

# Compatibilidade do tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*

Manoel Luiz da Silva Neto<sup>(1)</sup>, Oscar José Smiderle<sup>(2)</sup>, Krisle da Silva<sup>(2)</sup>, Paulo Ivan Fernandes Júnior<sup>(3)</sup>, Gustavo Ribeiro Xavier<sup>(4)</sup> e Jerri Édson Zilli<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Roraima, Avenida Ene Garcez, nº 2.413, CEP 69304-000 Boa Vista, RR. E-mail: lmanoel@yahoo.com.br

<sup>(2)</sup>Embrapa Roraima, BR 174, Km 08, CEP 69301-970 Distrito Industrial, Boa Vista, RR. E-mail: oscar.smiderle@embrapa.br, krisle.silva@embrapa.br

<sup>(3)</sup>Embrapa Semiárido, BR 428, Km 152, CEP 56302-970 Zona Rural, Petrolina, PE. E-mail: paulo.ivan@embrapa.br

<sup>(4)</sup>Embrapa Agrobiologia, BR 465, Km 07, CEP 23891-000 Seropédica, RJ. E-mail: gustavo.xavier@embrapa.br, jerri.zilli@embrapa.br

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes com fungicidas e a inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* em feijão-caupi. Em laboratório, avaliou-se a sobrevivência de células nas sementes da cultivar BRS Guariba, tratadas ou não com fungicidas (fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram e carboxin + thiram) e inoculadas ou não com *Bradyrhizobium* (estirpes UFLA3-84, BR 3267, INPA3-11B e BR 3262). Em casa de vegetação, conduziu-se experimento em vasos de Leonard, com os mesmos tratamentos. Foram avaliados: massa de matéria seca da parte aérea, além de número e massa de nódulos 25 dias após a emergência das plantas. No campo, dois experimentos foram conduzidos, tendo-se utilizado a estirpe BR 3262, com aplicação de fungicidas nas sementes: um em área de primeiro cultivo e outro em área cultivada anteriormente com culturas anuais. Avaliaram-se, aos 35 dias, o número de nódulos, a massa de nódulos secos e a massa de matéria seca da parte aérea, e, na colheita, a produtividade de grãos. Os fungicidas não tiveram efeito significativo sobre a sobrevivência de *Bradyrhizobium*, a nodulação das plantas e o rendimento de grãos, que, em média, foi superior a 1.200 kg ha<sup>-1</sup>. O tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas é compatível com a inoculação das estirpes avaliadas.

**Termos para indexação:** *Bradyrhizobium*, *Vigna unguiculata*, fixação biológica de nitrogênio, nodulação.

## Compatibility of the cowpea seed treatment with fungicides and inoculation with *Bradyrhizobium* strains

**Abstract** – The objective of this work was to evaluate the compatibility of seed treatment with fungicides and *Bradyrhizobium* strains inoculation for cowpea. Cell survival on seeds of cultivar BRS Guariba treated or not with fungicides (fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram, and carboxin + thiram) and inoculated or not with *Bradyrhizobium* (strains UFLA3-84, BR 3267, INPA3-11B, and BR 3262) were evaluated in laboratory. Another experiment was carried out in greenhouse, in Leonard jars, using the same treatments. The following were evaluated: shoot dry matter weight, besides number and dry matter weight of nodules 25 days after plant emergence. Two experiments were performed in the field with the strain BR 3262, with fungicides on the seeds: one in a first cultivation area and the other in an area previously cultivated with annual crops. Nodule number, nodule dry weight, and shoot dry matter weight were evaluated at 35 days, and grain yield at harvest. Fungicides did not have significant effect on *Bradyrhizobium* survival, plant nodulation, and grain yield, which was, in average, higher than 1,200 kg ha<sup>-1</sup>. Cowpea seed treatment with fungicides is compatible with the inoculation of the evaluated strains.

**Index terms:** *Bradyrhizobium*, *Vigna unguiculata*, biological nitrogen fixation, nodulation.

### Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) é uma das fontes alimentares mais importantes e estratégicas para as regiões tropicais e subtropicais do mundo. Atualmente, a área cultivada está em torno de 11,3 milhões de hectares. O continente africano é o principal produtor, e o Brasil, o terceiro maior, com

cerca de 1,5 milhões de hectares (Filgueiras et al., 2009). No País, o cultivo ocorre, principalmente, nas regiões Norte e Nordeste, onde é uma das principais alternativas sociais e econômicas para as populações rurais. Essa cultura também tem se tornado atrativa para o agronegócio, com cultivos em grandes lavouras, sobretudo na safrinha, após o cultivo de soja ou milho (Cravo et al., 2009).

Uma característica importante da cultura é sua capacidade de estabelecer simbiose com bactérias do grupo rizóbio, que realizam a fixação biológica de nitrogênio (FBN), o que possibilita a obtenção de produtividades superiores a 2.000 kg ha<sup>-1</sup> sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados, em diversas regiões do Brasil, como o Nordeste (Martins et al., 2003; Fernandes Júnior et al., 2012), o Norte (Melo & Zilli, 2009) e o Sudeste (Lacerda et al., 2004). Atualmente, quatro estirpes são autorizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a inoculação do feijão-caupi: UFLA3-84 (SEMIA 6461), BR 3267 (SEMIA 6462), INPA3-11B (SEMIA 6463) e BR 3262 (SEMIA 6464) (Brasil, 2011).

Os cultivos de feijão-caupi, especialmente em grandes áreas, passaram recentemente a utilizar, além da inoculação com bactérias do grupo rizóbio, tratamento das sementes com fungicidas. Esta prática, já corriqueira para a cultura da soja, visa à uniformidade dos plantios e à obtenção de densidade adequada de plantas na lavoura (Pereira et al., 2010a). Entretanto, por não existirem fungicidas registrados no MAPA para o tratamento de sementes de feijão-caupi, os produtores têm adotado produtos recomendados para a cultura da soja, principalmente aqueles à base de carbendazim, carboxin, fludioxonil e thiram.

Embora os benefícios dos fungicidas aplicados nas sementes sejam notórios para as culturas, muitos deles podem apresentar efeito negativo sobre bactérias não alvo e processos microbiológicos, como a FBN (Campo et al., 2009). Estudos com a cultura da soja e diversos ingredientes ativos recomendados para tratamento de sementes mostraram que, em determinadas circunstâncias, os fungicidas podem reduzir a nodulação de plantas em mais de 50% e a produtividade de grãos em mais de 20% (Campo et al., 2009; Zilli et al., 2009b). Para o feijão-caupi, no entanto, ainda não há informações sobre o efeito dos fungicidas aplicados em tratamento de sementes, sobre as bactérias presentes nos inoculantes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes com fungicidas e a inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* em feijão-caupi.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido em três etapas, seguindo os protocolos oficiais do Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2011). Em laboratório, foram avaliadas as estirpes de *Bradyrhizobium* indicadas para o feijão-caupi: UFLA3-84 (SEMIA 6461), BR 3267 (SEMIA 6462), INPA3-11B (SEMIA 6463) e BR 3262 (SEMIA 6464), e os fungicidas listados na Tabela 1. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos inteiramente casualizados, com três repetições, em arranjo fatorial com quatro estirpes de *Bradyrhizobium*, quatro fungicidas e um controle sem fungicida. Amostras de 100 g de sementes da cultivar BRS Guariba de feijão-caupi foram desinfestadas superficialmente (3 min em etanol 70%, 5 min em peróxido de hidrogênio e dez lavagens sucessivas com água destilada esterilizada) (Vincent, 1970) e dispostas sobre papel absorvente para secagem superficial. Em seguida, frações de 100 sementes foram separadas em copos de poliestireno, as quais constituíram as unidades experimentais.

As sementes foram tratadas com os fungicidas de acordo com as recomendações dos fabricantes, com a aplicação das doses apresentadas na Tabela 1, seguida de homogeneização. Em seguida, realizou-se a inoculação com inoculantes turfosos, tendo-se utilizado uma concentração de cerca de 600 mil unidades formadoras de colônia (UFC) por semente. Os inoculantes foram preparados no próprio laboratório, a partir de culturas de bactérias crescidas em meio YM líquido (Vincent, 1970).

Para avaliar a recuperação das bactérias, sementes do feijão-caupi de cada parcela experimental foram transferidas, após 2 horas da inoculação, para erlenmeyers contendo 100 mL de solução autoclavada de NaCl a 0,85% e Tween 80 a 0,01%. Essa suspensão foi, então, agitada por 20 min a 250 rpm. A partir das suspensões formadas, foram realizadas diluições sucessivas até 10<sup>-7</sup>, tendo-se retirado alíquotas de

**Tabela 1.** Nome comercial do fungicida, ingredientes ativos (i.a.), concentração e dose de i.a. utilizadas no tratamento das sementes de feijão-caupi.

Fungicida	Ingrediente ativo	Concentração do i.a. (g L <sup>-1</sup> )	Dose nas sementes <sup>(1)</sup> (mL kg <sup>-1</sup> )
Maxim	Fludioxonil	25	2
Derosal 500sc	Carbendazim	500	1
Derosal Plus	Carbendazim + thiram	150 + 350	2
Vitavax-thiram	Carboxin + thiram	200 + 200	3

<sup>(1)</sup>Recomendação para a cultura da soja.

0,1 mL das diluições  $10^{-5}$  e  $10^{-7}$  para inoculação em placa de Petri contendo o meio de cultura YMA, com vermelho congo (Vicent, 1970); foram utilizadas três repetições. Após a incubação por oito dias a  $28^{\circ}\text{C}$ , realizou-se a contagem das colônias formadas, tendo-se calculado a concentração de UFC para cada tratamento.

Em janeiro e fevereiro de 2010, conduziu-se um ensaio em condições de casa de vegetação, em arranjo fatorial (6x4) completo, com as fontes de nitrogênio (quatro estirpes recomendadas para o feijão-caupi mais um tratamento nitrogenado e um controle absoluto sem nitrogênio e sem inoculação) e os fungicidas (quatro fungicidas e o controle sem fungicida). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições. O preparo das sementes, o tratamento com os fungicidas e a inoculação foram realizados conforme descrito anteriormente.

O plantio foi realizado em vasos de Leonard contendo substrato – areia e vermiculita (2:1 v v<sup>-1</sup>) – autoclavado (Vincent, 1970). A semeadura foi realizada 2 horas após a inoculação dos tratamentos, com quatro sementes por vaso. Após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, tendo-se mantido duas plantas por vaso. Semanalmente, forneceu-se 300 mL de solução nutritiva por vaso (Norris & T'Mannetje, 1964) e água destilada esterilizada quando necessário. Para o tratamento nitrogenado, aplicaram-se 200 mg de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  por vaso, por semana. A coleta foi realizada 25 dias após a emergência das plantas (DAE), tendo-se avaliado a massa de matéria seca da parte aérea, além do número e da massa de nódulos secos. A secagem dos nódulos e da parte aérea foi realizada em estufa, a  $65^{\circ}\text{C}$ , por cinco dias.

Entre julho e setembro de 2010, foram conduzidos dois experimentos em condição de campo, em área de Cerrado, no Campo Experimental Água Boa, da Embrapa Roraima, em Boa Vista, RR ( $60^{\circ}39'54''\text{W}$  e  $02^{\circ}15'00''\text{N}$ ). Um dos experimentos foi implantado em

área de primeiro cultivo, que havia sido aberta cerca de 90 dias antes do plantio, quando recebeu  $1.500 \text{ kg ha}^{-1}$  de calcário dolomítico (PRNT 80%),  $500 \text{ kg ha}^{-1}$  de superfosfato simples e  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de adubo formulado contendo micronutrientes (FTE BR-12). O outro experimento foi implantado em área cultivada por vários anos com milho, soja e feijão-caupi. Os dados de fertilidade dos solos e a precipitação pluvial do período experimental estão apresentados na Tabela 2.

Os experimentos foram implantados de acordo com as recomendações para a cultura, tendo-se utilizado parcelas de  $4,5 \times 5,0 \text{ m}$ , com dez linhas de plantio e área útil de  $6 \text{ m}^2$ . A adubação de plantio de ambos os experimentos consistiu de  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , na forma de superfosfato simples, e de  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  na forma de cloreto de potássio. Os fertilizantes foram distribuídos com semeadura mecânica nas linhas de plantio.

Os experimentos foram conduzidos em arranjo fatorial  $2 \times 5 + 1$ , com quatro repetições, em delineamento de blocos ao acaso. Os fatores considerados foram: inoculação com a estirpe BR 3262 e tratamento sem inoculação; quatro fungicidas (Tabela 1) e controle sem fungicidas; e tratamento adicional com aplicação de N mineral ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N, na forma de ureia), parcelada 50% no plantio e 50% em cobertura, aos 25 dias da emergência. A estirpe BR 3262 foi selecionada pelos resultados obtidos em casa de vegetação, em relação à compatibilidade aos fungicidas, e por já ter sido avaliada, nessa cultura, nas condições de Roraima.

Para cada tratamento, 500 g de sementes de feijão-caupi (cultivar BRS Guariba) foram dispostos em sacos de polietileno, onde receberam aplicação de 2 mL de solução açucarada 10%, aplicação dos fungicidas na dosagem recomendada para a cultura da soja (Tabela 1) e posterior inoculação de cerca de 600 mil UFC por semente, por meio de inoculante em veículo turfoso. A semeadura foi realizada após a inoculação das sementes, com a distribuição manual de oito a dez sementes por metro.

**Tabela 2.** Atributos químicos, textura do solo e precipitação pluvial no Campo Experimental Água Boa da Embrapa Roraima, no Município de Boa Vista, RR<sup>(1)</sup>.

Áreas	Atributos químicos							Textura			Precipitação		
	pH H <sub>2</sub> O	Al	K	Ca	Mg	MO	P	Areia	Silte	Argila	Jul.	Ago.	Set.
	----- (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----						(g dm <sup>-3</sup> )	----- (g kg <sup>-1</sup> ) -----			----- (mm) -----		
Primeiro cultivo	5,4	0,0	0,03	0,9	0,30	10,8	26,2	840	10	150	375,3	308,5	200,0
Cultivada	5,6	0,0	0,08	1,4	0,29	11,7	38,1	800	30	170			

<sup>(1)</sup>Análises de acordo Claessen (1997).

As variáveis avaliadas nos experimentos foram: número de nódulos, massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea, aos 35 DAE, e a produtividade de grãos na colheita, tendo-se considerado umidade de 13%.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, a 5% de probabilidade, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ou pelo teste t de Student, com uso do programa Sisvar v.5.3 (Ufla). Os dados de campo foram submetidos a duas análises de variância: uma considerou o arranjo fatorial sem o tratamento com nitrogênio, e a outra desconsiderou o arranjo fatorial e considerou todos os tratamentos independentes.

## Resultados e Discussão

A recuperação de células de rizóbios das sementes de feijão-caupi foi da ordem de  $4,7$  a  $5,3 \times 10^5$  UFC por semente, para todos os tratamentos, e não foram observadas diferenças entre as estirpes inoculantes. Portanto, quando aplicadas cerca de  $6,0 \times 10^5$  células de rizóbios por semente, a recuperação de células foi aproximadamente 20% menor que a dose aplicada, independentemente da estirpe e do tratamento com fungicida.

Na média geral, não houve efeito dos ingredientes ativos (i.a.) dos fungicidas sobre a concentração de células recuperadas de nenhuma das estirpes avaliadas em laboratório (Figura 1), com exceção do fludioxonil, que proporcionou maior recuperação de células por sementes, comparativamente ao controle. Este resultado indica que os fungicidas não apresentaram toxicidade às células dos rizóbios, diferentemente do que ocorre com algumas das bactérias recomendadas para a cultura da soja (Bueno et al., 2003). Trabalhos com essa cultura, no Brasil, no entanto, mostram que fungicidas à base de thiram, carbendazim e carboxin + carbendazim reduzem, em cerca de 10%, a multiplicação de *Bradyrhizobium*, em meio de cultivo, mas tendem a não afetar a nodulação das plantas em casa de vegetação (Bueno et al., 2003; Pereira et al., 2010b).

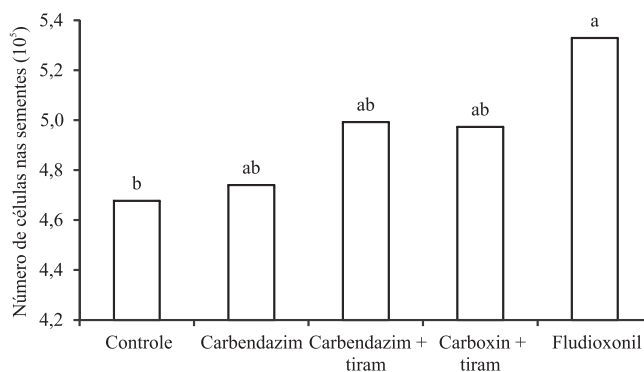
Os efeitos dos fungicidas sobre as bactérias que compõem inoculantes são variáveis, e dependem da estirpe e não necessariamente da espécie bacteriana. Dessa forma, para o thiram, por exemplo, já foi verificado tanto efeito deletério quanto inócuo a

estirpes de *B. japonicum* (Andrés et al., 1998; Zilli et al., 2009b). No entanto, a ausência de toxicidade dos fungicidas, em laboratório, às estirpes atualmente recomendadas para o feijão-caupi difere dos resultados mais comuns para a cultura da soja.

No experimento conduzido em casa de vegetação, não houve diferença no número de nódulos produzidos pelas estirpes avaliadas, e a média geral variou entre 58 e 73 por planta (Tabela 3). Contudo, constatou-se maior massa de nódulos no tratamento com a estirpe BR 3267 do que no tratamento com a UFLA3-84, que não diferiu das demais estirpes. Em relação à presença dos fungicidas, não foi observada redução no número nem na massa de nódulos. Tampouco houve efeito significativo da interação entre os fatores, para essas variáveis.

Número de nódulos superior a 15 e massa de nódulos superior a 100 mg por planta têm sido considerados como suficientes para garantir o desenvolvimento adequado de plantas de soja, feijão-comum e mesmo feijão-caupi (Hungria et al., 2007; Cardoso et al., 2009; Melo & Zilli, 2009). Isso indica que os dados de nodulação obtidos estão de acordo com os de laboratório, onde não houve efeito negativo dos fungicidas sobre a sobrevivência e a capacidade de nodulação das estirpes BR 3262, BR 3267, INPA3-11B e UFLA3-84.

Ao se considerar apenas os tratamentos sem a aplicação de fungicidas, a massa de matéria seca da



**Figura 1.** Número de células de rizóbio recuperadas das sementes de feijão-caupi após 2 horas do tratamento com fungicidas e da inoculação com rizóbios. O número de células compreende a média entre as quatro estirpes inoculantes (BR 3262, BR 3267, INPA3-11B e UFLA3-84). Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



parte aérea foi maior para o tratamento nitrogenado, seguido dos tratamentos inoculados, que foram estatisticamente iguais, e do controle sem inoculação e sem nitrogênio, que foi inferior a todos os tratamentos (Tabela 3). Isso indica que, na ausência de fungicidas, todas as estirpes teriam o mesmo potencial para a FBN. No entanto, como houve interação significativa entre as estirpes e os fungicidas, a produção de matéria seca variou conforme o fungicida aplicado, embora não tenha havido efeito sobre a massa e o número de nódulos das diferentes estirpes, o que sugere a atuação de outro mecanismo de ação dos fungicidas sobre o acúmulo de massa seca das plantas.

Nos tratamentos nitrogenados, observou-se que, na presença dos fungicidas com carbendazim na formulação, houve restrição significativa ao desenvolvimento das plantas, da ordem de 40%, comparativamente aos tratamentos sem fungicidas (Tabela 3). O fungicida carbendazim apresenta modo de atuação sistêmica e pode interferir negativamente

no desenvolvimento e no acúmulo de N em plantas de fumo que tenham recebido a aplicação foliar do fungicida (Garcia et al., 2002).

Nos experimentos de campo, constatou-se que, mesmo no tratamento não inoculado e sem fungicida, houve a formação de, pelo menos, 13 nódulos por planta, tanto na área já cultivada quanto na área de primeiro cultivo (Tabela 4), o que indica que havia uma população de rizóbios estabelecida em ambas as áreas. Contudo, apesar da alta população de rizóbios no solo, a estirpe BR 3262, utilizada no inoculante, promoveu incremento significativo do número de nódulos, na ordem de 60%, na área de primeiro cultivo, mas não na área já cultivada (Tabelas 4 e 5). Esta estirpe já havia sido indicada como eficiente na formação de nódulos para os solos de cerrado de Roraima (Melo & Zilli, 2009).

Para a massa de nódulos, entretanto, não foram observados aumentos significativos da nodulação, em razão da inoculação, em nenhum dos plantios, e a massa nodular média foi de cerca de 100 mg por planta, na

**Tabela 3.** Número de nódulos, massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão-caupi, de acordo com a inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* em sementes de feijão-caupi tratadas com fungicidas, sob adubação nitrogenada ou não, no experimento de casa de vegetação<sup>(1)</sup>.

Estirpe	Carbendazim + thiram	Carbendazim	Carboxin + thiram	Fludioxonil	Sem fungicida	Média
Número de nódulos por planta						
BR 3262	81Aa	56Aa	86Aa	65Aa	76Aa	73A
BR 3267	77Aa	82Aa	79Aa	46Aa	62Aa	69A
INPA3-11B	65Aa	73Aa	83Aa	52Aa	57Aa	66A
UFLA3-84	41Aa	63Aa	81Aa	41Aa	63Aa	58A
Nitrogenado <sup>(2)</sup>	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0B
Controle <sup>(3)</sup>	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0B
CV (%)	30,45					
Massa de nódulos secos (mg por planta)						
BR 3262	320Aa	290Aa	310Aa	250Aa	280Aa	290AB
BR 3267	400Aa	250Aa	390Aa	250Aa	340Aa	326A
INPA3-11B	270Aa	310Aa	320Aa	250Aa	270Aa	284AB
UFLA3-84	270Aa	160Aa	260Aa	240Aa	280Aa	242B
Nitrogenado	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0C
Controle	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0Ab	0C
CV (%)	40,52					
Massa de matéria seca da parte aérea (g por planta)						
BR 3262	2,6Aa	2,6Aa	2,9Ba	2,5ABa	2,3Ba	2,6AB
BR 3267	2,4ABab	2,2ABab	2,7Ba	1,8BCb	2,6Bab	2,3BC
INPA3-11B	1,6BCb	2,0ABab	2,6Ba	1,6BCb	2,1Bab	1,9CD
UFLA3-84	1,7ABCa	1,6BCa	2,1Ba	1,3Ca	2,2Ba	1,8D
Nitrogenado	1,8Abc	1,5BCc	4,5Aa	3,1Ab	3,9Aab	2,9A
Controle	0,9Ca	0,9Ca	1,1Ca	1,4Ca	0,8Ca	1,0E
CV (%)	19,04					

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, para cada variável, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Média geral comparada apenas na coluna. <sup>(2)</sup>Tratamento nitrogenado, aplicação de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia, parcelada 50% no plantio e 50% em cobertura aos 25 dias da emergência. <sup>(3)</sup>Controle, não inoculado e sem adição de nitrogênio.

área de primeiro cultivo, e acima de 200 mg na área já cultivada, ambas consideradas adequadas para suprir a necessidade de N da planta (Cardoso et al., 2009; Melo & Zilli, 2009).

Não foi verificado efeito dos fungicidas na nodulação, nos tratamentos não inoculados, em nenhuma das áreas, o que indica que não houve interferência sobre a população de rizóbios estabelecida no solo. Porém, quando os tratamentos receberam inoculantes, observou-se que o número de nódulos diminuiu significativamente na presença de fludioxonil e de carbendazim, na área de primeiro cultivo, sem efeito na massa de nódulos (Tabela 4). Para o carbendazim, efeitos negativos foram relatados para estirpes utilizadas em soja (Campo et al., 2009). Entretanto, deve-se considerar que, no presente trabalho, o número de nódulos foi de, pelo menos, 15 por planta, o que é uma nodulação satisfatória. Cabe ainda ressaltar que a massa de nódulos, que não apresentou diferença entre os fungicidas, e apresenta maior correlação com a FBN do que o número de nódulos por planta (Cardoso et al., 2009).

Na área de primeiro cultivo, a inoculação com a estirpe BR 3262 contribuiu, de forma significativa, para a produção de biomassa no tratamento sem fungicida (Tabela 4), o que confirma que esta estirpe é eficiente neste tipo de solo (Melo & Zilli, 2009). De forma

contrária, na área com vários cultivos anteriores, não houve contribuição significativa (Tabela 5), o que pode indicar que a população de rizóbios estabelecida no solo e as condições de fertilidade deste (Tabela 2) tenham favorecido o desenvolvimento das plantas (Uchôa et al., 2009).

Não houve efeito dos fungicidas na produção de matéria seca, em nenhuma das áreas, para os tratamentos inoculados, o que indica que a aplicação dos fungicidas foi compatível com a inoculação com a estirpe BR 3262. Essa tendência também ocorreu para os tratamentos não inoculados, exceto o tratamento com fludioxonil na área já cultivada, que causou redução significativa da biomassa, em comparação ao controle sem fungicida (Tabela 5). Isso evidencia que, em algumas situações, este fungicida poderia interferir no desenvolvimento das plantas do feijão-caupi noduladas espontaneamente por bactérias estabelecidas no solo; porém, este efeito é anulado pela inoculação.

Na colheita, obtiveram-se produtividades médias superiores a 1.500 kg ha<sup>-1</sup> na área de primeiro cultivo. O tratamento nitrogenado chegou a produzir mais de 1.700 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto, na área já cultivada, a produtividade foi de cerca de 1.200 kg ha<sup>-1</sup> (Figura 2 A e B). Para a área de primeiro cultivo, esta produtividade pode ser considerada alta, mas, no caso da área já cultivada, ficou abaixo do esperado,

**Tabela 4.** Número de nódulos, massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão-caupi, em sementes tratadas com fungicidas e que receberam inoculação da BR 3262, no experimento realizado em área de primeiro cultivo<sup>(1)</sup>.

Tratamento	Carbendazim + thiram	Carbendazim	Carboxin + thiram	Fludioxonil	Sem fungicida
Número de nódulos					
Inoculado	25Aab	19Ab	25Aab	15Ab	35Aa
Controle	25Aa	25Aa	23Aa	26Aa	13Ba
CV (%)	47,60				
Massa de nódulos secos (mg por planta)					
Inoculado	120Aa	80Aa	80Aa	90Aa	94Aa
Controle	150Aa	90Aa	120Aa	80Aa	86Aa
CV (%)	57,20				
Massa de matéria seca da parte aérea (g por planta)					
Inoculado	3,29Aa	2,29Ab	3,15Aab	3,05Aab	3,68Aab
Controle	2,13Ab	2,83Aab	3,07Aa	2,35Aab	2,26Bab
CV (%)	34,96				

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, para uma mesma variável, não diferem pelo teste t, a 5% de probabilidade.

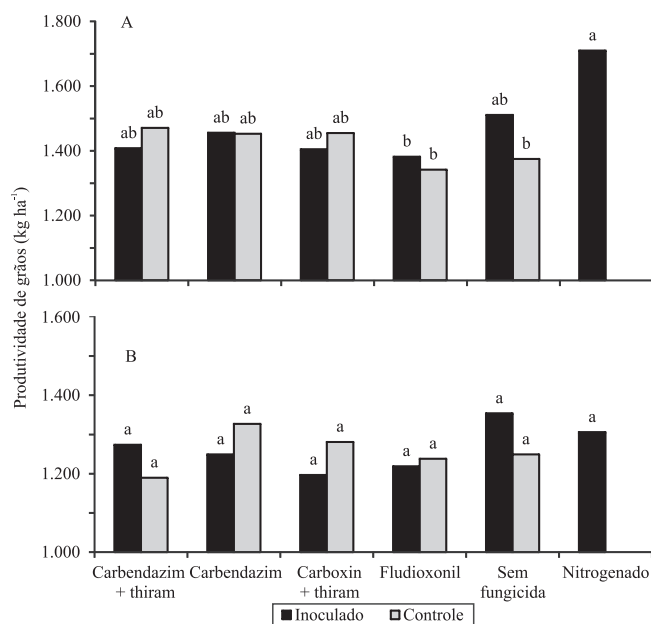
**Tabela 5.** Número de nódulos, massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea de plantas de feijão-caupi, em sementes tratadas com fungicidas e que receberam inoculação da BR 3262, no experimento em área submetida a cultivos sucessivos com culturas anuais<sup>(1)</sup>.

Tratamento	Carbendazim + thiram	Carbendazim	Carboxin + thiram	Fludioxonil	Sem fungicida
Número de nódulos					
Inoculado	21Aa	20Aa	22Aa	23Aa	22Aa
Controle	24Aa	22Aa	23Aa	16Aa	24Aa
CV (%)	34,19				
Massa de nódulos secos (mg por planta)					
Inoculado	201,5Aa	242,6Aa	212Aa	226,8Aa	157,8Aa
Controle	211,8Aa	252,8Aa	214,5Aa	144,5Aa	240,8Aa
CV (%)	42,14				
Massa de matéria seca da parte aérea (g por planta)					
Inoculado	3,7Aa	4,6Aa	4,5Aa	3,6Aa	4Aa
Controle	4,3Aab	45,3Aab	4,3Aab	3,5Ab	5,4Aa
CV (%)	21,39				

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, para uma mesma variável, não diferem pelo teste t, a 5% de probabilidade.

embora seja muito maior que a produtividade média da cultura na região (Filgueiras et al., 2009; Melo & Zilli, 2009). Provavelmente, a alta incidência de chuvas e a maior fertilidade do solo observada na área já cultivada (Tabela 2) tenham proporcionado maior desenvolvimento vegetativo, que acabou interferindo negativamente na floração e na reprodução das plantas (Uchôa et al., 2009).

A produtividade de grãos foi semelhante entre os tratamentos, tendo-se observado diferenças apenas na área de primeiro ano, onde o tratamento nitrogenado apresentou valor maior que os tratamentos com fludioxonil e que o tratamento não inoculado e sem fungicida (Figura 2 A e B). Portanto, não houve incrementos de produtividade decorrentes da inoculação, nem efeitos negativos dos fungicidas sobre a estirpe BR 3262. Especificamente, apesar de terem ocorrido produtividades significativamente menores para os tratamentos com fludioxonil, em comparação ao tratamento nitrogenado, estas foram iguais nos demais tratamentos (Figura 2 A), o que indica que,



**Figura 2.** Rendimento de grãos de feijão-caupi, em experimentos conduzidos no Cerrado de Roraima, após tratamento de sementes com diferentes fungicidas e inoculação com a estirpe BR 3262 ou adubação nitrogenada com 50 kg ha<sup>-1</sup> de N, na forma de ureia. A, área de primeiro cultivo; B, área com histórico de cultivo anterior, com culturas anuais. Médias seguidas de letras iguais, em cada área, não diferem pelo teste t, a 5% de probabilidade.

possivelmente, houve restrição no suprimento de N, de forma geral, entre os tratamentos, exceto para o nitrogenado. É provável que outros fatores, como a fertilidade do solo, não considerados no presente trabalho, tenham interferido no processo de FBN (Melo & Zilli, 2009).

Em razão da crescente contribuição da inoculação do feijão-caupi sobre a produtividade de grãos, a estirpe BR 3262, assim como as demais indicadas para a cultura, são consideradas eficientes na FBN (Melo & Zilli, 2009; Gualter et al., 2011). Em experimentos anteriores, no Cerrado de Roraima, foram obtidos mais de 2.000 kg ha<sup>-1</sup> de grãos em plantas inoculadas com a estirpe BR 3262 (Zilli et al., 2009a). Contudo, uma vez que o feijão-caupi nodula com diversas espécies de rizóbios nativas de solos brasileiros, também se observa, com frequência, nodulação espontânea capaz de suprir as demandas de nitrogênio da cultura (Martins et al., 2003; Zilli et al., 2006), como ocorreu nos experimentos de campo, no presente trabalho.

## Conclusão

O tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas à base de carbendazim, carbendazim + thiram, carboxin + thiram é compatível com a inoculação das estirpes BR 3262, BR 3267, INPA3-11B e UFLA3-84, aplicadas em veículo turfoso.

## Referências

- ANDRÉS J.A.; CORREA, N.S.; ROSAS, S.B. Survival and symbiotic properties of *Bradyrhizobium japonicum* in the presence of thiram: isolation of fungicide resistant strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.26, p.141-145, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 25 mar. 2011. Seção 1, p.3-7.
- BUENO, C.J.; MEYER, M.C.; SOUZA, N.L. de. Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 e Semia 5079) e na nodulação da soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.25, p.231-235, 2003. DOI: 10.4025/actasciagron. v25i1.2676.
- CAMPO, R.J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v.48, p.154-163, 2009. DOI: 10.1007/BF03179994.

- CARDOSO, J.D.; GOMES, D.F.; GOES, K.C.G.P.; FONSECA JUNIOR, N. da S.; DORIGO JUNIOR, O.F.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S. Relationship between total nodulation and nodulation at the root crown of peanut, soybean and common bean plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.41, p.1760-1763, 2009. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.05.008.
- CLAESSEN, M.E.C. (Org.). **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPS, 1997. 212p.
- FERNANDES JÚNIOR, P.I.; SILVA JÚNIOR, E.B. da; SILVA JÚNIOR, S. da; SANTOS, C.E.R. da S. e; OLIVEIRA, P.J. de; RUMJANEK, N.G.; MARTINS, L.M.V.; XAVIER, G.R. Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: survival of rhizobia in pre-inoculated seeds and field efficiency. **African Journal of Biotechnology**, v.11, p.2945-2951, 2012. DOI: 10.5897/AJB11.1885.
- FILGUEIRAS, G.C.; SANTOS, M.A.S.; HOMMA, A.K.O.; REBELLO, F.K.; CRAVO, M. DA S. Aspectos socioeconômicos. In: ZILLI, J.É.; VILARINHO, A.A.; ALVES, J.M.A. **A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009. p.185-221.
- CRAVO, M. da S.; SOUZA, B.D.L. de; CUNHA, F.D.R.; CAVALCANTE, E. da S.; ALVES, J.M.A.; MARINHO, J.T. de S.; VIEIRA JÚNIOR, J.R.; GONÇALVES, J.R.P.; FREITAS, A.C.R. de; TOMAZETTI, M.A. Sistemas de cultivo. In: ZILLI, J.É.; VILARINHO, A.A.; ALVES, J.M.A. **A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009. p.59-104.
- GARCIA, P.C.; RUIZ, J.M.; RIVERO, R.M.; LÓPEZ-LEFEBRE, L.R.; SÁNCHEZ, E.; ROMERO, L. Is the application of carbendazim harmful to healthy plants? Evidence of weak phytotoxicity in tobacco. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.279-273, 2002. DOI: 10.1021/jf010748g.
- GUALTER, R.M.R.; BODDEY, R.M.; RUMJANEK, N.G.; FREITAS, A.C.R. de; XAVIER, G.R. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.303-308, 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000300011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- LACERDA, A.M.; MOREIRA, F.M. de S.; ANDRADE, M.J.B. de; SOARES, A.L. de L. Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi. **Revista Ceres**, v.51, p.76-82, 2004.
- MARTINS, L.M.V.; XAVIER, G.R.; RANGEL, F.W.; RIBEIRO, J.R.A.; NEVES, M.C.P.; MORGADO, L.B.; RUMJANEK, N.G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the Semi-Arid Region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p.333-339, 2003. DOI: 10.1007/s00374-003-0668-4.
- MELO, S.R. de; ZILLI, J.É. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.1177-1183, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000900016.
- NORRIS, D.O.; T'MANNETJE, L. The symbiotic specialization of African *Trifolium* spp. in relation to their taxonomy and their agronomic use. **East Africa Agriculture and Forest Journal**, v.29, p.214-235, 1964.
- PEREIRA, C.E.; MOREIRA, F.M.D. de S.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.M. Compatibility among fungicide treatments on soybean seeds through film coating and inoculation with *Bradyrhizobium* strains. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, p.585-589, 2010a. DOI: 10.4025/actasciagron.v32i4.5756.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.M.; BOTELHO, F.J.E. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com *Bradyrhizobium*. **Agro@ambiente On-line**, v.4, p.62-66, 2010b.
- UCHÔA, S.C.P.; ALVES, J.M.A.; CRAVO, M.S.; SILVA, A.J.; MELO, V.F. FERREIRA, G.B.; FERREIRA, M.M.M. Fertilidade do solo. In: ZILLI, J.É.; VILARINHO, A.A.; ALVES, J.M.A. **A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009. p.131-183.
- VINCENT, J.M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164p.
- ZILLI, J.É.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. **Acta Amazonica**, v.39, p.749-758, 2009a. DOI: 10.1590/S0044-59672009000400003.
- ZILLI, J.É.; RIBEIRO, K.G.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.917-923, 2009b. DOI: 10.1590/S0100-06832009000400016.
- ZILLI, J.É.; VALICHESKI, R.R.; RUMJANEK, N.G.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; FREIRE FILHO, F.R.; NEVES, M.C.P. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.811-818, 2006. DOI: 10.1590/S0100-204X2006000500013.

Recebido em 3 de setembro de 2012 e aprovado em 7 de janeiro de 2013