



Sanitary and physiological quality of seeds of *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret

Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret

Mateus Alves Saldanha¹, Marlove Fátima Brião Muniz², Clair Walker³, Aleksandra Cezimbra Quevedo⁴, Vinícius Spolaor Fantinel⁵

Abstract: Goiaba-serrana, a fruit species native to the southern region of Brazil, is promising in ecological and commercial terms. The species propagates naturally through sexual (seeds); however, it may be produced by cutting, grafting, and micropropagation. Several fungal genera can be associated with seeds and be transmitted to seedlings. Thus, this study aimed to identify fungal genera and to analyze different substrates for the germination of *Acca sellowiana*, associated with seeds from a different origin. To evaluate the microorganisms associated with the seeds, the method of incubation on a paper substrate ("blotter test") was used. The germination test was carried out in a completely randomized design, in a factorial scheme, (2 x 4), with 4 replications of 25 seeds per substrate and lot. The factors corresponded to two origin (Serafina Corrêa and Vacaria, state of Rio Grande do Sul) and four substrates (sand, paper roll, on paper and vermiculite). The fungal genera associated with goiaba-serrana seeds were: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Trichoderma* spp. The sanity test showed the origin influences the incidence of fungi in the seeds and physiological quality. Moreover, the origin of Serafina Corrêa presented better physiological quality in relation to the Vacaria lot. Any of the substrates used can be used for the germination of goiaba-serrana seeds.

Key words: Fungi. Goiaba-Serrana. Myrtaceae. Forest seeds.

Resumo: Goiaba-serrana, espécie frutífera nativa da região Sul do Brasil, é promissora em termos ecológicos e comerciais. A espécie propaga-se naturalmente por via sexuada (sementes), no entanto, pode ser produzida por estaquia, enxertia e micropropagação. Diversos gêneros fúngicos podem estar associados às sementes e ser transmitidos às plântulas. Assim, objetivou-se com o presente estudo identificar gêneros fúngicos e analisar diferentes substratos para a germinação de *Acca sellowiana*, associados às sementes de diferentes procedências. Para avaliar os microrganismos associados às sementes, foi utilizado o método de incubação em substrato de papel ("blotter test"). O teste de germinação foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 4), com 4 repetições de 25 sementes por substrato e lote. Os fatores corresponderam a duas procedências (Serafina Corrêa e Vacaria, estado do Rio Grande do Sul) e quatro substratos (areia, rolo de papel, sobre papel e vermiculita). Os gêneros fúngicos associados às sementes de goiaba-serrana foram: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Trichoderma* spp. O teste de sanidade demonstrou que a procedência influencia na incidência de fungos nas sementes e na qualidade fisiológica. A procedência de Serafina Corrêa apresentou melhor qualidade fisiológica em relação ao lote de Vacaria. Qualquer dos substratos podem ser utilizados para a germinação de sementes de goiaba-serrana.

Palavras-chave: Fungos. Goiaba-Serrana. Myrtaceae. Sementes florestais.

*Corresponding author

Submitted for publication on 18/01/2020, approved on 21/02/2020 and published on 20/03/2020

¹Postgraduate Program in Forest Engineering, Federal University of Santa Maria, Department of Phytosanitary Defense, CEP 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: mtsmateusalves@gmail.com;

²Full Professor, Federal University of Santa Maria, Department of Phytosanitary Defense. E-mail: marlovemuniz@yahoo.com.br;

³Temporary Professor, Londrina State University, Department of Agronomy. E-mail: clairwalker@gmail.com;

⁴Postgraduate Program in Forest Engineering, Federal University of Santa Maria, Department of Phytosanitary Defense. E-mail: alequevedo1997@gmail.com;

⁵Postgraduate Program in Forest Engineering, Federal University of Santa Maria, Department of Phytosanitary Defense. E-mail: vinispofan@hotmail.com.

INTRODUCTION

The Myrtaceae family has several native fruit species widely distributed in Brazil (GOMES *et al.*, 2016). An example is the species *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret, popularly known as “goiaba-serrana” native to southern Brazil. It has been getting prominence due to the organoleptic characteristics of its fruits, which can be consumed *in nature* or processed in the form of juices, sweets, or jellies besides its use to recover degraded areas. Nevertheless, studies regarding pathology and seed quality of forest species are still deficient in all aspects (FANTINEL *et al.*, 2015).

The seed quality is made up of the sum of a series of aspects, such as physiological, sanitary, genetics, and physicals quality. Among these aspects, sanitary quality assumes a fundamental role, as it deals with the association of pathogenic microorganisms to seeds, influencing viability, longevity, consequently, the quality of the seeds (CHEROBINI *et al.*, 2008). According to Lazarotto *et al.* (2013), to obtain good quality seedlings, it is essential to use healthy seeds in the propagation of a species.

The physiological quality of the seeds may be evaluated by germination and vigor tests, which are made to separate seed lots with different qualities and for predicting the potential of maximum germination and seed vigor (WALKER *et al.*, 2015). During the physiological maturation of seeds, the vigor behaves similarly to germination, getting the maximum of vigorous seeds at a very close time with the reserve's accumulation (MARCOS FILHO, 2015).

According to the Instructions for Analysis of Seeds of Forest Species (BRASIL, 2013), seeds germination in a laboratory test is represented by the emergence and development of the embryonic structure, demonstrating its ability to produce a normal plant under favorable environmental conditions. Oliveira *et al.* (2012) point out that seed germination is influenced by the substrate, as factors such as aeration, structure, water retention capacity, degree of pathogen infestation, among others, may vary according to the material used, favoring or impairing the germination of the seeds.

INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae possui diversas espécies frutíferas nativas com ampla distribuição no Brasil (GOMES *et al.*, 2016). Um exemplo é a espécie *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret, conhecida popularmente como goiaba-serrana, nativa do Sul do Brasil, que vem ganhando destaque devido às características organolépticas de seus frutos, que podem ser consumidos *in natura* ou processados na forma de sucos, doces ou geleias, além da sua utilização para recuperação de áreas degradadas. Porém, percebe-se que estudos referentes à patologia e à qualidade de sementes de espécies florestais ainda são deficientes em todos os aspectos (FANTINEL *et al.*, 2015).

A qualidade das sementes é constituída pelo somatório de uma série de aspectos, tais como: qualidade fisiológica, sanitária, genética e física. Dentre esses aspectos, a qualidade sanitária assume fundamental importância, pois trata da associação de microrganismos patogênicos às sementes, influenciando na viabilidade, longevidade e, conseqüentemente, na qualidade da muda (CHEROBINI *et al.*, 2008). Segundo Lazarotto *et al.* (2013), para se obter mudas de boa qualidade, é fundamental a utilização de sementes sadias na propagação de uma espécie.

A qualidade fisiológica das sementes pode ser avaliada por testes de germinação e vigor, os quais são realizados para separar lotes de sementes com qualidades diferentes e fazer previsão do potencial de máxima germinação e vigor das sementes (WALKER *et al.*, 2015). Durante a maturação fisiológica das sementes, o vigor se comporta de maneira semelhante à germinação, atingindo o máximo de sementes vigorosas em época muito próxima com o acúmulo de reservas (MARCOS FILHO, 2015).

De acordo com as Instruções para Análise de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013), a germinação de sementes em teste de laboratório é representada pela emergência e desenvolvimento de estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições ambientais favoráveis. Oliveira *et al.* (2012) apontam que a germinação das sementes é influenciada pelo substrato, pois fatores como aeração, estrutura, capacidade de retenção de água, grau de infestação de patógenos, entre outros, podem variar de acordo com o material utilizado, favorecendo ou prejudicando a germinação das sementes.

In the germination test, different types of substrates can be used, such as filter paper, blotting paper, sand, and vermiculite (BRASIL, 2009). The paper is indicated for small, flat, and light-demanding seeds; sand is indicated for large, globose seeds. While, vermiculite is used in the production of forest species seedlings since it has good water absorption and retention capacity, aeration, and enables proper seedling development. However, it is not indicated for smaller seeds because it makes it hard to assess the dead seeds at the end of the test. The substrates indicated for the germination of *Acca sellowiana* are vermiculite and paper roll (BRASIL, 2013).

Seed quality may be affected by several factors, including the association with microorganisms, which is of increasing concern (WALKER *et al.*, 2015). The presence of pathogens in seeds, both internally and externally, can reduce the germination power. In this sense, greater attention must be given to pathogens associated with seeds of native species, because some may cause damage the production of quality seedlings (PARISI *et al.*, 2019).

For the production of quality seedlings, it is necessary to know the physiological, and sanitary quality of the seeds used (WALKER *et al.*, 2015). Thus, this study aimed to evaluate the sanitary and physiological quality of *Acca sellowiana* seeds, from two municipalities in the Rio Grande do Sul (Serafina Corrêa and Vacaria), through the sanitary test and evaluation of the physiological potential of seeds in different substrates.

MATERIAL AND METHODS

This study was conducted at the Elocy Minussi Phytopathology Laboratory at the Department of Phytosanitary Defense, Center for Rural Sciences of the Federal University of Santa Maria.

Sanity tests

For evaluation of the sanitary quality, the method of incubation in a paper substrate ("Blotter test") was used, when the seeds were distributed in *gerboxes*, covered with two sheets of filter paper previously sterilized in an oven and moistened with sterile distilled water. The incubation was carried out in a chamber with a controlled temperature at 25 ± 2 °C and a photoperiod of 12 h. After this period, quantification and identification of fungi were performed, in gender level, based on its morphological characteristics visualized with the aid of stereoscopic and optical microscopes, the seeds being observed individually.

No teste de germinação, diferentes tipos de substratos podem ser utilizados, tais como papel filtro, papel mata borrão, areia e vermiculita (BRASIL, 2009). O papel é indicado para sementes pequenas, achatadas e exigentes a luz; a areia é indicada para sementes globosas e grandes; já a vermiculita é utilizada na produção de mudas de espécies florestais, pois apresenta boa capacidade de absorção e retenção de água, aeração e possibilita o desenvolvimento adequado das plântulas, porém não é indicada para sementes muito pequenas, pois dificulta a avaliação de sementes mortas no final do teste. Os substratos indicados para germinação de *Acca sellowiana* são vermiculita e rolo de papel (BRASIL, 2013).

A qualidade de sementes pode ser afetada por diversos fatores, dentre esses, a associação com microrganismos, que constitui uma preocupação crescente (WALKER *et al.*, 2015). A presença de patógenos em sementes, tanto interna quanto externamente, pode reduzir o poder germinativo. Nesse sentido, maior atenção deve ser dada aos patógenos associados às sementes de espécies nativas, visto que alguns podem causar danos à produção de mudas com qualidade (PARISI *et al.*, 2019).

Para a produção de mudas de qualidade, torna-se necessário conhecer a qualidade fisiológica e sanitária das sementes utilizadas (WALKER *et al.*, 2015). Dessa maneira, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Acca sellowiana*, procedentes de dois municípios do Rio Grande do Sul (Serafina Corrêa e Vacaria), por meio do teste de sanidade e avaliação do potencial fisiológico de sementes em diferentes substratos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi, pertencente ao Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

Teste de sanidade

Para a avaliação da qualidade sanitária, foi utilizado o método de incubação em substrato de papel ("blotter test"), quando as sementes foram distribuídas em caixas *gerbox*, forradas com duas folhas de papel-filtro previamente esterilizadas em forno e umedecidas com água destilada esterilizada. A incubação foi realizada em câmara com temperatura controlada a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. Após esse período, foi realizada a quantificação e identificação dos fungos, em nível de gênero, com base nas suas características morfológicas visualizadas com auxílio de microscópios estereoscópico e óptico, sendo as sementes observadas individualmente.

In the sanity test, the design was completely randomized, with four replications of 25 seeds each origin.

Germination test on different substrates

In the germination test, the completely randomized design was used, in a factorial scheme (2 x 4), with four replications of 25 seeds. The factors corresponded to two sources (Serafina Corrêa and Vacaria, Rio Grande do Sul) and four substrates (sand, paper rolls, on paper, and vermiculite). It was opted to test other substrates, in addition to those recommended in Brasil (2013), in order to verify the physiological quality of the seeds, considering the different origins.

The collections have been done in the municipalities of Serafina Corrêa and Vacaria, in February 2017 and March 2017, respectively. The seeds were collected from 10 selected trees in each origin (municipality), distant from one another, approximately 200 m. The selected trees were located at the geographic coordinates 28°42'44.5"S and 51°55'42.7"W, in Serafina Corrêa, and 28°53'01.3"S and 50°01'45.4"W, in Vacaria.

After the harvesting of the fruits, the seeds were extracted by maceration in running water, dried at room temperature for 2-days, and stored in paper packaging in a cold chamber at 10 °C, and 45% of relative humidity for 7-days. The water content of seeds was 25.8% to Serafina Corrêa and 31.3% to Vacaria.

The seeds were submitted to the asepsis process with a 70% alcohol solution, 1% sodium hypochlorite, and sterile distilled water, standing for one minute in each asepsis. The substrates were sterilized in an autoclave at 120 °C for 1h, and the sand was previously passed through a 0.36 mm mesh sieve. The *gerboxes* were sterilized with 70% alcohol and 1% sodium hypochlorite solution, besides the use of sterile distilled water.

In the sand, the seeds have been placed on a uniform layer previously moistened and covered; on the paper roll substrate, the seeds were placed between two sheets of filter paper, in the rolls form, and then placed in the germination in a vertical position. On the substrate on paper, the seeds were arranged to germinate on two papers sheets; while, in vermiculite, the seeds were placed on a uniform layer of 15 g moistened with 25 mL of distilled water, and covered with an additional 15 g (BRASIL, 2013).

No teste de sanidade, o delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes de cada procedência.

Teste de germinação em diferentes substratos

No teste de germinação, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 4), com quatro repetições de 25 sementes. Os fatores corresponderam a duas procedências (Serafina Corrêa e Vacaria, Rio Grande do Sul) e quatro substratos (areia, rolo de papel, sobre papel e vermiculita). Optou-se por testar outros substratos, além dos recomendados em Brasil (2013), a fim de se verificar a qualidade fisiológica das sementes, tendo em vista as diferentes procedências.

As coletas foram realizadas em fevereiro de 2017 no município de Serafina Corrêa e em março de 2017 no município de Vacaria. As sementes foram coletadas em 10 árvores matrizes em cada procedência (município), distantes, aproximadamente, 200 m entre si. As matrizes estavam localizadas nas coordenadas geográficas 28°42'44,5"S e 51°55'42,7"W, em Serafina Corrêa, e nas coordenadas 28°53'01,3"S e 50°01'45,4"W, em Vacaria.

Após a colheita dos frutos, as sementes foram extraídas por meio de maceração em água corrente, secas em temperatura ambiente por 2 dias e armazenadas em embalagem de papel em câmara fria a temperatura de 10 °C e umidade relativa de 45%, por 7 dias. O teor de água das sementes de Serafina Corrêa foi de 25,8% e o das sementes de Vacaria foi de 31,3%.

As sementes passaram pelo processo de assepsia com uma solução de álcool 70%, hipoclorito de sódio 1% e água destilada esterilizada, permanecendo um minuto em cada assepsia. Os substratos foram esterilizados em autoclave a 120 °C por 1 h, sendo que, a areia foi previamente passada em peneira com 0,36 mm de malha. As caixas *gerbox* foram esterilizadas com álcool a 70% e solução de hipoclorito de sódio a 1%, além da utilização de água destilada esterilizada.

Na areia, as sementes foram colocadas sobre uma camada uniforme previamente umedecida e cobertas; no substrato rolo de papel, colocou-se as sementes entre duas folhas de papel filtro, em forma de rolos e depois colocados no germinador em posição vertical; no substrato sobre papel, as sementes foram dispostas para germinar sobre duas folhas de papel; já na vermiculita, as sementes foram colocadas sobre uma camada uniforme de 15 g umedecida com 25 mL de água destilada e cobertas com mais 15 g (BRASIL, 2013).

The evaluations were made according to the Rules for Seed Analysis (BRASIL, 2013), being carried out at 15 (first count) and 40 days (final count) after the test installation. The first germination count was relating to normal seedlings accumulated until the seventh day after the test installation. It was considered germinated the seeds that originated normal seedlings, with the essential structures developed. The number of non-germinated seeds was obtained by seeds that have not to show the development of essential structures.

For the analysis of variance, the data were transformed by the equation $(x + 0,5)^{0,5}$. The comparison of means was have been made by the Tukey test at 5% probability in the SISVAR statistical analysis program (FERREIRA, 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

In the sanity test, the genera of fungi associated with the seeds of *Acca sellowiana* were *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Trichoderma* spp. Statistical differences were found between the provenances and the genera *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. (Table 1). Besides, it was possible to verify that *Penicillium* spp. was present in both lots.

In a study conducted by Fantinel *et al.* (2017), they identified in the goiaba-serrana seeds, from the municipalities of Arroio de Tigre, Camaquã, Cachoeira do Sul, and Venâncio Aires, from the state of Rio Grande do Sul, Concórdia, Lages, and São Joaquim, from the state of Santa Catarina, the following fungi *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp., *Epicoccum* sp. and *Phomopsis* sp.

As avaliações foram realizadas conforme as Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2013), sendo realizadas aos 15 (primeira contagem) e aos 40 dias (contagem final) após a instalação do teste. A primeira contagem de germinação foi correspondente às plântulas normais acumuladas até o sétimo dia após a instalação do teste. Foram consideradas germinadas as sementes que originaram plântulas normais, com as estruturas essenciais desenvolvidas. O número de sementes não germinadas foi obtido através da observação das sementes que não apresentaram o desenvolvimento das estruturas essenciais.

Para a análise de variância, os dados foram transformados pela equação $(x + 0,5)^{0,5}$. A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade no programa de análise estatística SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de sanidade, os gêneros de fungos associados às sementes de *Acca sellowiana* foram *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Trichoderma* spp. Encontraram-se diferenças estatísticas entre as procedências e os gêneros *Penicillium* spp. e *Trichoderma* spp. (Tabela 1). Além disso, foi possível verificar que *Penicillium* spp. esteve presente em ambos os lotes.

Em um estudo realizado por Fantinel *et al.* (2017), foram identificados nas sementes de goiaba-serrana, oriundas dos municípios de Arroio de Tigre, Camaquã, Cachoeira do Sul e Venâncio Aires, do estado do Rio Grande do Sul, Concórdia, Lages e São Joaquim, do estado de Santa Catarina, os seguintes fungos: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *Trichoderma* sp., *Epicoccum* sp. e *Phomopsis* sp.

Table 1 - Incidence of fungal genera (%) in *Acca sellowiana* seeds from different municipalities in Rio Grande do Sul

Tabela 1 - Incidência dos gêneros fúngicos (%) em sementes de *Acca sellowiana* procedentes de diferentes municípios do Rio Grande do Sul

Origin	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Trichoderma</i> spp.
Serafina Corrêa	48 a*	23 a	0 a
Vacaria	98 b	5 a	5 b
Overall average		14	
CV (%)	14.83	37.90	18.55

* Means followed by the same letter, in the column, do not differ by Test F at 5% probability. CV = Coefficient of variation.

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste F a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de variação.

Fungi may be associated with seeds during flowering, maturation, and storage. The seeds stored with higher humidity, around 25%, are more prone to the occurrence of storage fungi, among these, the genera *Aspergillus* and *Penicillium* highlighted, which can cause rot and deterioration (VECHIATO, 2010). Several studies have reported the presence of the genus *Penicillium* associated with seeds of forest species, as in a study conducted by Aimi *et al.* (2016), in which the presence of this genus in *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. was 92%.

Muniz *et al.* (2007) found high rates of *Penicillium* spp. and *Aspergillus* spp. in seeds of *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert and *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, confirming these fungi are rotting seeds and cause a reduction in germination and vigor due to deterioration and, consequently, their death. In addition, their presence is associated with inadequate storage conditions, such as high seed moisture, high relative humidity, and high temperatures.

In a study about the detection of fungi in goiaba-serrana seeds from southern Brazil, Fantinel *et al.* (2017) found the genera *Aspergillus* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. and *Phomopsis* sp. associated with non-germinated seeds. In seeds submitted or not to asepsis, the genera *Trichoderma* spp. was identified. This author highlights that fungi of this genera are among the most studied microorganisms as agents in the biocontrol of phytopathogens that promote seed germination and plant growth. Cherobini *et al.* (2008) verified, in a study of sanity quality evaluation of *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, the incidence of *Trichoderma* spp. in collections carried out in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, claiming that the fungus is saprophytic and that, in some cases, it can act as an antagonist of pathogens.

It was found the percentage of germination was low in both lots, getting its maximum value at the origin Serafina Corrêa, with 37% formation of normal seedlings in the substrate on paper, followed by 30% on the sand substrate. Fantinel *et al.* (2017), in the germination test, obtained in the municipalities higher values, with up to 85% to Venâncio Aires and 84% to Arroio do Tigre.

According to the analysis of variance, there was no interaction between the substrate factors and origins ($p > 0.05$), but there were significant differences among the origins of the seeds ($p < 0.05$) (Table 2).

Os fungos podem estar associados às sementes durante a floração, maturação e armazenamento. As sementes armazenadas com maior umidade, em torno de 25%, são mais propensas à ocorrência de fungos de armazenamento, dentre esses, destacam-se os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que podem causar podridão e deterioração (VECHIATO, 2010). Diversas pesquisas têm relatado a presença do gênero *Penicillium* associado a sementes de espécies florestais, como no estudo realizado por Aimi *et al.* (2016), em que a presença desse gênero em *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. foi de 92%.

Muniz *et al.* (2007) verificaram elevados índices dos fungos *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. em sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, confirmando que esses fungos são apodrecedores de sementes e causam redução na germinação e no vigor pela deterioração e, consequentemente, sua morte. Além disso, sua presença está associada a condições inadequadas de armazenamento, como alta umidade das sementes, alta umidade relativa e temperaturas elevadas.

Em estudo sobre detecção de fungos em sementes de goiaba-serrana de procedências da região Sul do Brasil, Fantinel *et al.* (2017) encontrou os gêneros *Aspergillus* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Phomopsis* sp. associados a sementes não germinadas. Em sementes submetidas ou não à asepsia, foi identificado o gênero *Trichoderma* spp. Esses autores destacam destaca que fungos desse gênero estão entre os microrganismos mais estudados como agentes no biocontrole de fitopatógenos promotores da germinação de sementes e do crescimento vegetal. Cherobini *et al.* (2008) verificaram, em um estudo de avaliação de qualidade sanitária de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, a incidência de *Trichoderma* spp. em coletas realizadas nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, afirmando que o fungo é saprófita e que, em alguns casos, pode atuar como antagonista de patógenos.

Verificou-se que a porcentagem de germinação foi baixa em ambos os lotes, tendo seu valor máximo na procedência Serafina Corrêa, com 37% de formação de plântulas normais no substrato sobre papel, seguido de 30% no substrato areia. Fantinel *et al.* (2017), em teste de germinação, obtiveram valores mais elevados, com até 85% no município de Venâncio Aires e 84% no município de Arroio do Tigre.

De acordo com a análise de variância, não houve interação entre os fatores substratos e procedências ($p > 0,05$), mas verificou-se diferenças significativas entre as procedências das sementes ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Table 2 - Physiological quality of *Acca sellowiana* seeds from different sources and substrates**Tabela 2** - Qualidade fisiológica de sementes de *Acca sellowiana* oriundas de diferentes procedências e substratos

Origin	Sand	Rpapel	Spapel	Verm	Mean	CV(%)
1st germination count (%)						
Vac	1	0	0	0	0.25 b	39.32
SerCor	9	15	29	15	17.00 a	
Mean	5 ^{ns}	7.5 ^{ns}	14.5 ^{ns}	7.5 ^{ns}		
Normal seedlings (%)						
Vac	4	0	2	0	1.50 b	26.15
SerCor	30	19	37	26	28.75 a	
Mean	17 ab	9.5 b	19.50 a	14.50 ab		
Non-germinated seeds (%)						
Vac	96	100	98	100	98.37 a	4.92
SerCor	70	81	63	74	72.75 b	
Mean	84.25 ^{ns}	90.5 ^{ns}	80.5 ^{ns}	87 ^{ns}		

In which: Vac - Vacaria; SerCor - Serafina Corrêa; Rpapel - paper roll; Spapel - on paper; Verm - Vermiculite. * Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey's test at 5% probability of error. CV = Coefficient of Variation. ns = not significant.

Onde: Vac - Vacaria; SerCor - Serafina Corrêa; Rpapel - rolo de papel; Spapel - sobre papel; Verm - Vermiculita. *Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de Variação. ns = não significativo.

Regarding the non-germinated seeds, the Vacaria lot presented the highest percentages, and, being in the substrates paper roll and vermiculite, no seeds germinated. The Serafina Corrêa origin also showed the highest percentages of non-germinated seeds for the paper roll and vermiculite substrates (81 and 74%, respectively). This is probably related to the fact the seeds of forest species have wide genetic variability, resulting in a varied diversity of morphophysiological characteristics (NETO; PAULA, 2017). Still, according to Neto and Paula (2017), it is because these species are widely distributed over a large geographic area, subject to edaphoclimatic variations, stressing that these factors require caution in setting standards related to a specific species, particularly seeds in their germinative behavior.

No que diz respeito às sementes não germinadas, o lote de Vacaria apresentou as maiores porcentagens, sendo que nos substratos rolo de papel e vermiculita, nenhuma semente germinou. A procedência Serafina Corrêa também apresentou as maiores porcentagens de sementes não germinadas para os substratos rolo de papel e vermiculita (81 e 74%, respectivamente). Provavelmente, isso está relacionado ao fato de que as sementes de espécies florestais apresentam grande variabilidade genética, resultando em uma ampla diversidade de características morfofisiológicas (NETO; PAULA, 2017). O mesmo autor comenta que, pelo fato dessas espécies estarem amplamente distribuídas em uma grande extensão geográfica, encontram-se sujeitas às variações edafoclimáticas, salientando que esses fatores exigem cautela na definição de padrões relacionados a uma determinada espécie, particularmente as sementes em seu comportamento germinativo.

Even though there was no significant difference between the substrates, it was verified in the mean test that sand, paper, and vermiculite are the ones that obtained better results in relation to normal germinated seedlings, although recommendations from Brasil (2013), the substrates used for germination of *Acca sellowiana* must be between vermiculite and paper roll. Probably the best performance observed on paper is due to ease of viewing of root protrusion, when the germination test is performed on paper (DOUSSEAU *et al.*, 2011).

The germination percentage for the Serafina Corrêa origin was 4% in the sand substrate and 2% in the substrate on paper; for the Vacaria origin, the germination percentage was 30% on the sand substrate, 19% on paper roll, 37% on paper and 26% on vermiculite. Under the same conditions as the present study, Maciel *et al.* (2013) noted, in *Jacaranda mimosifolia* D. Don seeds, that the highest germination percentages were found in substrates between paper (56%) and on paper (54%), finding 25 °C as the optimum temperature for the germination of this species.

Among the same forest species, differences may occur in relation to the germination of seed lots of different origins and years of production, this variation in germination may occur due to the genetic variability of the species and the climatic variations that trees are submitted to in their formation process (GOMES *et al.*, 2016). According to Cherobini *et al.* (2008), the percentage of germinated seeds will determine the number of seedlings produced, and the use of high-quality seeds is of great importance for the installation and production of a crop.

The application of vigor tests on seeds of forest species is a practice that allows estimating and comparing lots for different purposes (SANTOS, 2009). The first count of the germination test can be used as a vigor test, since as seed deterioration advances the germination speed is reduced (OLIVEIRA *et al.* 2009).

In addition to the sanitary condition that is related to seed germination, other factors can interfere, such as light, oxygen, and water. The association of a microorganism in the seed will not always interfere with the quality of the lot, requiring subsequent studies to prove its transmission and pathogenicity; however, control is important in order to prevent its survival and dissemination (FANTINEL *et al.*, 2017).

Mesmo não havendo diferença significativa entre os substratos, verificou-se no teste de médias que areia, sobre papel e vermiculita são os que obtiveram melhores resultados em relação a plântulas normais germinadas, embora recomendações de Brasil (2013), os substratos utilizados para germinação de *Acca sellowiana* devem ser entre vermiculita e rolo de papel. Provavelmente, o melhor desempenho observado no papel seja devido à facilidade de visualização da protrusão radicular, quando se realiza a avaliação do teste de germinação em papel (DOUSSEAU *et al.*, 2011).

A percentagem de germinação para a procedência Serafina Corrêa foi de 4% no substrato areia e 2% no substrato sobre papel; já para a procedência Vacaria, a percentagem de germinação foi de 30% no substrato areia, 19% em rolo de papel, 37% sobre papel e 26% em vermiculita. Nas mesmas condições do presente estudo, Maciel *et al.* (2013) verificaram, em sementes de *Jacaranda mimosifolia* D. Don, que os maiores percentuais de germinação foram nos substratos entre papel (56%) e sobre papel (54%), constatando 25 °C como temperatura ótima para a germinação desta espécie.

Dentro da mesma espécie florestal pode ocorrer diferenças em relação à germinação de lotes de sementes de procedências distintas e anos de produção, sendo que essa variação na germinação pode ocorrer devido à variabilidade genética das espécies e pelas variações climáticas que as árvores são submetidas em seu processo de formação (GOMES *et al.*, 2016). De acordo com Cherobini *et al.* (2008), a percentagem de sementes germinadas determinará a quantidade de mudas produzidas, sendo que o uso de sementes de alta qualidade é de grande importância para a instalação e produção de uma cultura.

A aplicação dos testes de vigor em sementes de espécies florestais é uma prática que permite estimar e comparar lotes para diferentes objetivos (SANTOS, 2009). A primeira contagem do teste de germinação pode ser utilizada como um teste de vigor, uma vez que à medida que a deterioração da semente avança a velocidade de germinação é reduzida (OLIVEIRA *et al.* 2009).

Além da condição sanitária que está relacionada à germinação de sementes, outros fatores podem interferir, como luz, oxigênio e água. A associação de um microrganismo na semente nem sempre vai interferir na qualidade do lote, sendo necessários estudos subsequentes visando comprovar sua transmissão e patogenicidade, porém, é importante o controle a fim de evitar sua sobrevivência e disseminação (FANTINEL *et al.*, 2017).

Fungal contamination in forest essences, especially in native plants, occurs due to the characteristics of the fruits and the processes in which the seeds are collected, processed, and stored. (WALKER *et al.*, 2015). In this sense, care with the collection of fruits is essential, since the observation of the point of physiological maturation is of paramount importance, to guarantee the quality of the seeds.

The identification of phytopathogens associated with seeds is important as these same seeds are the propagation units of the plants most used by man. It is essential to care for the health and viability of seeds of forest species in order to obtain seedlings of good sanitary and physiological quality.

CONCLUSIONS

The fungal genera associated with the seeds of *Acca sellowiana*, in the two lots, were *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Trichoderma* spp.;

The Serafina Corrêa origin showed better physiological quality than Vacaria;

For *Acca sellowiana* seeds, any of the substrates used may be used in its germination.

A contaminação fúngica em essências florestais, especialmente em plantas nativas, ocorre devido às características próprias dos frutos e dos processos como as sementes são coletadas, beneficiadas e armazenadas (WALKER *et al.*, 2015). Nesse sentido, são fundamentais os cuidados com a coleta de frutos, visto que a observação do ponto de maturação fisiológica é de suma importância, para garantir a qualidade das sementes.

A identificação dos fitopatógenos associados às sementes é importante na medida em que essas mesmas sementes são as unidades propagativas das plantas mais utilizadas pelo homem. É fundamental o cuidado com a sanidade e viabilidade das sementes de espécies florestais a fim de se obter mudas de boa qualidade sanitária e fisiológica.

CONCLUSÕES

Os gêneros fúngicos associados às sementes de *Acca sellowiana*, nos dois lotes, foram: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Trichoderma* spp.;

A procedência Serafina Corrêa apresentou melhor qualidade fisiológica que Vacaria;

Para sementes de *Acca sellowiana*, qualquer dos substratos utilizados podem ser empregados na sua germinação.

CITED SCIENTIFIC LITERATURE

AIMI, S. C.; ARAUJO, M. M.; MUNIZ, M. F. B.; WALKER, C. Teste de sanidade e germinação em sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 4, p. 1361-1370, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509825155>

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para análise de espécies florestais. Brasília, 2013. 98p. Disponível em < http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/florestal_documento_pdf-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em: 30 julho 2018.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, DF, 2009. 398 p. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf>. Acesso em: 30 julho 2018.

CHEROBINI, E. A. I.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, H. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 1, p. 65-73, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/19805098511>

DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A. A.; GUIMARÃES, R. M.; LARA, T. S.; CUSTÓDIO, T. N.; CHAVES, I. S. Ecofisiologia da germinação de sementes de *Campomanesia pubescens*. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1362-1368, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000800011>

FANTINEL, V. S.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; SCHNEIDER, P. F.; ROCHA, E. C.; VICENTE, D.; POZZAN, M. Detecção de fungos em sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 24, e00087414, p. 1-11, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.087414>

- FANTINEL, V. S.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; ROCHA, E. C.; SCHNEIDER, P. F.; VICENTE, D. Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 3, p. 84-89, 2015.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- GOMES, J. P.; OLIVEIRA, L. M.; FERREIRA, P. I.; BATISTA, F. Substratos e temperaturas para teste de germinação em sementes de Myrtaceae. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 285 – 293, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509821120>
- LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; BELTRAME, R.; SANTOS A. F. DOS; 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. 201-211, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000200001>
- MACIEL, C. G.; BOVOLINI, M. P.; FINGER, G.; POLLET, C. S.; MUNIZ, M. F. B. Avaliação de Temperaturas e Substratos na Germinação de Sementes de *Jacaranda mimosifolia* D. Don. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 1, p. 55-61, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4322/loram.2012.070>
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Londrina, PR: Esalq, 2015. 659 p.
- MUNIZ, M. F. B.; SILVA, L. M.; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 140-146, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000100019>
- NETO, A. R.; PAULA, R. C. Variabilidade entre árvores matrizes de *Ceiba speciosa* St. Hil para características de frutos e sementes. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 2, p. 318 – 327, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170037>
- OLIVEIRA, L. M. de; BRUNO, R. de L. A.; SILVA, K. da R. G. da; SILVA, V. D. da M.; FERARRI, C. dos S.; ZILDO da SILVA, G. Z. da. Germinação e vigor de sementes de *Sapindus saponaria* L. submetidas a tratamentos pré-germinativos, temperaturas e substratos. **Ciência Rural**, v. 42, n. 4, p. 638-644, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400010>
- 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.
- PARISI, J. J. D.; SANTOS, A. F. dos; BARBEDO, C. J.; MEDINA, P. F. Patologia de Sementes Florestais: Danos, Detecção e Controle, uma revisão. **Summa phytopathol**, v. 45, n. 2, p. 129-133, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/188545>
- SANTOS, S. R. G. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs. **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 81, p. 7-16, 2009.
- VECHIATO, M. H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas**. Infobibos: informações tecnológicas, 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm>. Acesso em: 30 julho 2018.
- WALKER, C.; MEZZOMO, R.; MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F. B.; ARAÚJO, M. M. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Cordia americana* coletadas na planta e no solo. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 1, p. 259 – 262, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v10i1.2884>