

MICROFLORA EM SEMENTES DE FEIJÃO DANIFICADAS POR PENTATOMÍDEOS\*

Microflora in Bean Seeds Damaged by Pentatomids

Dionisio Link\*\*, Ervandil Correa Costa\*\*, Elena Blume\*\*\*  
e Elocy Minussi\*\*

RESUMO

A incidência qualitativa e quantitativa de patógenos endógenos nas sementes de feijão danificadas pelos pentatomídeos *Piezodorus guildinii* e *Nezara viridula* foi estudada em Santa Maria, RS.

A detecção da microflora foi realizada através dos métodos Blotter e BDA, com desinfecção prévia das sementes.

Verificou-se que a redução do poder germinativo das sementes aumentou com a elevação da densidade de infestação dos percevejos. A porcentagem de colônias de *Nematospora* se elevou com o aumento da densidade de *N. viridula* até o nível de infestação de seis percevejos por três plantas. Além de *Nematospora*, constatou-se *Eremothecium* como agente causal da mancha de levedura em sementes de feijão. A ocorrência de *Eremothecium* foi mais acentuada em sementes com dano severo causado pelos percevejos.

**UNITERMOS:** Patógenos de semente, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, *Nematospora*, *Eremothecium*, qualidade de semente, feijão, *Phaseolus vulgaris*.

SUMMARY

A study was conducted in Santa Maria, RS, Brasil, in order to know the types and quantity of endogenous pathogens in seeds of beans (*Phaseolus vulgaris*) damaged by the pentatomids *Piezodorus guildinii* and *Nezara viridula*.

The microflora determination in previously disinfected seeds was done by the Blotter and PDA methods.

A reduction in germination percentage was observed as stink bug infestation levels increased. The percentage of *Nematospora* colonies

\* Parte do projeto: Entomofauna do feijoeiro. Apresentado no X Congresso Brasileiro de Entomologia, Rio de Janeiro, RJ, janeiro/1986.

\*\* Professor Adjunto do Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria. 97.119 - Santa Maria, RS, Brasil.

\*\*\* Engº Agrônomo. Na época, estagiária junto ao Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM com bolsa de Iniciação à Pesquisa do CNPq.

increased with the increase on the number of *N. viridula* up to six insects per three plants. Besides *Nematospora*, *Eremothecium* was observed as a causal agent of yeast spot disease in bean. The occurrence of *Nematospora* was more evident in seeds severely damaged by the stink bugs.

KEY WORDS: Seed pathogens, seed quality, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, *Nematospora*, *Eremothecium*, bean, *Phaseolus vulgaris*.

#### INTRODUÇÃO

O feijão é um alimento essencial na dieta básica da população brasileira, principalmente de baixa renda, uma vez que possui um alto valor nutritivo. Assim sendo, necessita-se aumentar a produtividade deste produto, tornando-o mais acessível à população.

Diversos fatores são responsáveis pela baixa produtividade do feijão, entre os quais a qualidade das sementes. O ataque de pentatomídeos influí grandemente na perda de qualidade das sementes, pois, além de reduzir o poder germinativo das mesmas, transmite-lhes, através do aparelho bucal, fungos responsáveis pela doença chamada mancha de levedura.

No Brasil o primeiro relato de mancha de levedura causada por *Nematospora coryli* em feijão comum foi feito por GALLI et alii (5), embora KRUG (8) tenha relatado a presença de *N. coryli* e *N. gossypii* (*Ashbya gossypii*) em algodoeiro e *N. coryli* em feijão miúdo.

Segundo NOBLE & RICHARDSON (15), as diversas espécies de *Nematospora* são invasoras de sementes picadas por insetos e não patógenos transmitidos por sementes. MENTEN et alii (13), porém, relatam porcentagens de sementes afetadas de 0 a 9%, TAKATSU et alii (17), de 5,3 a 13,2% e, em condições favoráveis, podem atingir até quase 100% (KIMATI & NINOMYA, 7).

COSTA et alii (4) estudaram os danos causados por *Nezara viridula* (L.) em feijoeiro e concluíram que a redução do poder germinativo das sementes colhidas e a incidência de *N. coryli* foram proporcionais ao aumento da densidade de infestação.

MENTEN et alii (14) constataram que sementes com mancha de levedura tiveram redução no peso, na velocidade de emergência e na porcentagem de germinação, além de prejudicar-lhes a aparência. As plântulas também ficaram menores e com menor capacidade de sobrevivência.

O objetivo do presente trabalho foi identificar e quantificar a incidência de fungos endógenos nas sementes danificadas pelo ataque de

---

pentatomídeos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

No presente ensaio testou-se o efeito do ataque de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) e *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) na qualidade da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris*) cv. Rio Tibagi. Para *Piezodorus* foram utilizadas sementes provenientes de plantas infestadas com 0, 2, 4 e 6 percevejos por gaiola com três plantas, durante 7 e 14 dias, na fase de formação do legume; para *Nezara*, sementes provenientes de plantas infestadas com 0, 2, 4, 6 e 8 percevejos, durante 7 dias.

Usou-se, ainda, sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas com infestação natural, colhidas em São Sepé e Santa Maria (RS), com três graus de danos: grãos sadios, grãos com ataque leve e grãos com ataque severo. Também usou-se sementes das cultivares Mouro Grosso e Preto Comum com dois graus de danos: com e sem dano.

O teste padrão de germinação foi realizado segundo as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 3) e, para a detecção da microflora no material estudado, empregou-se, em todos os testes, os métodos "Blotter" e BDA (PESSOA, 16). Nos dois métodos as sementes foram previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1% durante cinco minutos e, após, com água destilada esterilizada. No método "Blotter" foi empregado, como substrato, papel filtro embebido em 50 ppm de 2,4-D (2,4 diclorofenoxyacético), conforme recomendação de HAGBORG et alii (6), com a finalidade de impedir a germinação, facilitando o exame das sementes e a identificação dos organismos presentes.

As placas foram incubadas em Biotronette Mark III Environmental Chamber, à temperatura de 25-30°C durante sete dias.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições, cada repetição constituída de uma placa com dez sementes.

A incidência da microflora fúngica nas sementes foi determinada segundo BARNETT & HUNTER (1) e NOBLE & RICHARDSON (15) e classificada a nível de gênero.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microflora presente nas sementes de feijão provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *P. guildinii* e determinada pelos métodos BDA e "Blotter" encontra-se nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Microflora em sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *Piezodorus guildinii* e determinada pelo cultivo em BDA.

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de colônias de fungos e bactérias*						
		ASP	ALT	FUS	HOR	NEM	RHI	BACT
0	0	18**	2	2	-	12	-	6
2	7	18	-	-	-	14	1	-
4	7	5	-	2	-	-	-	-
6	7	-	-	-	-	30	-	-
2	14	-	-	-	-	2	-	2
4	14	-	-	-	-	32	-	8
6	14	-	-	-	-	6	-	2

\* ASP = *Aspergillus*; ALT = *Alternaria*; FUS = *Fusarium*; HOR = *Hormodendron*; NEM = *Nematospora*; RHI = *Rhizopus*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

TABELA 2. Microflora em sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *Piezodorus guildinii* e determinada pelo método "Blotter".

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de colônias de fungos e bactérias*							
		ASP	ALT	HOR	NEM	PEN	PHO	RHI	BACT
0	0	2**	-	-	-	2	2	2	52
2	7	28	-	-	4	-	-	-	62
4	7	4	-	-	2	-	-	-	64
6	7	12	-	-	4	-	-	10	60
2	14	2	8	-	6	-	2	2	50
4	14	22	2	2	8	2	2	-	42
6	14	6	6	-	8	-	-	-	16

\* ASP = *Aspergillus*; ALT = *Alternaria*; HOR = *Hormodendron*; NEM = *Nematospora*; PEN = *Penicillium*; PHO = *Phoma*; RHI = *Rhizopus*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

A ocorrência de dois ou mais gêneros de fungos numa única semente foi frequente.

A incidência de *Nematospora*, *Aspergillus* e bacterioses foi frequente nos dois métodos. A maior incidência de organismos associados às sementes de feijão foi evidenciada pelo método "Blotter", confirmado os trabalhos de MENEZES & MOHAN (12), que o teste "Blotter" é o mais eficiente e adequado para a análise da qualidade sanitária das sementes de feijão.

O efeito do ataque de *Piezodorus guildinii* na porcentagem de germinação das sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, encontra-se na Tabela 3.

TABELA 3. Porcentagem de germinação de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de adultos de *Piezodorus guildinii* durante 7 e 14 dias.

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de germinação
0	0	83,0*
2	7	68,5
4	7	51,5
6	7	54,0
2	14	54,5
4	14	60,5
6	14	48,0

\* Média de quatro repetições com 100 sementes cada.

Os resultados da Tabela 3 mostram um decréscimo no poder germinativo em relação à testemunha e este declínio foi mais acentuado em sementes de plantas infestadas com seis percevejos durante 14 dias.

A redução do poder germinativo do feijoeiro, causada pelo ataque de *P. guildinii*, durante sete dias, foi maior com o aumento do número de insetos/gaiola (Figura 1), até um máximo de 4 espécimens/gaiola, indicando que a partir de certa densidade de competição entre os indivíduos, reduzindo a atividade fitófaga, diferente do que foi observado

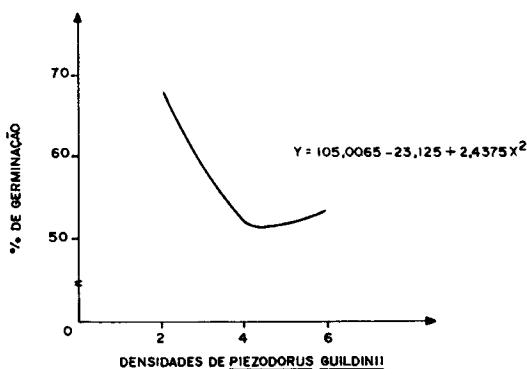


FIGURA 1. Efeito de diferentes densidades de *Piezodorus guildinii*, durante sete dias, sobre a germinação de feijão cv. Rio Tibagi.

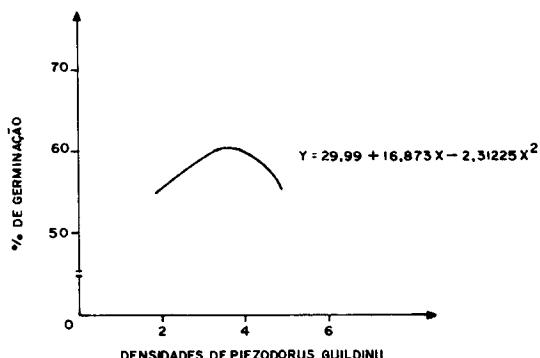


FIGURA 2. Efeito de diferentes densidades de *Piezodorus guildinii*, durante 14 dias, sobre a germinação de feijão cv. Rio Tibagi.

com *N. viridula* em feijoeiro por COSTA et alii (4).

A medida que foi aumentado o tempo de exposição para\* 14 dias (Figura 2), o efeito do ataque de adultos de *P. guildinii* sobre o poder germinativo foi mais pronunciado, provavelmente devido ao maior tempo de exposição ao ataque deste pentatomídeo e à ação nociva de fungos e bactérias que penetraram no interior das sementes (Tabela 2) e que são prejudiciais às mesmas.

A microflora existente nas sementes de feijão provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *N. viridula* e determinada pelos métodos BDA e "Blotter" encontra-se nas Tabelas 4 e 5.

A porcentagem de colônias de *Nematospora* aumentou com o aumento da densidade de percevejos até o nível de infestação de seis percevejos por três plantas. O mesmo número de percevejos, conforme Tabela 6, também causou a maior redução na germinação, similar ao verificado por COSTA et alii (4) em infestação com esta mesma espécie de percevejo em feijão.

TABELA 4. Microflora de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *Nezara viridula* e determinada pelo cultivo em BDA.

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de colônias de fungos e bactérias*					
		ASP	NEM	NIG	PEN	RHI	BACT
0	0	4**	-	-	-	-	-
2	7	26	4	-	-	20	-
4	7	20	20	20	-	-	12
6	7	54	14	-	2	-	2
8	7	74	-	-	-	-	6

\* ASP = *Alternaria*; NEM = *Nematospora*; NIG = *Nigrospora*; PEN = *Penicillium*; RHI = *Rhizopus*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

TABELA 5. Microflora de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de *Nezara viridula* e determinada pelo método "Blotter".

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de colônias de fungos e bactérias*					
		ASP	NEM	PEN	PHO	RHI	BACT
0	0	2**	2	42	-	4	16
2	7	2	10	50	-	-	68
4	7	4	16	22	2	-	62
6	7	2	24	26	-	6	42
8	7	2	8	18	-	4	58

\* ASP = *Aspergillus*; NEM = *Nematospora*; PEN = *Penicillium*; PHO = *Phoma*; RHI = *Rhizopus*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

TABELA 6. Porcentagem de germinação de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas com diferentes densidades de adultos de *Nezara viridula* por 7 dias.

Densidade de percevejos	Dias de infestação	% de germinação
0	7	89,5
2	7	83,0
4	7	80,0
6	7	65,0
8	7	68,0

À medida que foi aumentada a densidade de infestação de adultos de *N. viridula* (Figura 3) ocorreu redução do poder germinativo, similar ao verificado com esta espécie de pentatomídeo por COSTA et alii (4) em feijoeiro; LINK & PANICHI (10), em trigo; TODD & TURNIPSEED (18), McPHERSON et alii (11) e LINK et alii (9), em soja.

De acordo com os resultados das Tabelas 7 e 8, foi detectada a ocorrência da levedura *Eremotheclium*, responsável também pela mancha de levedura em feijão (BATRA, 2; MENTEN et alii, 13, 14). A ocorrência de

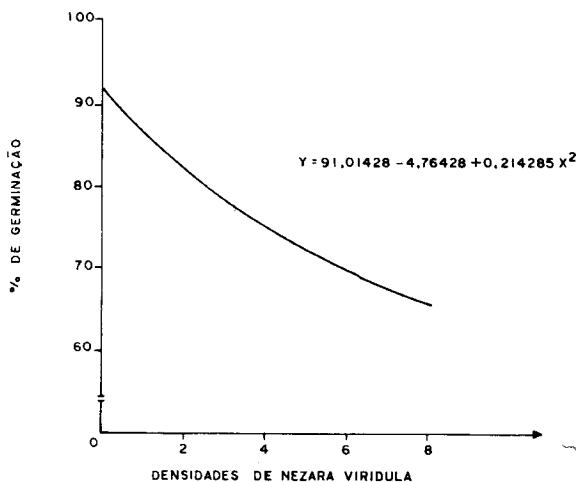


FIGURA 3. Redução do poder germinativo associado a diferentes densidades de *Nezara viridula* em feijão, cv. Rio Tibagi.

TABELA 7. Microflora de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas naturalmente com percevejos em diferentes locais e determinada pelo cultivo em BDA.

Local	Grau de ataque	% de colônias de fungos e bactérias*				
		ERE	ASP	RHI	FUS	BACT
Santa Maria	grãos sadios	26**	6	2	-	2
	ataque leve	10	62	-	-	24
	ataque severo	34	64	6	-	32
São Sepé	grãos sadios	2	8	-	-	34
	ataque leve	12	12	-	4	10
	ataque severo	34	6	-	6	12

\* ERE = *Eremothecium*; ASP = *Aspergillus*; RHI = *Rhizopus*; FUS = *Fusarium*; BACT = bactérioses.

\*\* Média de cinco repetições.

TABELA 8. Microflora de sementes de feijão, cv. Rio Tibagi, provenientes de plantas infestadas naturalmente com percevejos em diferentes locais e determinada pelo método "Blotter".

Local	Grau de Ataque	% de colônias de fungos e bactérias*					
		ERE	ASP	RHI	FUS	PEN	BACT
Santa Maria	grãos sadios	4**	82	2	-	78	-
	ataque leve	4	72	-	-	80	-
	ataque severo	26	92	-	4	52	12
São Sepé	grãos sadios	4	84	4	-	54	-
	ataque leve	8	86	-	-	44	-
	ataque severo	52	52	-	-	22	-

\* ERE = *Eremothecium*; ASP = *Aspergillus*; RHI = *Rhizopus*; FUS = *Fusarium*; PEN = *Penicillium*; BACT = bactérioses.

\*\* Média de cinco repetições.

*Eremothecium* foi mais acentuada em sementes com ataque severo de percevejos. Entre grãos sadios e com ataque leve, praticamente não houve diferença na manifestação da levedura. Isso, provavelmente, se deve ao fato de ter sido feita a seleção visual das sementes para os diferentes tipos de danos e podendo a cor do tegumento das sementes ter sido a responsável pelo mascaramento na visualização das lesões. Entre os fungos patogênicos ao feijão encontrou-se apenas o gênero *Fusarium*, com baixo índice de freqüência.

Na determinação da microflora de sementes de feijão, cultivares Mouro Grosso e Preto Comum, com e sem dano de percevejos (Tabelas 9 e 10), a ocorrência de *Eremothecium* foi mais acentuada nas sementes com dano.

Observou-se, também, que na cultivar Mouro Grosso a diferença entre a porcentagem de colônias nos dois tratamentos (com e sem dano) foi mais acentuada do que na cultivar Preto Comum, talvez pela cor do tegumento da cultivar Mouro Grosso ter facilitado a seleção visual das sementes com dano e sem dano de percevejos.

TABELA 9. Microflora de sementes de feijão, cultivares Mouro Grosso e Preto Comum, com e sem dano de percevejos, determinada pelo cultivo em BDA.

Cultivar		% de colônias de fungos e bactérias*				
		ERE	ASP	RHI	FUS	BACT
Mouro Grosso	sem dano	8**	12	-	-	12
	com dano	42	2	22	-	-
Preto Comum	sem dano	14	-	4	2	20
	com dano	20	4	-	-	22

\* ERE = *Eremotheicum*; ASP = *Aspergillus*; RHI = *Rhizopus*; FUS = *Fusarium*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

TABELA 10. Microflora de sementes de feijão, cultivares Mouro Grosso e Preto Comum, com e sem dano de percevejos, determinada pelo método "Blotter"

Cultivar		% de colônias de fungos e bactérias*					
		ERE	ASP	RHI	PEN	FUS	BACT
Mouro Grosso	sem dano	10**	28	4	-	-	-
	com dano	44	48	6	-	-	-
Preto Comum	sem dano	4	78	-	6	-	2
	com dano	26	94	8	-	-	-

\* ERE = *Eremotheicum*; ASP = *Aspergillus*; RHI = *Rhizopus*; PEN = *Penicillium*; FUS = *Fusarium*; BACT = bacterioses.

\*\* Média de cinco repetições.

## CONCLUSÕES

1- Foram encontrados dois agentes causais da mancha de levedura em sementes de feijão: *Nematospora* e *Eremotheicum*.

2- A máxima redução do poder germinativo ocorreu nas sementes oriundas de plantas infestadas com seis percevejos de *Piezodorus guildinii*, durante 14 dias.

3- A porcentagem de colônias de *Nematospora* aumentou com o aumento da densidade de *Nezara viridula* até o nível de infestação de seis percevejos por gaiola com três plantas. O mesmo número de percevejos causou a maior redução no poder germinativo.

4- A ocorrência de *Eremothecium* foi mais acentuado em sementes com ataque severo e com dano de percevejos.

#### BIBLIOGRAFIA CITADA

1. BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3rd ed. Minnesota, Burgess Publ. Co., 1972. 241 p.
2. BATRA, L.R. *Nematosporaceae (Hemiascomycetidae): Taxonomy, Pathogenicity, Distribution and Vector Relations*. Washington, U.S. Dept. Agric., 1973. 71 p. (Technical Bull. 1469)
3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Escritório de Produção Vegetal. Portaria nº 532. Regras para Análise de Sementes. Brasília, Min. Agricultura, 05 ago. 1976. 188 p.
4. COSTA, E.C.; LINK, D. & MARIO, J.L. Danos causados por *Nezara viridula* L. em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 10(4):335-41, 1980.
5. GALLI, F.; NINOMIYA, K. & CONCEIÇÃO, F.D. *Nematospora coryli Peglion*, agente causal de mancha em feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L. Olericultura, 3:1-4, 1963.
6. HAGBORG, W.A.F.; WARNER, G.M. & PHILLIPS, N.A. Use of 2,4 D as an inhibitor of germination in routine examinations of beans for seed-borne infection. Science, 111:91-5, 1950.
7. KIMATI, H. & NINOMIYA, K. Algumas plantas hospedeiras de *Nematospora Peglion*. Olericultura, 4:107-9, 1964.
8. KRUG, H.P. A podridão interna dos capulhos do algodoeiro no Estado de São Paulo. Campinas, Inst. Agron., 1937. 19 p. (Bol. Técn. 23)
9. LINK, D.; FEDERIZZI, L.C. & RUEDELL, J. Efeito do ataque de pentatomídeos na qualidade de sementes de soja. Rev. Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 12(2-3):93-102, 1982.
10. LINK, D. & PANICHI, J.A.V. Efeito do ataque de *Nezara viridula* L. (Hemiptera, Pentatomidae) em trigo. Rev. Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 9(3):265-71, 1979.
11. MCPHERSON, R.M.; NEWSON, L.D. & FARTHING, B.F. Evaluation of four stink bug species from three genera affecting soybean yield and quality in Louisiana. J. Econ. Entomol., 72(2):188-94, 1979.
12. MENEZES, J.R. & MOHAN, S.K. Comparação dos métodos de papel filtro (Blotter test) e rolo de papel toalha para análise da qualidade das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia, 1982. Anais... Goiânia, EMBRAPA, CNPaf, 1982. p. 340-1.
13. MENTEN, J.O.M.; GIACOMELLI, W.J.; TULMAN NETO, A. & ANDO, A. *Eremothecium cymbalariae* Bonzi, novo agente causal de mancha de levadura em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: REUNIÃO ANUAL DA SOC. BRASIL. PARA O PROGRESSO DA CIÉNCIA, 31, For-

- 
- taleza, 1979. Resumos.... São Paulo, SBPC, 1979. p. 9. (Resumo 22-A1)
- 14- MENTEN, J.O.M.; GIACOMELLI, W.J.; TULMAN NETO, A. & ANDO, A. Efeito da mancha de levedura na qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*). *Fitopatologia Brasileira*, 4:493-501, 1979.
15. NOBLE, M. & RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed diseases. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Inst., 1968. 191 p. (Phytopathological Papers n. 8)
16. PESSOA, M.N.G. Levantamento de microorganismos associados às sementes de feijão, procedentes da Região de Irecê, Estado da Bahia. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1, Goiânia. Anais... Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1982. p. 273-4.
17. TAKATSU, A.; CLAUDIO, N.F. & GOMES, I.M.M. Ocorrência de mancha de levedura do feijoeiro no Distrito Federal. Rev. Soc. Brasil. Fitopatologia, 9:22, 1976.
18. TODD, J.W. & TURNIPSEED, S.G. Effect of southern green stink bug damage on yield and quality of soybeans. J. Econ. Entomol., 67 (3):421-6, 1974.