

Nº 88, dez./98, p. 1-8

MICROORGANISMOS ASSOCIADOS ÀS SEMENTES DE FEIJÃO CAUPI COM ÊNFASE À PRESENÇA DE *MACROPHOMINA PHASEOLINA*

Cândido Athayde Sobrinho¹
Francisco Marto Pinto Viana²
Francisco Rodrigues Freire Filho²
Selma Maria Dias de Moraes³

A podridão do colo de plantas de feijão caupi (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) constitui uma das principais ocorrências fitopatológicas nos campos cultivados. Doenças provocadas por patógenos como *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Rizoctonia solani* Kuehn, *Fusarium sp.*, *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus & Moore, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Briosi & Cavara e *Pythium spp.* são alguns dos importantes fatores limitantes à exploração da espécie na região Meio-Norte.

Muitos fungos, entre os quais destacam-se as espécies acima citadas, estão geralmente associados às sementes interna ou externamente e, na maioria das vezes, contribuem para um baixo poder germinativo das mesmas (Barros, 1981). A associação patógeno-semente constitui séria ameaça para a agricultura, porquanto, a semente doente, funcionando como fonte de inóculo, garante a sobrevivência temporal e a disseminação espacial de patógenos. Através delas, os agentes de doenças podem ser introduzidos em áreas isentas de ocorrência fitossanitária (Vechiato *et al.*, 1997).

Entre os patógenos transmissíveis através de sementes, *M. phaseolina*, agente da podridão cinzenta do caule do feijoeiro, destaca-se como um dos mais importantes.

O presente trabalho objetivou detectar a presença de fungos em sementes de oito genótipos de feijão caupi e também levantar o nível de presença do fungo *M. phaseolina* nas sementes, em função da presença da doença no campo.

Os experimentos foram executados no campo experimental e Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI.

Os genótipos avaliados foram: TE 94-270-3E, TE 93-201-6f.2, EVx 85-3E; TE 93-204-2F, com porte tipo enamador e BR 9 Longá, EVx 54-4E, EVx 66-5E e EVx 64 - 4E, tipo moita. Todos integrantes do Ensaio Regional de Feijão Caupi, conduzido durante o período irrigado de 1997 e apresentando, em campo, alta incidência de podridão-cinzenta-do-caule (notas de 5 a 9 Tabela 1). Nesta avaliação, usou-se uma escala visual de notas, onde: 1 = ausência de sintomas; 3 = plantas pouco afetadas; 5 = plantas medianamente afetadas; 7 = plantas intensamente afetadas e 9 = plantas totalmente afetadas.

¹Eng. Agr., M.Sc., Pesquisador Embrapa Meio-Norte Caixa Postal 01 CEP. 64.006.220 Teresina, PI.

²Eng. Agr., D.Sc., Pesquisador Embrapa Meio-Norte.

³Eng. Agr., B.Sc., Estagiária em Fitopatologia, Embrapa Meio-Norte.

TABELA 1. Fungos associados às sementes de feijão caupi (*V. unguiculata*) tipo moita identificados através de “blotter test” e do teste do BDA

Genótipos	Umidade (%)	Nota*	Fungos detectados	Frequência (%)		
				Blotter test	BDA	Média
EVx 64 - 4E	16,5	7	<i>Macrophomina phaseolina</i>	31,0	64,3	47,7
			<i>Aspergillus niger</i>	24,0	3,1	13,6
			<i>Fusarium sp.</i>	17,1	11,8	14,5
			<i>Phoma sp.</i>	11,6	6,2	8,9
			<i>Fusarium semitectum</i>	7,0	2,6	4,8
			<i>Macrophoma sp.</i>	6,2	7,3	6,8
			<i>Penicillium sp.</i>	1,5	-	1,5
			<i>Rhizoctonia solani</i>	-	1,6	1,6
			Bactéria	0,8	-	0,8
			Não identificado	0,8	3,1	2,0
Total			100,0	100,0	100,0	
EVx 54 - 4E	16,0	7	<i>M. phaseolina</i>	17,2	55,6	36,4
			<i>A. niger</i>	40,0	6,2	23,1
			<i>F. semitectum</i>	8,6	3,3	8,6
			<i>Phomopsis sp.</i>	8,6	3,3	6,0
			<i>Macrophoma sp.</i>	8,6	8,2	8,4
			<i>Phoma sp.</i>	5,7	5,5	5,6
			<i>Fusarium sp.</i>	5,7	4,9	5,3
			<i>Rhizoctonia solani</i>	2,8	0,5	1,7
			Bactéria	1,4	-	1,4
			Não identificado	1,4	10,4	5,9
Levedura	-	4,9	4,9			
<i>Colletotrichum truncatum</i>	-	0,5	0,5			
Total			100,0	100,0	100,0	
EVx 66 - 5E	17,5	9	<i>M. phaseolina</i>	44,0	47,7	45,9
			<i>A. niger</i>	46,2	42,9	44,6
			<i>Colletotrichum truncatum</i>	1,8	-	1,8
			Não identificado	4,4	4,3	4,3
			<i>F. semitectum</i>	0,9	0,5	0,7
			<i>Phomopsis sp.</i>	0,9	-	0,9
			<i>Macrophoma sp.</i>	0,9	1,2	1,1
			<i>Fusarium sp.</i>	0,9	-	0,9
			Levedura	-	0,5	0,5
			<i>R. solani</i>	-	2,9	2,9
Total			100,0	100,0	100,0	
BR 9 - Longá	15,5	6	<i>M. phaseolina</i>	52,8	59,4	56,1
			<i>F. semitectum</i>	10,3	15,2	12,8
			<i>Fusarium sp.</i>	2,0	12,5	7,3
			Não identificado	0,8	2,2	1,5
			<i>Aspergillus niger</i>	22,7	1,3	12,0
			<i>Phoma sp.</i>	3,7	1,3	2,5
			<i>Phomopsis sp.</i>	4,9	1,3	3,1
			<i>C. truncatum</i>	1,6	0,8	1,2
			<i>Rhizoctonia solani</i>	1,2	-	1,2
			<i>Botryodiplodia sp.</i>	-	0,4	0,4
<i>Trichoderma sp.</i>	-	0,4	0,4			
<i>Macrophoma</i>	-	0,8	0,8			
Levedura	-	4,4	4,4			
Total			100,0	100,0	100,0	

*Notas atribuídas às plantas dantes em condição de campo. 1 = ausência de sintomas; 3 = plantas pouco afetadas; 5 = plantas medianamente afetadas; 7 = plantas intensamente afetadas e 9 = plantas totalmente afetadas.

No levantamento da microflora fúngica associada às sementes, bem como na obtenção da freqüência de *M. phaseolina*, nas sementes, utilizou-se o “blotter test” e o teste do BDA, conforme metodologia preconizada pela International Seed Testing Association (1966). Assim, as sementes de cada genótipo foram submetidas à leitura da umidade (Tabela 1), sendo, em seguida, desinfestadas em uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 3:1, durante três minutos. As sementes foram postas a incubar em dez caixas plásticas do tipo “gerbox” (20 sementes/caixa) contendo dupla camada de folhas de papel de filtro esterilizadas, previamente umedecidas com água estéril e, também, em 20 placas de Petri contendo meio de cultivo batata-dextrose-agar - BDA (dez sementes/placa). O material, após preparado, foi incubado durante sete dias em condições artificiais em uma estufa para BOD, regulada para temperatura de 26 °C ± 2 °C e regime luminoso claro contínuo.

Após o período de incubação, a micoflora foi identificada com base nas características morfológicas dos microrganismos encontrados (Barros, 1981), sendo efetuada a contagem e anotada a freqüência das colônias dos microrganismos presentes às sementes.

M. phaseolina foi o microrganismo encontrado com maior freqüência, sendo seguido por *Aspergillus niger* e *Fusarium sp.*, respectivamente (Tabela 1). A intensidade de *A. niger*, como pode ser observado, está diretamente relacionada a um maior teor de umidade na semente. Sementes com elevado teor de umidade, como o genótipo Evx 66-5E, (17,5%), apresentou freqüência de 46,2 e 42,9 % de colônias de *A. niger*, respectivamente, no blotter test e no BDA. Entretanto, o genótipo BR 9 - Longá, com 15,5 % de umidade na semente apresentou apenas 22,7 e 1,3 % de colônias do citado fungo, respectivamente, em blotter e BDA. Esses dados estão de acordo com os de Barros, (1981), onde cita que espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são as mais encontradas em sementes de caupi, por serem fungos de armazenamento. Outros fungos foram identificados em associação com as sementes, indicando grande diversidade de microrganismos.

Procurando-se relacionar as notas (5 a 9) atribuídas para a podridão cinzenta do caule com a freqüência de *M. phaseolina* nas sementes, observou-se não haver uma coerência entre os valores encontrados. Assim, genótipos que, em campo, apresentaram alta incidência da doença, nem sempre apresentaram maiores índices do patógeno nas sementes. É o caso do genótipo EVx 66-5E (nota 9), que apresentou uma menor freqüência do patógeno nas sementes (45,9%), quando comparado ao BR 9 - Longá (nota 6) que apresentou uma freqüência de 56,1% de colônias do fungo, sendo este, o maior valor encontrado dentre os materiais do tipo moita (Tabela 1).

A Fig. 1 apresenta os resultados da freqüência de colônias de *M. phaseolina* associadas às sementes do genótipos tipo moita, destacando a sensibilidade comparativa dos testes empregados. Assim, percebe-se que em BDA o fungo se apresentou de forma mais uniforme, indicando ser esse teste mais apropriado que o blotter test, sobretudo quando se observa a diferença de resultados encontrados para os genótipos EVx 54 -4E e EVx 64 -4E, onde a presença de *M. phaseolina* foi relativamente menor.

Genótipo	Umidade (%)	Blotter test (%)	BDA (%)
BR 9 - Longá	15,5	22,7	1,3
EVx 66-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 54 -4E	18,0	10,0	10,0
EVx 64 -4E	18,0	10,0	10,0
EVx 66-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 68-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 70-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 72-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 74-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 76-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 78-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 80-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 82-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 84-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 86-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 88-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 90-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 92-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 94-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 96-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 98-5E	17,5	46,2	42,9
EVx 100-5E	17,5	46,2	42,9

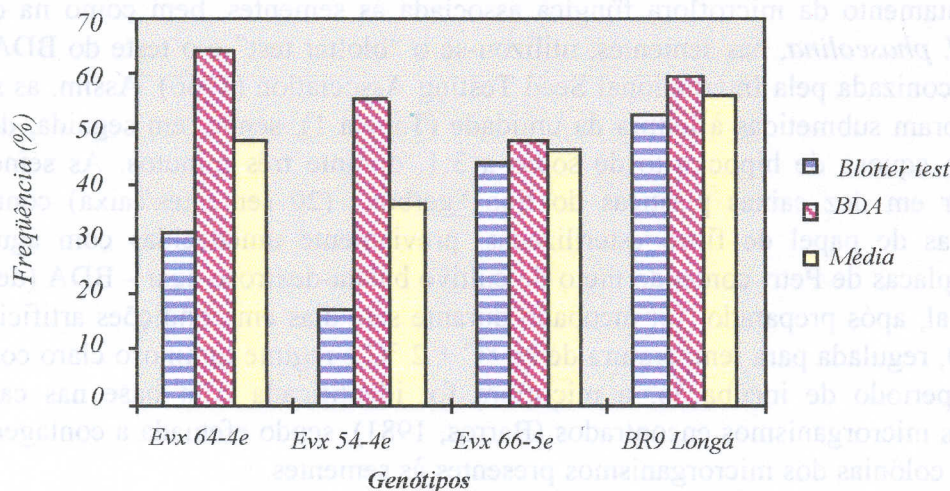


FIG. 1. Frequência de *M. phaseolina* em sementes de feijão caupi tipo moita obtida através do "blotter test" e do BDA

A Tabela 2 apresenta a relação e a frequência de microrganismos em associação com as sementes de feijão caupi tipo enramador. A semelhança ao encontrado nos genótipos tipo moita, os fungos mais encontrados foram: *M. phaseolina*, *A. niger*, *Fusarium sp.* e *Botryodiplodia sp.* Esse foi encontrado em grande quantidade nas sementes de TE 93-204-2F, tendo sido também referido em trabalhos de Barros (1981).

TABELA 2. Fungos associados às sementes de feijão caupi (*V. unguiculata*) tipo enramador identificados através de "blotter test" e do teste do BDA

Genótipos	Umid.(%)	Nota*	Fungos detectados	Frequência (%)		
				Blotter	BDA	Média
			<i>Macrophomina phaseolina</i>	54,0	74,9	64,5
			<i>Aspergillus niger</i>	22,6	1,1	11,9
			<i>Fusarium sp.</i>	14,1	9,6	11,9
			<i>Phoma sp.</i>	3,9	5,5	4,7
TE 93 -201-6F.2	14,5	7	Bactéria	2,3	-	2,3
			<i>Rhizoctonia solani</i>	2,3	-	2,3
			<i>Macrophoma sp.</i>	0,8	5	2,9
			<i>F. semitectum</i>	-	1,1	1,1
			Não identificado	-	2,8	2,8
Total				100,0	100,0	100,0
			<i>M. phaseolina</i>	56,2	93,2	74,7
			<i>A. niger</i>	28,8	1,2	15,0
			<i>Fusarium sp.</i>	1,8	2,2	2,0
			<i>F. semitectum</i>	1,2	0,5	0,9
			<i>Curvularia sp.</i>	1,2	-	1,2
			<i>Macrophoma sp.</i>	1,2	0,5	0,9
			<i>Rhizopus sp.</i>	3,6	-	3,6
			Bactéria	1,2	-	1,2

cont. tabela 2.

Genótipos	Umid.(%)	Nota*	Fungos detectados	Frequência (%)		
				Blotter	BDA	Média
TE 94-270-3E	13,5	7	<i>Nigrospora sp.</i>	1,8	-	1,8
			<i>Aspergillus sp.</i>	1,2	-	1,2
			<i>Alternaria sp.</i>	1,2	-	1,2
			<i>F. oxysporum</i>	-	1,2	1,2
			Levedura	-	1,2	1,2
Total				100,0	100,0	100,0
TE 93-204-2F	14,0	9	<i>M. phaseolina</i>	73,0	62,2	67,6
			<i>F. semitectum</i>	3,3	3,9	3,6
			<i>Phoma sp.</i>	4,4	12,1	8,3
			<i>Penicillium sp.</i>	1,1	-	1,1
			<i>Fusarium sp.</i>	12,2	8,2	10,2
			<i>Aspergillus niger</i>	1,1	-	1,1
			Bactéria	1,1	-	1,1
Total				100,0	100,0	100,0
	<i>Botryodiplodia sp.</i>	-	12,1	12,1		
	<i>Colletotrichum sp.</i>	-	0,5	0,5		
	<i>Rhizoctonia solani</i>	-	0,5	0,5		
	Não identificado	4,4	0,5	2,5		
	<i>M. phaseolina</i>	70,2	76,4	73,3		
	<i>Phoma sp.</i>	7,1	4,3	5,7		
Evx 85-3E	14,5	7	<i>Fusarium sp.</i>	17,1	9,0	13,1
			<i>A. niger</i>	2,8	-	2,8
			Levedura	0,7	-	0,7
			Bactéria	0,7	-	0,7
			Não identificado	1,4	2,8	2,1
			<i>Curvularia sp.</i>	-	0,4	0,4
			<i>Macrophoma sp.</i>	-	1,9	1,9
Total				100,0	100,0	100,0
	<i>F. semitectum</i>	-	3,8	3,8		
	<i>Phomopsis</i>	-	1,4	1,4		

*Notas atribuídas às plantas dantes em condição de campo. 1 = ausência de sintomas; 3 = plantas pouco afetadas; 5 = plantas medianamente afetadas; 7 = plantas intensamente afetadas e 9 = plantas totalmente afetadas.

Analisando-se os valores médios das ocorrências de *M. phaseolina*, observa-se que o genótipo TE 94-270-3E foi o que apresentou maior frequência (74,7%), indicando que o patógeno foi eficientemente transmitido pela semente. O mesmo genótipo também foi o que apresentou maior diversidade de microrganismos em suas sementes.

Semelhante ao observado para os genótipos do tipo moita, a presença de *M. phaseolina* nos materiais enramadores foi mais intensamente revelada em meio BDA, sobretudo no genótipo TE 94-270.3E (93,2%). Exceção da frequência de 62% encontrada para o genótipo TE 93-204. 2F (Fig. 2).

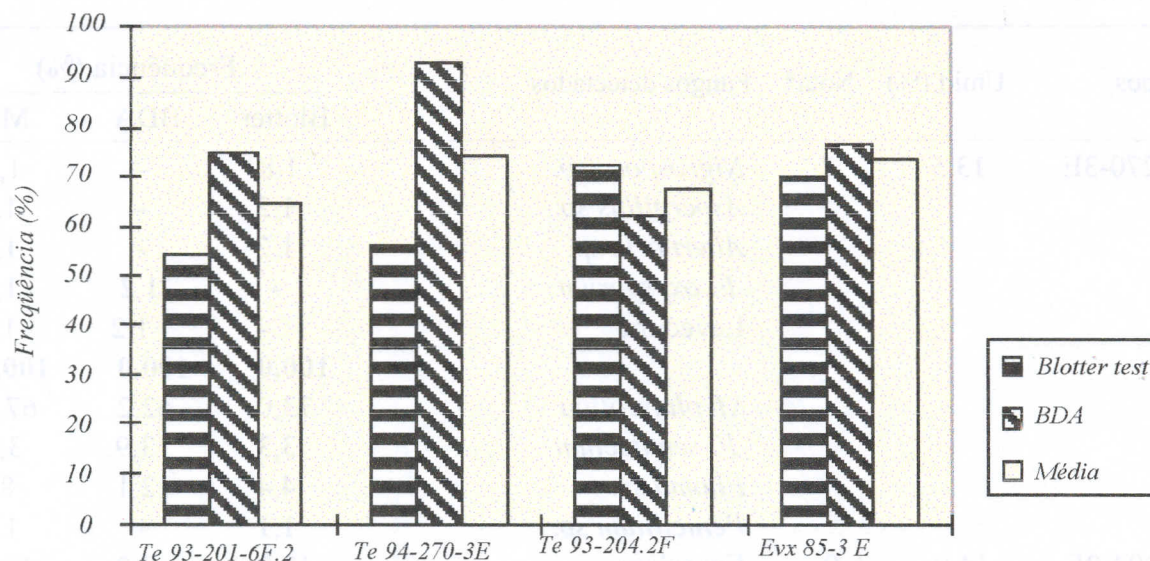


FIG. 2. Frequência de *M. phaseolina* em sementes de feijão caupi tipo enramador obtida através do "blotter test" e do BDA

De uma maneira geral, a frequência de transmissão do fungo em apreço foi bastante alta indicando que, se a doença aparece no campo em níveis elevados, o patógeno seguramente será encontrado nas sementes, revelando sério risco de disseminação da doença em campos cultivados a partir de sementes infectadas.

As Figs. 3 e 4 mostram de forma muito clara a alta taxa de associação de *M. phaseolina* com as sementes de caupi, comparando aos demais microrganismos detectados. Trabalhos conduzidos por Barros (1981) destacam ampla diversidade de microrganismos em associação com sementes de 23 cultivares de feijão caupi. Entretanto, não cita ocorrência de *M. phaseolina*, indicando que, para as condições do presente trabalho, onde se analisou somente materiais atacados no campo, a presença da podridão cinzenta do caule do feijoeiro é fator básico e condicionante para manifestação do patógeno nas sementes.

Na Fig. 4 observa-se a presença de *F. oxysporum*, *Macrophoma sp.* e *Rhizoctonia solani* entre outros patógenos de grande importância econômica para a cultura do caupi que podem ser eficientemente disseminados pelas sementes contaminadas, requerendo, dessa forma, medidas criteriosas de controle, para que doenças como as que são induzidas por tais patógenos não sejam introduzidas em áreas indenes, ou venham a refletir negativamente no rendimento dos campos cultivados onde as referidas doenças estejam estabelecidas.

Os estudos realizados demonstraram que tanto as sementes oriundas de genótipos tipo moita quanto enramador apresentaram altos índices de infestação por microrganismos, notadamente os fungos, onde foram identificados 21 gêneros distintos, além de bactérias inespecíficas e algumas leveduras.

Observou-se, também, de forma conclusiva, que a presença de *M. phaseolina* atacando plantas em campo representa alta presença do patógeno nas sementes e sério risco de contaminação das áreas cultivadas a partir de lotes de sementes infestadas.

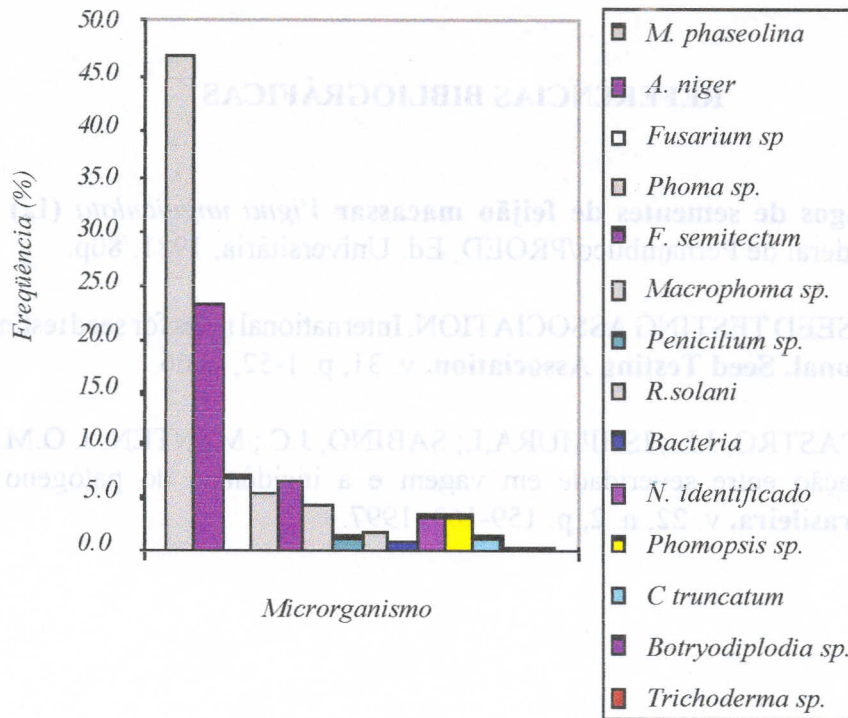


FIG. 3. Frequência de fungos associados às sementes de feijão caupi tipo moita através do "blotter test" e do BDA

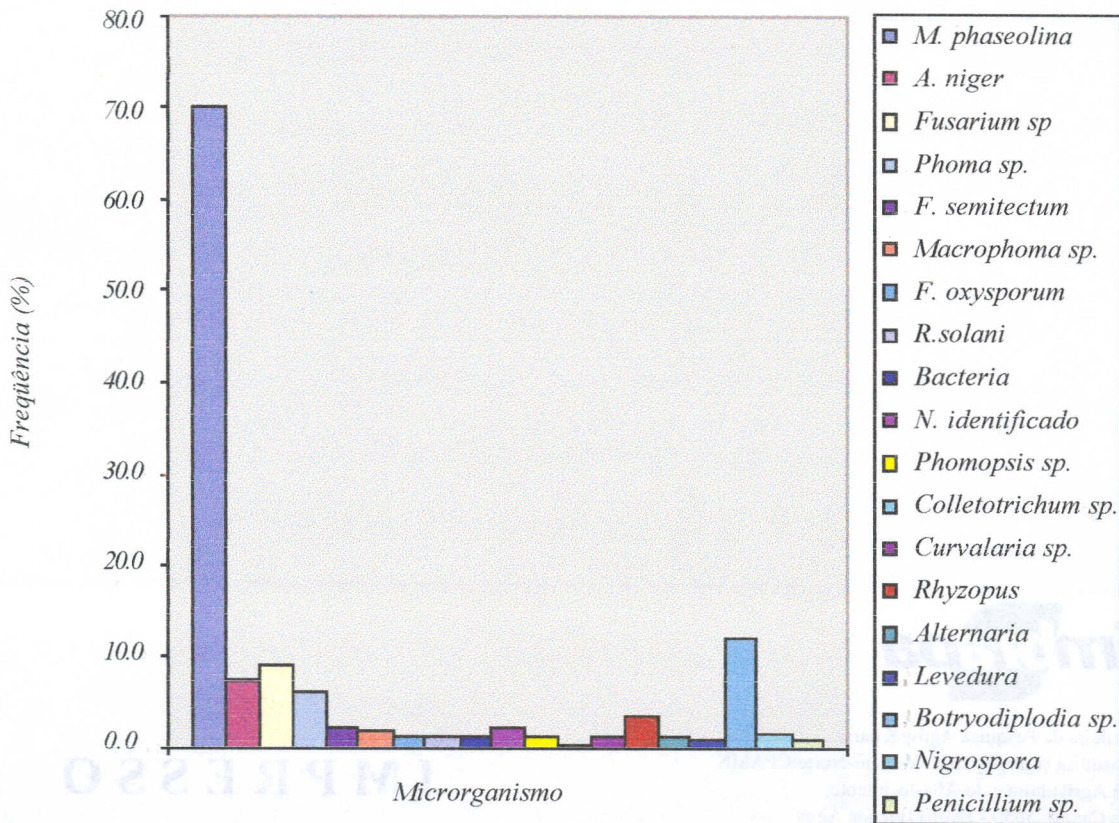


FIG. 4. Frequência de fungos associados às sementes de feijão caupi tipo enramador obtida através do "blotter test" e do BDA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, S.T. **Fungos de sementes de feijão macassar *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** Recife: Universidade Federal de Pernambuco/PROED, Ed. Universitária, 1981. 80p.
- INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International rules for seed testing. **Proceedings of the International. Seed Testing Association.** v. 31, p. 1-52, 1966.
- VECHIATO, M.H.; CASTRO, J.L.; ISHIMURA, I.; SABINO, J.C.; MENTEN, J. O.M. Antracnose do feijoeiro: correlação entre severidade em vagem e a incidência do patógeno nas sementes. **Fitopatologia brasileira**, v. 22, n. 2, p. 159-163, 1997.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte/CPAMN
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Av. Duque de Caxias, 5650 - Bairro Buenos Aires
Caixa Postal 01 CEP 64.006-220 Teresina, PI
Fone (086) 225-1141 - Fax: (086) 225-1142

IMPRESSO