

Regina H. Marino¹João B. Mesquita²

Micoflora de sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do Estado de Sergipe

RESUMO

A presença de patógenos pode comprometer a qualidade sanitária de sementes durante o armazenamento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a micoflora de sementes de feijão armazenadas no município de Simão Dias-SE. As sementes foram coletadas junto aos produtos locais e as variedades avaliadas foram IPA11, Carioca Rajado e Grafite. As sementes foram armazenadas em câmara fria, por 10 meses e realizados os testes de sanidade. Utilizou-se o método do papel de filtro, incubado por sete dias, com uma amostra de 25 sementes com oito repetições, totalizando 200 sementes por variedade. Houve maior incidência de *Fusarium solani* f. sp. *solani* (10,5 a 36,0%) e *Rhizoctonia solani* (7,0 a 33,0%) nas variedades IPA11 e Carioca Rajado. Outros patógenos como *Alternaria alternata*, *Periconia* sp., *Phoma exigua* var *exigua* e *Sclerotium rolfsii* também foram detectados, porém com índices baixos. *Alternaria alternata* sp. foi observado nas variedades IPA11 e Carioca Rajado (0,5%). *Sclerotium rolfsii* foi observado na variedade Grafite (0,5%) e *Phoma* sp. somente na variedade Carioca Rajado (0,5%). Dentre os fungos considerados de armazenamento foram observados *Aspergillus* sp. (0,5 a 2,0%) em todas as variedades e *Penicillium* sp. (0,5 a 13,5%) somente nas variedades IPA11 e Carioca Rajado.

Palavras-chave: sementes de feijão, patologia de sementes, fungos

Micoflora of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds from Sergipe state

ABSTRACT

Seeds infected by pathogens in a field can have their health altered during storage, because of viability loss. The objective of the present study was to verify the effect of storage of bean seeds on their health quality. Bean seeds of varieties IPA11, Carioca Rajado and Grafite were obtained from growers in the city of Simão Dias – SE. The seeds were stored in a cold chamber for ten months and then, seed health tests were performed. The bean seeds were analyzed by the blotter test method, incubated for seven days, with a sample of 25 seeds with 8 replications, with a total of 200 seeds for each variety. A high incidence of *Fusarium solani* f. sp. *solani* (10,5 a 36,0%) and *Rhizoctonia solani* (7,0 a 33,0%) in varieties IPA11 and Carioca Rajado was observed. Other pathogens of bean seeds like *Alternaria alternata*, *Periconia* sp., *Phoma* sp. and *Sclerotium rolfsii* has been identified, but with low rates. *Alternaria alternata* (0,5%) and *Periconia* sp. (0,5%) were observed in IPA11 and Carioca Rajado varieties. *Sclerotium rolfsii* was observed in Grafite variety (0,5%) and *Phoma* sp. was verified in Carioca Rajado (0,5%). Within the storage fungi, the presence of *Aspergillus* (0,5 a 2,0%) was observed in all varieties and *Penicillium* (0,5 a 14,0%) only in varieties IPA11 and Carioca Rajado.

Key words: bean seed, seed pathology, fungi

¹ Universidade Federal de Sergipe (UFS), Departamento de Engenharia Agrônoma, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, Jardim Rosa Elze, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe. Fone: (79) 2105-6984. Fax (79) 2105-6566 E-mail: rehmarino@yahoo.com

² UFS, Departamento de Engenharia Florestal. E-mail: basilio@ufs.br

INTRODUÇÃO

A baixa qualidade das sementes representa uma das principais causas da diminuição da produtividade em lavouras de feijão no Brasil, principalmente, porque a maioria dos agricultores utiliza as suas próprias “sementes” e estas geralmente se apresentam com graus variáveis de mistura, com alto grau de umidade, com baixa germinação e vigor, infestadas por insetos e principalmente pela presença de patógenos associados a elas (Zambolim, 2005; Menten et al., 2007; Marino et al., 2008).

As sementes são importantes mecanismos de disseminação de patógenos no campo, uma vez que podem carregar vários tipos de microrganismos, incluindo actinomicetos, vírus, bactérias e fungos (Neergaard, 1979; Freitas, 2007). As duas primeiras classes de microrganismos usualmente não são problemas em sementes armazenadas devido à sua incapacidade de crescer sobre substratos com baixos níveis de umidade relativa (Kulick, 1994).

Os fungos que atacam as sementes pertencem basicamente a duas categorias, fungos de campo ou de armazenamento. Os fungos de campo usualmente permanecem quiescentes durante o armazenamento da semente. Já os de armazenamento, como o nome diz, afetam as sementes armazenadas, pois são capazes de crescer sob condições relativamente secas, onde os fungos de campo não conseguem crescer. A maior parte dos fungos patogênicos associados ao feijão tem nas sementes portadoras veículos de introdução em novas áreas de cultivo onde, sob condições ambientais favoráveis, poderão causar sérios danos à cultura (Santos et al., 1996; Freitas, 2007; Menten et al., 2007).

A constatação da presença de microrganismos, mesmo patogênicos, na semente, não é suficiente para garantir que ele irá infectar a planta proveniente dessa semente, pois vários são os fatores que influenciam na transmissão, como a quantidade de inóculo, microrganismos do solo, bem como da própria semente, fatores físicos do solo, condições climáticas e o tempo de sobrevivência do patógeno na semente. Entretanto, a associação patógeno-semente indica um potencial de transmissão e possível estabelecimento da doença no campo, como várias bactérias fitopatogênicas e de fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Phaeoisariopsis*, *Alternaria*, *Macrophomina*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Sclerotinia* e de vírus como o do mosaico comum, transmitidos pela semente (Sarvatorato & Rava, 2000; Rava, 2002; Torres & Bringel, 2005; Freitas, 2007).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade sanitária de patógenos associados a sementes de feijão após 10 meses de armazenamento, com a finalidade de obter informações para o estabelecimento de futuras estratégias de controle de doenças nas áreas de produção e armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da qualidade sanitária dos lotes de sementes das variedades de feijão IPA11, Carioca Rajado e Grafite, produzidas no município de Simão Dias – SE, a principal área

produtora de feijão do Estado de Sergipe (SAGRI-SE, 2008), foi realizada na Clínica Fitossanitária do Departamento de Engenharia Agrônômica, da Universidade Federal de Sergipe.

A amostragem foi realizada em lotes de grãos de feijão armazenados e utilizados como sementes por produtores da região, com vistas ao plantio no ano posterior. Foram coletadas amostras em três propriedades e a análise da microflora foi feita em uma amostra composta de 1 kg, obtida a partir de amostras simples de 1 kg de grãos de feijão de três silos em cada propriedade. As sementes foram armazenadas em câmara fria a temperatura de 10°C e umidade relativa média de 40%, sem nenhum tratamento.

O método empregado para detecção dos patógenos foi o de “blotter test” de Dhingra & Sinclair (1995). Foram utilizadas, por variedade, 200 sementes sem desinfestação superficial e 200 sementes com desinfestação superficial. No teste sem desinfestação foram utilizadas 25 sementes por caixa de acrílico tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), previamente desinfestadas com álcool a 70%. Cada gerbox foi forrada com 3 folhas de papel de filtro, autoclavadas, e pré-umedecidas com água destilada autoclavada contendo 200 ppm de sulfato de estreptomicina. No teste com desinfestação, as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio 1% por três minutos, em seguida lavadas com água destilada autoclavada antes de serem acondicionadas no gerbox. Em seguida, as caixas foram mantidas à temperatura ambiente (25 ± 3°C), com 2000 lux (12 horas de luz e 12 horas de escuro) por um período de sete dias.

As análises das sementes foram realizadas individualmente ao microscópio estereoscópico, e para certificação dos resultados fez-se o exame da morfologia dos fungos ao microscópio ótico para identificação dos mesmos, comparando com as informações disponíveis na literatura (Booth, 1977; Sutton, 1980; Barnett & Hunter, 1986). O número de colônias por sementes de cada fungo foi computado e transformado em porcentagem de ocorrência.

Os resultados das avaliações foram submetidos a análises de variância utilizando-se o sistema de análise estatística ASSISTAT (Silva & Azevedo, 2002)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados apresentados na Tabela 1, verifica-se uma maior frequência de *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Penicillium*, tal como foi também observado por Zambolim (2005). A ocorrência destes fungos pode causar sérios danos à qualidade fisiológica das sementes (Mantovaneli et al., 1995).

As espécies de fungos pertencentes ao gênero *Fusarium* podem sobreviver no solo como saprófitas, sendo *Fusarium oxysporum*, a principal destas, causando a doença chamada “murcha” ou “amarelecimento de *Fusarium*”. Uma das formas de minimizar ou controlar a ocorrência de *Fusarium* no solo é o emprego da rotação de culturas por 5 a 10 anos, com gramíneas (Tu, 1984).

Em feijoeiro comum, o fungo *F. solani* f. sp. *phaseoli* normalmente está associado ao fungo *Rhizoctonia solani* sendo responsáveis pela perda de raízes, redução do estande e vi-

Tabela 1. Incidência de fungos (%) em sementes de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), produzidas no município de Simão Dias, SE, 2006

Table 1. Fungi incidence (%) on bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the municipality of Simão Dias, SE, 2006

Cultivares / Fungos	IPA11		Carioca Rajado		Grafite	
	s/d ¹	c/d ²	s/d	c/d	s/d	c/d
<i>Alternaria alternata</i>	0,5 ^a	0,5 ^a	0	0,5 ^a	0	0
<i>Aspergillus</i> sp.	2,0 ^a	0,5 ^a	1,0 ^a	0	0,5 ^a	0
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,5	0	0	0	0	0
<i>Eurotium</i> sp.	0	0	0	2,0	0	0
<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>solani</i> .	17,5 ^b	13,5 ^b	36,0 ^a	10,5 ^b	0	0
<i>Penicillium</i> sp.	1,5 ^b	0,5 ^b	13,5 ^c	13,0 ^a	0	0
<i>Periconia</i> sp.	0,5 ^c	0,5 ^a	0,5 ^c	0	0	0
<i>Rhizoctonia solani</i>	20,0 ^b	7,0 ^d	33,0 ^a	12,5 ^c	8,5 ^c	5,5 ^d
<i>Sclerotium rolfsii</i>	0	0	0	0	0,5	0
<i>Phoma exigua</i> var <i>exigua</i>	0	0	0,5	0	0	0

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. ¹ s/d - sem desinfestação; ² c/d - com desinfestação

gor das plântulas (Freitas, 2007). Neste trabalho, nas sementes analisadas, principalmente do Carioca Rajado, foi observada elevada incidência de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, o que pode comprometer o plantio na próxima safra nessa região, que é a principal produtora de feijão do Estado de Sergipe, tal como observado por Marino et al. (2008). Segundo Agarwal & Sinclair (1987), o fungo *Fusarium solani* pode produzir estruturas de resistência no solo, clamisodsporos, que se aderem às partículas de solo e são levadas com as sementes favorecendo sua disseminação.

A relação *Fusarium-Rhizoctonia* constitui um complexo etiológico com interação sinérgica (Pieczarka & Abawi, 1978), responsável por perdas de produtividade, que se agravam nas áreas irrigadas (Cardoso, 1990) e/ou submetidas a condições climáticas adversas, como o excesso de chuvas. Durante a fase de produção das variedades empregadas neste experimento houve excesso de chuvas, principalmente, durante o período de colheita das vagens. Este fator pode ter sido responsável pela redução da produtividade e elevada incidência de *Fusarium-Rhizoctonia*, tal como observado por Menten et al. (2007).

Já a ocorrência de *Alternaria alternata* foi relativamente baixa, em comparação com o trabalho de Sallis et al. (2001). Este fungo tem sua patogenicidade comprovada, sendo agente causal da doença denominada “mancha de alternaria” e caracteriza-se por sobreviver de uma estação a outra em restos de cultura infectados e em sementes infestadas e/ou infectadas, podendo causar perdas significativas de produtividade (Tu, 1984).

Os principais fatores que influenciam no processo de infecção ou contaminação de sementes são: genótipo do hospedeiro, ambiente, manejo cultural, estágio de infecção da planta, severidade de infecção da planta mãe, infestação por insetos e antagonismo e sinergismo com outros microrganismos (Agarwal & Sinclair, 1987; Vieira, 1993; Zorato et al., 2001).

Agarwal & Sinclair (1987) relatam que variedades respondem diferentemente à infecção, podendo haver inibidores ou reduzida permeabilidade da testa a soluções aquosas, como presença de cera na superfície da semente, compacto e uniforme arranjo das células, ou reduzida quantidade de amino-

ácidos ou compostos fenólicos na testa. Variedades de feijão preto como a Grafite, avaliada neste trabalho, são mais resistentes à *Rhizoctonia solani*, por apresentarem compostos fenólicos (Vieira, 1993), que inibem o crescimento de determinadas espécies de fungos (Tabela 1).

O feijão Carioca Rajado foi o que apresentou maior incidência de fungos em suas sementes, com 84,5% das sementes sem desinfestação e 38,5% das sementes com desinfestação, com maior incidência dos fungos *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium solani* f. sp. *solani* (Burkholder) Snyder & Hansen e *Penicillium* sp. Os fungos *Alternaria alternata* (Fr.) Kiessler, *Aspergillus* sp., *Eurotium* sp., *Periconia* sp. e *Phoma exigua* var *exigua* Sacc. foram observados com incidência entre 0,5 e 2,0% (Tabela 1).

Já na cultivar IPA11, os fungos *Rhizoctonia* e *Fusarium* foram os que ocorreram com maior incidência tanto nas sementes com desinfestação, como nas sementes sem desinfestação, representado de 20,5 a 37,5% da infecção das sementes. Nesta cultivar também foram observados *Alternaria alternata*, *Aspergillus* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium* sp. e *Periconia* sp. com porcentagens de 0,5 a 2,0% (Tabela 1).

De modo geral, foi constatada elevada incidência de *Penicillium* spp. em relação ao fungo de armazenamento *Aspergillus* spp. nas variedades IPA 11 e Carioca Rajado. A ocorrência de *Penicillium* também pode ter sido favorecida pela presença de sementes que apresentavam visualmente danos mecânicos (rachaduras), local onde ocorre lixiviação dos constituintes intracelulares. Kabeere & Taligoola (1983) relataram que os danos mecânicos fornecem entradas para a invasão de fungos de armazenamento e, em consequência, aceleram a deterioração das sementes de soja. Esporos fúngicos, aderidos às rachaduras em sementes, podem ser protegidos do contato com o agente desinfestante que, assim, não provoca a morte de todos os esporos (Sauer & Burroughs, 1986).

A ocorrência de *Aspergillus* e *Penicillium* também pode causar prejuízos na qualidade e na produtividade destas cultivares. Além disso, podem causar a deterioração da semente resultando na redução na germinação, modificação na cor e enrugamento nas sementes e produção de toxinas (Tanaka & Correia, 1982; Agarwal & Sinclair, 1987). Estudos mostram que estes fungos estão associados às condições ambientais durante o período de armazenamento e às características do lote de sementes, especialmente o estado físico, teor de água e inóculo inicial, que regulam a atividade destes fungos de armazenamento (Faid et al., 2004; Torres & Bringel, 2005).

Neste trabalho observou-se que as sementes secas eram acondicionadas em silos de alumínio, onde era realizada a adição de álcool, água e pimenta, visando o controle de insetos. Este procedimento pode ter favorecido o aumento do teor de água das sementes e o desenvolvimento de fungos típicos das condições de armazenamento, nas cultivares IPA11 e Carioca Rajado, tal como mencionado por Machado (2000).

Além da perda de vigor, certas espécies de fungos como *Cladosporium cladosporioides* podem causar manchas no tegumento, resultando em um aspecto indesejável nas mesmas, provocando a depreciação dos lotes (Neergaard, 1980).

Neste trabalho, a ocorrência de *Cladosporium cladosporioides* foi de 0,5% apenas na cultivar IPA11.

Independentemente das variedades de feijão analisadas houve maior incidência de fungos nas sementes que não foram desinfestadas superficialmente, sugerindo que os fungos podem se encontrar no interior da semente e/ou associados às rachaduras (danos mecânicos) e que há uma grande possibilidade de serem transmitidos (Neegaard, 1979; Marino et al., 2008).

Em condições de produção, a utilização de sementes contaminadas ou infectadas por patógenos, associados externa ou internamente, podem causar morte de sementes após o plantio, devido à rapidez de desenvolvimento e alta agressividade de determinados grupos de patógenos na semente (Zorato et al., 2001) e que retornam a atividade assim que encontram condições favoráveis (solo, clima), matando a semente antes que esta evidencie os primeiros indícios de germinação pela ação de enzimas e toxinas (Menten et al., 2007).

A associação de patógeno às sementes é importante por diversas razões, tais como: presença de estruturas de sobrevivência no solo, por mais tempo, mantendo sua viabilidade e características; fácil disseminação, podendo ser introduzido em novas áreas; alta probabilidade de o patógeno infectar a plântula em desenvolvimento após a semeadura, causando doença na fase inicial da cultura (Machado, 2000).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste experimento indicam como imprescindíveis a adoção de medidas que visem reduzir a incidência de fungos em campo, bem como cuidados de pós-colheita, visando minimizar a presença de fungos de armazenamento e fitopatogênicos.

LITERATURA CITADA

- Agarwal, V.K.; Sinclair, J.B. Principles of seed pathology. Boca Raton: CRC Press. 1987. 2v.
- Barnett, H.L.; Hunter, B.B. Illustrated genera of fungi imperfect. 2. ed. New York: MacMilan, 1986. 218p.
- Booth, C. *Fusarium*: laboratory guide to the identification of the major species. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1977. 58p.
- Cardoso, J.E. Doenças do feijoeiro causadas por patógenos do solo. Goiânia: Embrapa: CNPAF, 1990. 30p.
- Dhingra, O.; Sinclair, J.B. Basic plant pathology methods. Boca Raton: CRC, 1995. 433p.
- Faid, M.G.R.; Ramos, V.R.; Wetzal, M.M.V.S. Fungos associados à semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas a longo prazo. In: Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 8, 2004, João Pessoa. Resumos ... João Pessoa, SBPS, 2004. p.171.
- Freitas, R.A. Patologia de sementes de feijão. <http://www.Patologia de sementes.com.br.htm>. 22 jun. 2007.
- Kabeere, F.; Taligoola, H.K. Microflora and deterioration of soybean seeds in Uganda. Seed Science and Technology, v.11, n.2, p.381-392, 1983.
- Machado, J.C. Tratamento de sementes no controle de doenças. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.
- Mantovaneli, M.C.H.; Sader, R.; Pedroso, P.A.C.; Barbosa, J.C. Produção e qualidade de sementes do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Brasileira de Sementes, v.17, n.1, p. 113-119, 1995.
- Marino, R.H.; Mesquita, J.B.; Andrade, K.V.S. de; Costa, N.A. da; Amaral, L.A. Incidência de fungos em sementes de *Phaseolus vulgaris* L. provenientes do Estado de Sergipe. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 3, n.1, p.26-30, 2008.
- Menten, J.O.M.; Moraes, M.H.D.; Novembre, A.D.L.C.; Ito, M.A. Qualidade das sementes de feijão no Brasil. http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SementesFeijao/index.htm. 22 Jun. 2007
- Neegaard, P. Seed Pathology. London: Mac Millan Press, 1979. 538p.
- Neegaard, P. A review on quarantine for seed. India: Copenhagen National Academy of Science, 1980. p.495-530.
- Pieczarka, D.J.; Abawi, G.S. Effect of interaction *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* on severity of bean root rot. Phytopathology, v.68, n3, p.403-408, 1978.
- Rava, C.A. Produção de sementes de feijoeiro comum livres de *Colletotrichum lindemuthianum* em várzeas tropicais irrigadas por subirrigação. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 14p.
- SAGRI-SE. Secretaria da Agricultura do Estado de Sergipe. <http://www.sagri.se.gov.br/> 04. Mar.2008.
- Sallis, M.G.V.; Lucca-Filho, O.A.; Maia, M.S. Fungos associados às sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata* (L.) Wap.) produzidas no município de São José do Norte (RS). Revista Brasileira de Sementes, v.23, n.1, p. 36-39, 2001
- Santos, G.R.; Costa, H.; Pelúzio, J.M.; Miranda, G.V. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da microflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Ceres, v.43, p.621-627, 1996.
- Sarvatorato, A.; Rava, C. A. Patologia de sementes. In: Vieira, E.H.N.; Rava, C.A. (Ed.). Sementes de feijão: produção e tecnologia. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. p.201-218.
- Sauer, D.B.; Burroughs, R. Desinfection of seed surfaces with sodium hypochlorite. Phytopathology, v.76, n.7, p.745-749, 1986.
- Silva, F.A.S.E.; Azevedo, C.A.V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4, n.1, p71-78, 2002.
- Sutton, B.C. The Coelomycetes. Surrey: CABI Publications, 1980. 696p.
- Tanaka, M.A.S.; Correia, M.V. Efeito do tratamento de feijão de diferentes qualidade sanitárias com fungicidas e antibióticos sobre a emergência e "stand". Fitopatologia Brasileira, v.7, p.339-347, 1982.

- Torres, S.B.; Bringel, J.M.M. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-macassar. *Caatinga*, v.18, n.2, p.88-92, 2005.
- Tu, J.C. Biology of *Alternaria alternata*, their casual fungus of black pod disease if white beans in southwestern Ontario. *Phytopatology*, v.74, n.7, p.820, 1984.
- Vieira, C. Doenças do feijoeiro. Viçosa: UFV, 1993. 231p.
- Zambolim, L. Sementes: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV/DFP, 2005. 502p.
- Zorato, M.F.; Homechin, M.; Henning, A.A. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, v.23, n.1, p.159-166, 2001.