

# FUNGOS

em sementes de

# FEIJÃO-CAUPI

Detecção, qualidade sanitária e controle alternativo



*Candido Athayde Sobrinho  
Ananda Rosa Beserra Santos  
Paulo Henrique Soares da Silva*

**Embrapa**

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Meio-Norte  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **FUNGOS** em sementes de **FEIJÃO-CAUPI**

**Detecção, qualidade sanitária e controle alternativo**

*Candido Athayde Sobrinho  
Ananda Rosa Beserra Santos  
Paulo Henrique Soares da Silva*

**Embrapa**  
Brasília, DF  
2020

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Meio-Norte**

Av. Duque de Caxias, 5.650, Bairro Buenos Aires, Caixa Postal 01  
CEP 64008-780, Teresina, PI  
Fone: (86) 3198-0500  
Fax: (86) 3198-0530  
www.embrapa.br/meio-norte  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição**

*Embrapa Meio-Norte*

**Comitê de Publicação da Embrapa Meio-Norte**

Presidente

*Danielle Maria Machado Ribeiro Azevêdo*

Secretário-Executivo

*Jeudys Araújo de Oliveira*

Membros

*Edvaldo Sagrilo, Orlane da Silva Maia, Luciana Pereira dos Santos Fernandes, Lígia Maria Rolim Bandeira, Humberto Umbelino de Sousa, Pedro Rodrigues de Araújo Neto, Antônio de Pádua Soeiro Machado, Alexandre Kemenes, Ana Lúcia Horta Barreto, Braz Henrique Nunes Rodrigues, Francisco José de Seixas Santos, João Avelar Magalhães, Rosa Maria Cardoso Mota de Alcantara,*

Supervisão editorial

*Lígia Maria Rolim Bandeira*

Revisão de texto

*Francisco de Assis David da Silva*

Normalização bibliográfica

*Orlane da Silva Maia*

Diagramação

*Jorimá Marques Ferreira*

Ilustração da capa

*Jorimá Marques Ferreira*

**1ª edição**

Publicação digital - PDF (2020)

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

Embrapa Meio-Norte

---

Athayde Sobrinho, Cândido.

Fungos em sementes de feijão-caupi : detecção, qualidade sanitária e controle alternativo / Cândido Athayde Sobrinho, Ananda Rosa Beserra Santos, Paulo Henrique Soares da Silva. – Brasília, DF : Embrapa, 2020.

PDF (53 p.) : il. color

ISBN 978-65-86056-18-1

1. Semente. 2. Fungo. 3. Controle cultural. 4. Doença fúngica. 5. Sanidade vegetal. I. Santos, Ananda Rosa Beserra. II. Silva, Paulo Henrique Soares da. III. Título. IV. Embrapa Meio-Norte.

CDD 632.4 (21. ed.)

© Embrapa 2020

*Orlane da Silva Maia* (CRB-3/915)

## **Autores**

### **Candido Athayde Sobrinho**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia,  
pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

### **Ananda Rosa Beserra Santos**

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia,  
Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI

### **Paulo Henrique Soares da Silva**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia,  
pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI

## Apresentação

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), também conhecido como feijão-de-corda e feijão-macassar, representa uma das mais importantes espécies cultivadas a fornecer proteína de boa qualidade a uma expressiva parte da população brasileira, notadamente àquela situada na região Nordeste do País.

Em que pese a disponibilidade de informações tecnológicas relacionadas a muitos aspectos da exploração da cultura, o uso de tecnologia é muito baixo, o que se traduz em baixos índices de rendimentos e de qualidade da produção. Isso pode ser exemplificado, em parte, pela baixa taxa de adoção de sementes certificadas no sistema de produção. Apesar de ser um insumo que representa menos de 5% dos custos totais de produção da cultura e que pode responder por mais de 70% de chance de êxito da atividade, seu emprego é bastante negligenciado pelos agricultores.

Estudos recentes têm demonstrado que importantes doenças da cultura são eficientemente transmitidas pelas sementes, o que aumenta a preocupação da pesquisa científica em fomentar, de forma robusta, a disseminação da importância da qualidade sanitária das sementes, como um instrumento viável de garantia de maior eficiência e estabilidade da cadeia produtiva do feijão-caupi, cuja expansão já é uma realidade também na região Centro-Oeste do Brasil.

Esta publicação, além de disponibilizar informações atuais sobre os principais aspectos relacionados à sanidade das sementes de feijão-caupi, preenche uma lacuna existente na literatura especializada. Ademais, expõe, de forma ilustrada, os principais fungos transmitidos pelas sementes, ou a elas associados, a metodologia usada para sua detecção e, por fim, propõe estratégias de controle alternativo, visando minimizar o impacto da transmissão das doenças do feijão-caupi pelas sementes.

*Luiz Fernando Carvalho Leite*  
Chefe-Geral da Embrapa Meio-Norte

## Sumário

Introdução .....	9
Sanidade de sementes.....	11
Teste de sanidade de sementes em feijão-caupi ..	12
Objetivo e importância do teste de sanidade de sementes .....	12
Métodos de detecção de fungos em sementes de feijão-caupi .....	12
Requisitos mínimos para um laboratório de sanidade de sementes de feijão-caupi .....	15
Câmara de incubação.....	15
Estereomicroscópio .....	16
Microscópio binocular .....	16
Capela de fluxo laminar .....	17
Autoclave .....	17
Estufa de esterilização e secagem .....	17
Forno de micro-ondas.....	18
Balança digital de precisão.....	18
Vidraria.....	18
Substratos.....	19

Materiais diversos .....	19
Fungos em sementes de feijão-caupi e suas implicações sanitárias .....	19
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. ....	21
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc. ....	25
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht .....	26
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon .....	27
<i>Colletotrichum truncatum</i> (Schwein.) Andrus & W. D. Moore .....	28
<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn .....	29
<i>Cladosporium</i> sp. Link. ....	30
<i>Alternaria</i> Nees .....	31
<i>Rhizopus</i> Ehrenb .....	32
<i>Phoma</i> Sacc .....	33
<i>Aspergillus</i> P. Micheli ex Haller .....	35
<i>Penicillium</i> Link .....	36
<i>Curvularia</i> Boedijn .....	37
<i>Chaetomium</i> Kunze .....	38
<i>Nigrospora</i> Zimm .....	38
Fungos leveduriformes e bactérias saprófitas ..	39
Qualidade sanitária e tratamento alternativo de patógenos em sementes de feijão-caupi.....	44
Referências .....	52

## Introdução

Os fungos são os principais agentes responsáveis por danos significativos nas sementes de muitas espécies vegetais, entre as quais o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). De maneira geral, sua ocorrência tem sido verificada desde remotas eras, quando o homem deixou de ser nômade e extrativista e passou a cultivar a terra. Por força dessa condição, teve que guardar estruturas propagativas (sementes e/ou propágulos) para futuros cultivos. Desde então, muitos dos fungos detectados estão presentes nas estruturas de propagação das plantas (estacas e sementes), a partir do campo de produção. Quando colhidas, essas partes vegetais conservam esses organismos que continuam sua atividade biológica, deteriorando-as ou permanecendo latentes, neste caso, sem causar danos perceptíveis. Todavia essa condição de latência pode determinar danos futuros, quando tais estruturas forem usadas como unidades de propagação.

Nesse aspecto particular, os fungos, quando associados às sementes, podem ser classificados em dois grupos: fungos de campo e fungos de armazenamento. Os primeiros, como o próprio nome indica, estão presentes naturalmente nas condições de campo e, eventualmente, quando as condições lhes são favoráveis, podem colonizar as sementes e serem por elas levados aos locais de beneficiamento e de armazenagem. Os outros, ditos de armazenamento, estão presentes em diversos locais da fazenda

por onde as sementes circulam (carretas, silos, sacaria, armazém), inclusive no ar, exceto nas plantas do campo, e associam-se com as sementes a partir das operações de colheita, de transporte, de beneficiamento e de armazenamento.

Normalmente, os fungos de armazenamento causam danos diretos às sementes, provocando sua deterioração e a conseqüente redução da germinação e vigor, especialmente se as condições inadequadas de armazenamento persistirem por muito tempo.

Os principais fungos de armazenamento presentes nas sementes de feijão-caupi pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, entre outros. Por outro lado, os gêneros *Fusarium*, *Macrophomina*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Phoma*, etc. destacam-se como os principais fungos de campo. Esses dois grupos são favorecidos, especialmente, pelas condições de colheita tardia, quando as sementes permanecem em campo por longos períodos de exposição a esses agentes, bem como pelas condições inadequadas de transporte, de beneficiamento e de estocagem, sobretudo quando elas são armazenadas com alta umidade constitutiva ou em ambientes com temperatura e umidade elevadas.

Um aspecto importante a ser destacado é que a simples presença desses organismos associados às sementes não significa danos ou prejuízos. Também, o fato de as sementes apresentarem elevados índices de germinação, vigor, pureza física e genética nem sempre significa tratar-se de sementes de alta qualidade, pois nesse caso devem também somar-se a estes, obrigatoriamente, elevados atributos sanitários. Quando esse aspecto é desprezado, fato ainda muito frequente para o caso do feijão-caupi, situações graves de dispersão de doenças temporal e espacialmente têm sido verificadas.

Dessa forma, o conhecimento dos diferentes aspectos relacionados à sanidade das sementes de feijão-caupi torna-se

imprescindível ao desenvolvimento sustentável da cultura, notadamente no momento atual, quando a espécie vem sendo incorporada como alternativa de cultivo em áreas já consagradas às culturas da soja, do milho e do algodão, especialmente em áreas produtoras da região Centro-Oeste do Brasil.

Esta publicação está alinhada ao Objetivo 2 de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, à medida que contribui de forma sustentável para acabar com a fome e alcançar a segurança alimentar e a melhoria da nutrição.

## Sanidade de sementes

De modo geral, na avaliação da qualidade das sementes, o laboratório é um recurso imprescindível, pois somente com seu auxílio é possível conhecer os atributos que caracterizam o padrão sanitário de um dado lote de sementes. Assim sendo, a qualidade da semente, como referido anteriormente, é um somatório de importantes características e, entre as mais importantes, estão o seu valor genético, a sua condição física e fisiológica e também o seu aspecto sanitário, que jamais pode ser esquecido. Este, em princípio, avalia a presença de agentes patogênicos (sobretudo os fungos), exprimindo a real condição sanitária, cuja informação é estratégica, notadamente quando se considera que as sementes são veículos de agentes fitopatogênicos e que em seu interior podem ser alojados patógenos que se constituem em risco iminente para os sucessivos ciclos culturais.

Os produtores de feijão-caupi jamais devem negligenciar a qualidade sanitária das sementes que eles utilizarão em seus cultivos. Felizmente, essa tendência parece que está tornando-se realidade e vem sendo respaldada pelos crescentes avanços observados na área da patologia de sementes, com o credenciamento de novos

laboratórios para realização desse tipo de análise em todo o Brasil. Tal tendência tem sido especialmente observada às culturas da soja e do milho.

Não obstante a existência de várias metodologias que permitem avaliar a sanidade das sementes, não se pode prescindir do emprego dos métodos que são validados e reconhecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entre os quais, destaca-se o método do papel de filtro com congelamento.

## **Teste de sanidade de sementes em feijão-caupi**

### **Objetivo e importância do teste de sanidade de sementes**

O teste de sanidade de sementes (TSS) tem como objetivo demonstrar o estado sanitário de uma amostra de sementes e exprimir a qualidade do lote que essa amostra representa. Essa informação pode ser usada para comparar as diferenças entre lotes e garantir a segurança do emprego comercial das sementes representadas pelo lote.

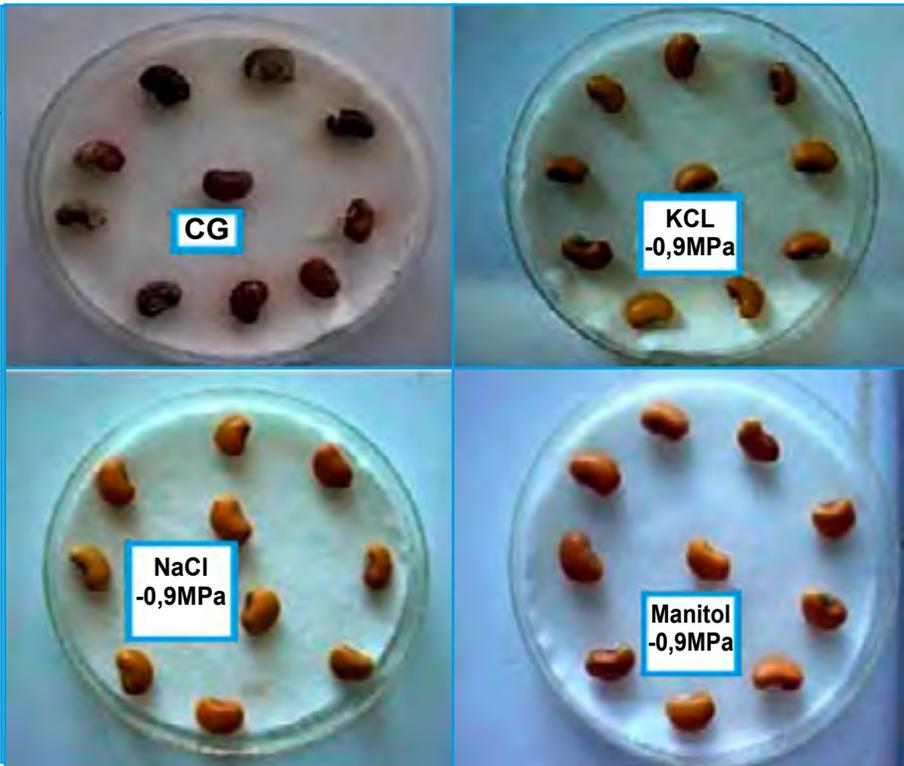
A fundamentação do TSS consiste, principalmente, em três aspectos: a) no risco que os patógenos nas sementes trazem como inóculo inicial para o estabelecimento da doença no campo de cultivo; b) no complemento das informações dos testes de germinação e vigor (que são rotina na análise de sementes); e c) em poder explicar as causas dos baixos índices de qualidade das sementes observados nos laboratórios de análise de sementes (LAS).

### **Métodos de detecção de fungos em sementes de feijão-caupi**

A literatura é vasta ao mostrar a pluralidade de metodologias que podem ser empregadas para detecção de fungos em sementes. Umas são bem genéricas, como o caso do método do papel de filtro

com congelamento e emprego de luz tipo “luz do dia”, e se aplicam à grande maioria dos casos, no entanto outras são mais específicas, como o caso do emprego de luz negra no método do papel de filtro, e por isso restritas a situações muito particulares.

No caso do feijão-caupi, tem-se observado falta de padronização no emprego das metodologias atualmente disponíveis. Em algumas delas são recomendados meios de cultura como Batata-Dextrose-Ágar (BDA) em vez do papel de filtro; outras recomendam o uso deste meio, porém indicam pré-tratamento das sementes com o emprego de hipoclorito de sódio. Existem aqueles que recomendam o emprego de luz negra em vez da branca, tipo “luz do dia”. Apesar dessas diferenças, o que vem sendo mais utilizado é o método do papel de filtro, também denominado de *Blotter Test*, com ou sem congelamento. O emprego do congelamento tem a finalidade de paralisar o processo de germinação das sementes durante a realização do teste, pois do contrário as plântulas, ao tocarem umas nas outras na placa ou caixa gerbox, após sua emergência, interferem na qualidade dos resultados do teste. A propósito do congelamento, é crescente a tendência de esse processo ser substituído, com eficiência, pela restrição hídrica (Coutinho et al., 2001), mediante o emprego de condicionadores osmóticos (NaCl, KCl, manitol, polietileno glicol, etc.). Nos TSS de feijão-caupi, o emprego de NaCl a 0,8 MPa inibe completamente a germinação das sementes (Athayde Sobrinho, 2004). Nos experimentos conduzidos com restrição hídrica e congelamento, observou-se que as sementes de feijão-caupi, quando submetidas ao congelamento, apresentaram danos externos, como ruptura do tegumento, e extravasamento líquido do interior das sementes por perda do conteúdo celular dos cotilédones, fato que promove um aumento significativo das colônias de bactérias, leveduras e fungos saprófitos sobre as sementes (Limonard, 1968), dificultando a detecção de fungos de interesse, os quais, na maioria das vezes, podem ter subestimada a sua incidência nas sementes (Figura 1).



**Figura 1.** Aspecto das sementes de feijão-caupi submetidas aos tratamentos, visando inibir a germinação (congelamento – CG; cloreto de potássio – KCl; manitol – M; cloreto de sódio – NaCl). Piracicaba, SP, 2004.

A técnica da restrição hídrica, além de apresentar maior praticidade, quando comparada ao congelamento, tem ainda a vantagem de não matar as sementes, as quais, conservando-se vivas, possibilitam a expressão de resultados, em relação à detecção, mais próximos das condições naturais.

Assim, para efeito de avaliação da sanidade de sementes de feijão-caupi, recomenda-se como metodologia padrão o Teste do Papel de Filtro (TSS - papel de filtro), com ou sem restrição hídrica. Nesse caso, devem-se empregar placas de Petri de 90 mm de diâmetro, incubadas em câmara de incubação, com fotofase de 12 horas, temperatura de  $20 \pm 2$  °C, por período de 7 dias. Como fonte luminosa,

devem-se usar duas lâmpadas fluorescentes “luz do dia” em paralelo, posicionadas a 40 cm acima das placas em incubação. Em cada placa de Petri, devem ser acondicionadas dez sementes, cuja amostra de trabalho é representada por 400 sementes, que podem ser divididas em cinco repetições de oito placas e dez sementes por cada placa. Essa metodologia está indicada no Manual de Análise Sanitária de Sementes (Brasil, 2009) e atualmente aceita como padrão para a espécie.

Todavia qualquer que seja a metodologia empregada para a avaliação da qualidade sanitária das sementes, somente será possível se houver uma condição mínima de instalações e de equipamentos de laboratório que permita sua implementação. Na realidade, para os TSS não são requeridas grandes e caras estruturas, basta que se disponha de requisitos mínimos como destacados a seguir.

## **Requisitos mínimos para um laboratório de sanidade de sementes de feijão-caupi**

Para o funcionamento razoável de um laboratório de sanidade de sementes, é necessário ter alguns equipamentos e materiais básicos, os quais apresentam normalmente baixo custo. A seguir, são apresentados em detalhe os mais requeridos para a realização do TSS em sementes de feijão-caupi.

### **Câmara de incubação**

São dispositivos especialmente confeccionados ou unidades adaptadas em salas com condicionador de ar e prateleiras iluminadas que permitem a incubação das sementes, em condições controladas de temperatura e umidade, requeridas nos testes. Normalmente, dado o grande volume de sementes usadas nos TSS, optam-se pelo emprego dessas salas. O que é fundamental é que sejam mantidas

as condições de temperatura em  $20 \pm 2$  °C e regime de alternância luminosa luz/escuro de 12 horas. A fonte de luz deve ficar a cerca de 40 cm de altura das placas/caixas gerbox e as lâmpadas devem fornecer luz com comprimento de onda em torno de 420 nm e potência de 40 watts. As lâmpadas fluorescentes “luz do dia” atendem muito bem a essa exigência. Um aspecto a ser considerado é que a luminosidade deve ser uniformemente distribuída sobre as sementes incubadas sobre as prateleiras, para que haja uniformidade no desenvolvimento dos fungos presentes nas sementes.

## **Esteriomicroscópio**

É um dos principais instrumentos para as avaliações. Ele permite que as colônias dos microrganismos sejam visualizadas. Ele é formado por um conjunto óptico capaz de, sob efeito da luz, ampliar as estruturas sob seu foco de forma a facilitar sua identificação. Sua capacidade de ampliação das imagens varia normalmente de 1,5 a 60 vezes o tamanho natural do objeto em análise. Todas as sementes devem ser avaliadas uma a uma por meio dele. Para melhor qualidade dos trabalhos, esse equipamento deve ser equipado ainda com câmaras fotográficas digitais, capazes de efetuar os registros das estruturas observadas.

## **Microscópio binocular**

Esse equipamento é usado para auxiliar na identificação dos microrganismos associados às sementes, quando a identificação somente pela visualização no estereomicroscópio não for possível. Ele deve vir equipado com um poder de amplificação de até mil vezes (com imersão), possibilitando um exame mais acurado do material em análise.

## **Capela de fluxo laminar**

A capela de fluxo laminar é um equipamento com a função de proteger os materiais a serem manipulados no seu interior. Ela é subdividida em duas categorias: fluxo laminar horizontal, em que há 100% de renovação do ar, e fluxo laminar vertical, em que ocorre a recirculação de 100% do ar. Em seu interior, é possível obtenção de ambiente estéril. É bastante usada na instalação e montagem dos testes de sanidade.

## **Autoclave**

Semelhante a uma panela de pressão, esse equipamento é utilizado para esterilização por meio de calor úmido. Nele, normalmente são esterilizados meios de culturas e algumas vidrarias cuja esterilização úmida é indicada. Sua capacidade varia de acordo com o modelo, no entanto, para um laboratório de sanidade de semente, um modelo com capacidade de 90 cm<sup>3</sup> atende perfeitamente a rotina. Sua faixa de operação situa-se em 121 °C de temperatura e 1,5 ATM de pressão. Para uma perfeita esterilização são, requeridos de 15 a 20 minutos.

## **Estufa de esterilização e secagem**

A utilização de vidrarias esterilizadas é fundamental para um laboratório de sanidade de sementes. Em sua grande maioria, a vidraria é esterilizada em estufas, notadamente, as placas de Petri, os tubos de ensaio e os erlenmeyers, os quais devem ser submetidos ao calor seco da estufa entre 150-170 °C por pelo menos 2 horas. As placas de Petri, antes de serem colocadas na estufa, devem ser envolvidas em papel e só desembulhadas no ato da sua utilização. Outro material que deve ser esterilizado em estufa, são os papéis de filtro, os quais necessitam ser embrulhados em papel comum e esterilizados a 120 °C durante 4 horas.

## **Forno de micro-ondas**

Equipamento utilizado para aquecimento rápido de qualquer tipo de material que tenha água em sua composição. É bastante empregado na fusão de ágar-ágar, no cozimento e na solubilização de sais, açúcares e demais produtos usados no preparo de meios de cultura para utilização nos testes de sanidade de sementes.

## **Balança digital de precisão**

Utilizada para pesagem de materiais diversos, especialmente daqueles que entram na composição de meios de cultura e que requerem precisão nos pesos. Normalmente deve vir equipada com nível para melhorar a qualidade das pesagens; deve ainda apresentar uma precisão de dois dígitos. O ideal é que a balança permita aferir pesos de até 500 gramas.

## **Vidraria**

São diversos os tipos de vidraria usados em laboratório de patologia de sementes. As mais importantes são aquelas em que sementes serão incubadas durante a realização dos testes. Nesse particular, destacam-se as placas de Petri (vidro) e as caixas gerbox (plástico), pois nelas as sementes serão incubadas. O aspecto mais importante que elas devem apresentar é a sua transparência, pela necessidade de permitir a passagem da luz no comprimento de onda adequado, oriunda da fonte emissora. Para o reuso das placas de Petri, faz-se necessária a lavagem com detergente e esterilização em estufa. Para o reuso das caixas plásticas gerbox, elas devem inicialmente ser lavadas com água e detergente e, em seguida, desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1,5%.

## **Substratos**

Nos testes de sanidade de sementes, são rotineiramente empregados diversos tipos de substratos. Entre eles, destaca-se o papel de filtro (mais usado na rotina), o papel mata-borrão, o ágar, a areia e, às vezes, o próprio solo. A utilização de cada um deles vai depender da especificidade do teste. No caso específico do TSS de feijão-caupi, o substrato mais utilizado é o papel de filtro qualitativo ou quantitativo, o qual deve ser estéril; recomenda-se o uso de três folhas de papel de filtro/recipiente (placas de Petri ou gerbox).

## **Materiais diversos**

Constituem-se de lápis cópia, borracha, etiquetas, pincel atômico, marcador permanente, papel A4, lamparina de álcool, fita adesiva transparente, etc. Representam vários materiais de uso diário no laboratório de sanidade de sementes, cujo manuseio deve ser criteriosamente observado. Os instrumentos (pinças, bisturis, estiletes, tesouras, alças de platina, etc.) devem ser lavados com água corrente e detergente e, antes do seu manuseio, na montagem dos testes, lavados em álcool 70%. Quando da instalação dos testes, sempre flambar na lamparina de álcool os utensílios, especialmente as pinças, de forma a evitar contaminação da amostra em análise.

## **Fungos em sementes de feijão-caupi e suas implicações sanitárias**

A cultura do feijão-caupi é atacada por várias doenças fúngicas e estas podem interferir causando danos diretos à produção, como também afetar a qualidade das sementes produzidas. A condição ideal seria que as sementes estivessem livres de qualquer agente causal de

doenças. Todavia essa situação quase sempre não é possível, porque depende de muitos fatores, sobretudo aqueles relacionados ao clima, ao solo e às características genéticas das cultivares utilizadas. Some-se a isso a variação a que esses fatores estão sujeitos em função da região, das práticas culturais utilizadas, das estações do ano e da época de semeadura.

As principais doenças que ocorrem na cultura do feijão-caupi, especialmente as doenças fúngicas, são eficientemente transmitidas pelas sementes. O resultado disso tem sido a introdução de doenças em áreas novas e/ou sua reintrodução em áreas sanitizadas. A transmissão via semente promove na lavoura uma distribuição aleatória dos focos iniciais de doença, o que é potencializado pela contínua utilização de sementes infestadas, que resulta em aumento da incidência de doenças já presentes na área.

A ocorrência de fungos em sementes de feijão-caupi tem sido relatada em diversos países do mundo onde a cultura está presente. No Brasil, considerando-se o ano de 1978 como referência, já haviam sido descritos 25 gêneros de fungos transmitidos pelas sementes dessa leguminosa.

No âmbito deste documento, serão destacados, conforme apresentado na Tabela 1, os principais microrganismos de importância econômica frequentemente encontrados em associação com as sementes de feijão-caupi. Para cada um deles, apresenta-se breve descrição das doenças por eles provocadas, além de algumas implicações sanitárias consequentes da sua ocorrência. Ainda, de forma objetiva, são apresentadas suas principais características diagnósticas nas sementes, com ilustrações que tornem simples sua identificação, de forma a facilitar as ações de manejo, caso necessário.

Para facilitar o entendimento, os microrganismos (fungos principalmente) foram classificados em três grupos: a) patógenos importantes – causam graves danos à cultura (fitopatógenos); b) fungos de armazenamento; e c) contaminantes e/ou saprófitos de sementes.

**Tabela 1.** Fungos detectados em sementes de feijão-caupi e relação ecológica.

Relação ecológica	Fungo detectado
Patógenos de campo veiculados pela semente	<i>Macrophomina phaseolina</i>
	<i>Fusarium</i> spp.
	<i>F. solani</i>
	<i>F. oxysporum</i>
	<i>F. moniliforme</i>
	<i>Colletotrichum truncatum</i>
	<i>Phoma</i> sp.
	<i>Phoma exigua</i>
	<i>Rhizoctonia solani</i>
Fungos de deterioração no armazenamento <sup>(1)</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.
	<i>A. flavus</i>
	<i>A. Níger</i>
	<i>A. ochraceus</i>
Fungos contaminantes mais encontrados	<i>Penicillium</i> spp.
	<i>Alternaria alternata</i>
	<i>Chaetomium</i> sp.
	<i>Cladosporium</i> spp.
	<i>Curvularia</i> spp.
	<i>Nigrospora</i> sp.
	<i>Rhizopus</i> sp.

Fonte: <sup>(1)</sup> Adaptado de Machado (2000).

### ***Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.**

A infecção por *M. phaseolina* em feijão-caupi ocorre em diversas fases de desenvolvimento da planta. Nas plântulas, os sintomas são observados nos cotilédones, podendo causar também tombamento

de pré e pós-emergência; na planta adulta, observa-se presença de lesões necróticas na região do colo, amarelecimento, murcha, desfolhamento prematuro e morte.

Como um patógeno eficientemente transmitido pela semente, normalmente ele é responsável pela morte das plântulas, resultando em baixos índices de germinação das sementes.

Antes da emergência, ainda no solo, o fungo coloniza desde o tegumento até o embrião, e os cotilédones são os alvos preferenciais de ataque. Em algumas situações, as plântulas emergem, no entanto apresentam lesões necróticas no hipocótilo e na junção deste com os cotilédones. Uma ocorrência até frequente e que às vezes passa despercebida é a ausência de lesões necróticas e a presença de discreta clorose nas folhas primárias, que denunciam a interação patógeno-hospedeiro logo nos primeiros dias após a emergência (Figura 2).

Foto: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 2.** Plântula de feijão-caupi inoculada, apresentando clorose típica (seta) de infecção por *Macrophomina phaseolina* em folhas primárias. Teresina, PI, 2018.

O fungo produz sobre as partes vegetais atacadas muitos picnídios e microesclerócios que dão a elas aspecto preto-carvão. Essas estruturas representam as formas de propagação e disseminação do patógeno.

A propósito da relação patógeno-hospedeiro, tem-se observado que a podridão cinzenta do caule do feijão-caupi, muitas vezes se manifesta de forma subclínica, isto é, sem mostrar nenhum sintoma típico da doença.

Todavia o patógeno está presente no interior das plantas, “silencioso”, distribuído especialmente na medula central e nos vasos do xilema (Figura 3). À medida que a planta vai aproximando-se do final do ciclo, o patógeno migra para o pedúnculo, flores, vagens e sementes. Nessa fase, a doença assume caráter de manifestação “clínica”, expressando-se pela queda de folhas, murcha, seguida de seca e morte prematura das plantas. A planta assim afetada normalmente produz poucas vagens, as quais levam em suas sementes o patógeno, viável.

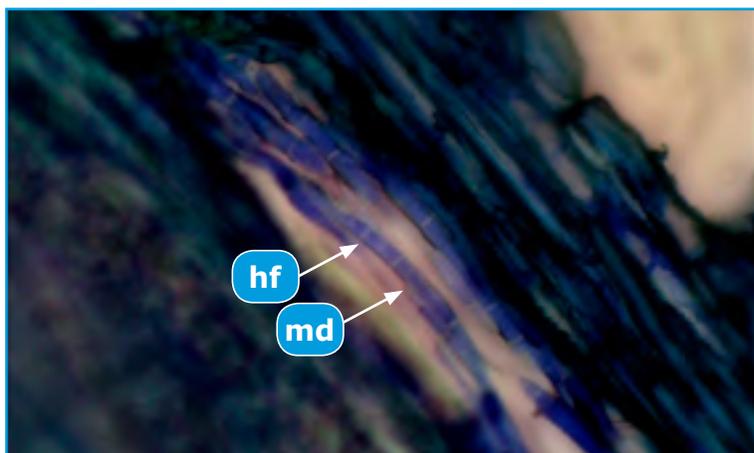


Foto: Cândido Athayde Sobrinho

**Figura 3.** Fotomicrografia de planta de feijão-caupi apresentando colonização típica de *Macrophomina phaeolina* na medula e interior dos vasos (hf = hifa; md = medula. Aumento: 400x). Teresina, PI, 2018

Sobre a semente, o fungo apresenta vigoroso crescimento, com muitas hifas e abundante quantidade de microesclerócios. Em algumas situações, são produzidos sobre o entremeado de hifas numerosos picnídios que contêm grandes quantidades de conídios. Em sementes muito infectadas, o micélio negro recobre toda a sua superfície, e esta é a mais típica expressão diagnóstica (Figura 4). As sementes infectadas, na maioria das vezes, não emergem.

Fotos: Cândido Athayde Sobrinho



**Figura 4.** *Macrophomina phaseolina* em sementes de feijão-caupi. No TSS em papel de filtro (A); fungo cobrindo totalmente a semente com micélio, microesclerócios e picnídios (B e C); sobre a semente formando picnídio fértil (D); fotomicrografia de picnídio (pic) e conídios (con) (E); e microesclerócios (F). Teresina, PI, 2018.

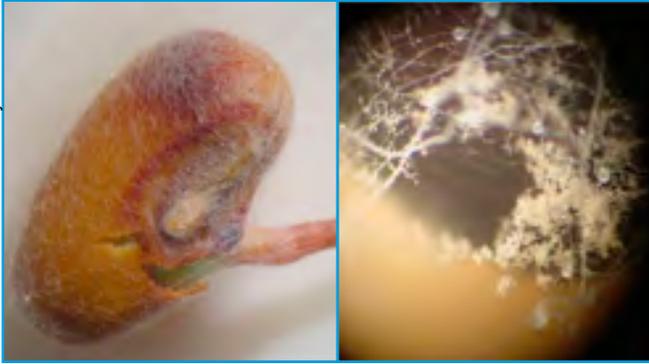
## ***Fusarium solani* (Mart.) Sacc.**

Agente causal de outra importante doença, a fusariose, é um patógeno de solo eficientemente transmitido pela semente. Ele ocorre atacando as plantas de feijão-caupi ao longo de todo o ciclo da cultura. Sua dispersão ocorre em reboleiras e de forma agregada. O sintoma mais típico da doença em campo é a presença de plantas murchas que evoluem rapidamente para seca. Ao examinar as plantas atacadas, observa-se a presença de uma podridão seca na base do caule, colo e raiz pivotante. Na maioria das vezes, essa podridão apresenta coloração avermelhada e logo se percebe a parte interna dessas regiões expostas e fragmentadas. Como o patógeno é habitante do solo, ele sobrevive e se pereniza nos restos culturais. Quando o sistema de cultivo envolve preparo da área com gradagem (grade aradora), ou aração seguida de gradagem niveladora, ocorre maior dispersão dos propágulos do fungo e conseqüentemente maior dispersão das reboleiras. Esse processo não é tão observado quando se adota o plantio direto, muito embora, nos primeiros anos de seu emprego, tenha sido observado consistente crescimento da doença nesse sistema de cultivo (Athayde Sobrinho et al., 2018).

A referida doença causa diminuição da população de plantas e se reflete na redução da produtividade de grãos.

Sobre as sementes, a presença de gotículas de água ao longo das fiáides com microgonídios constitui característica diagnóstica. Essas gotículas são translúcidas no início e tornam-se leitosas com o tempo. Apresentam vários formatos, que vão desde o circular ao oblongo, não sendo uniformemente circulares. As hifas apresentam-se com aspecto flocoso, de branco a creme e frequentemente esparsas (Figura 5). Os microconídios geralmente apresentam-se com uma ou duas células, são ovais, elipsoides ou reniformes, com dimensões de 8-16  $\mu\text{m}$  x 2-4  $\mu\text{m}$ . Os macroconídios são produzidos abundantemente em esporodóquios de coloração creme. Normalmente, eles têm 3-4 septos, são hialinos e dimensões quem variam de 45-100  $\mu\text{m}$  x 5-8  $\mu\text{m}$ .

Fotos: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 5.** *Fusarium solani* sobre sementes de feijão-caupi submetidas ao TSS com papel de filtro. Teresina, PI, 2018.

## ***Fusarium oxysporum* Schlecht**

Esse fungo é o agente causal da murcha de fusário, doença de grande importância nas áreas em que o feijão-caupi é cultivado. A doença é caracterizada primeiramente pela redução do crescimento, seguida de clorose, queda prematura de folhas, que evolui para murcha e posterior morte das plantas. Seccionando-se longitudinalmente o caule, percebe-se uma discreta descoloração dos feixes vasculares, os quais assumem pigmentação castanha, demonstrando a colonização necrotóxica do patógeno nos tecidos condutores da hospedeira (Figura 6).

Fotos: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 6.** Sintomas de murcha de fusário em plantas de feijão-caupi cultivar Pingo de Ouro (A); aspecto do fungo sobre as sementes de feijão-caupi (B, C). Teresina, PI, 2018.

## ***Fusarium moniliforme* Sheldon**

Esse fungo, embora aparentemente não cause doenças, está sempre presente quando se realiza TSS de feijão-caupi. Associado a outros fungos, pode contribuir com baixa germinação e redução do vigor das sementes. Está associado à baixa qualidade fisiológica da semente, que é afetada por condições inadequadas de colheita, de beneficiamento e de armazenamento.

Sua característica marcante é a presença de micélio branco leitoso, semelhante a um pó branco que recobre as sementes. Sobre o tegumento, observam-se áreas concentradas de micélio, circundadas por áreas mais ralas, isto é, com pouca cobertura micelial (Figura 7). Observações na lupa em aumentos maiores (60x), por exemplo, tornam-se visíveis cadeias de conídios que lembram micélio de *Monilia* sp., daí a denominação “moniliformes”. Para visualizá-las, faz-se necessário “pescar” da colônia fragmentos de micélio e observá-los em microscópio composto em diferentes aumentos, quando serão observados os microconídios hialinos, unicelulares, algumas vezes bicelulares (um septo), com dimensões que variam de 5-10  $\mu\text{m}$  x 1,5-2  $\mu\text{m}$ . Por meio de microscopia, também é possível observar os macroconídios, que são hialinos, fusoides, com 3-7, frequentemente três septos formados por tênues paredes e medindo 25-60  $\mu\text{m}$  x 2,5-40  $\mu\text{m}$ . Essa espécie não forma clamidósporos, que são estruturas de resistência comum no gênero *Fusarium*.



**Figura 7.** Aspecto do fungo *Fusarium moniliforme* sobre sementes de feijão-caupi submetidas ao TSS (A); no detalhe, produção em cadeia de microconídios (B). Teresina, PI, 2018.

## ***Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W. D. Moore**

Esse fungo, agente etiológico da mancha-café, além de causar morte de plântulas e infecção sistêmica em plantas adultas, determinando manchas típicas nas folhas e nas vagens, pode causar deterioração das sementes. Podem ocorrer sintomas nos cotilédones, os quais são percebidos pela necrose dos tecidos. Sobre as sementes, ele surge com tênue micélio recobrendo a superfície do tegumento, provocando lesões deprimidas, de onde sobressaem os acérvulos, com setas escuras e circundadas por conídios (Figuras 8A, 8B).



**Figura 8.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando lesões típicas de *Colletotrichum truncatum* (A); no detalhe, fotomicrografia de um acérvulo do fungo destacando a presença de setas e massa de conídios (B). Teresina, PI, 2018.

Normalmente, a incidência desse fungo nas sementes é baixa. Nos levantamentos recentes efetuados na região Meio-Norte (Piauí e Maranhão), sua incidência não excedeu os 0,1% nas amostras analisadas. Fato curioso é que, nos últimos anos, a mancha-café vem praticamente desaparecendo dos cultivos, o que pode explicar em parte essa baixa incidência nas sementes. O patógeno, uma vez introduzido via sementes infectadas, sobrevive na entressafra, nos restos de cultura.

A identificação de *C. truncatum* é feita após o período de incubação das sementes, observando-se a presença de acérvulos (estruturas reprodutivas do fungo) típicos da espécie, cujas características diagnósticas são as setas escuras, que medem em média 70-300  $\mu\text{m}$  x 3-8  $\mu\text{m}$  (comprimento x largura), imersas em exsudados, que constituem os conídios envoltos em uma matriz mucilaginosa. Os conídios são hialinos, unicelulares, ligeiramente curvos e medem 17-31  $\mu\text{m}$  x 3-4,5  $\mu\text{m}$  (Figura 8b). As setas são bem escuras, septadas (0-9 septos) e resistentes ao tato, com dimensões que variam de 50-470  $\mu\text{m}$  x 2-7  $\mu\text{m}$ .

### ***Rhizoctonia solani* Kuhn**

O fungo é o agente causal da rizoctoniose e um dos responsáveis pelo tombamento (*damping off*) de plântulas de feijão-caupi. Os sintomas típicos da doença ocorrem no início do desenvolvimento da cultura. As plantas emergem normalmente e, após alguns dias, apresentam redução do crescimento, as folhas murcham, secam e as plantas morrem. Antes dessa fase, são observadas no caulículo lesões longitudinais, deprimidas, de coloração avermelhada, de onde sobressaem as hifas do patógeno (Figura 9), facilmente identificadas por microscopia de luz.



Fotos: Candido Athayde Sobrinho

**Figura 9.** Lesões típicas de *Rhizoctonia solani* sobre plântulas de feijão-caupi (A): hifas do fungo e lesões sobre o caulículo (setas); em destaque, fotomicrografia do micélio do fungo isolado de semente (B). Teresina, PI, 2018.

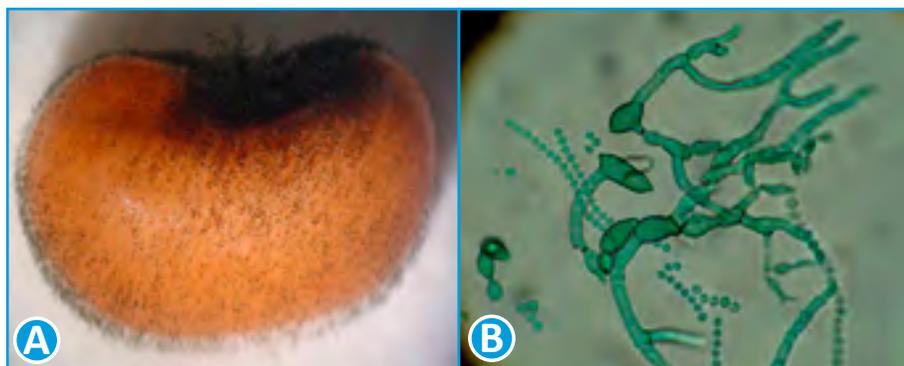
*R. solani* é um habitante natural do solo e causa perdas significativas. Uma vez instalado no solo, pode sobreviver por vários anos. Por ser polífago, a estratégia de rotação de culturas não é viável para o manejo da doença. Sua presença em uma plantação de feijão-caupi pode ser notada pela ocorrência de morte de plantas em reboleira, que crescem radialmente com o passar dos ciclos culturais.

Sua identificação no TSS é feita observando-se a presença do micélio, que se mostra inicialmente hialino, tornando-se marrom quando maduro. Sobre as sementes, ao microscópio estereoscópico, é possível observar a presença de hifas vigorosas que se ramificam formando ângulos retos (90°). Elas envolvem toda a semente e, com o passar do tempo, tornam-se marrom-escuras e se projetam em direção ao papel no fundo da placa de Petri. Em algumas situações, chegam a cobrir toda a placa. Nesse caso, somente as sementes nas quais o micélio se irradia, devem ser consideradas na avaliação.

### ***Cladosporium* sp. Link.**

Esse fungo é frequentemente encontrado em sementes de muitas espécies cultivadas e no feijão-caupi é muito frequentemente detectado; é provável que seja um dos integrantes naturais da microflora da semente. Raramente há uma amostra em que ele não esteja presente. Apesar dessa realidade, na maioria das vezes, esse fungo não causa danos à germinação e ao vigor.

No TSS, sua identificação é feita com base na presença de micélio de coloração cinza a cinza amarronzado (Figura 10a), formado por conidióforos escuros, os quais não são normalmente ramificados, salvo em sua extremidade superior que ramifica e produz conídios em cadeia. Também podem ser observados ramos-conídios com 0-3 septos e dimensões que variam de 33 µm x 3-5 µm (Mathur; Kongsdal, 2003). Os conídios, na maioria das vezes, são globosos a subglobosos e medem 3-5 µm de diâmetro (Figura 10b).



Fotos: Candido Athayde Sobrinho

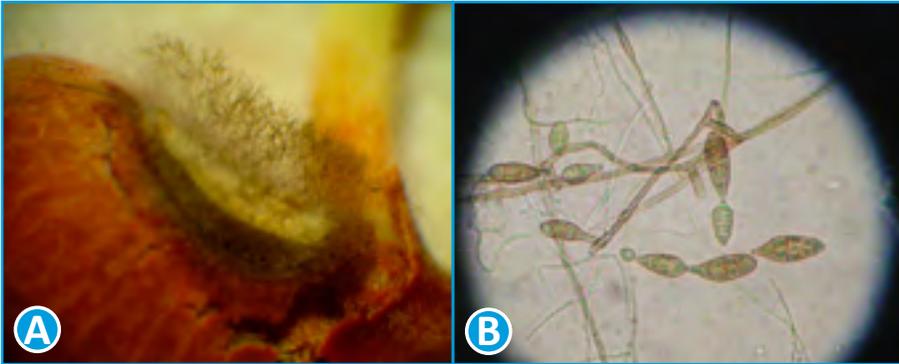
**Figura 10.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas típicas de *Cladosporium* sp. (A); no detalhe, fotomicrografia mostrando conidióforos e conídios do fungo (B). Teresina, PI, 2018.

## ***Alternaria* Nees**

Apesar de aparecer com certa frequência sobre as sementes, esse fungo parece não provocar doença nas plantas de feijão-caupi. Todavia sementes com elevada incidência desse fungo podem apresentar problemas na germinação e no vigor das plântulas.

O fungo normalmente recobre toda a semente, externando um tênue micélio que, às vezes, pode estar ausente. No entanto apresenta como característica diagnóstica a produção de conídios em cadeia, especialmente quando se trata da espécie *A. alternata* (Fr.) Keissler, a mais frequente sobre sementes de feijão-caupi (Figura 11). A cadeia de conídio normalmente é simples, porém em algumas situações pode apresentar ramificações.

Os conídios apresentam formas variadas, podem ser curtos ou longos, ter coloração marrom-oliva a marrom-escuro e varia o número de septos longitudinais, transversais e oblíquos. Suas dimensões variam de 10-50  $\mu\text{m}$  x 7-19  $\mu\text{m}$ .



**Figura 11.** Fotomicrografia de uma semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas típicas de *Alternaria alternata* (A); no detalhe, uma cadeia de conídios do fungo (B). Teresina, PI, 2018.

## ***Rhizopus* Ehrenb**

Esse fungo é bastante frequente nas sementes de feijão-caupi, especialmente se elas forem armazenadas com elevados teores de umidade constitutiva e/ou em ambientes com elevada umidade relativa do ar. Quando a esses fatores somam-se altas temperaturas, a incidência tende a ser maior.

Frequentemente, o fungo recobre toda a semente e geralmente se estende até o papel usado no TSS (Figura 12). Isso se dá pelo rápido crescimento e dispersão natural do fungo e pelas condições de elevada umidade da placa no ambiente de incubação. Fato que merece atenção é que, mesmo estando presente em apenas uma semente, o fungo pode espalhar-se e cobrir as sementes vizinhas e tomar toda a placa. A característica diagnóstica é a presença de esporangióforos longos, solitários ou em duplas. A presença de rizoides na base dessas estruturas é normalmente observada. Sobre os esporangióforos, formam-se esporângios esféricos e escuros e no seu interior são produzidos inúmeros esporangiósporos, unicelulares, de formato que varia de oval a globoso, às vezes elipsoide, poligonal ou angular, com dimensões que variam de 5  $\mu\text{m}$  a 15  $\mu\text{m}$ .

Em feijão-caupi, a espécie *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill é a mais frequentemente encontrada sobre as sementes.



Fotos: Candido Athayde Sobrinho

**Figura 12.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas típicas de *Rhizopus stolonifer* (A); esporângios escuros do fungo sobre a semente (B); papel (C). Teresina, PI, 2018.

## ***Phoma Sacc***

Sempre que se realiza o TSS, esse fungo aparece normalmente em baixa incidência. Sua presença pode ser explicada pela forma endofítica de ele se relacionar com o feijão-caupi. Aparentemente, ao que se sabe, não causa danos às plantas no campo, muito embora, nas condições de armazenamento e em associação com outros microrganismos e de forma sinérgica, possa interferir na qualidade da semente.

Sobre as sementes, o fungo é de fácil identificação, pois apresenta a característica de recobrir todo o órgão afetado. Geralmente, a colônia mostra-se com aspecto cotonoso denso, apresenta coloração creme, de onde emergem discretas pontuações escuras (picnídios) normalmente repletas de conídios (Figura 13).

Fotos: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 13.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas discretas de *Phoma* sp. a baixa severidade (A); alta severidade (B); fotomicrografia de conídios do fungo (C); detalhe do ataque do fungo nos tecidos internos da semente (D). Teresina, PI, 2018.

## ***Aspergillus P. Micheli ex Haller***

Existem duas espécies, que são mais frequentes em sementes de feijão-caupi e que têm ampla distribuição geográfica. São elas: *A. flavus* Link ex Fries e *A. Niger* van Tieghem. Esses fungos são os principais responsáveis pela deterioração das sementes, quando elas são armazenadas em condições de alta umidade e temperaturas elevadas. O crescimento de *A. flavus* sobre as sementes é caracterizado pela presença de cabeças imaturas de coloração inicialmente branca, que evolui para tons amarelo-creme a esverdeado. Essas cabeças correspondem à produção em massa de conídios, que permanecem agrupados dando um aspecto de cabeça. Por outro lado, a presença de *A. flavus* é marcada pela formação, sobre as sementes, de cabeças globosas de coloração marrom-escura, representada também pela massa de conídios negros sobre conidióforos hialinos, eretos, solitários ou em pequenos grupos. Essas estruturas cobrem parcial ou totalmente as sementes (Figura 14). Um aspecto especialmente importante é que o fungo produz enorme quantidade de esporos aéreos, que contaminam o ambiente em que são dispersos, podendo ser causa de doença de animais e de humanos.



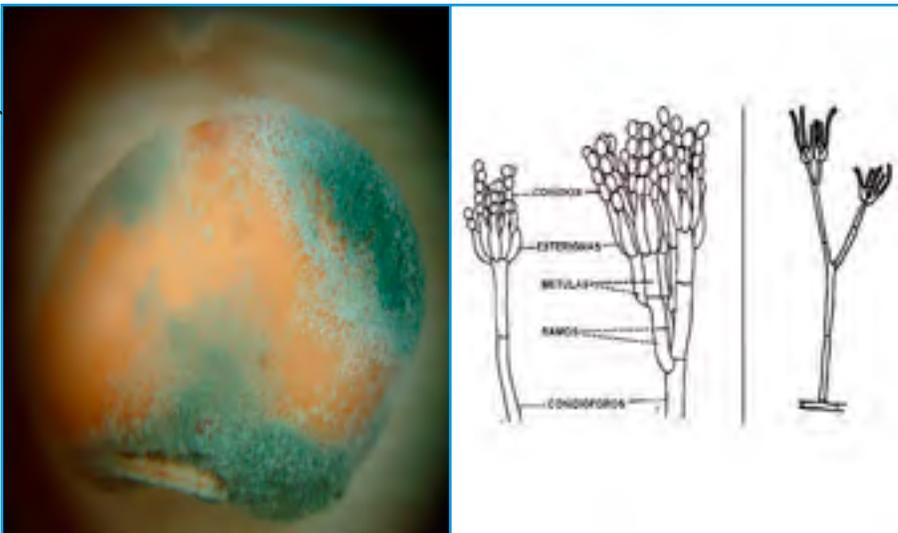
Fotos: Candido Athayde Sobrinho

**Figura 14.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas fúngicas (conidióforos e massa de conídios) de *Aspergillus niger* van Tieghem. Teresina, PI, 2018.

## ***Penicillium* Link**

Fungo bastante presente sobre as sementes de feijão-caupi nos TSS. Compõe um importante grupo dos fungos de armazenamento e também responsável pela deterioração das sementes, embora não sejam considerados patogênicos. Igualmente a outras espécies de armazenamento, aparentemente, ao que se sabe, não causa danos às plantas no campo, salvo por comprometer o processo de germinação e interferir no vigor das sementes. As colônias sobre as sementes apresentam crescimento lento a moderado, com micélio inconspícuo, porém a esporulação bastante visível, às vezes cobrindo toda a semente. As colônias apresentam coloração que varia normalmente entre o azulado e o verde-claro (Figura 15).

Foto: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 15.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas fúngicas (conidióforos e massa de conídios) de *Penicillium* van Tieghem. Teresina, PI, 2018.

Fonte: Barnett & Hunter (1972)

## **Curvularia Boedijn**

Sobre as sementes, o fungo apresenta colônia aérea de coloração predominantemente marrom a preta. As hifas do micélio são muito tênues, destacando-se na sua superfície diminutas pontuações escuras, que se constituem nos conídios do fungo.

Os conidióforos são formados de forma isolada ou em grupos e produzidos na parte terminal ou lateral nas hifas conidiogênicas.

Os conídios, por sua vez, são formados no ápice dos conidióforos ou lateralmente e apresentam-se com formato ligeiramente curvado; normalmente, as células centrais são maiores, dando maior largura à região central, de onde vai afinando-se em direção às extremidades. Normalmente, apresentam três ou mais septos, de fácil identificação (Figura 16).



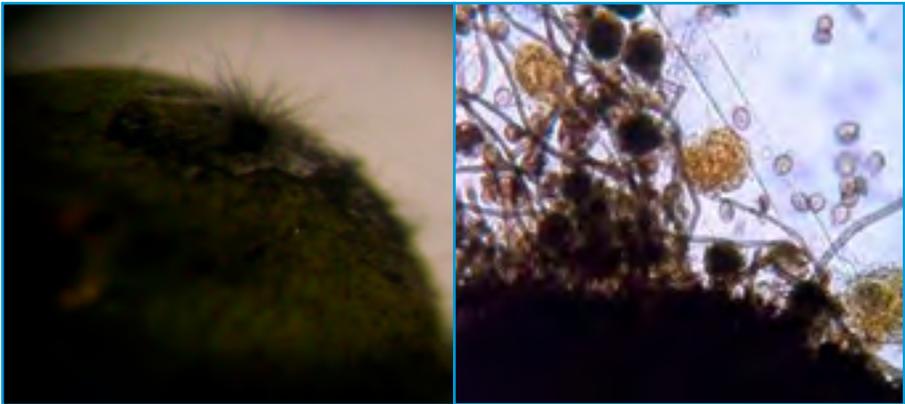
Fotos: Candido Athayde Sobrinho

**Figura 16.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas fúngicas (conidióforos e conídios) de *Curvularia* sp. Teresina, PI, 2018.

## **Chaetomium Kunze**

Na superfície das sementes e no papel em torno destas, são formados peritécios envolvidos em micélio de baixa densidade. Eles se apresentam esféricos ou piriformes, envoltos por abundantes setas geralmente longas. No seu interior, são produzidas ascas, evanescentes, que produzem ascósporos escuros unicelulares e conformação limoniforme (Figura 17). Esses fungos normalmente não representam problemas às sementes.

Fotos: Candido Athayde Sobrinho



**Figura 17.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando estruturas fúngicas de *Chaetomium* sp. Teresina, PI, 2018.

## **Nigrospora Zimm**

O fungo apresenta micélio ligeiramente superficial, às vezes imersos nas sementes, onde exibem grande quantidade de conídios negros ligados entre si por vigorosas hifas. Sobre as sementes, surgem colônias de cor branca, contrastando com os esporos negros e brilhantes. Com o passar do tempo, elas se tornam escuras por causa da abundante produção de conídios, os quais são produzidos em conidióforos curtos. Estes apresentam formato que varia do esférico ao oval, são lisos e brilhantes e, por essa característica, facilmente reconhecidos (Figura 18).

**Figura 18.** Conídios e conidióforos de *Nigrospora* sp. isolados de semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro. Teresina, PI, 2018.



Foto: Candido Athayde Sobrinho

## **Fungos leveduriformes e bactérias saprófitas**

Os fungos leveduriformes e algumas bactérias baciliformes são bastante presentes sobre as sementes de feijão-caupi nos TSS, especialmente quando se utiliza o congelamento para inibir a germinação. Encontradiços, normalmente, em quase todos os ambientes, esses organismos podem contribuir com a perda da qualidade das sementes. (Figura 19).

**Figura 19.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando várias colônias de bactérias. Teresina, PI, 2018.

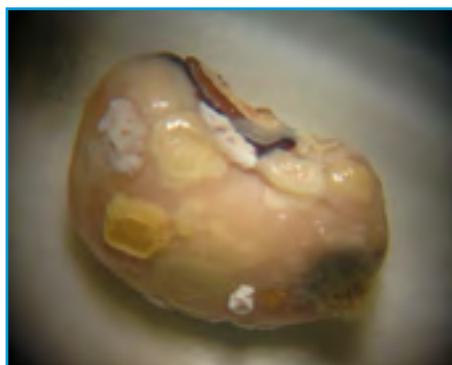
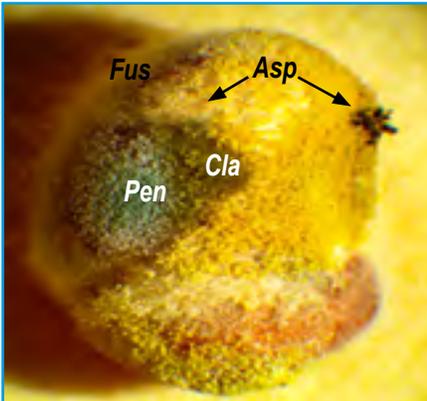


Foto: Candido Athayde Sobrinho

Em muitas situações nos TSS, são observadas múltiplas colônias fúngicas em uma mesma semente. Nesses casos, cada uma delas deve ser computada e integrar a avaliação da incidência de cada espécie presente na amostra (Figuras 20 e 21).

Foto: Cândido Athayde Sobrinho



**Figura 20.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando incidência múltipla com vários fungos. *Aspergillus* (Asp), *Penicillium* (Pen), *Cladosporium* (Cla), *Fusarium* (Fus). Teresina, PI, 2018.

Foto: Cândido Athayde Sobrinho



**Figura 21.** Semente de feijão-caupi submetida ao TSS em papel de filtro, apresentando infestação múltipla: *Penicillium* (Pen), *Levedura* (Lev). Teresina, PI, 2018.

Os vários anos de trabalho, envolvendo a qualidade sanitária das sementes dessa espécie, e as implicações consequentes ao seu emprego permitiram o estabelecimento de uma proposta de padrão, que pode ser adotada com segurança, quando da realização dos testes de sanidade e de valoração dos lotes de sementes. Tal definição tem por base os resultados dos testes de sanidade padrão para a espécie (Brasil, 2009).

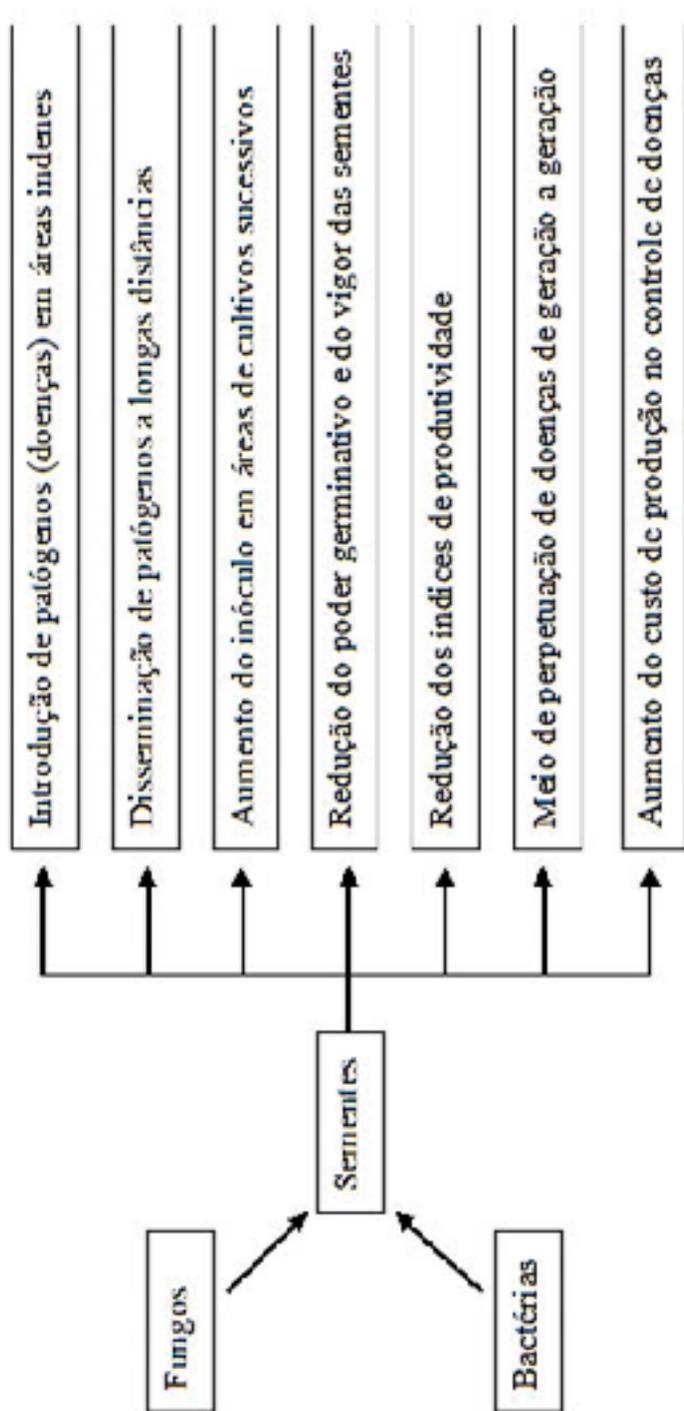
Assim, a incidência dos microrganismos presentes nas sementes de feijão-caupi deve ser considerada alta, média e baixa e o resultado final do perfil sanitário deve ser considerado bom, regular e ruim, conforme parâmetros propostos na Tabela 2. Dessa forma, são consideradas sementes com padrão “bom” aquelas com baixa incidência de patógenos importantes (*Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Colletotrichum*, etc.) e, concomitantemente, incidência de média a baixa de microrganismos de armazenamento (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rizophus*, *Cladosporium*, etc). Por outro lado, são consideradas com padrão “regular” as amostras que apresentam

incidência média de patógenos importantes e, concomitantemente, incidência média a alta de microrganismos de armazenamento. Finalmente, são consideradas com padrão “ruim” as sementes que apresentam níveis altos de incidência de ambos os tipos de microrganismos.

**Tabela 2.** Parâmetros de qualidade sanitária de sementes de feijão-caupi, obtidos pelo teste de sanidade de sementes pelo método do papel de filtro, considerando a presença de microrganismos.

<b>Fungo (gênero)</b>	<b>Incidência (%)</b>	<b>Padrão</b>
<i>Aspergillus</i>	Menor que 20	Baixo
	20,1 - 60	Médio
	Maior que 60,1	Alto
<i>Cladosporium</i>	Menor que 20	Baixo
	20,1 - 60	Médio
	Maior que 60,1	Alto
<i>Fusarium</i>	Menor que 15	Baixo
	15,1 - 30	Médio
	Maior que 30,1	Alto
<i>Macrophomina</i>	Menor que 8	Baixo
	8,1 - 15	Médio
	Maior que 15	Alto
<i>Penicillium</i>	Menor que 20	Baixo
	20,1 - 60	Médio
	Maior que 60,1	Alto
<i>Phoma</i>	Menor que 8	Baixo
	8,1 - 15	Médio
	Maior que 15	Alto
<i>Rhizoctonia</i>	Menor que 5	Baixo
	5,1 – 10	Médio
	Maior que 10	Alto

Diversas são as consequências sanitárias e epidemiológicas decorrentes da interação desses patógenos com as sementes e o meio ambiente. A Figura 22 apresenta de forma resumida a cadeia de implicações decorrentes do emprego de sementes contaminadas por fungo e/ou bactéria em um campo agrícola (Goulart, 2005). Delas, uma das mais sérias é a introdução de patógenos em áreas indenidas, isto é, sem histórico de sua presença no local. Muitas vezes, por descuido, o produtor traz para sua área problemas de difícil solução, pois, uma vez introduzido um patógeno de solo, por exemplo, em determinada área, sua eliminação e retorno da área à condição original são praticamente utópicos. Para ilustrar essa realidade, tome-se o caso do fungo *M. phaseolina*, que além de causar tombamento de plântulas, provoca morte de plantas adultas, com níveis de incidência na semente de 10%, como demonstrado adiante (Figura 28). Considerando-se que em um campo de feijão-caupi utilizam-se 220 mil sementes, ter-se-ia um total aproximado de 22 mil sementes/plantas atacadas por podridão cinzenta do caule, o que geraria a redução da ordem de aproximadamente quatro sacos de feijão-caupi. Isso sem considerar o impacto da permanência do patógeno por muitos anos, com elevada capacidade de crescimento populacional e agravamento do quadro da doença na área. Não menos importante é a disseminação espacial e a manutenção temporal de inóculos, quando sementes infectadas são transportadas e/ou armazenadas para plantios posteriores, fato muito comum na espécie *V. unguiculata*, cuja capacidade germinativa permanece mantida por longos períodos.



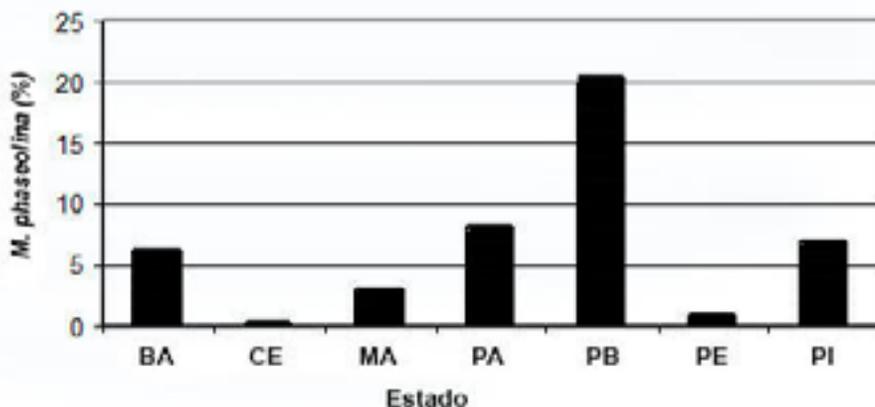
**Figura 22.** Esquema síntese representativo da cadeia de implicações advindas do emprego de sementes de baixa qualidade sanitária.

## Qualidade sanitária e tratamento alternativo de patógenos em sementes de feijão-caupi

Em virtude da grande dificuldade de se fazer a indicação de um tratamento de sementes para a cultura do feijão-caupi, em razão da falta de diversificação na grade de produtos registrados no Ministério da Agricultura (MAPA) para uso em tratamento de sementes (TS) e, de forma a não deixar os produtores sem opções de manejo de doenças, notadamente aquelas veiculadas pelas sementes, a Embrapa iniciou uma série de pesquisas visando identificar produtos alternativos que atendessem a essa finalidade.

Para o atendimento desse objetivo, os trabalhos iniciaram-se com o levantamento da qualidade sanitária das sementes, que acumulou informações dos últimos 15 anos. Esse estudo serviu de base para se conhecer o perfil sanitário das sementes em uso e, assim, permitir os testes com os produtos alternativos desenvolvidos.

Os primeiros resultados foram obtidos para o Brasil inteiro, considerando-se dois aspectos: a) ser o estado grande produtor de feijão-caupi; b) as análises foram focadas para a presença de *Macrophomina phaseolina*, pelo impacto que a doença oferece ao sistema de produção. Posteriormente, os estudos voltaram-se mais para a região Nordeste, onde se concentram as principais zonas produtoras da cultura. A síntese do perfil sanitário, relativo à incidência de *M. phaseolina*, está organizada na Figura 23.

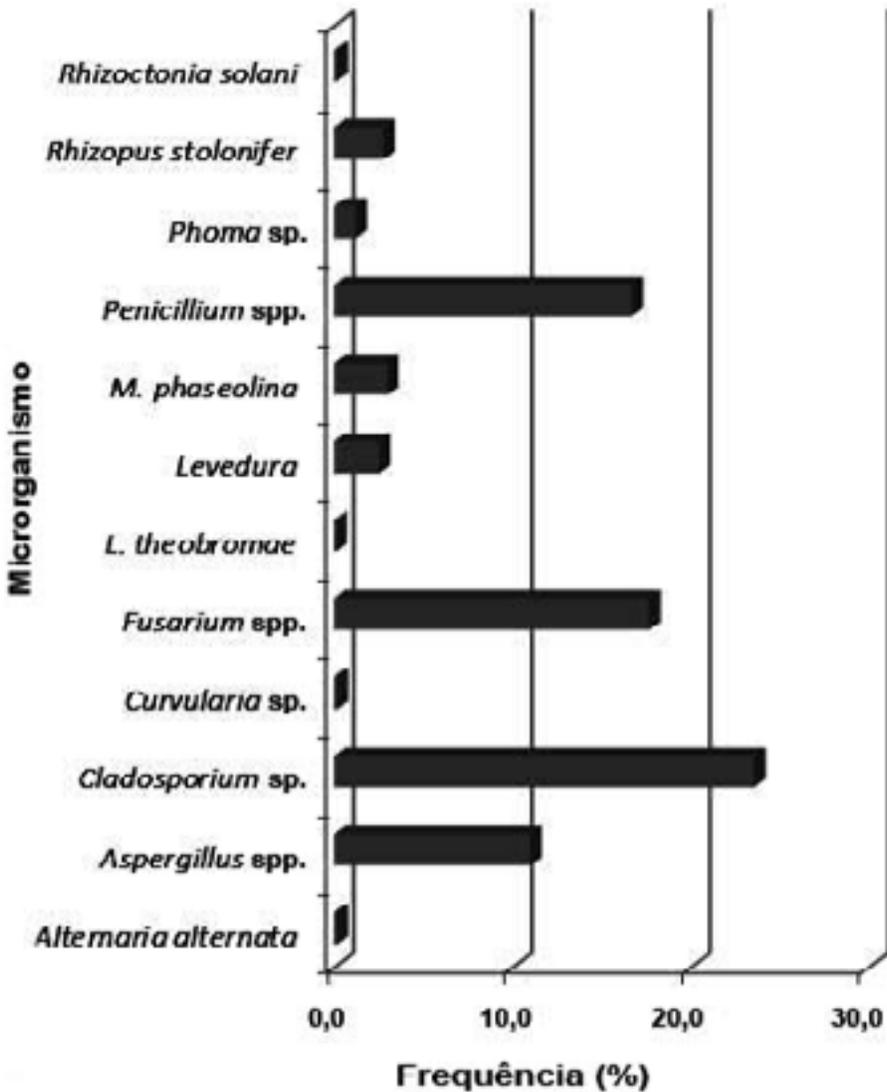


**Figura 23.** Incidência de *Macrophomina phaseolina* em amostras de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) originárias de vários estados do Brasil.

Considerando-se a origem das amostras, a análise dos dados revelou que as maiores ocorrências foram verificadas nas sementes originadas no estado da Paraíba (20,44%), seguidas pelas do Pará (8,16%), do Piauí (6,84%) e da Bahia (6,13%). O fato de se verificarem altas incidências em amostras procedentes dos estados da Paraíba e do Piauí pode ser explicado pela prevalência da podridão cinzenta do caule em áreas sujeitas à seca e/ou veranicos durante o ciclo produtivo. Relativamente à alta incidência, como a que foi observada na cultivar BR 3-Tracueteua, tais valores foram também referidos na cultivar BR 9-Longá para as condições do estado do Piauí.

Os estudos subsequentes revelaram o perfil sanitário das sementes utilizadas nos cultivos instalados na região Meio-Norte do Brasil (Figura 24).

Como produto desse esforço, fungos de grande importância epidemiológica para a cultura foram identificados e foi possível o estabelecimento dos ensaios focados nos alvos levantados. Entre os mais importantes, destacaram-se os gêneros *Fusarium*, *Macrophomina* e *Rhizoctonia*.

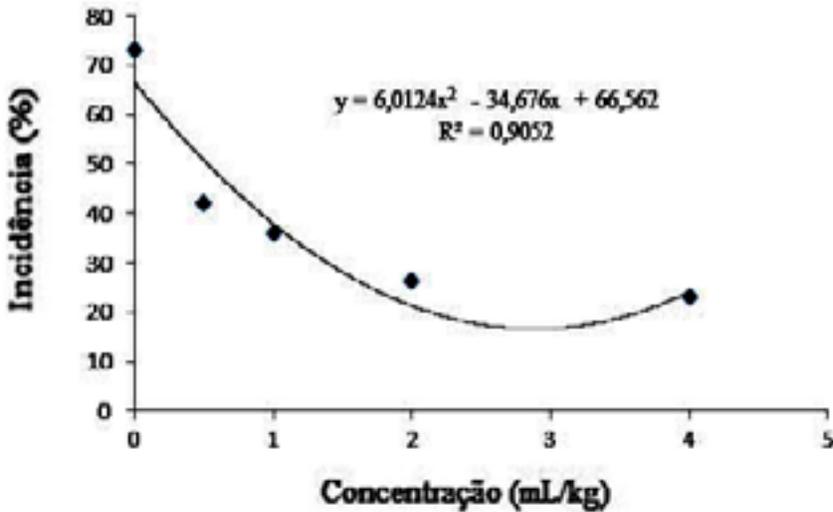


**Figura 24.** Incidência média de microrganismos em sementes de feijão-caupi semeadas na região Meio-Norte do Brasil, submetidas ao TSS em papel de filtro entre os anos de 2016-2018.

A partir desses fungos, agentes, respectivamente, da fusariose, da podridão cinzenta do caule e da rizoctoniose, iniciaram-se os ensaios, utilizando-se óleos essenciais de plantas nativas da região, visando ao controle dessas doenças pelo tratamento de sementes. O emprego dessas substâncias se baseou na ausência de defensivos registrados para a cultura para tratamento de sementes (Brasil, 2003) e por várias indicações da razoável bioatividade dos óleos essenciais contra microrganismos, notadamente os fungos (Santos, 2019). Soma-se a isso a necessidade crescente da inclusão de valores de sustentabilidade nos modernos sistemas de produção, fato que vem estimulando o emprego de produtos alternativos e naturais para o manejo de doenças de plantas. É o caso, por exemplo, do emprego do óleo de *Azadirachta indica* (nim), que se mostrou eficiente contra *Fusarium* sp. associado à semente de feijão-caupi (Silva et al., 2014).

Assim, a partir de 2015, foram iniciadas na Embrapa Meio-Norte as pesquisas visando ao emprego de óleos essenciais de várias espécies nativas do Meio-Norte para o controle de doenças do feijão-caupi (Santos, 2019), bem como no tratamento de sementes (Dias et al., 2019).

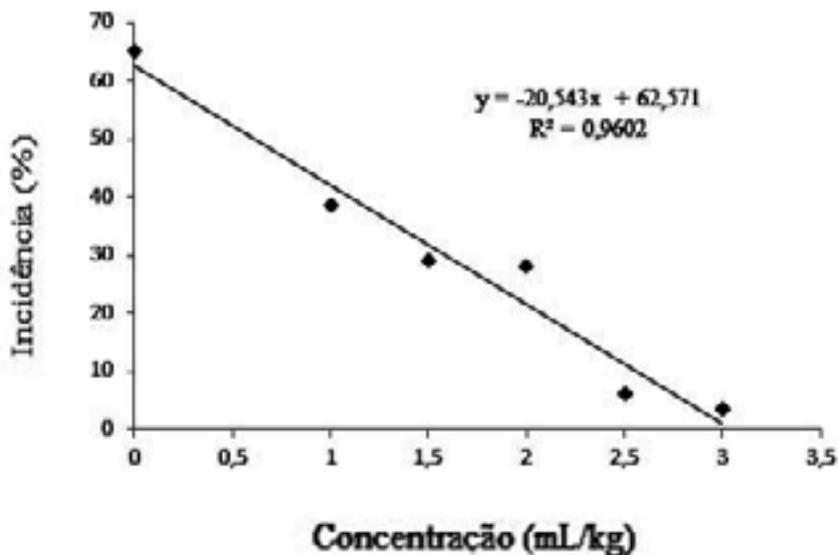
Os resultados, bastante animadores, que ilustram a potencial aplicação dos óleos, encontram-se na Figura 25. Foram usadas diferentes concentrações e chegou-se à conclusão de que o óleo de *Lippia lasiocalycina* é bastante efetivo no controle de *Fusarium* spp. nas sementes, definindo-se que o melhor nível de controle do patógeno é obtido com óleo essencial de *L. lasiocalycina* na concentração situada em torno de 3 mL/kg de semente. Todos os óleos testados apresentam excelente adesão, fácil cobertura e homogênea distribuição sobre as sementes durante o processo de tratamento.



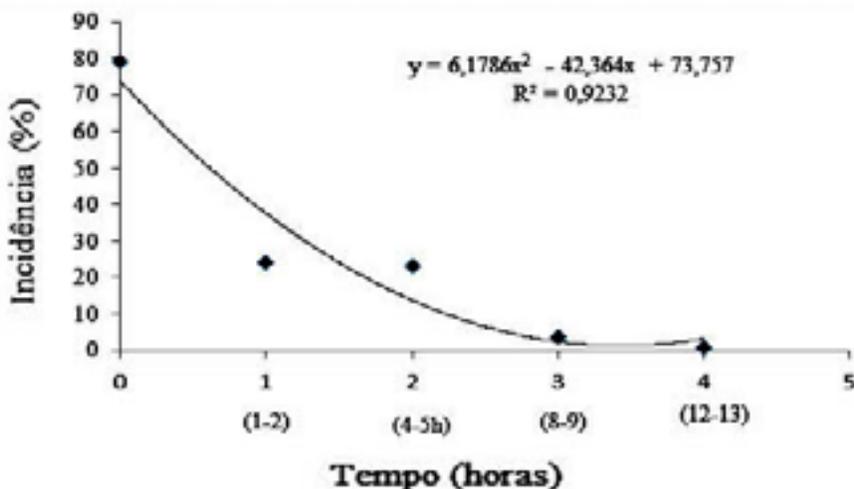
**Figura 25.** Incidência de *Fusarium* spp. em sementes de feijão-caupi cultivar BRS Guariba submetidas a cinco concentrações de óleo essencial de *Lippia lasiocalycina*. Teresina, PI, 2018.

A Figura 26 apresenta outro exemplo de expressivo controle obtido via tratamento de sementes com óleo essencial de *L. sidoides*, atuando eficientemente no mesmo patossistema.

Um aspecto importante relacionado ao tratamento de sementes diz respeito ao tempo de exposição das sementes submetidas ao tratamento com óleo essencial, em função da necessidade de as substâncias voláteis presentes nos óleos essenciais interagirem com as sementes. Tal interação se dá essencialmente via processo de difusão do óleo às estruturas externas e internas das sementes tratadas. A Figura 27 mostra o efeito do tempo de exposição das sementes ao óleo essencial de *L. sidoides* (2,5 mL/kg) no controle de *Fusarium* spp. em sementes de feijão-caupi cultivar BRS Guariba, naturalmente infestado com o fungo e níveis de incidência de aproximadamente 80%. Como se pode observar, os melhores resultados são obtidos quando as sementes, após o tratamento, permanecem em repouso por, pelo menos, 8 horas.



**Figura 26.** Incidência de *Fusarium* spp. em sementes de feijão-caupi cultivar BRS Guariba submetidas a cinco concentrações de óleo essencial de *Lippia sidoides*. Teresina, PI, 2018.

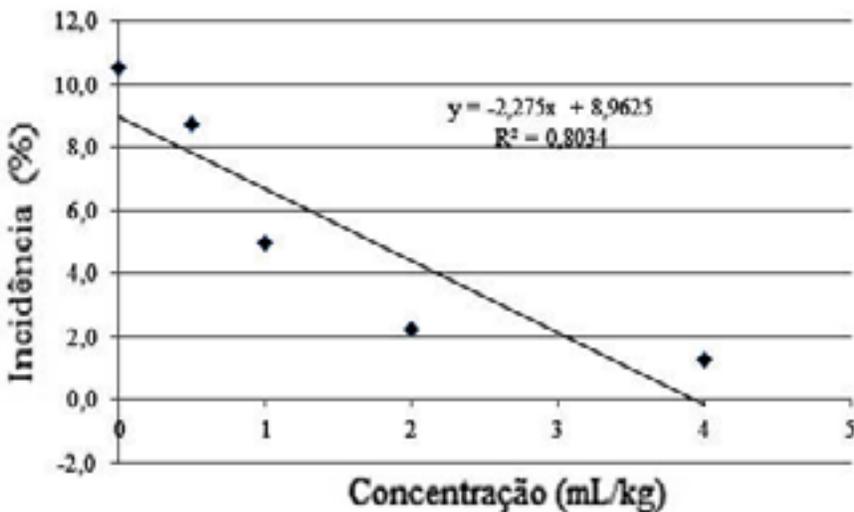


**Figura 27.** Incidência de *Fusarium* spp. em sementes de feijão-caupi cultivar BRS Guariba submetidas a cinco tempos de exposição ao óleo essencial de *Lippia sidoides*. Teresina, PI, 2018.

É importante destacar que a ação do óleo essencial sobre o fungo na semente começa a ser expressa pouco tempo após o início do tratamento. Entre 4-5 horas, por exemplo, verifica-se um decréscimo na incidência de 79% para 23%.

Os valores demonstrados pela regressão indicam que tempos de exposição da semente ao tratamento acima de 8 horas são suficientes para controlar o *Fusarium* spp. nas sementes, o que pode ser extrapolado para outros fitopatógenos.

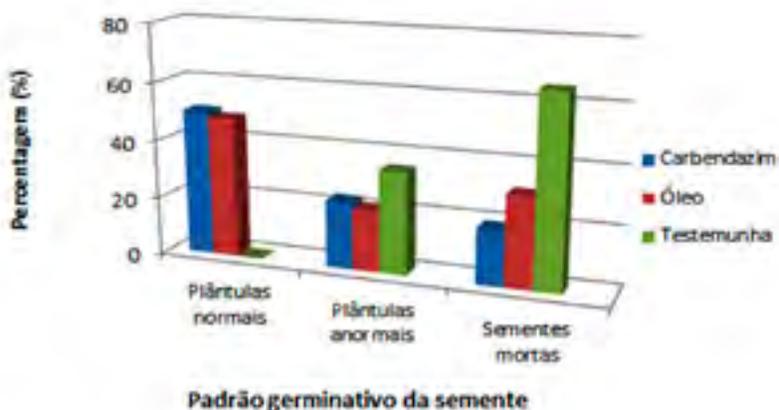
Em relação ao controle de *M. phaseolina*, as respostas obtidas com o uso de óleo essencial de *L. sidoides* (Dias et al., 2019) mostraram-se igualmente promissoras (Figura 28). Destaca-se que o patossistema *M. phaseolina* e feijão-caupi é um dos mais importantes pela sua abrangência territorial, pela sua elevada transmissão por meio das sementes e pelos danos causados à cultura em condições de campo.



**Figura 28.** Incidência de *Macrophomina phaseolina* em sementes de feijão-caupi cultivar Preá submetidas a cinco concentrações de óleo essencial de *Lippia sidoides*. Teresina, PI. 2018.

Todos esses resultados vêm comprovar o potencial dos óleos essenciais no controle de patógenos presentes nas sementes de feijão-caupi e abrem novas perspectivas de alternativas de manejo natural para vários patossistemas relacionados.

Vale reforçar que os trabalhos com óleos essenciais para manejo de doenças em feijão-caupi foram estimulados em razão da carência de alternativas de defensivos registrados para a cultura. As informações acima demonstram claramente sua eficiência. Todavia, visando respaldar essa eficiência, foram realizados testes em que se empregaram sementes com baixa qualidade fisiológica, submetidas às condições inadequadas de armazenamento, as quais, quando postas a germinar mediante tratamento prévio, normalmente apresentaram respostas positivas. Sementes nessas condições foram tratadas experimentalmente com o fungicida carbendazim e com o óleo essencial de *L. sidoides* previamente à realização do teste de germinação. A Figura 29 mostra que o óleo apresentou resposta semelhante ao fungicida, em que as percentagens de plântulas normais foram idênticas em ambos os tratamentos.



**Figura 29.** Percentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas de feijão-caupi cultivar BRS Imponente submetidas ao tratamento de sementes com óleo essencial de *Lippia sidoides* (2 mL/kg) e ao fungicida carbendazim (1 mL/kg). Teresina, PI, 2018.

## Referências

- ATHAYDE SOBRINHO, C. **Patossistema caupi x *Macrophomina phaseolina***: método de detecção em sementes, esporulação e controle do patógeno. 2004. 150 f. Tese (Doutorado em Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; DIAS, L. R. C.; SANTOS, A. R. B.; PAZ FILHO, E. R. da; CARDOSO, M. J.; BASTOS, E. A. **Podridão de raiz e de caule em feijão-caupi em diferentes sistemas de manejo**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2018. 18 p. (Embrapa Meio-Norte. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 116).
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT - Consulta aberta - Pragas - Insetos e doenças**. Brasília, DF, 2003. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 20 out. 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília, DF: MAPA-ACS, 2009. 202 p.
- COUTINHO, W. M.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M.; FERREIRA, D. F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 127-135, 2001.
- DIAS, L. C. R.; SANTOS, A. R. B.; PAZ FILHO, E. R.; SILVA, P. H. S. da; ATHAYDE SOBRINHO, C. Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta) no controle de *Macrophomina phaseolina* em feijão-caupi. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 24, n. 1, 2019. 17 p.
- GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja**: detecção, importância e controle. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 72 p.
- LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. **Proceedings of International Seed Testing Association**, v. 33, n. 3, p. 343- 513, 1968.
- MACHADO, J. da C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS: UFLA: FAEPE, 2000. 138 p.
- MATHUR, S. B.; KONGSDAL, O. **Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi**. Basserdorf: International Seed Testing Association, 2003. 423 p.

SANTOS, A. R. B. **Ação de óleos essenciais no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. em feijão-caupi**. 2019.102 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SILVA, G. C.; SANTOS, C. C.; GOMES, D. P. Incidência de fungos e germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.) tratadas com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 850-855, 2014.

A sanidade de sementes de há muito vem buscando posição de destaque como ciência aplicada em apoio à moderna agricultura, embora na prática sejam poucos os produtores que valorizam os aspectos sanitários quando vão adquirir suas sementes.

Com efeito, muitos dos patógenos importantes que afetam as grandes culturas são eficientemente transmitidos pelas sementes, e são facilmente introduzidos em áreas onde eles inexistiam, representando uma ameaça quase sempre desconsiderada pelo agricultor.

Em relação ao feijão-caupi, espécie cujo cultivo expande-se anualmente para novas fronteiras, o aspecto sanitário de suas sementes torna-se ainda mais importante, exatamente para que os patógenos presentes nessa espécie não venham infestar as áreas, antes utilizadas por outras culturas, fragilizando, assim, os sistemas de cultivo de outras espécies.

Neste contexto, as sementes de feijão-caupi utilizadas no território nacional apresentam padrão sanitário variando de médio a baixo, fato que em si representa um alerta àqueles que buscam adquirir sementes sem considerar tais aspectos.

Este livro, o primeiro a tratar especificamente da sanidade das sementes do feijão-caupi, reúne informações valiosas quando apresenta de forma ilustrada os principais patógenos transmitidos por semente; os métodos de detecção usados; expõe a atual situação da sanidade das sementes usadas nos últimos anos; propõe padrões de qualidade sanitária, além de que disponibiliza alternativas de controle dos referidos patógenos pelo emprego de produtos naturais.

Boa leitura!