por apresentarem uma diversidade de substâncias em sua composição, muitas vezes com potencial fungicida, segundo Chung et al. (1998); Celoto et al. (2008) e Prakash (2012), devem ser estudadas, e serem utilizadas pelos produtores rurais, bem como servir de matéria-prima para síntese de novos fungicidas. Pesquisas sobre atividade biológica dos taninos evidenciaram importante ação contra determinados microrganismos, como agentes carcinogênicos e causadores de toxicidade hepática. Estes últimos efeitos, sem dúvida, dependem da concentração e do tipo de tanino ingerido.

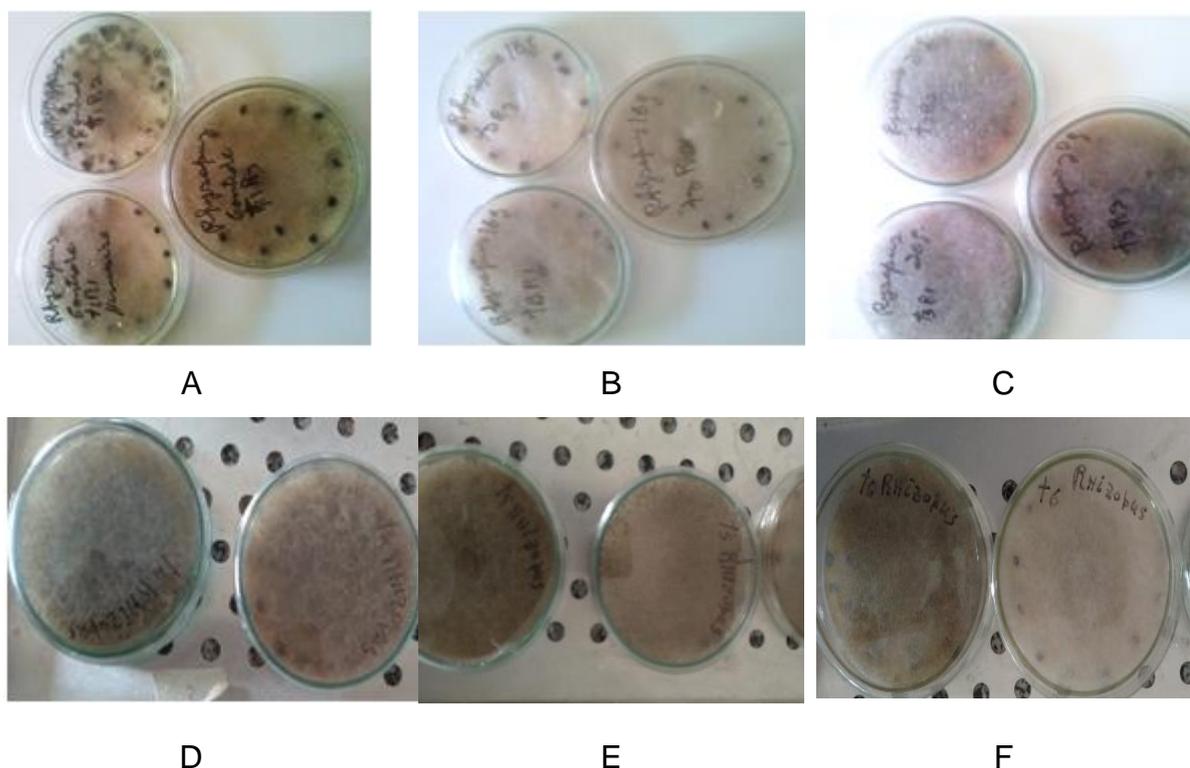
De acordo com Martins et al. (2009), extratos vegetais têm sido utilizados como métodos alternativos para inibir o desenvolvimento de fungos. Paulert et al. (2009) já afirmavam que a exploração desses produtos poderia ter importância na área de fitopatologia, visando o menor custo e menor agressividade ao homem e ao ambiente.

Ao analisar visualmente o *Rhizopus* spp. (Figura 10), verifica-se que o tanino não impediu o desenvolvimento micelial do fungo. Apesar de apresentar certa diferença visual entre as diferentes concentrações. De acordo com Prigione et al. (2018), os taninos possuem certa atividade antifúngica bem documentada.

Alguns fungos filamentosos, leveduras e bactérias são resistentes a fitotóxicos, por desenvolverem mecanismos e vias adaptativas para sua degradação em habitats naturais. Pois, eles podem explorar nichos ecológicos dos quais outros organismos são impedidos. Alguns fungos desenvolvem mecanismos para tolerar a toxicidade de taninos e de outros fitotóxicos, produzindo um complexo padrão enzimático ativo na transformação desses compostos. Assim, pode-se afirmar que entre os fungos testados, o *Rhizopus* spp. foi tolerante aos constituintes antifúngicos do tanino de acácia negra, nas concentrações testadas.

Apesar das propriedades antifúngicas dos taninos, muitos fungos, bactérias e leveduras são resistentes aos mesmos e podem crescer e se desenvolver na presença deles, até mesmo em concentrações mais elevadas que as testadas no presente estudo (BHAT et al., 1998; SMITH, 2005; BELUR et al., 2010).

Figura 10. Ilustração do desenvolvimento de *Rhizopus* spp. na presença de diferentes concentrações de tanino (A: 20%; B: 16%; C: 12%; D: 8%; E: 4%; F: 0%), após sete dias.



Fonte: A autora.

Alguns fungos capazes de crescer na presença de taninos são geralmente referidos como tolerante e resistentes. Estes são termos que classificam melhor alguns fungos capazes de suportar o efeito inibitório dos taninos. Essa resistência deve ter algum mecanismo que bloqueia a ação dos taninos, ou estes são impedidos de alcançar ou penetrar no local da ação fúngica. Por outro lado, Bomfim et al. (2010) afirmam que o fungo *Rhizopus* é de difícil controle com o uso dos fungicidas disponíveis no mercado. Os autores afirmaram que, na região do extremo sul do estado da Bahia, foram testados mais de 20 fungicidas, visando controlar a infestação, todos sem sucesso contra fungos do gênero *Rhizopus*.

3.3 Efeitos do tanino na germinação das sementes em presença de fungos

Ao comparar a germinação das sementes do tratamento controle com aquelas embebidas na solução contendo 20% de tanino, observou-se que o número de sementes germinadas ultrapassou o da germinação do tratamento controle (Tabela 1). Tendo o tanino diminuído a incidência dos fungos e permitido a germinação das

sementes, com exceção do *Penicillium* sp. em que a maioria das sementes não germinam, independente do tratamento aplicado.

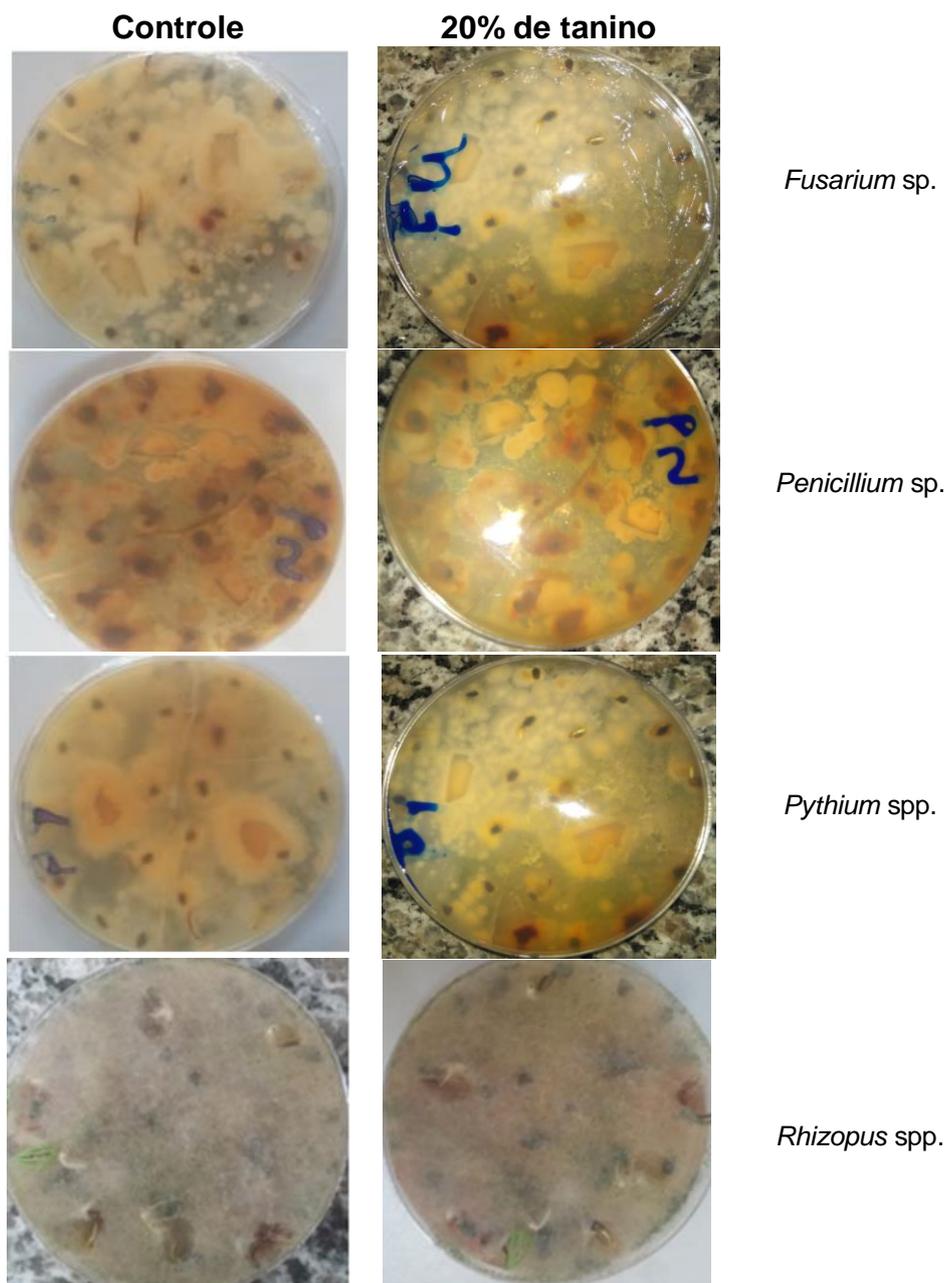
Tabela 1. Germinação das sementes após embebição em tanino a 20% e contato com os fungos.

Fungos	Controle	Tanino (20 %)
	Número / (%) de germinação	Número / (%) de germinação
<i>Fusarium</i> sp.	6 / 30%	10 / 50%
<i>Penicillium</i> sp.	1 / 5%	4 / 20%
<i>Pythium</i> spp.	6 / 30%	8 / 40%
<i>Rhizopus</i> spp.	11 / 55%	15 / 75%

A solução de taninos (20%) diminuiu o ataque de fungos e facilitou a germinação na presença destes microrganismos. Mata et al. (2009) e Medeiros et al. (2013) demonstraram o efeito positivo no emprego de extratos vegetais na redução da micoflora e o favorecimento no aumento do poder germinativo das sementes. Por outro lado, Goldfarb et al. (2009) afirmam que a presença de taninos, pode ter contribuído para a formação de substâncias alelopáticas, que liberadas em quantidades suficientes, podem causar inibição ou estimulação da germinação, do crescimento da planta e do sistema radicular.

Visualmente verificou-se diferença entre o tratamento com tanino (20%) e o controle, ao término do experimento, ocorrido ao final de 15 dias (Figura 10). Tendo o tanino apresentado efeito antifúngico e permitido a germinação das sementes, em contato com os fungos (*Fusarium* sp. *Pythium* spp. e *Rhizopus* spp.). Segundo Medeiros et al. (2009), produtos naturais como óleos essenciais e formulações de extratos vegetais têm se mostrado promissores no controle de doenças, atuando como indutores de resistência. No caso do *Penicillium* sp., o tanino apresentou atividade antifúngica, mas não promoveu a germinação das sementes.

Figura 11. Comportamento do desenvolvimento dos fungos após 15 dias de exposição aos fungos estudados.



Fonte: A autora.

De acordo com Felipe et al. (2010), a elevada presença de *Penicillium* pode ser explicada pelo fato deste apresentar alta taxa de crescimento micelial e conídios. Isto facilita a contaminação das sementes durante o período de incubação e no momento do beneficiamento. Venturoso et al. (2011) relataram que a atividade de compostos secundários de plantas tem se tornado uma alternativa no controle de fitopatógenos, com potencial ecológico para substituir o emprego de produtos sintéticos, por meio da

utilização de subprodutos de plantas medicinais, como extratos etanólicos, uma vez que apresentam em sua composição substâncias com propriedades fungitóxicas.

4. CONCLUSÕES

Com relação ao crescimento dos fungos testados o *Rhizopus* spp. e *Fusarium* sp. se desenvolveram mais rápido durante o experimento. Mas pode-se afirmar, pelos todos os fungos testados (*Pythium* spp; *Penicillium* sp; *Fusarium* sp e *Rhizopus* spp.), foi observado crescimento satisfeito. Foi constatada a atividade antifúngica dos taninos sobre todos os fitopatógenos estudados.

Quanto a atividade antifúngica dos taninos, pode-se inferir que a sua utilização inibiu o crescimento dos fungos independente da concentração utilizada, com destaque para a concentração de 20%. Com a presença dos taninos, as sementes germinam mais na presença dos fungos.

5. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. 382p.
- BHAT, K.T.; SINGH, B.; SHARMA, P.O. Microbial degradation of tannins: a current perspective. **Biodegradation**, v. 9, p. 343-357, 1998.
- BARBA, J.T.; REIS, E.M.; FORCELINI, A.C. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 389-394, 2002.
- BARRERA, L.L.; GARCÍA, L.J. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 8, n. 1, p. 33-41, 2008.
- BAPTISTA, F.R.; PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A.; TEIXEIRA, L.D.; NELSON, A.S.J. Avaliação patogênica *in vitro* de *Pythium middletonii* Sparrow e *Pythium dissotocum* Drechsler em alface. **Summa Phytopathology**, v. 37, n. 1, p. 52- 558, 2011.
- BELUR, P.D.; GOPAL, M.; NIRMALA, K.R.; BASAVARAJ, N. Production of novel cell-associated tannase from newly isolated *Serratia ficaria* DTC. **Journal Microbiology Biotechnology**, v. 20, p. 732-736, 2010.
- BENINI, P.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; KLAIS, E.C.; CRUZ, M.E.S.; ITAK, A.T.; MESQUINI, R.M.; STANGARLIN, J.R.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B. Efeito *in vitro* do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

BÉRUBÉ, M.E.; VANASSE, A.; RIOUX, S.; BOURGEOIS, G.; BOURGET, N.; TREMBLAY, G.; DION, Y. Effet du glyphosate et du travail du sol sur l'incidence de la fusariose de l'épi chez le blé et l'orge. In: JOURNÉE D' INFORMATION SCIENTIFIQUE GRANDES CULTURES, 2009, Drummondville. **Annales....** Drummondville: CRAAQ, 2009. p. 338-344.

BOMFIM M.P.; JOSE, A. R.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA S.S.; SOUZA I.V.B.; DIAS N.O. Avaliação antagônica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathology**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.

CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M.G. Wood maturation of distilled beverages. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, p. 95-101, 1998.

CANNAS, A. **Tannins**: Fascinating but sometimes dangerous molecules. Cornell: Cornell University, 2011. Disponível em <<http://poisonousplants.ansci.cornell.edu/toxicagents/tannin.html>>. Acesso em: 25 jan. 2020.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 434p.

FAVRIN, R.J.; RAHE, J.E.; MAUZA, B. *Pythium* spp. associated with crown rot of cucumbers in British Columbia greenhouses. **Plant Disease**, v. 72, n. 8, p. 683-687, 1988.

FELIPE, S.H.S.; BENCHIMOL, R.L.; LEÃO, N.V.M.; SILVA, C.M. Levantamento de fitopatógenos potenciais em sementes de três espécies florestais selecionadas para reflorestamento na Amazônia Oriental. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA, 14., 2010, Belém. **Anais....** Belém: EMBRAPA, 2010. p.1-4.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 3, n. 1, p. 23-28, 2009.

HE, Q.; YAO, K.; SUN, D.; SHI, B. Biodegradability of tannin-containing wastewater from leather industry. **Biodegradation**, v. 18, p. 465-472, 2007.

KIRKER, G.T.; BLODGETT, A.B.; ARANGO, R.A.; LEBOW, P.K.; CLAUSEN, C.A. The role of extractives in naturally durable wood species. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 82, p. 53-58, 2013.

LAZAROTTO, M.; GIRARDI, L.B.; MEZZOMO, R.; PIVETA, G.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Tratamentos alternativos para o controle de patógenos em sementes de cedro (*Cedrela fissilis*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, p. 75-78, 2009.

LOFRANO, G.; MERIC, S.; ZENGİN, G.E.; ORHON, D. Chemical and biological treatment technologies for leather tannery chemicals and wastewaters: a review. **Science Total Environmental**, v. 461, p. 265-281, 2013.

MATA, M.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, A.E.F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, Cactaceae). **Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 327-334, 2009.

MARTINS, M.K. **Variabilidade genética de isolados de *Fusarium* spp. e estudo da interação com a planta hospedeira**. 2005. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.

MARTINS, M.T.C.S.; NASCIMENTO, L.C.; ARAÚJO, E.R.; RÊGO, E.R.; BRUNO, R.L.A.; FÉLIX, L.P. Atividade antifúngica de extrato de melão-de-são-caetano em sementes de maniçoba. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2 (Suplemento), p. 1246-1253, 2009.

MEDEIROS, F.C.L.; RESENDE, M.L.V.; MEDEIROS, M.H.V.; ZHANG, H.M.; PARE, P.W. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 74, p. 175-183, 2009.

MEDEIROS, J.A. Uso da craibeira (*Tabebuia aurea* {Manso} Benth. & Hook.) na arborização urbana da cidade de São José do Seridó. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas**, v. 15, n. 15, p. 2935-2944, 2013.

MECHTA, N.; AZOUAOU-AIT, K.T.; RAHMANIA, F. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*: Effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. **Algerian Journal of Arid Environment**, v. 5, n. 2, p. 82-90, 2015.

MIDDLETON, J.T. The taxonomy, host range and geographic distribution of the genus *Pythium*. **Memoirs of the Torrey Botanical Club**, v. 20, p. 1-171, 1943.

NOZAKI, M.H.; CAMARGO, M.E.; BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 429-432, 2004.

PAULERT, R.V.; TALAMINI, J.E.F.; CASSOLATO, M.E.R.; DUARTE, M.D.; NOSEDA, A. SMANIA, J.R.; STADNIK, M.J. Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata*, on anthracnose severity and growth of common bean. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 6, p. 263-270, 2009.

PIVETA, G.; MIETH, A.T.; PACHECO, C.; HAMANN, F.A.; RODRIGUES, J.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de angico vermelho após aplicação de extratos vegetais. **Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1437-1440, 2007.

PRAKASH, B.; SINGH, P.; KEDIA, A.; SINGH, A.; DUBEY, N.K. Efficacy of essential oil combination of *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* Rosc. as a postharvest fungitoxicant, aflatoxin inhibitor and antioxidant agent. **Journal of Food Safety**, v. 32, n. 3, p. 279-288, 2012.

PRIGIONE, V.; SPINA, F.; TIGINI, V.; GIOVANDO, S.; VARESE, G.C. Biotransformation of industrial tannins by filamentous fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 24, p. 10361-10375, 2018.

REBOUX, G.; BELLANGER, A.; ROUSSEL, S.; GRENOUILLET, F.; MILLION, L. Pollution atmosphérique, moisissures et habitat: risques pour la santé et espèces impliquées. **Revue Française d'Allergologie**, v. 50, p. 611-620, 2010.

RIBEIRO, O.K. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora*. In: ERWIN, D.C.; BARTNICKI-GARCIA, S.; TSAO, P.H. (Eds.). **Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology and pathology**. St. Paul: APS Press, p. 55-70, 1983.

SERRANO, Y.; GUIRADO, M.L.; CARMONA, M.P.; GÓMEZ, J. First report of root and crown necrosis of bean caused by *Pythium aphanidermatum* in Spain. **Plant Disease**, v. 92, n. 1, p. 174, 2008.

SMITH, A.H.; ZOETENDAL, E.; MACKIE, R.L. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. **Microbial Ecology**, v. 50, p.197–205, 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E. S. Uso de plantas medicinais no controle e doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 54-56, 2003.

SERRANO, J.; PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; DAUER, A.; AURA, A-M.; SAURA-CALIXTO, F. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, p. 310-329, 2009.

SIOU DOROTHÉE. **Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien**. 2013. 198f. Thèse (Doctorat à Biologie) - Université Paris-Sud, Paris, 2013.

SILVA, L.G.; COSMI, F.C.; JUNIOR, W.C.J.; SOUZA, A.F.; MORAES, W.B.; Efeito do tratamento químico na sanidade de sementes de espécies florestais. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 3, p. 473-478, 2013.

SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEM, J.O.M. **Patologia de sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2011. 236p.

SOCOL, C.R.; RAIMBAULT, M.; PINHEIRO, L.I. Effect of CO₂ concentration on the mycelium growth of *Rhizopus* spp. **Agricultural Biology and Technology**, v. 37, p. 203-210, 1994.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência e Desenvolvimento**, v. 2, n. 11, p. 16-21, 1999.

SUTTON, J.C.; SOPHER, C.R.; OWEN-GOING, T.N.; LIU, W.; GRODZINSKI, B.; HALL, J.C.; BENCHIMOL, R.L. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: Current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 307-321, 2006.

UDOMSILP, J.; PIYO, A.; KHANG-KHUN, P.; THOBUNLUEPOP, P. Antifungal properties of essential oils from Thai medical plants against rice pathogenic fungi. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**. Special Issue, S24-S30, 2009.

VELASQUEZ, M.; BAUTISTA, S.; HERNANDEZ, A.; GUERRA, M.; AMORA, M. Estrategia de control de *Rhizopus Stolonifer* Ehrenb. (ex Fr.) Lind, agente causal de pudriciones postcosecha en productos agricolas. **Mexicana de Fitopatologia**, v. 26, n. 1, p. 49-54, 2008.

VENTUROSO, L.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C. A.; BERGAMIN, A.C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; PONTIM, B.C.A.; CONUS, L.A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 4, p. 499-505, 2010.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VEIZAGA, D.M.S.; BELPAIRE, I.M.; SILES, E.T. Capacidad decolorativa de *Coriopsis polyzona*, *Pycnoporus* sp. y *Penicillium* sp. sobre Reactive Black 5 a diferentes condiciones de cultivo. **Biofarbo**, v. 20, n. 1, p. 41-48, 2012.

CAPÍTULO II: Tanino comercial de *Acacia mearnsii* na qualidade fisiológica de sementes de *Pinus taeda*

RESUMO

A germinação é um processo que envolve a degradação das reservas da semente para fornecer energia durante a respiração e síntese de novas células para o desenvolvimento embrionário. Objetivou-se analisar o efeito do tanino comercial de acácia negra (*Acacia mearnsii*) na germinação de sementes de *Pinus taeda* L. O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado, em esquema fatorial, consistindo de sementes *Pinus taeda* embebidas em seis concentrações de tanino (0; 4; 8; 12; 16 and 20%), distribuídas em quatro repetições de 25 sementes por repetição. As sementes foram embebidas em cada solução tânica por um período de 10 minutos. Depois de embebidas, as sementes foram dispostas em rolo de papel tipo germitest umedecido com água destilada, com 2,5 vezes o peso seco do papel. E, mantidas em câmara com demanda bioquímica de oxigênio (BOD) com controle de temperatura (25 °C) e luminosidade (fotoperíodo de 16 horas de luz). A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente, sendo analisada a germinação (%); índice de velocidade de germinação (IVG); tempo médio de germinação (TMG); comprimento da parte aérea (cm); comprimento da raiz (cm); diâmetro coleto (cm); massa seca da raiz (g); massa seca da parte aérea (g); condutividade elétrica ($\mu\text{C cm}^{-1} \text{g}^{-1}$); curva de embebição (% de absorção de água); testes de umidade e de tetrazólico. O tanino não influenciou na porcentagem de germinação das sementes de *Pinus taeda*, no desenvolvimento de plântulas normais, no índice de velocidade de germinação, nem no tempo médio para germinação. Porém, as concentrações de 4, 8, 12 e 16% influenciaram positivamente o comprimento da plântula, a massa seca da raiz e o diâmetro do coleto.

Palavras-chave: *Pinus taeda*; qualidade fisiológica, plântula; germinação, reflorestamento.

ABSTRACT

The germination is an effective process that involves the degradation of seed reserves to provide energy during respiration and the synthesis of new cells for embryonic development. This work aimed to analyze the effect of *Acacia mearnsii* commercial tannin on the germination of *Pinus taeda* L. The experiment was conducted in a completely randomized design in a factorial scheme consisting of *Pinus taeda* seeds soaked in six concentrations of tannin (0; 4; 8; 12; 16 and 20%), distributed in four repetitions of 25 seeds per repetition. The seeds were soaked in each tannic solution for a period of 10 minutes. Soon, the seeds were placed on a paper roll moistened with distilled water with 2.5 times the paper weight. Afterwards, they were kept in an air-conditioned environment into biochemical oxygen demand camera (BOD) with temperature control (25 °C) and (photoperiod of 16 hours of light) to germinate. The germinated seeds were counted daily, had been analyzed the germination speed index; average germination time; shoot length; root length; collecting diameter; dry root mass; aerial part dry mass; electric conductivity; soaking curve; moisture and tetrazolic tests. The tannin did not influence in the germination percentage of *Pinus taeda* seeds, normal seedlings development, the germination speed index, nor in the average germination time. However, the concentrations of 4, 8, 12 and 16% have a significant influence on root length, root dry mass and collecting diameter.

Keywords: *Pinus taeda*; physiological quality, seedling; germination, reforestation.

1. INTRODUÇÃO

Sementes com boa qualidade sanitária apresentam reduzida incidência ou até mesmo ausência de microrganismos associados, facilitando os procedimentos de desinfestação superficial necessários para a obtenção de cultivos assépticos. Na fase de maturação dos frutos, as deficiências minerais e hídricas do solo e a incidência de pragas e doenças podem impedir as sementes de atingirem a qualidade máxima disponível no potencial genético e, por conseguinte, acelerar a sua deterioração no armazenamento. Entre os fatores que podem afetar a qualidade das sementes florestais estão sem dúvida os de caráter fitossanitário, entre os quais se destacam os fungos (PARISI, 2013).

Inúmeras são as formas de controle de organismos patogênicos em sementes florestais, dentre eles os extratos vegetais têm sido utilizados como métodos alternativos, aos compostos sintéticos, para inibir o desenvolvimento de fungos e outros patógenos (SILVA et al., 2010), e aumentar o poder germinativo de sementes de espécies florestais (MATA et al., 2009).

Nas plantas alguns metabólitos secundários apresentam interações entre plantas e o ecossistema, a exemplo, dos taninos que são compostos fenólicos utilizados na defesa das plantas, exercendo efeitos negativos, ou mesmo letais, em predadores de sementes (SAITOH et al., 2007). Os taninos são geralmente prejudiciais aos consumidores de sementes e, não se tem conhecimento se as sementes com alto teor de tanino têm o mesmo efeito que aquelas contendo baixos teores (ZHANG et al., 2018).

O tanino é um produto explorado pela indústria do couro, pela sua capacidade de precipitar proteínas e isolar as fibras naturais contra fungos e bactérias que são as principais responsáveis pela deterioração da pele animal (CANNAS, 2011). Comprovada a toxidez dos componentes químicos desses produtos naturais, os mesmos podem ser aplicados no controle de fungos fitopatógenos (SILVA; BASTOS, 2007; KIRKER et al., 2013). Visto que inibem o crescimento de vários microrganismos (SHARMA, 2019), resistem ao ataque microbiano e são recalcitrantes à biodegradação (FIELD; LETTINGA, 1992). Estes compostos têm sido encontrados em todos os órgãos vegetais de algumas plantas superiores (CORRAL et al., 2020). Quanto em maior concentração nas folhas, pode ser liberado para o ambiente por exsudação radicular,

lixiviação ou volatilização, como também na decomposição de resíduos da planta no solo (OLIVEIRA, 2018).

A eficiência de extratos vegetais no controle de patógenos e no aumento do poder germinativo de sementes de espécies florestais foram comprovados por Mata et al. (2009) e Souza et al. (2010). Assim, a utilização de produtos naturais é uma alternativa para o controle de patógenos associados a sementes, com a vantagem de redução de custos e ausência de impacto ambiental causado pelos agrotóxicos (GIRARDI et al., 2009). Como base nos pressupostos, objetivou-se analisar o efeito do tanino comercial de acácia negra (*Acacia mearnsii*) na germinação de sementes de *Pinus taeda* L.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Origem das sementes, do tanino e local do experimento

As sementes de *Pinus taeda* L. foram doadas pelo Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), Piracicaba, estado de São Paulo, por meio do setor de sementes e mudas, sendo provenientes de um Pomar Clonal de Sementes (PCS).

O tanino foi fornecido pela empresa Seta S.A. Extrativa Tanino de Acácia, localizada no estado do Rio Grande do Sul, sendo este oriundo de acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild.), estando na forma de pó.

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, localizado em Jerônimo Monteiro, estado do Espírito Santo.

2.2 Análise da qualidade das sementes pelo teste de tetrazólio

A metodologia alternativa na avaliação da qualidade das sementes de *P. taeda* foi conduzida pela embebição das mesmas em água destilada no rolo de papel por 18 horas a 20 °C em câmara com demanda bioquímica de oxigênio (BOD), EL202/4LED, na presença da luz, seguida da imersão em solução de tetrazólio a 1%, a temperatura de 30 °C por mais 18 horas em BOD no escuro. Esse procedimento é recomendado para o teste, descrito pelas Regras para Análise de Sementes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009).

Para avaliar a qualidade das sementes a serem utilizadas no experimento, realizou-se o teste tetrazólio. Para tanto, foram utilizadas 100 sementes em duas repetições. Essas foram submetidas a um pré-condicionamento, seguida da imersão em solução de tetrazólio (1%), e visualização do resultado pela cor dos tecidos da semente. No pré-condicionamento, as sementes foram envolvidas em rolo papel, de forma a permanecerem úmidas, e acondicionadas em BOD a 20 °C, por 18 horas na presença de luz.

Decorrido o período de embebição, as sementes foram cortadas nas extremidades e separadas em duas partes ao longo do eixo do embrião. E, imersas completamente em solução de tetrazólio (1%) em caixa tipo *Gerbox*, de cor preta e, novamente acondicionadas em BOD a 30 °C por 18 horas no escuro. O resultado foi expresso conforme sugerido por Delouche et al. (1976), Bhéring et al. (1996) e França Neto (1999), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Critérios adotados para visualização da qualidade fisiológica e sanidade das sementes de *Pinus taeda* por meio do teste tetrazólico.

Cor apresentada pelo teste	Estado de sanidade do tecido
Vermelho carmim	Vivo e vigoroso
Vermelho carmim forte	Deteriorado
Branco leitoso	Morto
Verde	Ataque de patógenos

2.3 Condutividade elétrica das sementes tratadas com tanino

Foram analisadas seis concentrações do tanino (0; 4; 8; 12; 16 e 20%), contendo cada uma, duas repetições compostas por 25 sementes de massa conhecida. Foram dispostas em BOD por 24 horas imersas em recipiente com água destilada (75 mL), por um período de 24 horas, a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12/12 horas.

Decorrido o período de embebição, as amostras foram agitadas (sem as sementes), para homogeneização dos exsudados liberados na água. A leitura da condutividade elétrica da solução de embebição foi em condutivímetro (Gehaka, CG2000), previamente calibrado, e os resultados obtidos expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, conforme sugerido por MARQUES et al. (2002).

2.4 Curva de embebição das sementes de *Pinus taeda*

Para a curva de absorção de água, foram utilizadas quatro repetições, contendo 25 sementes cada. Essas foram colocadas sobre duas folhas de rolo papel tipo germitest umedecidas com água destilada, mantidas no interior de caixas plásticas transparentes, tipo *Gerbox* e acondicionadas em câmara BOD, a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12/12 horas, conforme descrito para o teste de germinação descrito nas Regras para Análise de Sementes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009).

O nível de absorção foi medido em intervalos de hora em hora, até completar 10 horas. Posteriormente, foi medido a cada 24 horas. A cada intervalo, começando no tempo zero, foi procedida a pesagem das sementes (retiradas da caixa *Gerbox* e dispostas sobre papel para absorver a umidade externa), pesadas e retornadas ao *Gerbox*, e mantidas em BOD, até completar a germinação. O teor de água absorvida (AA), em porcentagem, em cada tempo foi calculado conforme Equação 1.

$$AA_{\%} = \frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100 \quad (1)$$

Em que: P_f é o peso final das sementes em cada tempo avaliado e, P_i é o peso inicial das sementes.

O teor de umidade seca foi determinado pelo método da estufa, mantida a 103 ± 2 °C, por 24 horas. Foram utilizadas para este teste, quatro amostras, contendo 25 sementes cada, com massa inicial conhecida (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.5 Teste de germinação das sementes tratadas com tanino

As sementes de *Pinus taeda* foram embebidas durante por 10 minutos em soluções de tanino comercial de *Acacia mearnsii* (0; 4; 8; 12; 16 e 20%), totalizando seis tratamentos. Depois de expostas às soluções, elas foram dispostas em rolo de papel germitest umedecido com 2,5 vezes o peso seco do papel. Cada tratamento foi composto por 25 sementes por repetição. Elas foram mantidas em BOD a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas para germinação.

A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente, sempre ao meio dia. Foram analisados a germinação (%); índice de velocidade de germinação (IVG), determinado de acordo com Maguire (1962); tempo médio de germinação

(TMG), conforme Laboriau (1983), com o resultado expresso em dias após a semeadura; a porcentagem de plântulas normais ou anormais, foi realizada ao considerar como normais aquelas contendo as estruturas essenciais ao desenvolvimento da muda, em perfeito estágio; comprimento da parte aérea (cm); comprimento da raiz (cm); diâmetro do coleto (mm); massa seca da raiz e da parte aérea (mg).

2.6 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento completamente casualizado, em esquema fatorial, consistindo de sementes *Pinus taeda* embebidas em seis concentrações de tanino (0; 4; 8; 12; 16 and 20%), distribuídas em quatro repetições de 25 sementes por repetição.

Os resultados foram avaliados com base na análise de regressão, por se tratarem de dados quantitativos (concentrações de tanino), ao ser verificada a diferença entre tratamentos pelo teste F ($p < 0,05$). As representações gráficas das distribuições dos valores foram realizadas por meio de modelos lineares e quadráticos.

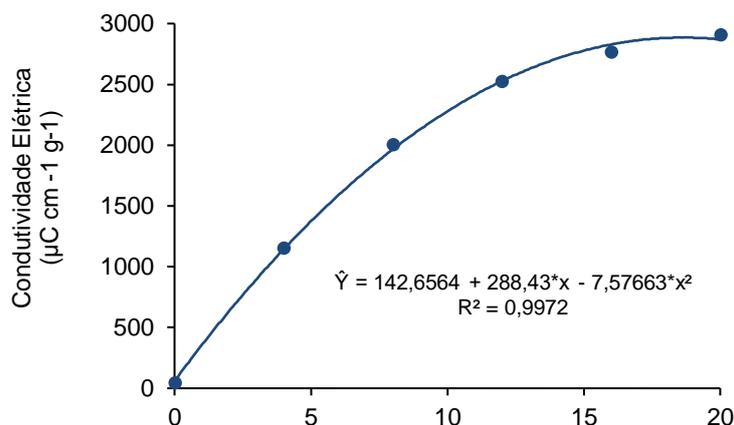
3. RESULTADOS E DISCUSSAO

3.1. Teste tetrazólio, condutividade elétrica, umidade e absorção de água

O teste de tetrazólio tem sido uma opção na análise da qualidade de sementes, principalmente para aquelas com germinação lenta e, ou recalcitrantes (OLIVEIRA et al., 2014). Nesta pesquisa, a viabilidade das sementes de pinus foi de 75% pelo teste de tetrazólio. Segundo Santos et al. (2006), a importância do teste tetrazólio, como instrumento de avaliação da viabilidade das sementes, deve-se a rapidez na obtenção dos seus resultados, sendo úteis nas áreas de comercialização, beneficiamento, armazenamento e produção de mudas. Sem que isto signifique o comprometimento do teste de germinação, que é o teste de balizamento ou referência.

Quanto a embebição em tanino, os tratamentos com maiores concentrações proporcionam maiores valores da condutividade elétrica (Figura 1), com ponto de máximo atingido na concentração de 18,63% de tanino.

Figura 1. Comportamento da condutividade elétrica nas sementes de *Pinus taeda* em diferentes concentrações de taninos (0; 4; 8; 12; 16 e 20%).



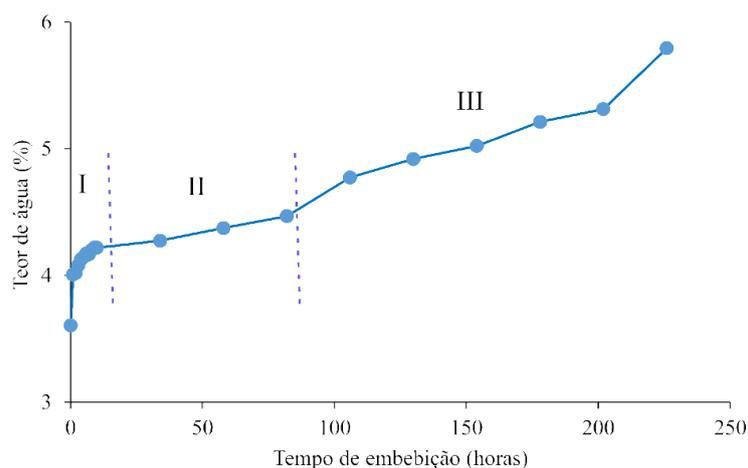
Fonte: A autora.

Com relação ao valor apresentado pelo R^2 segundo as análises da regressão (Figura 1), verificou-se que as concentrações de tanino diminuíram a qualidade das sementes isso indicando que o tanino tem influencia negativa na condutividade elétrica. O uso do extrato vegetal (tanino) liberou mais lixiviados e de acordo com os autores Andrade et al. (1995), Torres et al. (1999) e Ávila et al. (2005), quanto maior a qualidade fisiológica do lote de sementes menor é a quantidade de lixiviados liberados pela semente.

O teste de condutividade elétrica por sua vez indicou que o tratamento 6 (20 %) proporcionou o maior vigor, pela a menor lixiviação de solutos. Sementes que apresentam maiores valores de condutividade elétrica são consideradas de baixa qualidade fisiológica. Isto indica que a aplicação de tanino na semente de *P. taeda* não é indicado.

A porcentagem de umidade das sementes de *P. taeda* foi 3,67%. A absorção de água, durante o processo de germinação, seguiu o padrão trifásico (Figura 2), uma vez que a disponibilidade hídrica para a semente estava favorável (BEWLEY et al., 2013), como observado para a maioria das espécies florestais (JAOUADI et al., 2010; N'DRI et al. 2011; TRINDADE et al., 2017), caracterizado, quando a primeira fase da germinação ocorre de forma rápida, pela diferença de potencial de água, entre a semente e o meio circundante (MARCOS FILHO, 2005).

Figura 2. Curva de absorção de água de sementes de *Pinus taeda* L. ao longo de período de 26 dias, nas três fases de absorção.



Fonte: A autora.

A segunda fase da germinação é caracterizada por redução drástica na velocidade de absorção de água, marcada pela reativação do metabolismo, com aumento da difusão de solutos para regiões de marcante metabolismo, principalmente, na região do embrião. A terceira fase (aumento na absorção) se inicia com a emissão da raiz primária. Essa fase ocorre apenas em sementes não dormentes. Essas três fases originam a curva de absorção de água pela semente (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005; HUSSIAN et al., 2014).

Para as sementes de *P. taeda* estudadas, a primeira fase foi evidenciada até as 10 horas (primeiro dia) de embebição. A segunda foi caracterizada a partir de segundo dia de embebição até o quarto dia (82 horas), e última fase da curva (fase III, Figura 1) foi observada a partir de 106 horas (5 dias), com a absorção de água de forma ascendente. Foi observada 50+1% de emissão de radícula a partir de 154 horas (7 dias) de embebição.

O principal fator que determina o passo inicial para a germinação de sementes viáveis e não dormentes, é a disponibilidade de água para a embebição (BEWLEY et al., 2013). Em geral, a primeira fase ocorre de forma rápida, sendo determinada pela diferença acentuada entre os potenciais hídricos da semente e a do meio circundante, o que determina o fluxo de água do ambiente para a semente.

Sementes secas apresentam potenciais hídricos muito baixos. Assim, a embebição nesta fase é considerada um processo físico essencial para reativação do metabolismo. Outro fator que influencia a velocidade de absorção de água pelas sementes é a temperatura. O aumento da temperatura torna a água mais fluida e com

maior energia cinética, facilitando a sua movimentação para as sementes, com aumento da embebição e da velocidade das reações do metabolismo (BEWLEY et al., 2013).

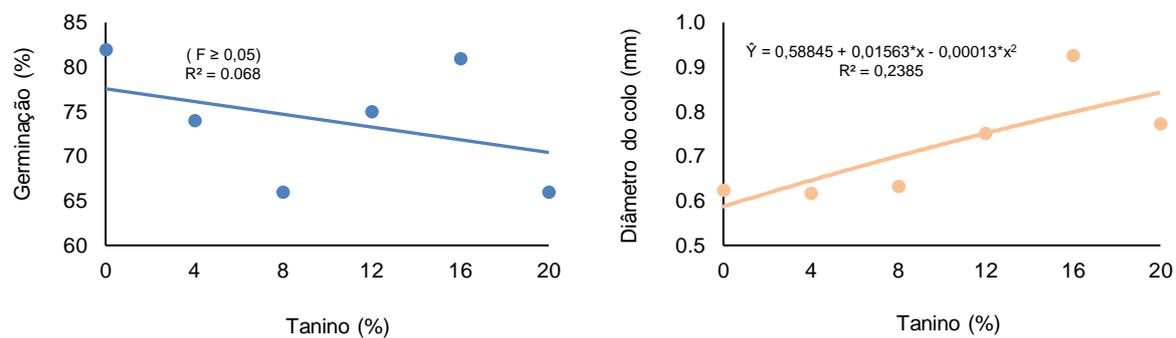
3.2. Parâmetros de qualidade das plântulas de *Pinus taeda*

Observa-se, que a germinação das sementes apresentou efeito não significativo nos tratamentos de acordo com o baixo valor de R^2 e com a análise da regressão (Figura 3A). Diferentemente dos resultados obtidos por Carvalho et al. (1999), Mata et al. (2009) e Souza et al. (2010), que comprovam a eficiência de extratos vegetais no aumento do poder germinativo e no controle de patógenos em sementes de espécies florestais. As sementes predispostas à ação de microrganismos, quando tratadas, reduzem a capacidade de sobrevivência dos fitopatógenos e potencializam a longevidade das sementes, assim como seu poder germinativo e vigor das futuras plantas.

Quanto à deterioração das sementes (Figura 3G), o baixo valor de R^2 indicou uma influência negativa para todos os tratamentos segundo com o baixo valor obtido nas análises da regressão. Possivelmente o tanino exerça algum poder alelopático inibitório na semente de *P. taeda*.

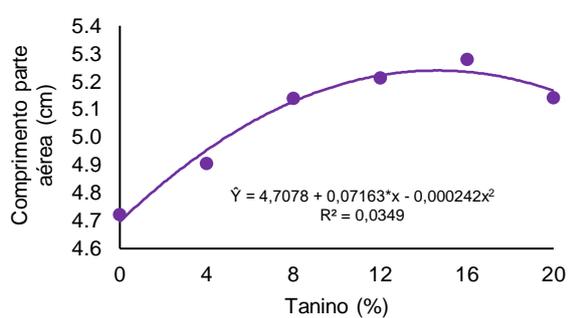
Efeito semelhante foi observado por Scherer et al. (2005), ao verificarem que extratos vegetais de folhas de leucena (*Leucaena leucocephala*) reduziram o percentual e a velocidade média de germinação de sementes de canafístula. Comportamento semelhante foi observado por Piña-Rodrigues e Lopes (2001), para extrato de folhas verdes de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*), também foi obtido resultado com a redução da velocidade ou inibição da germinação das sementes de ipê-amarelo. Tal resultado evidencia que a qualidade sanitária de sementes tratadas com extratos vegetais é bastante variável em função da sua potencialidade de germinação.

Figura 3. Parâmetros de qualidade fisiológica das sementes de *Pinus taeda* após embebidas em diferentes concentrações de tanino após 26 dias.

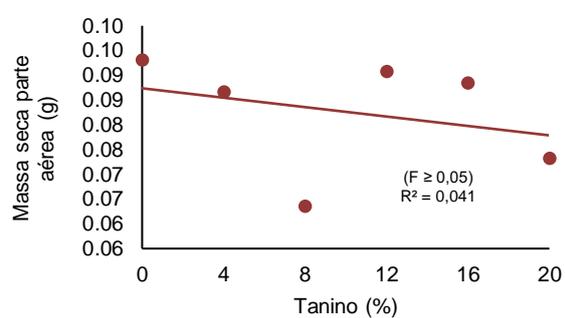


(A)

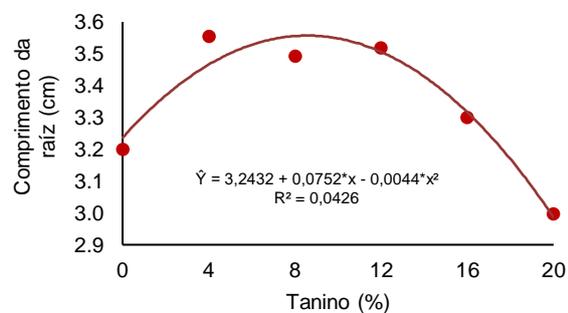
(B)



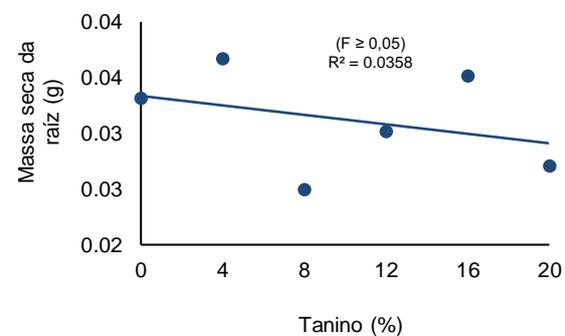
(C)



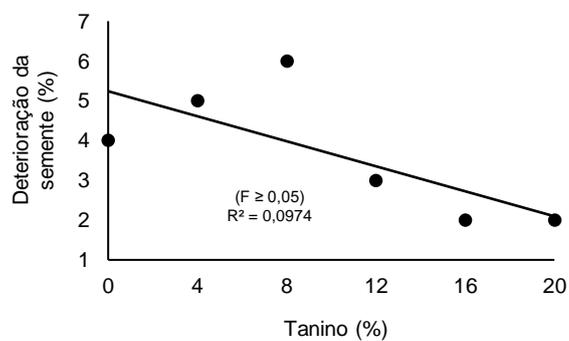
(D)



(E)

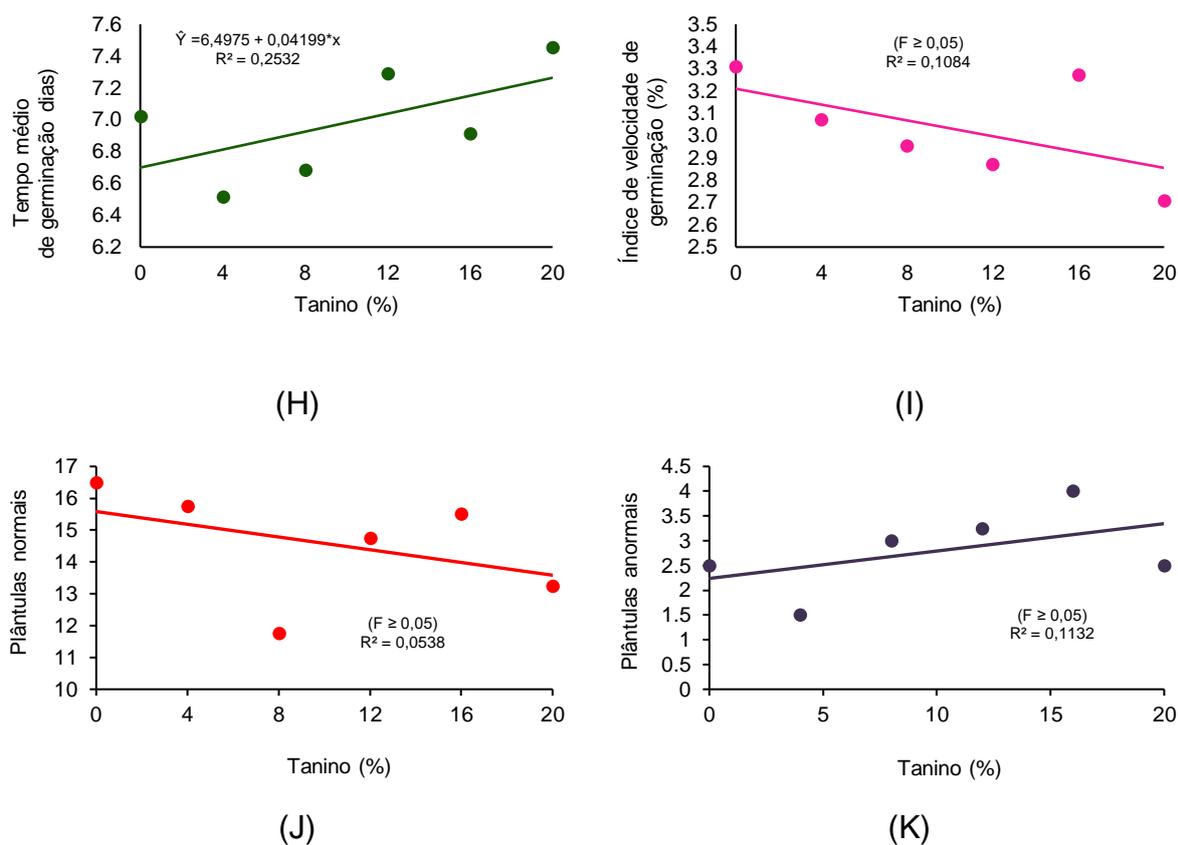


(F)



(G)

Continuação – Figura 3...



Fonte: Autora.

Por outro lado, o uso de extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens*), proporcionou a redução da microflora e aumento da porcentagem de germinação das sementes (MEDEIROS et al., 2013). O emprego de óleos essenciais e extratos de plantas medicinais no tratamento de sementes promoveu redução da microflora e aumento do poder germinativo (MATA et al., 2009). Assim, o efeito dos extratos vegetais depende, muitas vezes, das substâncias presentes na planta de origem, já que muitas apresentam ações alelopáticas, capazes de inibir a germinação e o crescimento de plântulas (LAZAROTTO et al., 2013).

As substâncias de reserva acumuladas nas sementes favorecem o fornecimento de energia e de substâncias básicas para o desenvolvimento do processo de germinação (BEWLEY; BLACK, 2012). Deste modo, menor acúmulo de massa seca resultaria em menor vigor das sementes e desenvolvimento de plântulas, quando comparadas aos tratamentos que promovem maior acúmulo de reservas.

Em relação ao comprimento da raiz, observou-se influencia positiva devido ao alto valor de R^2 que indicou uma influência positiva de acordo com as análises da regressão (Figura 3E). Na massa seca da raiz o baixo valor de R^2 mostrou uma influência negativa em todas as concentrações do tanino (Figura 3F). Provavelmente há compostos presentes no tanino, que não apenas os fenólicos, que contribuíram para este fato. Para o comprimento da parte aérea e a massa seca da parte aérea observou-se efeito de não significância pelo baixo valor de R^2 em todas as concentrações indicando que o tanino exerceu influência negativa nelas (Figura 3C e 3D), o que seria interessante para o desenvolvimento do material vegetal. Quanto ao diâmetro do coleto (Figura 3B), nota-se um comportamento similar de crescimento ao da parte aérea, para todas as concentrações de tanino. Também a influencia negativa foi observada nas plântulas normais e plântulas anormais devido ao baixo valor de R^2 obtidos para cada um (Figura 3J e 3K).

De acordo com Goldfarb et al. (2009), substâncias alelopáticas liberadas em quantidades suficientes podem causar inibição ou estimulação da germinação, do crescimento da planta e do sistema radicular. Por outro lado, Ribeiro et al. (2017) observaram que houve um retardo na germinação das sementes e uma diminuição do comprimento da radícula das plântulas em função do estresse oxidativo, causado pelos aleloquímicos do extrato, comprovando o potencial alelopático de extratos de leucena (*Leucaena leucocephala*). Assim, comportamento semelhante pode ter sido causado pelos taninos de acácia negra (*Acacia mearnsii*) nas sementes e no desenvolvimento das plântulas de *Pinus taeda*.

4. CONCLUSÕES

O extrato tânico não estimulou a porcentagem da germinação de plântulas normais, nem o vigor das sementes, entretanto, o mesmo exerceu influencia positiva no comprimento da raiz na avaliação das concentrações do tanino testadas.

O tanino não influenciou na porcentagem de germinação das sementes de *Pinus taeda*, no desenvolvimento de plântulas normais, no índice de velocidade de germinação, nem no tempo médio para germinação.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R.N.; SANTOS, D.S.B.; SANTOS FILHOS, B.G.; MELLO, V.D.C. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 1, n. 2, p.153-162, 1995.
- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L.P. Testes de laboratório em sementes de canola e a correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27 p. 62-70, 2005.
- AZERÊDO, G.A.; PAULA, R.C.; VALERI, S.V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 61-68, 2011.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer-Verlag, 2012. 392p.
- BHÉRING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. N. F. S.; PENA, M. F. **Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: UFV, 1996. 27p. (Boletim Técnico UFV)
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Mapa/ACS, 2009. 399p.
- CANNAS, A. Tannins: fascinating but sometimes dangerous. Cornell: Cornell University, 2011. Disponível em: <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html>>. Acesso em: 25 nov. 2019.
- CARVALHO, R.A.; CHOIRY, A.S.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F. Effect of plants with antibiotic properties on the control of *Fusarium* sp. In: ANNALS OF THE INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS, 14., 1999, Jerusalem. **Annals...** Jerusalem: FAO, IAPPS, 1999.
- CORRAL, M. F.; OLIVEIRA, P. G.; PEREIRA, A. G.; LOPEZ, C. L.; LOPEZ, C. J.; PRIETO, M. A.; GANDARA, J. G. Technological application of tannin-based extracts. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 614-641, 2020.
- DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: Agiplan, 1976. 103p.
- FESSEL, S.A.; SILVA, L.J.R.; SADER, R. Teste de condutividade elétrica para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). **Científica**, v. 33, n. 1, p. 35-41, 2005.
- FIELD, J.; LETTINGA, G. Biodegradation of tannins. In: Sigel H. (Ed.). Metal ions in biological systems. Degradation of environmental pollutants by microorganisms and their metalloenzymes. New York: Marcel Dekker, 1992. v. 28, p. 61-97.

FRANÇA NETO, J. B.; KRYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1998. 72p. (Documentos, 116).

GIRARDI, L. B.; LAZAROTTO, M.; MÜLLER, J.; DURIGON, M. R.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E. Extratos vegetais na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de zínia (*Zinnia elegans*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 897-900, 2009.

GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 03, n. 1, p. 23-28, 2009.

HUSSIAN, I.; AHMAD, R.; FAROOQ, M.; REHMAN, A.; AMIN, M.; ABU, B. M. Seed priming: a tool to invigorate the seeds. **Scientia Agriculturae**. v.7, n.3, p.122-128, 2014.

JAOUADI, W.; HAMROUNI, L.; SOUAYEH, N.; KHOUJA, M.L. Etude de la germination des grains d'*Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. **Biotechnologie, Agronomie, Sociologie et Environnement**, v. 14, p. 643-652, 2010.

KIRKER, G.T.; BLODGETT, A. B.; ARANGO, R. A.; LEBOW, P. K.; CLAUSEN, C. A. The role of extractives in naturally durable wood species. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 82, p. 53-58, 2013.

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

LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; BELTRAME, R.; DOS SANTOS, A.F.; MEZZOMO, R.; PIVETA, G.; BLUME, E. Qualidade fisiológica e tratamentos de sementes de *Cedrela fissilis* procedentes do sul do Brasil. **Revista Árvore**, v. 37, n. 2, p.201-210, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000200001>.

MACHADO, C.G.; MARTINS, C.C.; SANTANA, D.G.; CRUZ, S.C.S; OLIVEIRA, S.S.C. Adequação do teste de condutividade elétrica para sementes de *Pisum sativum* subsp. *arvense*. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p.988-995, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000062>.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

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

MATA, M.F.; ARAÚJO, E; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, A.E.F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, Cactaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 327-334, 2009.

MARQUES, M. A.; PAULA, R. C.; RODRIGUES, T. J. D. Efeito do número de sementes e do volume de água na condutividade elétrica de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 254-262, 2002.

MEDEIROS, J. G. F.; ARAÚJO NETO, A. C.; MEDEIROS, D. S.; NASCIMENTO, L. C.; ALVES, E. U. Extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de *Pterogyne nitens* Tul. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 3, p. 384-390, 2013.

OLIVEIRA, L.M.; GOMES, J.P.; SOUZA, G.K.; NICOLETTI, M.F.; LIZ, T.O.; PIKART, T.G. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Floresta e Ambiente**. v. 21, n. 4, p. 468-474, 2014.

N'DRI, A.A.N.; VROH-BI, I.; KOUAMÉ, P.L.; ZORO, B.I.I. Bases génétiques et biochimiques de la capacité germinative des grains: implications pour les systems semenciers et la production alimentaire. **Sciences et Nature**, v. 8, n. 1, p. 119-137, 2011.

OLIVEIRA, S. G. Alelopátia de capim-cidreira na germinação, vigor de sementes e no desenvolvimento inicial do tomate-cereja. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 7-12, 2018.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; LOPES, B. M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpinaefolia* Benth. sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 130-136, 2001.

PARISI, J.J.D. Transmissão de patógenos através de sementes e mudas de espécies florestais nativas. In: Congresso Brasileiro de Sementes, 18., 2013, Florianópolis. Palestras e Resumos. Londrina: Informativo Abrates, 2013. 1 CD-ROM.

SAITOH, T.; OSAWA, J.; TAKANISHI, T.; HAYAKASHI, S.; OHMORI, M.; MORITA, T.; UEMURA, S.; VIK, J.O.; STENSETH, N.C.; MAEKAWA, K. Effects of acorn masting on population dynamics of three forest-dwelling rodent species in Hokkaido, Japan. **Population Ecology**, v. 49, p. 249-256, 2007.

RIBEIRO, V. M.; SPIASSE, A.; MARCON, T. R.; LIMA, G. P. CORSATO, J. M.; FORTES, A. M. T. Antioxidative enzymes of *Cucumis sativus* seeds are modulated by *Leucaena leucocephala* extracts. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 39, n. 3, p. 373-380, 2017.

SCHERER, L. M.; ZUCARELI, V.; ZUCARELI, C. A.; FORTES, A. M. T. Efeito alelopático do extrato aquoso de folha e de fruto de leucena (*Leucaena leucocephala* Wit.) sobre a germinação e crescimento de raiz da canafístula (*Peltophorum dubium* Spreng). **Semina: Ciências Biológicas e Saúde**, v. 26, n. 2, p. 161-166, 2005.

SHARMA, K. P. Tannin degradation by phytopathogen's tannase: A plant's defense perspective. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 21, e101342, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101342>.

SILVA, D.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de piper sobre *Crinipellis perniciosus*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, G.H.; SOUZA, P.F.; HENRIQUES, I.G.N.; CAMPELO, G.J.; ALVES, G.S. Extrato de alho e nim em diferentes concentrações com efeito fungicida em sementes de chorão (*Poecilanthe ulei*). **Revista Verde**, v. 5, n. 4, p. 76-81, 2010.

SILVA, V.N.; SARMENTO, M.B.; SILVEIRA, A.C.; SILVA, C.S.; CICERO, S.M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagen. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, 2013.

SOUZA, P.F.; SILVA, G.H.; HENRIQUES, I.G.N.; CAMPELO, G.J.; ALVES, G.S. Atividade antifúngica de diferentes concentrações de extrato de alho em sementes de ingá (*Inga edulis*). **Revista Verde**, v. 5, n. 5, p. 08-13, 2010.

TORRES, S.B.; SILVA, M.A.S.; CARVALHO, I.M.S.; QUEIRÓZ, M.A. Correlação entre testes de vigor em sementes de maxixe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 1075-1080, 1999.

TRINDADE, B.M.C.; REIS, R.Z.; VALE, E.M.; CATARINA, C.S.; SILVEIRA, V. Proteomics analysis of the germinating seeds of *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Meliaceae): an endangered species of the Brazilian Atlantic Rainforest. **Botanical Society**, v. 41, n. 1, p. 117–128, 2017.

ZHANG, Y.; BARTLOW, A.W.; WANG, Z.; Yi, X. Effects of tannins on population dynamics of sympatric seed-eating rodents: the potential role of gut tannin-degrading bacteria. **Oecologia**, v. 187, p. 667-678, 2018.

CONCLUSÕES GERAIS

O tanino (extrato de acácia negra) reduziu o desenvolvimento dos fungos dos gêneros *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Pythium* spp., e *Rhizopus* spp em meio de cultura (batata, dextrose, ágar). Os melhores resultados foram obtidos com o aumento das concentrações dos extratos tânicos.

A utilização do tanino não influenciou significativamente a porcentagem de germinação das sementes de *Pinus taeda*, nem o surgimento das plântulas normais. Não influenciando também, no índice de velocidade de germinação das sementes. Porém, as concentrações de taninos (4-16%) influenciaram positivamente na massa seca da raiz.

Sendo assim, sugere-se:

- Que outros estudos sejam conduzidos com o objetivo de melhorar os resultados obtidos.
- Quando for utilizar taninos com o objetivo de estimular a porcentagem de germinação, a formação de plântulas normais, reduzir o tempo médio de germinação e aumentar o índice de velocidade de germinação, que se reduza as concentrações de tanino aplicada neste trabalho.
- Que para se utilizar taninos apenas para a inibição de fungos pode-se considerar um aumento nas concentrações.