

Influência da Assepsia na Germinação e Sanidade de Sementes de Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*) de Feira e Supermercado Submetidas à Diferentes Temperaturas¹

THALISSON JOHANN MICHELON DE OLIVEIRA

Engenheiro agrônomo da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, Brasil

Pesquisador na área de biologia vegetal do grupo de estudos EBPS-UFRA

email: thalissonmichelon@gmail.com

orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5410-732X>

PÂMELA EMANUELLE SOUSA E SILVA

Graduanda em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

EMILYN PINHEIRO DA ROCHA

Graduanda em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

WALTER AFONSO PINHO CASTRO

Graduando em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

ANDRÉ WENDER AZEVEDO RIBEIRO

Graduando em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

EDUARDA CAVALCANTE AMORIM

Graduanda em agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

JAMIL AMORIM DE OLIVEIRA JUNIOR

Engenheiro ambiental da Universidade Estadual do Pará (UEPA), Belém, Pará, Brasil.

ELAINE PATRICIA ZANDONADI HABER

Pós-graduada em Gestão de Recursos pela Universidade Federal do Pará (UFPA)

Belém, Pará, Brasil.

MAICON SILVA FARIAS

Mestre em Gestão Ambiental pela Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, Pará, Brasil.

ADELIA BENEDITA COELHO DOS SANTOS

Docente de Fitopatologia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, Brasil.

Pesquisadora na área de fitossanidade e inspeção vegetal.

Resumo

*Este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação e a incidência de fungos no feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) e identificar os patógenos associados às sementes. As sementes acondicionadas em galpões de supermercados estão sujeitas a pragas, enquanto que as em feiras estão expostas a suscetível mudanças de temperatura e umidade. Utilizou-se 400 sementes do feijão-caupi, sendo 200 sementes adquiridas em supermercado e 200 sementes adquiridas em feira para realizar um experimento pelo método Blotter Test, para serem feitas com e sem assepsia, avaliando-as em temperatura ambiente e com temperatura constante à 25°C (BOD). As sementes foram acondicionadas em caixas gerbox e foram umidificadas diariamente. Foi perceptível que a porcentagem de germinação foi maior nas sementes de supermercado em temperatura ambiente, já menor em sementes de feira em temperatura controlada. As sementes de feira com e sem assepsia*

¹ INFLUENCE OF ASEPSY ON THE GERMINATION AND HEALTH OF VIGNA UNGUICULATA SEEDS FROM FAIR AND SUPERMARKET SUBMITTED TO DIFFERENT TEMPERATURES

Thalisson Johann Michelin de Oliveira, Pâmela Emanuelle Sousa e Silva, Emilyn Pinheiro da Rocha, Walter Afonso Pinho Castro, André Wender Azevedo Ribeiro, Eduarda Cavalcante Amorim, Jamil Amorim de Oliveira Junior, Elaine Patricia Zandonadi Haber, Maicon Silva Farias, Adelia Benedita Coelho dos Santos– ***Influência da Assepsia na Germinação e Sanidade de Sementes de Feijão-Caupi (Vigna unguiculata) de Feira e Supermercado Submetidas à Diferentes Temperaturas***

colocadas em temperatura constante foram ótimas para o armazenamento com a finalidade de consumo. As sementes de supermercado com e sem assepsia colocadas em temperatura ambiente é uma ótima via de comercialização com finalidade de plantio. A incidência e a variedade de fungos foram maiores nas sementes que ficaram acondicionadas em temperatura ambiente, visto que a exposição em temperatura constante e com assepsia diminuiu a incidência de todos os fungos avaliados. No caso do feijão embalado pode-se dizer que o controle de temperatura e embalagens adequadas tem uma excelente forma de controle, restando a necessidade de pesquisas a respeito da qualidade das sementes a serem submetidas a este tratamento.

Palavras-chave: Feijão-caupi. Blotter Test. Fungos. Sanidade. BOD.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, principalmente para a região norte, a leguminosa *Vigna unguiculata*, popularmente conhecida como feijão-caupi é uma das principais fontes alimentícias e também de proteínas para a população de baixa renda, além de ser uma ótima fixadora de nitrogênio no solo (NECHET & HALFELD-VIEIRA, 2007). Ademais, esta espécie é uma ótima fonte de ferro, carboidrato, proteína, vitamina e fibras (REIS, 2018).

A espécie *V. unguiculata* pertence à família Fabaceae e subfamília Papilinoideae, da ordem Fabales, do clado das Rosids e sub-clado Fabids, do grupo das Eudicotiledôneas, do grande grupo das Angiospermas que é pertencente ao Reino Plantae, conforme previsto no Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV (BYNG, 2016).

Há um problema quanto ao armazenamento do feijão, visto que em galpões de supermercados, eles estão sujeitos a todo tipo de sujeira e pragas (SILVA *et al*, 2014). Já na feira, a semente está exposta ao ar livre, ficando suscetível as mudanças de temperatura e umidade, comprometendo, assim, sua qualidade. Além do mais, algumas embalagens podem não permitir a troca de vapor d'água entre o ambiente e a semente, o que influencia na umidade na mesma, podendo assim facilitar a proliferação de fungos, por isso fica claro que a temperatura e a umidade relativa do ar podem influenciar na qualidade da semente.

A presença de água pode ser essencial para a contaminação da semente, aumentando as chances de formação dos micronichos neste ambiente. A maioria dos fungos se desenvolvem melhor em temperatura moderada entre 20°C e 30°C (POESTER *et al*, 2015). Ainda assim, os fungos do gênero *Aspergillus* se reproduzem em temperaturas acima de 37°C. A incidência do aparecimento de agentes patogênicos em sementes de feijão, levando em consideração o tempo, a temperatura e os efeitos químicos relacionados ao surgimento dos patógenos, foram estudo dos autores Carvalho *et al* (2011). Concomitantemente, sua sugestão para a principal forma de controle dos agentes foi o uso de outros agentes (chamados antagonistas), visando o controle mais rápido e a prevenção da perda da semente.

A pesquisa sobre a patologia de sementes de feijão é necessária para contribuir com os conhecimentos já publicados e direcionar novos estudos a partir dos dados encontrados sobre esta leguminosa de especial valor cultural, alimentício e econômico para o país. O presente estudo teve como objetivo levantar dados sobre a germinação e sanidade de sementes, identificando patógenos e avaliando a incidência de fungos nas sementes do *Vigna unguiculata* analisando a qualidade em diferentes

condições de armazenamento, as quais foram adquiridas em feira e de redes de supermercados, ambos localizadas na cidade metropolitana de Belém - PA.

2. METODOLOGIA

As sementes foram adquiridas na feira de São Brás e em uma rede de supermercados, ambos localizados na Região Metropolitana de Belém – PA, como pode-se observar na figura 1. O experimento foi realizado no laboratório do Grupo de Estudos em Fitopatologia (Gephyto) da Universidade Federal Rural da Amazônia - Campus Belém. Essa análise ocorreu por meio do método Blotter Test, no qual houve a utilização de 400 sementes de feijão-caupi, as quais 200 sementes foram adquiridas em supermercado e 200 sementes adquiridas na feira, que foram divididas igualmente para serem feitas com assepsia e sem assepsia, avaliando-as em temperatura ambiente e com temperatura constante em 25°C (BOD).



Figura 1 – Mapa dos locais de obtenção das sementes.

Fonte: Os autores, 2022.

As sementes foram acondicionadas em 16 caixas gerbox (11cm x 11cm x 4cm), em cada caixa foram colocadas 25 sementes, sendo 8 gerbox com sementes não desinfetadas e os outros 8 gerbox as sementes foram previamente desinfetadas dentro da câmara de fluxo laminar com álcool 70% e hipoclorito de sódio 2% por 3 minutos, contendo papel filtro esterilizado umedecidos com água destiladas esterilizada com volume equivalente a 2,5 vezes do papel seco.

As sementes ficaram encubadas durante 7 dias, a cada dia foi analisado a germinação e a manifestação de fungos e umidificado o papel filtro duas vezes com uma pipeta de 1 mL de água destilada esterilizada, ao decorrer dos 7 dias as sementes foram observadas sob o microscópio estereoscópio para a detecção e contagem de fungos associadas às sementes, com a utilização de corante azul na amostra do fungo retirado do feijão e colocado na lâmina e coberta pela lamínula. A identificação dos gêneros foi feita com bases na morfologia a partir do preparo de lâminas e visualização de estruturas fúngicas sob o microscópio óptico.

Foi analisado a porcentagem de germinação (número de sementes germinadas / número total de sementes x 100) de cada gerbox e após calculado, os dados foram divididos em suas respectivas condições. Mesmo realizado para a porcentagem de frequência (número de isolados de um gênero/número total de fungos isolados x 100) e após calculado, os dados foram divididos em suas respectivas condições de análise.

O estudo teve a utilização dos princípios básicos da estatística, que tem base na aleatoriedade, repetição e blocos. A análise estatística das variáveis e geração dos gráficos foi realizada com através do software R Studio versão 1.3.1093 utilizando a biblioteca ExpDes.pt e a função “fat2.dic”, o qual já realiza análise de normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk, igualmente fazendo a ANOVA e posteriormente teste Post-Hoc de Tukey, para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Pode-se notar que na condição do feijão de feira com e sem assepsia apresentou baixa germinação. Já nos feijões de supermercado teve alta germinação na temperatura ambiente, quando se faz a alocação das sementes em BOD há uma redução significativa na germinação, como pode ser observado na figura 2. Nenhum dos feijões de feira em BOD possuíam radículas em sua parte externa, que configura uma boa resposta ao condicionamento que tem finalidade de conservação da semente para consumo sem que a mesma germine.

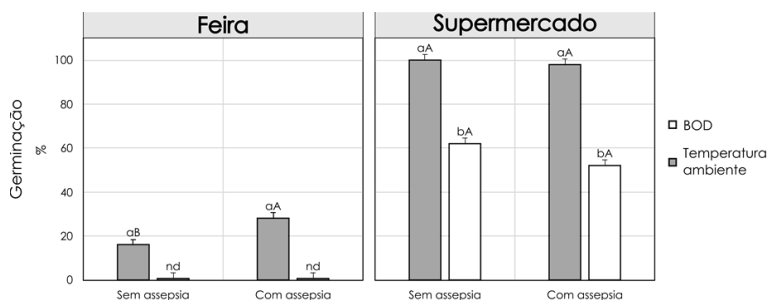


Figura 2 – Germinação de sementes de *Vigna unguiculata* de diferentes condições de armazenamento, com e sem assepsia. Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre os locais de armazenamento ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos de assepsia ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. nd: não detectado.

Fonte: Os autores, 2022.

As condições de supermercado que foram submetidos em temperatura controlada, favoreceu porcentagem de germinação próxima dos 60%. Conforme Neto (2003), a temperatura constante de 25°C interfere de forma significativa para a germinação.

Consoante Balardin *et al* (1992), trabalhando com sementes do feijão, detectaram que o baixo poder germinativo da semente está relacionado aos patógenos de armazenamento, influenciando na baixa qualidade fisiológica da semente. Isso foi

comprovado na produção de sementes feita na região de Concórdia, no qual foi produzida por agricultores e obtiveram a mesma infecção por fungos que as sementes produzidas por sistema cooperativo, no entanto, resultou em uma porcentagem maior de patógenos de armazenamento.

Pode-se notar que a assepsia diminuiu o surgimento do fungo *Aspergillus flavus* (figura 3A), mas houve o aparecimento de outras espécies fúngicas, como o surgimento de fungos *Aspergillus niger* e *Rhizopus* sp (figura 4A e 4B). Para Cherobini *et al* (2008), avaliando um teste de germinação em sementes de cedro com lotes pertencentes ao Rio Grande do Sul, verificou que a baixa porcentagem de germinação tem relação direta com a presença de patógenos, como *Aspergillus* sp., fungo de armazenamento que causa apodrecimento das sementes impossibilitando-as de germinar.

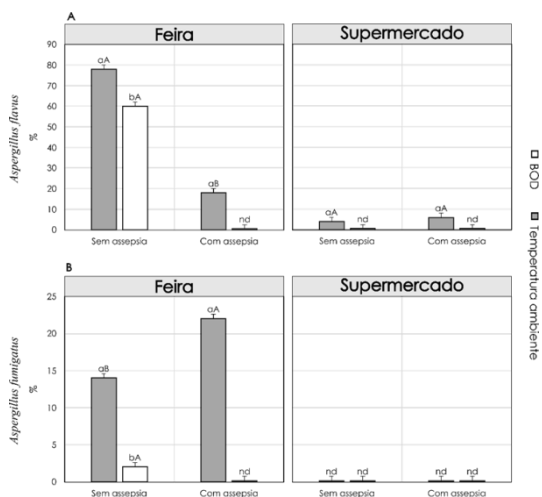


Figura 3 – Incidência dos fungos *Aspergillus flavus* (A) e *Aspergillus fumigatus* (B) em sementes de *Vigna unguiculata* de diferentes condições de armazenamento, com e sem assepsia. Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre os locais de armazenamento ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos de assepsia ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. nd: não detectado.

Fonte: Os autores, 2022.

Foram levantados resultados da conservação das sementes de feijão em temperaturas constantes, os quais Francisco *et al* (2006) analisou quais agentes patogênicos se desenvolveram em maior quantidade nas sementes, e o gênero *Aspergillus* spp. foi predominante em todo o estudo, sendo que teve sua maior incidência na umidade em torno de 30°. Além disso, esse estudo teve a consideração de que quanto maior o grau de umidade na semente, maior a ocorrência de gêneros fúngicos.

De acordo com Paiva *et al* (2016) o fungo do gênero *Rhizopus* sp. tem uma probabilidade maior de se propagar em um local de armazenamento pelo teor de umidade do mesmo ou o estado físico da semente, pode acontecer também de o fungo

infectar a semente após a colheita e apodrecê-la internamente. Ademais, se a semente infectada permanecer no solo por um determinado período de tempo, o fungo se desenvolverá e a semente morrerá, impedindo-a de germinar.

O *Aspergillus fumigatus* é o fungo presente por todo o mundo, sendo este transportado pelo ar (LATGÉ, 2001). Estes fungos são responsáveis pela reciclagem de carbono e nitrogênio, *A. fumigatus* é um dos fungos decompositores presente em todos os lugares transportados via aérea. Humanos e animais inalam constantemente numerosos conídios (esporos) desse fungo. Os esporos são normalmente eliminados no hospedeiro com a imunidade ineficiente por mecanismos imunes inatos, síndromes clínicas incomuns, são as únicas infecções observadas nesses hospedeiros. Assim, o mesmo foi considerado durante anos como um patógeno fraco para a agricultura brasileira e é responsável principalmente pela reciclagem de nitrogênio das plantas.

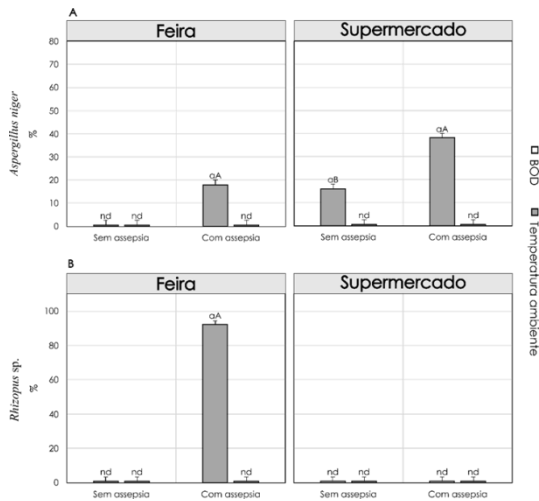


Figura 4 – Incidência dos fungos *Aspergillus niger* (A) e *Rhizopus sp.* (B) em sementes de *Vigna unguiculata* de diferentes condições de armazenamento, com e sem assepsia. Letras minúsculas indicam diferenças estatísticas entre os locais de armazenamento ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. Letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos de assepsia ($p < 0,05$) com base no teste de Tukey. nd: não detectado.

Fonte: Os autores, 2022.

O mesmo procedimento asséptico usado nos feijões de feira, foi feito nos feijões de supermercado, sendo também colocados em temperatura ambiente, onde percebe-se que nas sementes de supermercado com assepsia houve o aumento de fungos *A. niger*. O ambiente interfere na quantidade de água das sementes, visto que algumas embalagens podem não permitir a troca de vapor d'água entre o ambiente e a semente, o que influencia o teor de umidade, podendo assim facilitar a proliferação de fungos. Então a temperatura e a umidade relativa do ar influenciam na qualidade da semente (SILVA *et al.*, 2014). Ressalta-se também a importância do processo de deterioração de algumas

sementes que foram armazenadas, pois é um fator imprescindível, e quando acontece elas ficam mais sucessíveis a perda de vigor, logo, influenciando a germinação da mesma, podendo perder a capacidade de gerar uma planta normal.

Consoante Paun *et al* (2016), o *Aspergillus niger* é uma ferramenta utilizada na biotecnologia, responsável por produzir grande parte do ácido cítrico do planeta. De acordo com esse estudo, o *A. niger* é um dos principais contaminantes de rações e alimentos no mundo.

Os feijões em que foram feitas a assepsia e colocadas em BOD, não tiveram nenhuma espécie fúngica em sua superfície, não foram afetados. Os demais tratamentos já possuíam fungos. Em relação as sementes de feira expostas a temperatura constante foi uma importante forma de controle para os fungos *A. fumigatus*, *A. niger* e *Rhizopus* sp. e em menor grau para os fungos *A. flavus*. Na figura 5, se encontra as fotos microscópicas dos fungos. No caso do feijão embalado pode-se dizer que o controle de temperatura e embalagens adequadas tem uma excelente forma de controle, restando a necessidade de pesquisas a respeito da qualidade das sementes a serem submetidas a este tratamento.

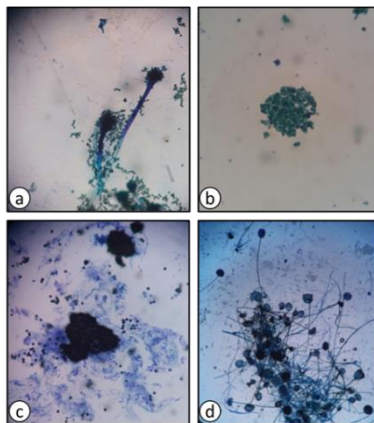


Figura 5 – Foto microscópicas dos fungos *Aspergillus flavus* (a), *Aspergillus fumigatus* (b) *Aspergillus niger* (c) e *Rhizopus* sp. (d) em sementes de *Vigna unguiculata* de diferentes condições de armazenamento, com e sem assepsia.

Fonte: Os autores, 2022.

Segundo as pesquisas de Poester *et al* (2015), por via aérea é a forma em que mais se ocorre a infecção pelo gênero *Aspergillus*, entretanto, o fungo é capaz de se disseminar através da água. A presença da água pode ser essencial para a contaminação do fungo, aumentando as chances de formação dos micronichos neste ambiente. A maioria dos fungos se desenvolve melhor em temperatura moderada entre 20°C e 30°C. Ainda assim, a característica do gênero *Aspergillus* que permite que os microrganismos se reproduzam em temperaturas acima de 37°C é única, e é uma das causas da maior quantidade de organismos encontrada no presente estudo. O crescimento da matéria orgânica propicia a sua proliferação na água, sendo detectados pela incubação a 37°C.

Em culturas agrícolas, a infecção pelas micotoxinas do *Aspergillus flavus* é uma pauta grave para a saúde humana, visto que é muito alarmante haver uma porcentagem muito alta do fungo nas sementes de feijão de feira sem assepsia, tanto temperatura ambiente, como BOD, pois esse fungo produz mais especificamente a aflatoxina, que é uma causadora de câncer. Invasões de *A. flavus* em culturas são sustentadas pela produção e proliferação dos conídios (esporos) no ar, que podem permanecer adormecidos por extensos períodos de tempo, até que condições favoráveis permitam o desenvolvimento e a produção de mais flagelos. Diversos fatores ambientais que afetam o crescimento de fungos, como o estado nutricional, temperatura, a reprodução sexuada ou assexuada, pH, além disso, estão envolvidos na regulação de processos de desenvolvimento, incluindo a estresse e luz (BARONIO, 2016).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Feijões de feira sem assepsia, quando submetida à temperatura constante é uma ótima via para o armazenamento com a finalidade de comercialização para o consumo, visto que as mesmas não apresentaram nenhuma emergência radicular. Já os de supermercado com assepsia, quando submetidos à temperatura ambiente foram uma ótima via de comercialização com finalidade de germinação, pois o mesmo apresentou porcentagens elevadas de emergências radiculares.

As espécies e gêneros fúngicos foram maiores na variedade de feira, comparado ao de supermercado. O armazenamento e manejo das sementes adquiridas em feira possui maior incidência no aparecimento de fungos comparado ao de supermercado.

A exposição em temperatura constante diminuiu a incidência de fungos *A. fumigatus* e *A. flavus* nas sementes de feira. No caso do feijão embalado pode-se dizer que o controle de temperatura e embalagens adequadas tem uma excelente forma de controle, restando a necessidade de pesquisas a respeito da qualidade das sementes a serem submetidas a este tratamento, pois não teve incidência de fungos *A. niger* e *A. flavus* nas sementes.

REFERÊNCIAS

- BALARDIN, Ricardo Silveiro; PIVA, Celso Antonio Dal; OGLIARI, Paulo José. Sanidades de sementes de feijão no Estado de Santa Catarina – resultados preliminares. **Ciência Rural**. v. 22, n. 2, p. 151-155, 1992.
- BARONIO *et al.* *Aspergillus flavus* produtor de aflatoxinas. **Revista Conversatio**. v. 1, n. 1, p. 168-182, 2016.
- BYNG, James W. *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**. p. 1-20, 2016.
- CARVALHO, Daniel Diego Costa *et al.* Biocontrole de patógenos em sementes e promoção do crescimento de plântulas de feijão comum por *trichoderma harzianum*. **Pesq. agropec. bras.** v. 46, n. 8, p. 822-828, 2011.
- CHEROBINI, Edicléia A. I. *et al.* Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**. v. 18, n. 1, p. 65-73, 2008.
- FRANCISCO, Fabiana Gonçalves; USBERTI, Roberto. Sanidade de sementes de feijão armazenadas a umidade e temperatura constantes. **Scientia Agricola**. v. 65, n. 6, p. 613-619, 2008.
- LATGÉ, Jean-Paul. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. **Science direct**. v. 9, n. 8, p. 382-389, 2001.
- NECHET, K.L. & HALFELD-VIEIRA, B.A. Reação de cultivares de feijão-caupi à mela (*Rhizoctonia solani*) em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**. v. 32, n. 5, p. 424-428, 2007.

Thalisson Johann Michelin de Oliveira, Pâmela Emanuelle Sousa e Silva, Emilyn Pinheiro da Rocha, Walter Afonso Pinho Castro, André Wender Azevedo Ribeiro, Eduarda Cavalcante Amorim, Jamil Amorim de Oliveira Junior, Elaine Patricia Zandonadi Haber, Maicon Silva Farias, Adelia Benedita Coelho dos Santos– ***Influência da Assepsia na Germinação e Sanidade de Sementes de Feijão-Caupi (Vigna unguiculata) de Feira e Supermercado Submetidas à Diferentes Temperaturas***

NETO, João C. Araújo *et al.* Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasil. Bot.** v. 26, n. 2, p. 249-256, 2003.

PAIVA, C. T. C; SILVA, J. B. da; DAPONT, E. C; ALVES, C. Z; CARVALHO, M. A. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. **Revista de Ciências Agroambientais.** Alta Floresta, v. 14, n. 1, p. 53-59, 2016.

PAUN, Linda *et al.* Na inducible tool for random mutagenesis in *Aspergillus niger* based on the transposon *Vader*. **Microbiol Biotechnol.** 2016.

POESTER, Vanice Rodrigues *et al.* Isolamento e identificação de fungos do gênero *Aspergillus spp.* de água utilizada na reabilitação de pinguins-de-magalhães. **Scielo.** v.16, n.4, p. 567-573, 2015.

REIS, Fabricio Caldeira. **Levantamento da entomofauna e micobita de grãos de *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* L. tratados pelo processo de irradiação.** Dissertação (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2018.

SILVA, M. M. *et al.* Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão-comum produzidas no norte de Minas Gerais. **Revista Agro.** v. 8, n. 1, p. 97-103, 2014.