



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MANOEL LUIZ DA SILVA NETO

**EFEITO DE FUNGICIDAS SOBRE A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI**

Boa Vista - RR

2012

MANOEL LUIZ DA SILVA NETO

**EFEITO DE FUNGICIDAS SOBRE A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO E O
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Roraima em parceria com a EMBRAPA - Roraima

Orientador: Dr. Jerri Édson Zilli
Co-orientador: Dr. Oscar José Smiderle

Boa Vista - RR

2012

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

S586e Silva Neto, Manoel Luiz.

Efeito de fungicidas sobre a fixação biológica de nitrogênio e o desenvolvimento inicial de cultivares de Feijão-Caupi / Manoel Luiz da Silva Neto. -- Boa Vista, 2012.

63 f. : il.

Orientador: Profº. Dr. Jerri Édson Zilli .
Co-orientador: Dr. Oscar José Smiderle.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

1 – . *Vigna unguiculata*. 2 – Tratamento de sementes. 3 – Vigor. I -
Título. II – Zilli, Jerri Edson(orientador).

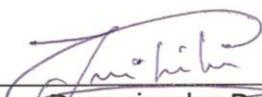
CDU- 632.952

MANOEL LUIZ DA SILVA NETO

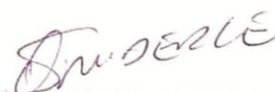
Efeito de fungicidas sobre a fixação biológica de nitrogênio e o desenvolvimento inicial de cultivares de feijão-caupi

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Roraima, em parceria com a Embrapa Roraima, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Produção Vegetal.

Aprovado: 26 de julho de 2012.



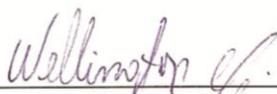
Pesquisador Dr. Jerri Édson Zilli
Orientador – Embrapa Agrobiologia



Pesquisador Dr. Oscar José Smiderle
Embrapa Roraima



Pesquisadora Dra. Krisle da Silva
Embrapa Roraima



Prof. Dr. Wellington Farias Araújo
UFRR



Pesquisador Dr. Gustavo Ribeiro Xavier
Embrapa Agrobiologia

DEDICATÓRIA

Gostaria de dedicar este Trabalho a muitas pessoas que de alguma forma me ajudaram e incentivaram. Mas, por manter uma lista que cresceria a cada dia, vou ser bastante seletivo e dedicá-lo a três pessoas diretamente envolvidas, não apenas com que faço, mas em minha vida:

À Dulcineide Vieira da Silva, minha mãe e a José Joaquim Vasconcelos da Silva, meu pai, que com luta, mas principalmente com muita dedicação e amor, me deram a educação sem a qual eu não teria chegado a lugar algum. “vocês dois são o meu grande orgulho e quero que tudo o que eu faça em toda a minha vida sejam provas de que o pouco que vocês acham que fizeram por mim, na verdade foi muito mais do que qualquer filho no mundo poderia querer. Vocês me deram simplesmente tudo e vão estar eternamente em tudo o que eu fizer”.

À Nayrah de Deus Lima, minha namorada, pela paciência e que além desta, quero agradecer-lá principalmente pelo compartilhamento do entusiasmo, pela motivação e pelo constante apoio que sempre me dá. “Você é maravilhosa, minha querida, e é a fonte de inspiração e a força de tudo que faço. Com a sua inteligência, calma e alegria e todo o apoio que me dá eu sei que amanhã será sempre melhor do que hoje, não importa o que aconteça”

AGRADECIMENTO

Agradeço ao Doutor Jerri Édson Zilli a forma como orientou o meu Trabalho. As notas dominantes da sua orientação foram à utilidade das suas recomendações e a cordialidade com que sempre me recebeu. Estou grato por ambas e também pela liberdade de ação que me permitiu que este trabalho fosse decisivo para o meu desenvolvimento pessoal.

Não conheço nenhuma fórmula infalível para
obter o sucesso, mas conheço uma forma
infalível de fracassar: tentar agradar a todos.

John F. Kennedy

SILVA NETO, Manoel Luiz da. Efeito de Fungicidas sobre a Fixação Biológica de Nitrogênio e o Desenvolvimento Inicial de Cultivares de feijão-caupi. Boa Vista, 2012. 62f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Roraima.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes do feijão-caupi com fungicidas e as estirpes recomendadas para esta cultura. Em laboratório avaliou-se o efeito na sobrevivência de rizóbios inoculado nas sementes de feijão-caupi e tratadas ou não com fungicidas à base fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram e carboxin + thiram, nas doses recomendadas para cultura da soja, e inoculadas com as estirpes recomendadas para cultura. Em casa de vegetação foi avaliado a nodulação e a massa seca da parte aérea de feijão-caupi a partir de sementes inoculadas e tratadas com os fungicidas, além de avaliar o efeito dos fungicidas na germinação e desenvolvimento de plântulas em cinco cultivares de feijão-caupi. No campo foi avaliado a nodulação e a produtividade de grãos de feijão-caupi inoculadas com a estirpe BR3262 e tratadas ou não com fungicidas. Não foi observado efeito dos fungicidas sobre a sobrevivência dos rizóbios nas sementes, tampouco redução da nodulação das plantas além de não influir na germinação e no desenvolvimento das plantas de feijão-caupi, em condições de casa de vegetação. Em condições de campo não foi observado efeito dos fungicidas na nodulação tampouco no rendimento de grãos. Com isto, a utilização de fungicidas no tratamento de sementes de feijão-caupi é compatível com a inoculação.

Termos para indexação: *Vigna unguiculata*, Tratamento de Sementes, Vigor.

Silva Neto, Manoel Luiz da. Effect of Fungicides on Biological Nitrogen Fixation and Early Development of cowpea cultivars. 2012. 62P., Master's Thesis / Dissertation in Agriculture - Federal University of Roraima, Boa Vista, 2009.

ABSTRAT

The aim of this study was to evaluate the compatibility of the seed treatment with fungicides cowpea and strains recommended for this crop. In laboratory evaluated the effect on survival of rhizobia inoculated seeds of cowpea and treated or untreated with fungicides fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram and carboxin + thiram, in doses recommended for soybean, and inoculated with strains recommended for culture. In the greenhouse was assessed nodulation and shoot dry weight of cowpea seeds from inoculated and treated with fungicides, and to evaluate the effect of fungicides on germination and seedling development in five cultivars of cowpea. In the course was assessed nodulation and grain yield of cowpea inoculated with strain BR3262 and treated or untreated with fungicides. There was no effect of fungicides on survival of rhizobia on seeds, nor reduce nodulation of plants besides not influence the germination and development of cowpea plants in greenhouse conditions. Under field conditions there was no effect of fungicides on nodulation either on grain yield. With this, the use of fungicides for treating seeds of cowpea and compatible with the inoculation.

Index terms: *Vigna unguiculata*, Seed Treatment, Vigor.

SUMÁRIO

1..INTRODUÇÃO.....	12
2..OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo Geral	15
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1. Feijão-Caupi: Aspectos gerais	16
3.2. Fixação biológica do nitrogênio no feijão-caupi.....	18
3.3. Tratamento de sementes com fungicidas	20
3.4. Estirpes recomendadas para feijão-caupi	22
4. ARTIGO A: COMPATIBILIDADE DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI COM FUNGICIDAS E INOCULAÇÃO COM ESTIRPES DE <i>BRADYRHIZOBIUM</i>.....	24
4.1. RESUMO	24
4.2. ABSTRACT.....	25
4.3. INTRODUÇÃO.....	26
4.4. MATERIAL E MÉTODOS	27

4.4.1 Recuperação de células do inoculante nas sementes do feijão-caupi	27
4.4.2. Nodulação e desenvolvimento das plantas em condições controladas	29
4.4.3 Nodulação e desenvolvimento das plantas e rendimento de grãos em condições de Campo	30
4.4.4 Análises estatísticas.....	31
4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.6. CONCLUSÃO	39
5. ARTIGO B: EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM FUNGICIDAS NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CINCO CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI.....	40
5.1. RESUMO	40
5.2. ABSTRAT	41
5.3. INTRODUÇÃO.....	42
5.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.6. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
APÊNDICE	59
ANEXOS.....	61

1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio é o elemento mais importante para a agricultura, sendo um dos mais limitantes para o crescimento vegetal em regiões tropicais. Apesar de aproximadamente 80% da atmosfera ser composta por nitrogênio (N_2), este só é absorvido pelos vegetais sob a forma de nitrato ou amônio que são compostos solúveis. Portanto, altas quantidades de nitrogênio são aplicadas nas atividades agrícolas, acarretando um custo elevado para a agricultura.

A obtenção de nitrogênio via Fixação Biológica de Nitrogênio – FBN, por bactérias em associação com vegetais traz um enorme benefício tanto econômico quanto ambiental via diminuição de resíduos agrícolas.

A simbiose de microrganismos coletivamente chamados de rizóbios, com raízes de leguminosas fornece grandes quantidades de nitrogênio para a planta hospedeira. Os rizóbios possuem a capacidade de romper a ligação tríplice do nitrogênio atmosférico e torná-lo assimilável para o vegetal como nitrogênio amoniacal. Em troca desta substância a planta oferece proteção dentro de suas raízes e compostos orgânicos oriundos da fotossíntese aos microrganismos (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008).

A FBN é explorada na agricultura através da utilização de inoculantes com bactérias diazotróficas, ou seja, capazes de fixar o nitrogênio atmosférico. A inoculação de sementes pode ser descrita como uma atividade com o objetivo de transferir bactérias do produto inoculante, seja ele líquido ou sólido para a superfície das sementes, para infectar a plântula durante a germinação e crescimento, levando a formação de nódulos no sistema radicular (no caso de leguminosas), por onde a planta obterá o nitrogênio indispensável ao seu desenvolvimento (CAMPO; HUNGRIA, 1999).

Quanto maior o número de bactérias inoculadas na semente, maior a competição com a população bacteriana já existente no solo, resultando na formação de nódulos com as estirpes introduzidas pelo inoculante, as quais são comprovadamente mais eficientes no processo de FBN. Além disso, a presença de bactérias inoculadas favorece a formação de nódulos nas raízes principais e na

coroa radicular, que são maiores e fixam maior quantidade de N_2 do que os nódulos localizados nas raízes secundárias (CARDOSO et al., 2009).

Os grãos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) pode ser consumido verde ou seco, sendo o último a principal forma para alimentação humana. Dados disponíveis na FAO (2009) sobre a produção mundial de feijão-caupi, no ano de 2007, indicam que a cultura atingiu 3,6 milhões de toneladas em 12,5 milhões de hectares espalhados em 36 países. Destacando-se entre os maiores produtores a Nigéria, o Niger e o Brasil, respectivamente, os quais representam 84,1 % da área e 70,9 % da produção mundial. Mas vale a pena ressaltar a existência de um viés nessas estimativas, pois os dados do Brasil, por exemplo, não foram contabilizados nas estimativas da FAO, certamente em função da não realização da separação das estimativas de feijão-comum e feijão-caupi pelo IBGE (SILVA, 2009).

No Brasil, historicamente, a produção de feijão-caupi concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares) do país, no entanto, a cultura está conquistando espaço na região Centro-Oeste, em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado. O feijão-caupi contribui com 35,6 % da área plantada e 15 % da produção de feijão total (feijão-caupi + feijão-comum) no país (SILVA, 2009).

Anualmente, em média, têm sido produzidas 482 mil toneladas em 1,3 milhão de hectares. A produtividade média do feijão-caupi, no Brasil, é baixa (366 kg ha^{-1}), em função do baixo nível tecnológico empregado no cultivo. No entanto, estados como Amazonas, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso apresentam produtividades superiores a 1.000 kg ha^{-1} . O avanço da cultura na região central do Brasil propiciará um incremento na produtividade média brasileira, em função, principalmente, do uso de tecnologias que propiciam a cultura à expressão do seu potencial produtivo (SILVA, 2009).

Estudos têm demonstrado que a inoculação de sementes de feijão-caupi pode resultar em elevada produtividade e que a inoculação com uma estirpe recomendada para a cultura foi responsável pelo incremento de 214% (1.247 kg ha^{-1}) em relação ao tratamento não inoculado (FREITAS; RUMJANEK; XAVIER, 2008). O custo do inoculante representa cerca de R\$ 8,00, suficiente para uma área de 1 ha. Portanto, essa tecnologia representa um instrumento para viabilizar sistemas de

produção do feijão-caupi principalmente os sistemas utilizados em pequenas propriedades (FREITAS; RUMJANEK; XAVIER, 2008).

Dentre as condições necessárias para uma satisfatória produção do feijoeiro, a germinação das sementes e a formação do “stand”, ou seja, números de plantas por unidade de área no campo são importantes. A prática de tratamento de sementes com fungicidas vem sendo utilizada cada vez mais pelos produtores, não só desta cultura, mas também das demais espécies de plantas. Em muitos casos, e principalmente em áreas onde a cultura é cultivada todos os anos, torna-se necessário o tratamento de sementes com fungicidas para evitar a incidência de doenças que afetem a cultura.

Por outro lado, as recomendações de tratamento de sementes de leguminosas com fungicidas enfrentam uma séria restrição quando se pretende utilizar inoculantes contendo estirpes de bactérias do grupo rizóbio (MONTEIRO et al., 1990). O tratamento de sementes coloca os fungicidas em contato direto com o inoculante, fato que pode ser prejudicial à sobrevivência do mesmo, pelos possíveis efeitos nocivos do princípio ativo do produto. Segundo Zilli et al., (2009a) em experimento realizado em campo foi comprovado que a utilização de fungicidas no tratamento de sementes de soja e posteriormente inoculadas, reduz o número e a massa de nódulos, chegando a valores semelhantes aos observados no controle sem inoculação. Observaram ainda que a produtividade chega a ser reduzida em mais de 20% quando do uso do fungicida.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes do feijão-caupi com fungicidas e as estirpes recomendadas para essa cultura.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito na sobrevivência de rizóbios inoculado nas sementes de feijão-caupi e tratadas com fungicidas.
- Avaliar nodulação e massa seca parte aérea de feijão-caupi em condições de casa de vegetação a partir de sementes inoculadas com estirpes recomendadas para cultura e tratadas com fungicidas.
- Avaliar o efeito de fungicidas na germinação e desenvolvimento de plântulas de cinco cultivares de feijão-caupi.
- Avaliar a nodulação e a produtividade de grãos de feijão-caupi inoculadas com estirpe recomendada para a cultura e tratadas com fungicidas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Feijão-Caupi: Aspectos gerais

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) apresenta grande importância socioeconômica e desempenha papel fundamental na produção agrícola, além de ser uma das principais fontes proteicas da alimentação humana. Destaca-se como uma das mais importantes fontes de proteínas para milhares de pessoas em vários países, principalmente na África, Índia, e em países da América tropical.

A planta é pouco exigente em fertilidade do solo e apresenta boa capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, através da simbiose com bactérias do grupo *Rhizobium* (ANDRADE JUNIOR et al., 2003; ZILLI et al., 2009b).

Em 100 gramas de feijão-caupi *in natura* são encontrados 12,7% de umidade, 339 kcal, 1419 kj, 20,2 g de proteína, 2,4 g de lipídios, NA de colesterol, 61,2 g de carboidrato, 23,6g de fibra alimentar, 3,5 g de cinzas, 78 mg de cálcio, 178 mg de magnésio, 1,43 mg de manganês, 355 mg de fosforo, 5,1 mg de ferro, 10 mg de sódio, 1083 mg de potássio, 0,70 mg de cobre, 3,9 mg de zinco, NA de retinol, 0,14 mg de tiamina, 0,03 mg de riboflavina, 0,26 mg de piridoxina, traços de niacina, traços de vitamina C (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2006).

Esta cultura se expande por mais de 11 milhões de hectares plantados ao redor do mundo (FILGUEIRAS et al., 2009). O Brasil assume papel de destaque neste contexto, ocupando o terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais, superado apenas por Nigéria e Níger, que representam os únicos mercados de exportação importantes de feijão-caupi, destacando-se que a Nigéria é o maior produtor e o maior consumidor de feijão-caupi do mundo, em torno de 300.000 toneladas de feijão-caupi são negociadas todos os anos dentro do Nigerian Cowpea Grainshed – NCG.

No Brasil, o feijão-caupi é explorado principalmente nas regiões Norte e Nordeste, sendo ultimamente, explorado também no Centro-Oeste (ZILLI et al., 2009b). A área cultivada com feijão-caupi no Brasil é superior a um milhão de

hectares com aproximadamente 30 milhões de consumidores (SINGH et al., 2002) com destaque econômico na região Nordeste, representando cerca de 45,67% do feijão produzido, 37,64% na região Norte e 9,12% na região Centro-Oeste (FREIRE FILHO; LIMA; RIBEIRO, 2005). Esses dados são extremamente importantes, uma vez que refletem a participação da cultura no contexto de geração de empregos, de renda e da produção de alimentos no país e a credencia para receber maior atenção por parte das políticas de abastecimento e por parte dos órgãos de apoio à pesquisa.

Tradicionalmente, o feijão-caupi é uma cultura de subsistência, cultivada por pequenos e médios agricultores de base familiar, cujo excedente de produção é comercializado em feiras livres, como feijão-verde. Trata-se de uma cultura que apresenta baixa produtividade média (300 a 400 kg ha⁻¹), principalmente no Nordeste brasileiro, já que grande parte da produção está ligada a pequenas e médias propriedades, que geralmente utilizam baixo nível tecnológico (FROTA; PEREIRA, 2000).

O consumo humano do feijão-caupi pode ser na forma de vagem verde, cuja colheita é feita quando as vagens estão bem desenvolvidas, mas ainda com baixo teor de fibras; na forma de grãos verdes, colhidas no início da maturação e na forma de grão seco, onde as vagens são colhidas secas, no ponto de maturação de campo (VIEIRA; VIEIRA; CALDAS, 2000). Em razão de sua importância alimentar e de compor a cesta básica de uma parcela importante de brasileiros, tem participação garantida no agronegócio nacional, principalmente por sua conexão com a pequena produção familiar.

O feijão-caupi possui uma grande variabilidade genética que o torna versátil, sendo usado para várias finalidades e em diversos sistemas de produção principalmente para consumo dos grãos secos. É também usado como hortaliça tendo como órgãos consumidos as folhas e vagens e grãos frescos ou secos. Ademais, o feijão-caupi é usado como cobertura vegetal, adubação verde e forrageira.

A cultura se encontra em franca expansão na região Centro-Oeste e pela sua rusticidade e ciclo curto pode se constituir em importante espécie para o cultivo durante o período de outono-inverno, tornando-se, no caso de cultivares de porte

ereto e semi ereto, importante componente nos sistemas de rotação de culturas para o sistema de plantio direto (SANTOS; CORREA, 2011).

Em Roraima a cultura foi introduzida fortemente com o surgimento dos projetos de colonização. Esta cultura vem sendo desenvolvida para a subsistência na agricultura familiar (MENEZES et al., 2007). Segundo diagnóstico de produção, a área cultivada no estado é em média, inferior a 1 ha por produtor com média de produtividade inferior a 500 kg ha⁻¹, voltada prioritariamente para o auto abastecimento e posterior comercialização são insuficientes para investimento em tecnologia que resultem em aumento de rendimento e volume de produção (MENEZES et al, 2007).

3.2. Fixação biológica do nitrogênio no feijão-caupi

A atmosfera contém uma vasta quantidade (cerca de 80% da composição) de nitrogênio molecular (N₂). Porém, esse grande reservatório de nitrogênio não está disponível para os vegetais.

Na natureza, somente um grupo de microrganismos, denominados diazotróficos ou fixadores de nitrogênio, é capaz de reduzir nitrogênio atmosférico à amônia. Esse processo, chamado de fixação biológica do nitrogênio (FBN), é realizado pela enzima nitrogenase, um complexo proteico que catalisa a reação (EADY; POSTGATE, 1974). A participação da FBN no ciclo biogeoquímico do nitrogênio é, sobretudo importante na medida em que a atividade das bactérias diazotróficas representa cerca de 60% do nitrogênio anualmente fixado na Terra (KIM; REES, 1994). Além disso, a FBN é o processo primário através do qual o nitrogênio, quimicamente indisponível para a maioria dos organismos, se torna fisiológica e metabolicamente disponível, inicialmente sob a forma de amônia e, posteriormente, na ciclagem do nitrogênio, podendo formar outros compostos nitrogenados, como nitritos, nitratos e óxido nítrico (FERGUSON, 1998).

A obtenção de nitrogênio da atmosfera requer a quebra de uma ligação tripla covalente de excepcional estabilidade, entre os dois átomos de nitrogênio para produzir amônia (NH₃) que é posteriormente convertida em amônio. Tais reações,

conhecidas como fixação do nitrogênio, podem ser obtidas também pelo processo industrial (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Na agricultura, estima-se que a exploração da FBN contribua com cerca de 30% do nitrogênio necessário ao desenvolvimento das culturas, mas infelizmente no Brasil, o benefício desse processo se restringe apenas a cultura da soja, pois 99% dos inoculantes rizobianos (ou contendo rizóbios), cerca de 25 milhões de doses de inoculantes anualmente produzidos no Brasil, destina-se exclusivamente a essa cultura, apesar da existência de estirpes selecionadas para quase 100 espécies de leguminosas, incluindo o feijão-caupi (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Os benefícios da FBN na cultura incluem além do suprimento de N para o desenvolvimento das plantas, o fornecimento de nitrogênio/proteína para alimentação humana – através dos grãos – e o aporte de quantidade significativa de nitrogênio ao solo, por meio dos restos culturais, que pode contribuir para a elevação da matéria orgânica e fertilidade do solo para a cultura em sucessão (ZILLI et al., 2009b).

Diversos autores afirmaram que a utilização da FBN no feijão-caupi pode substituir totalmente a adubação nitrogenada (PEREIRA BRITO; MURAOKA; CABRAL DA SILVA, 2011; COSTA et al., 2006; MELO; ZILLI, 2009)

As espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas têm sido denominadas coletivamente de rizóbio sendo a maioria pertencente a família Rhizobiaceae Freire Filho; Lima; Ribeiro, (2005), é classificada como complexa, devido à grande heterogeneidade encontrada entre as estirpes de rizóbio e à suscetibilidade das estirpes aos fatores ambientais (MELLO; FARIA, 1998; ZILLI; XAVIER; RUMJANEK, 1998). Outro fator que determina a complexidade rizóbio-leguminosa é a população nativa dos solos, que pode apresentar-se em baixas ou altas concentrações. Esta população caracteriza-se pela baixa eficiência e alta capacidade de formar nódulos, o que é um fator limitante à nodulação com estirpes mais eficientes inoculadas (NEVES; RUMJANEK, 1997).

Estima-se que a média de contribuição da fixação biológica de nitrogênio para o feijão-caupi seja entre 73 e 240 kg ha⁻¹ ano⁻¹ (SOARES, 2007).

Segundo Zilli et al. (2009b), a estirpe BR 3262 (SEMIA 6464) proporcionou número de nódulos e massa de nódulos significativamente maiores do controle, ao passo que entre as estirpes recomendadas, isto só ocorreu de forma esporádica

com INPA 03-11B e BR3267. O rendimento de grãos do tratamento inoculado com esta estirpe (na média geral de 1700kg ha^{-1}) igualasse a dose de 50 kg ha^{-1} de N, superando o tratamento controle em três dos quatro experimentos conduzidos, se mostrando as mais eficientes em termos de fixação de N na cultura do feijão-caupi em Roraima.

Xavier et al. (2008) demonstraram que a diferença de produção entre os tratamentos que receberam inoculação com estirpe rizobianas BR 2001 e as que não foram inoculados foram de 283 e 454kg ha^{-1} de grãos. Entretanto, com a inoculação, a produtividade máxima calculada foi de 1.474 kg ha^{-1} para uma dose estimada de $50,17\text{ kg ha}^{-1}$ de N. Sendo esta produtividade superior ao controle de 0 Kg ha^{-1} de N em apenas 76 kg ha^{-1} de grãos.

3.3. Tratamento de sementes com fungicidas

Atualmente, tem-se notado aumento na prática do uso de fungicidas, que são compostos químicos empregados no controle de doenças de plantas causadas por fungos, bactérias ou algas. Alguns compostos químicos não matam os fungos, mas inibem o seu crescimento temporariamente. Tais compostos são chamados de fungistáticos (JULIATTI, 2007).

Na visão agrônômica, isto tem ocorrido devido ao crescimento da agricultura brasileira (área e produtividade), a qual foi baseada no modelo da revolução verde (cultivares melhoradas, irrigação e uso de pesticidas).

A qualidade de sementes é determinada pelo somatório de atributos físicos, genéticos, fisiológicos e sanitários. Nesse contexto, a sanidade de sementes apresenta-se com significativa importância, uma vez que 90% das espécies destinadas à produção de alimentos no mundo são propagadas por sementes e estas plantas estão sujeitas ao ataque de doenças, cuja maioria de seus agentes causais pode ser transmitida pelas sementes (FURLAN; GOULART 2008).

Quando as sementes iniciam o seu processo de germinação e de emergência no campo, vários fatores do ambiente como excesso ou estresse hídrico, temperaturas baixas, compactação do solo etc., podem dificultar ou atrasar

tais processos. Estes fatores de estresse predisõem as plantas ao ataque de patógenos, os quais são favorecidos nestas condições.

Dentre os fungos que apresentam um maior impacto econômico, merecendo, assim, maior atenção e que já foram detectados em sementes de feijão-caupi por diversos autores, destacam-se: *Macrophomina phaseolina* (ATHAYDE SOBRINHO, 2004), *Fusarium* sp. (RODRIGUES; MENEZES, 2002), *Alternaria* sp. (FRANCISCO, 2001; MARQUES; ALVES; LIMA, 2006), *Curvularia* sp. e *Trichoderma* sp. (SINHA; SINGH; QAISAR et al., 1999), além dos fungos de armazenamento, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (TORRES; BRINGEL, 2005; RODRIGUES; MENEZES, 2002).

O tratamento das sementes com fungicidas pode impedir ou retardar a disseminação desses patógenos nas lavouras.

Rocha; Costa; Filho (1997), demonstraram em trabalho realizado que a não utilização de fungicidas para o tratamento de sementes de soja infectadas com *Fusarium semitectum* e *Collectotrichum* atingiram média de 82% e 48,5% de infestação, respectivamente, enquanto sementes infectadas e tratadas com fungicida apresentaram infecção média inferior a 20%. Demonstraram ainda que a utilização desta técnica é capaz de resultar em maior porcentagem de emergência e contribuição para uma melhor manutenção do stand, quando comparadas a testemunha não tratada. Confirmando os resultados obtidos Miranda; Souza, (1980), Rocha; Costa; Filho (1997) afirmaram que a aplicação de fungicida nas sementes de soja aumentou a porcentagem de germinação, mesmo naqueles lotes considerados com germinação inicial baixa (72 e 73%). Nota-se, também, que os tratamentos com fungicida elevaram os índices de germinação de todos os lotes e de todas as cultivares testadas.

Já segundo Bigaton; Arruda; Mercante (2004), o tratamento de sementes de soja com os fungicidas testados prejudicaram a nodulação das plantas, demonstrando diferenças significativas entre os tratamentos com plantas oriundas de sementes inoculadas e sem adição de fungicida e aquelas que foram inoculadas e que tiveram as sementes tratadas com fungicidas, independentemente do produto utilizado.

No trabalho realizado por Araújo; Araújo (2006), pode ser confirmado que a utilização de fungicidas no tratamento das sementes de feijão apresenta redução

significativa no número de *Rhizobium*. A nodulação do feijoeiro foi reduzida pela aplicação dos fungicidas quando o plantio foi realizado 24 horas após o tratamento das sementes. Os fungicidas benlate e vitavax foram os mais prejudiciais à bactéria inoculada nas sementes.

Por esta cultura ser explorada principalmente como cultura de subsistência, hoje ainda se apresentam poucos estudos quanto à utilização de fungicidas no feijão-caupi, de modo a não haver produtos registrados no MAPA recomendados para cultura. Mas com esta expansão crescente que tem apresentado a cultura para a região Centro-Oeste, as sementes de feijão-caupi vêm sendo tratadas com fungicidas recomendados para cultura da soja, desconhecendo os danos que os mesmos podem causar a cultura e para o processo de FBN.

3.4. Estirpes recomendadas para feijão-caupi

Atualmente são quatro estirpes autorizadas pelo **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento** - MAPA para produção de inoculantes para o feijão-caupi no Brasil (BRASIL, 2011).

Tabela 1 - Relação dos micro-organismos autorizados para produção de inoculantes no Brasil para cultura feijão-caupi

CEPA AUTORIZADA (SEMIA)	GÊNERO/ ESPÉCIE	DESIGNAÇÃO ORIGINAL	INSTITUIÇÃO QUE RECOMENDOU
6461	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	UFLA 3-84	UFLA
6462	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	BR3267	Embrapa Agrobiologia
6463	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	INPA3-11B	UFLA
6464	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	BR 3262	Embrapa Roraima

As estirpes INPA3-11B e UFLA3-84 foram isoladas de solos da Amazônia, respectivamente de Manaus e Rondônia, sendo, portanto, adaptadas a altas temperaturas e condições de acidez, predominantes nos solos brasileiros. A INPA3-11B, isolada de nódulos de *Centrosema sp.*, foi selecionada num primeiro estágio, em condições controladas (vasos com substrato estéril), em 1982, no INPA (Instituto

Nacional de Pesquisas da Amazônia), e em estádios posteriores em Minas Gerais, na UFLA (ZILLI et al., 2009b). A seleção da UFLA3-84, isolada através do projeto ASB (Alternatives for Slash and Burn) de solo de pastagem usando feijão-caupi como planta isca, resultou de vários experimentos em câmara de crescimento, casa de vegetação e campo, realizados em Minas Gerais.

As bactérias INPA3-11B e UFLA 3-84 foram testadas nas variedades BR14-Mulato, BR08- Caldeirão e Poços de Caldas. Os experimentos de eficiência agrônômica no campo tiveram adubação de 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ K₂O usando como fonte o superfosfato simples e o cloreto de potássio. Nestas condições, com aplicação relativamente baixa de insumos, e em solos com pH variando de 4,9 a 5,9, foram obtidas produções de grãos de 950 a 1.340 kg ha⁻¹, equivalentes a adubação nitrogenada de 70 a 80kg ha⁻¹ N-uréia (ZILLI, et al., 2009).

A estirpe BR 3267, inicialmente designada como 2A-17, foi isolada a partir de solo do semi-árido pernambucano, utilizando feijão-caupi como planta isca (MARTINS, 1996). Em vários estudos de casa de vegetação e campo, vem mostrando bom desempenho, especialmente no sertão nordestino. Além disso, essa estirpe pertence ao grupo de bactérias com tolerância a alguns antibióticos e a temperatura de 39° C *in vitro* (MARTINS et al., 2003)

A estirpe BR 3262 (designada inicialmente como E7-6), por sua vez, foi isolada no Sistema Integrado de Produção Agroecológica, localizado em Seropédica –RJ no ano de 1996, tendo apresentado bom desempenho quando comparado à estirpe BR2001 em casa de vegetação (ZILLI et al., 1999). Posteriormente, avaliada no cerrado nordestino, apresentou capacidade de ocupação nodular superior a varias estirpes, incluindo a BR 2001 (ZILLI; MARSON; XAVIER, 2006).

4. ARTIGO A: COMPATIBILIDADE DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-CAUPI COM FUNGICIDAS E INOCULAÇÃO COM ESTIRPES DE *BRADYRHIZOBIUM*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes com fungicidas e a inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. Em laboratório avaliou-se a recuperação de células de *Bradyrhizobium* nas sementes (cv BRS Guariba) tratadas ou não com fungicidas à base fludioxonil, carbendazim, carbendazim + tiram e carboxin + tiram, nas doses recomendadas pelo fabricante para a cultura da soja, e inoculadas com as estirpes UFLA 03-084, BR3267, INPA 03-11b e BR3262 na proporção de 6×10^5 células semente¹. Em casa de vegetação conduziu-se um experimento em vasos de Leonard com substrato areia: vermiculita (1:1; v:v) esterilizado com os mesmos tratamentos avaliados no laboratório. O experimento foi coletado aos 25 dias avaliando-se a massa da matéria seca das plantas, o número e massa de nódulos. No campo foi conduzido um experimento em área de primeiro cultivo e o outro em área já cultivada. Nestes experimentos apenas a estirpe BR3262 foi utilizada como inoculante para sementes tratadas ou não com os fungicidas testados anteriormente e avaliou-se a massa e número de nódulos, matéria seca da parte aérea e rendimento de grãos. Não foram observados efeitos negativos dos fungicidas sobre a sobrevivência das células de *Bradyrhizobium* nas sementes, tampouco redução da nodulação das plantas, seja em casa de vegetação ou campo e nem no rendimento de grãos que foi superior a 1200 kg ha¹. Desta forma, o tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas a base de carbendazim, carbendazim + tiram, carboxin + tiram e fludioxonil é compatível com a inoculação das estirpes BR3262, BR3267, INPA03-11B e UFLA 03-084 aplicadas em veículo turfoso.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, Carbendazim, Carboxin, Tiram, Fludioxonil, FBN.

Compatibility of seed treatment fungicide with cowpea and inoculation with bradyrhizobium strains

ABSTRACT

This study aimed to assess the compatibility of seed treatment with fungicides and *Bradyrhizobium* inoculation in cowpea. In laboratory was evaluated the recovery of *Bradyrhizobium* cells in the seeds treated or not with fungicides fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram and carboxin + thiram, and inoculation with the strains UFLA 03-084, BR3267, INPA 03-11b e BR3262. Following, an experiment was performed in the green-house where the cowpea seeds treated as above were sowing in sterilized Leonard jars. This experiment was harvested at 25 days after the plant emergence and nodules number and dry weight, and shoot dry weight were evaluated. Additionally, in order to evaluate the cowpea inoculation or not with the strain BR3262 and application of the fungicides mentioned above, two experiments were performed in the filed, one in a first cultivation area and another with several cultivation. The nodules number and dry weight, shoot dry weight was evaluated at 35 days and the grain yield at harvest. It was not observed negative effects of the fungicides on the *Bradyrhizobium* survival on the seeds, neither the nodulation reduction on the plants in green-house nor field. Therefore, no negative fungicide effects were observed on the cowpea grain yield and the yield average was above 1.200 kg ha¹. In conclusion, the cowpea seeds treatment with the fungicides mentioned above are compatible with the inoculation with the strains indicated for this crop.

Keywords: *Vigna unguiculata*, Carbendazim, Carboxin, Tiram, Fludioxonil, FBN.

4.3. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi é uma das fontes alimentares mais importantes e estratégicas para as regiões tropicais e subtropicais do mundo. Atualmente, a área total cultivada está em torno de 11,3 milhões de hectares, sendo o continente africano o principal produtor e, o Brasil, o terceiro maior com cerca de 1,5 milhões de ha (FILGUEIRAS et al., 2009). No país, o cultivo ocorre principalmente nas regiões Norte e Nordeste, onde se constitui uma das principais alternativas sociais e econômicas para as populações rurais. Além disso, também vem se constituindo em cultura atrativa para o agronegócio, sendo cultivado em grandes lavouras, principalmente na safrinha após o cultivo de soja ou milho (FREIRE FILHO et al., 2005).

Uma característica importante da cultura é capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em simbiose com bactérias do grupo rizóbio, possibilitando a obtenção de altos rendimentos de grãos superiores a 2000 kg ha⁻¹ sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados em diversas regiões do Brasil como o Nordeste (Martins et al., 2003; Fernandes Júnior et al., 2012), Norte (Zilli et al.; 2009b) e Sudeste (Lacerda et al.; 2004). Atualmente quatro estirpes são autorizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a inoculação do feijão-caupi: UFLA 3-84 (SEMIA 6461), BR3267 (SEMIA 6462), INPA3-11B (SEMIA 6463) e BR3262 (SEMIA 6464) (BRASIL, 2011).

Recentemente, os cultivos de feijão-caupi, especialmente grandes áreas, passaram a receber, além da inoculação com bactérias do grupo rizóbio, o tratamento das sementes com fungicidas. Esta prática que já é corriqueira, por exemplo, para a cultura da soja visa à uniformidade dos plantios e adequada densidade de plantas na lavoura (MENTEN; MORAES, 2010). Entretanto, pelo fato de não existirem fungicidas registrados no MAPA para o tratamento de sementes para a cultura do feijão-caupi, os produtores tem adotado a recomendação da cultura da soja, que inclui principalmente produtos à base de carbendazim, carboxin, fludioxonil e thiram.

Apesar dos benefícios dos fungicidas aplicados nas sementes serem notórios para as culturas (SULEIMAN, 2009), muitos deles podem apresentar efeito negativo sobre micro-organismos não alvos e a processos microbiológicos, como a FBN. Em

estudos avaliando diversos ingredientes ativos recomendados para a cultura da soja foi mostrado que em determinadas circunstâncias, os fungicidas podem reduzir a nodulação de plantas de soja em mais de 50% e o rendimento de grãos em mais de 20% (CAMPO; HUNGRIA, 1999; ZILLI et al., 2009a). Para o feijão-caupi, ainda não existem informações sobre o efeito dos fungicidas aplicados para o tratamento de sementes, inclusive de forma irregular, sobre as bactérias presentes nos inoculantes, constituindo-se em problema que necessita abordagem mais aprofundada, haja vista riscos de redução da eficiência do processo de FBN nas lavouras.

Nesse sentido, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a compatibilidade do tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas a base de carbendazim, carboxin, fludioxonil e tiram com a inoculação de estirpes de rizóbios recomendadas para a cultura.

4.4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em três etapas, sendo a primeira no laboratório de microbiologia do solo pertencente a Embrapa Roraima, para avaliar a recuperação de células do inoculante nas sementes do feijão-caupi, a segunda em condições controladas de casa de vegetação para avaliar a nodulação e desenvolvimento das plantas em condições controladas e a terceira em condições de campo, para avaliar a nodulação e desenvolvimento das plantas e rendimento de grãos.

4.4.1 Recuperação de células do inoculante nas sementes do feijão-caupi

Foi avaliada a persistência das células das estirpes BR3262, BR3267, INPA 03-11b e UFLA 03-084, recomendadas para a produção de inoculantes rizobianos para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) no Brasil, em sementes tratadas com os fungicidas nas doses recomendadas para a cultura da soja (Tabela 2). Para esta

análise, seguiu-se o protocolo oficial do MAPA, ratificado pela instrução normativa nº 13 de 25/03/2011 (BRASIL, 2011).

Tabela 2 – Produto comercial fungicida, ingredientes ativos (i.a), concentração e dose de i.a. utilizadas para tratamento das sementes de feijão-caupi

Fungicida	Ingrediente Ativo	Concentração i.a.* (g L ⁻¹)	Dose para 100kg sementes**
maxim	fludioxonil	25 g/L	200 mL
derosal 500sc	carbendazim	500 g/L	100 mL
derosal Plus	carbendazim + thiram	150 +350 g/L	200 mL
vitavax-Thiram	carboxin + thiram	200 + 200 g/L	300 mL

*i.a. – Ingrediente ativo; ** Recomendação da soja

O ensaio foi conduzido em condições laboratoriais com delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados e três repetições, sendo os tratamentos dispostos em um esquema fatorial, constituído de 4 bactérias recomendadas para o feijão-caupi e 4 fungicidas, além de um controle sem fungicida.

Amostras de 100g de sementes de feijão-caupi (cv BRS Guariba) foram desinfetadas (3 mim em etanol 70%, 5 mim em peróxido de hidrogênio, seguindo-se 10 lavagens consecutivas com água destilada e autoclavada) (Vincent, 1970) e dispostas em bandejas com papel toalha até a secagem superficial. Posteriormente, as sementes foram transferidas para copos de poliestireno com capacidade para 500 mL. Cada copo com 100 sementes consistiu uma unidade experimental que recebeu os fungicidas conforme tabela 2.

Para a produção dos inoculantes as bactérias foram crescidas em meio de cultura YM líquido (Vincent, 1970) sob agitação constante por sete dias. Após o crescimento, os caldos de cultivo foram inoculados em sacos de plástico contendo turfa esterilizada na proporção 1:3 (v/p). O inoculante foi encubado durante o tempo de maturação (sete dias) e armazenado posteriormente em geladeira. Em seguida, a inoculação foi realizada garantindo uma concentração de cerca de 600 mil unidades formadoras de colônia (UFC) por semente.

Para avaliar a recuperação das bactérias, após duas horas da inoculação, 100 sementes do feijão-caupi de cada copo (parcela experimental) foram

transferidas para Erlenmeyers com capacidade de 250 mL, contendo 100 ml de solução salina (NaCl 0,85%) autoclavada. As amostras foram então agitadas por 20 min a 250 rpm em um agitador orbital (Temprano et al., 2002). A partir desta diluição (considerada 10^1) foram realizadas diluições sucessivas até 10^{-7} , sendo retiradas alíquotas de 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 (VINCENT, 1970), utilizando-se três repetições. Após a incubação a 28 °C, por um período de 8 dias realizou-se a contagem das colônias formadas sobre o meio de cultura, calculando-se a concentração de UFC para cada tratamento.

4.4.2. Nodulação e desenvolvimento das plantas em condições controladas

Entre os meses de janeiro e fevereiro de 2011 conduziu-se um experimento em condições controladas de casa de vegetação. Este ensaio foi conduzido em esquema fatorial completo com três repetições em delineamento inteiramente casualizado, sendo constituído das quatro estirpes recomendadas para o feijão-caupi e os fungicidas listados na Tabela 2, incluindo-se também um controle sem inoculante e sem fungicidas e um tratamento nitrogenado. O preparo das sementes, tratamento com os fungicidas e a inoculação foram realizados como mencionado para o ensaio de recuperação de células.

O plantio foi realizado em vasos de Leonard modificados contendo como substrato areia e vermiculita (2:1 v/v) esterilizado em autoclave (pressão de 1,5 atm por 60 min). A semeadura foi realizada duas horas após a inoculação dos tratamentos, semeando quatro sementes por vaso. Após a emergência das plântulas foi realizado o desbaste mantendo duas plantas por vaso. O fornecimento de nutrientes foi realizado através de solução de Norris (NORRIS; T'MANNETJE, 1964) (300 mL por semana) e água destilada esterilizada foi aplicada quando necessário e para o tratamento nitrogenado, aplicou-se $200 \text{ mg vaso}^{-1} \text{ semana}^{-1}$ de NH_4NO_3 . A coleta foi realizada 25 dias após a emergência das plantas (DAE), avaliando-se massa da parte aérea, número e massa seca de nódulos secos.

4.4.3 Nodulação e desenvolvimento das plantas e rendimento de grãos em condições de Campo

Foram conduzidos entre os meses de julho a setembro de 2010. Dois experimentos, em condição de campo, ambos no Campo Experimental Água Boa (CEAB) da Embrapa Roraima, localizado em Boa vista-RR (área de cerrado) com coordenadas O 60° 39' 54" e N 02° 15' 00".

Um dos experimentos foi implantado em área de primeiro cultivo que havia sido aberta cerca de 90 dias antes do plantio onde receberam 1500 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico (PRNT 80%), 500 kg ha⁻¹ de superfosfato simples e 50 kg ha⁻¹ de FTE BR-12. O outro experimento foi implantado em área cultivada por vários anos com culturas anuais. A análise da fertilidade do solo foi realizada de acordo com Embrapa (1997) imediatamente antes do plantio. Os dados de fertilidade dos solos a precipitação pluvial do período do experimento estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Análise da fertilidade, textura do solo e precipitação pluviométrica no Campo Experimental Água Boa da Embrapa Roraima, Município de Boa Vista-RR¹

Áreas	pH	Al	K	Ca	Mg	M.O.	P	Textura			Precipitação		
								Areia	Silte	Argila	Jul	Ago	Set
								g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	mm	mm	mm
1° cultivo	5,4	0,0	0,03	0,9	0,30	10,8	26,2	840	10	150	375,3	308,5	200
Cultivada	5,6	0,0	0,08	1,4	0,29	11,7	38,1	800	30	170			

¹Análise realizada de acordo com a metodologia da Embrapa (Embrapa, 1997).

1° cultivo – área de primeiro cultivo. Cultivada – área com vários cultivos anuais. M. O. - matéria orgânica

Os experimentos foram implantados de acordo com as recomendações para cultura e seguindo o protocolo oficial do MAPA (Brasil, 2011), utilizando-se parcelas de 4,5 m x 5 m com 10 linhas de plantio para área de primeiro ano e 5,4 m x 4 m com 12 linhas de plantio para área manejada sendo a área útil de 6 m². A adubação de plantio de ambos os experimentos consistiu de 80 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de

superfosfato simples e 50 Kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio, tendo sido os fertilizantes distribuídos com semeadoura mecânica nas linhas de plantio.

Os experimentos foram conduzidos em esquema fatorial de 2x5+1 com quatro repetições em delineamento de blocos ao acaso. Os fatores foram: inoculação com a estirpe BR3262 e sem inoculação, os fungicidas listados na Tabela 2, além do controle sem fungicidas e, um tratamento adicional com aplicação de N mineral (50 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia parcelada 50% no plantio e 50% em cobertura aos 25 dias da emergência). Para cada tratamento, 500 gramas de sementes de feijão-caupi (cv. BRS Guariba) foram dispostas em sacos de polietileno onde receberam a aplicação de 2 mL de solução açucarada 10%, a aplicação dos fungicida na dosagem recomendada para a cultura da soja (Tabela 2) e, posterior inoculação de cerca de 600.000 mil unidades formadoras de colônias por semente através de inoculante em veículo turfoso produzido no próprio laboratório. A semeadura foi realizada após a inoculação das sementes através da distribuição manual de 8 a 10 sementes por metro linear.

As variáveis avaliadas nos experimentos foram: número de nódulos, massa de nódulos secos e massa seca da parte aérea das plantas aos 35 DAE e rendimento de grãos na colheita. A amostragem aos 35 DAE consistiu da coleta de 10 plantas linearmente na segunda linha de plantio em cada parcela desconsiderando-se 1 m linear em cada bordadura, e o rendimento de grãos avaliado pela coleta da área útil nas quatro linhas centrais de cada parcela descartando-se 1m linear em cada bordadura (CAMPO; HUNGRIA, 2007). Os nódulos, depois de destacados e lavados, bem como a parte aérea das plantas foram secos em estufas a 60°C por 5 dias para determinação da massa seca, em seguida os nódulos foram contados, enquanto a umidade dos grãos foi corrigida para 13%.

4.4.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e realizado o teste F a 5% de probabilidade. As médias foram contrastadas pelo teste Tukey ou teste t

em nível de 5% de probabilidade. Além disso, para a análise, os dados de recuperação de células foram transformados para \log_{10} e para os dados de campo foram realizadas duas análises de variância, uma considerando o esquema fatorial sem o tratamento adicional com nitrogênio e a outra desconsiderando o esquema fatorial e considerando todos os tratamentos independentes (ZILLI et al., 2011; FERNANDES JÚNIOR et al., 2012).

4.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A recuperação de células de rizóbios nas sementes de feijão-caupi foi da ordem de 4 a 5×10^5 UFC por semente para todos os tratamentos, não tendo sido observadas diferenças entre as estirpes inoculantes (Figura 1). Considerando que haviam sido aplicadas cerca de $1,0 \times 10^6$ células de rizóbio por semente, houve uma redução da concentração de células da ordem de 20 a 30%, independentemente da estirpe inoculada ou tratamento com fungicidas.

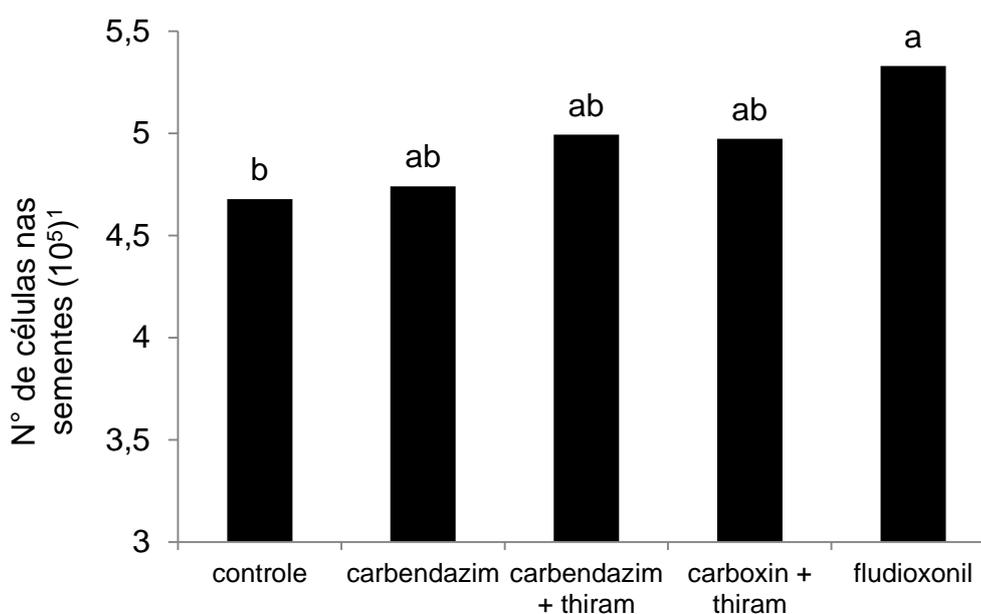


Figura 1 – Média geral do número de células de rizóbio recuperadas das sementes de feijão-caupi após duas horas do tratamento com fungicidas e da inoculação com rizóbios. ¹– O número de célula é a média entre as quatro estirpes inoculantes

(BR3262, BR3267, INPA 03-11b e UFLA 03-084). Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Quanto ao efeito dos fungicidas, na média geral não houve diferença entre os ingredientes ativos (i.a.) e, também não houve redução da concentração de células em função da aplicação dos mesmos, comparativamente aos tratamentos sem tratamento com fludioxonil (Figura 1). Nas sementes que foram tratadas com fludioxonil, observou-se ainda a tendência de aumento da concentração de células por semente.

O efeito de fungicidas sobre bactérias que compõem inoculantes são variáveis e é uma característica que depende de cada estirpe e não necessariamente da espécie bacteriana. Por exemplo, para o i.a. thiram já foi mostrado tanto efeito deletério quanto inócuo para diferentes estirpes dentro de *Bradyrhizobium japonicum* (ZILLI et al., 2009a.)

As avaliações sobre os efeitos dos fungicidas na sobrevivência de bradyrhizóbios em sementes de soja têm demonstrado que o tratamento de sementes com carbedazim + thiram, tem resultado na redução significativa da concentração de rizóbio sobre as sementes (BUENO; MEYER; SOUZA, 2003; PEREIRA et al., 2010). Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que as estirpes recomendadas para o feijão-caupi apresentaram comportamento distinto daqueles apresentados pelos rizóbios da soja, indicando maior compatibilidade das tecnologias de inoculação e de tratamento de sementes para o feijão-caupi.

No ensaio conduzido em condições de casa de vegetação, observou-se que as estirpes avaliadas proporcionaram número de nódulos sem diferenças significativas, variando entre 41 a 86 por planta. Além disso, a presença dos fungicidas não reduziu o número de nódulos e nem houve interação entre os tratamentos nessa variável. Da mesma forma, para a massa seca de nódulos também não houve efeito negativo dos fungicidas, tão pouco interação entre as estirpes e os fungicidas. Porém, observou-se maior massa no tratamento com a estirpe BR3267 ($328 \text{ mg planta}^{-1}$), chegando a ser significativamente superior ao tratamento com UFLA 03-084 ($246 \text{ mg planta}^{-1}$), embora tenham sido similar as demais.

O número e a massa seca de nódulos obtidos nas plantas de feijão-caupi representaram valores adequados para experimentos em condições controladas. Número de nódulos superior a 20 por planta e massa superior a 100 mg por planta tem sido observados como suficientes para garantir o adequado desenvolvimento de plantas de soja, feijão-comum e feijão-caupi (ANDRADE; HAMAKAWA, 1994; HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007). Isso indica que os dados de nodulação obtidos corroboram os resultados de laboratório, onde não houve efeito deletério dos i.a. dos fungicidas sobre as estirpes BR3262, BR3267, INPA 03-11b e UFLA 03-084.

Quanto à massa seca da parte aérea, observou-se que no tratamento sem fungicidas o valor da média foi maior para o tratamento nitrogenado, seguido dos valores dos tratamentos inoculados, que foram significativamente iguais, e o controle que foi inferior a todos os tratamentos (Tabela 4). Na presença dos fungicidas, a massa seca das plantas foi igual ao tratamento sem fungicidas para todas as estirpes, muito embora em algumas situações tenha havido diferenças entre as massas na comparação dos diferentes i.a. para uma mesma estirpe (Tabela 4). Por outro lado, observou-se nos tratamentos nitrogenados que na presença dos fungicidas à base de carbendazim + thiram e carbendazim houve restrição ao desenvolvimento das plantas de forma significativa na ordem de 40% comparativamente aos tratamentos sem fungicidas.

Tabela 4 Médias da massa seca da parte aérea de plantas de feijão-caupi, obtidas no experimento de casa de vegetação com sementes tratadas com fungicidas e inoculadas com rizóbios indicados à cultura¹

Estirpes	Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)									
	Carbendazim + thiram		Carbendazim		carboxin + thiram		Fludioxonil		Sem fungicida	
Nitrogenado	1,8	ABCc	1,5	BCc	4,5	Aa	3,1	Ab	3,9	Aab
BR3262	2,6	Aa	2,6	Aa	2,9	Ba	2,5	ABa	2,3	Ba
BR3267	2,4	ABab	2,2	ABab	2,7	Ba	1,8	BCb	2,6	Bab
INPA03-11B	1,6	BCb	2,0	ABab	2,6	Ba	1,6	BCb	2,1	Bab
UFLA 03-084	1,7	ABCa	1,6	BCa	2,1	Ba	1,3	Ca	2,2	Ba
Controle	0,9	Ca	0,9	Ca	1,1	Ca	1,4	Ca	0,8	Ca

¹Médias seguidas por letras iguais maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. C.V.(%) =19,04

Os resultados de massa seca da parte aérea indicaram que os nódulos formados pelas estirpes apresentaram atividade adequada mesmo na presença dos

fungicidas, uma vez que os valores foram significativamente iguais com ou sem a presença dos mesmos para as quatro estipes. Ou seja, o efeito dos fungicidas sobre as bactérias aparentemente foi inócuo.

A nodulação de plantas oriundas de sementes tratadas com fungicidas em condições de casa de vegetação tem sido avaliada. Para *Rhizobium tropici* de feijão comum, diferentemente dos resultados encontrados no presente estudo, já foi demonstrado haver redução da nodulação de plantas inoculadas com estipes recomendadas quando as sementes foram tratadas com thiram e vitavax+thiram (ARAÚJO; ARAÚJO, 2006). Assim como observado para a sobrevivência de células em sementes, a ausência de influência negativa dos tratamentos com fungicidas na nodulação do feijão-caupi em condições de casa de vegetação indica a compatibilidade das duas tecnologias.

Nos experimentos de campo observou-se que mesmo no tratamento não inoculado e sem fungicida houve a formação de pelo menos 13 nódulos por planta mesmo na área sem histórico de cultivo (Tabela 5), indicando haver uma população de rizóbio estabelecida em ambas às áreas. Contudo, mesmo considerando haver alta população de rizóbio no solo, a estirpe BR3262, utilizada no inoculante, promoveu incremento significativo do número de nódulos na área de primeiro cultivo (Tabela 5), mas não na área já cultivada (dados não mostrados). Por outro lado, para a massa de nódulos, não foi observado aumento significativo da nodulação em nenhum dos plantios em função da inoculação, havendo massa nodular média de cerca de 100 mg por planta na área de primeiro cultivo e acima de 200 mg para a área já cultivada.

Em relação à aplicação dos fungicidas não foi observada redução da nodulação nos tratamentos não inoculados em nenhuma das áreas, indicando que não houve interferência dos i.a. sobre a população de rizóbio estabelecida no solo. Porém, quando os tratamentos foram inoculados observou-se número de nódulos significativamente inferior na presença de fludioxonil na área de primeiro, mas sem este efeito ocorrer para a massa de nódulos (Tabela 5).

Em relação à massa seca da parte aérea, a inoculação promoveu aumento da biomassa vegetal comparada ao controle na área de primeiro cultivo, mas não na área já cultivada, quando não houve aplicação de fungicidas, exceto carbendazim + thiram (Tabela 5). Quando comparou-se todos os tratamentos, não considerando o

esquema fatorial, na área de primeiro cultivo foi observado que entre os que não receberam inoculação e foram tratados com fungicidas, apenas o que recebeu carboxin + thiram proporcionou massa seca da parte aérea superior a 3g e foi significativamente igual ao tratamento com adubação nitrogenada, que promoveu cerca de 3,4 g planta⁻¹ apesar de não ter sido observadas. Diferenças significativas no experimento na área com histórico de cultivos anteriores, sendo a média de produção de massa seca superior a 4g por planta (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias de número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea de plantas de feijão-caupi, obtidas no experimento de área de primeiro ano no campo experimental Água Boa da Embrapa Roraima, Boa Vista 2012

Tratamentos	Carbendazim + thiram		Carbendazim		Carboxin + thiram		Fludioxonil		Sem fungicida	
Número de nódulos ¹										
BR3262	25	Aab	19	Ab	25	Aab	15	Ab	35	Aa
N/inoculado	25	Aa	25	Aa	23	Aa	26	Aa	13	Ba
Massa seca de nódulos ² (mg planta ⁻¹)										
BR3262	120	Aa	80	Aa	80	Aa	90	Aa	94	Aa
N/inoculado	150	Aa	90	Aa	120	Aa	80	Aa	86	Aa
Massa seca parte aérea ³ (g planta ⁻¹)										
BR3262	3,29	Aa	2,29	Ab	3,15	Aab	3,05	Aab	3,68	Aab
N/inoculado	2,13	Ab	2,83	Aab	3,07	Aa	2,35	Aab	2,26	Bab

¹CV(%) = 47,60, ²CV(%) = 57,20, ³CV(%) = 34,96

*Médias seguidas de mesmas letra maiúscula, na mesma coluna e minúscula na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste t em nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao rendimento de grãos do feijão-caupi, de uma forma geral maior, a produtividade foi obtida na área de primeiro cultivo comparada a área já cultivada. Além disso, a inoculação não promoveu aumento significativo de produtividade de grãos do feijão-caupi, embora tenham sido observados valores maiores nesses tratamentos – mais de 100 kg ha⁻¹ - em termos absolutos na comparação com o tratamento não inoculado (Figura 2A e 2B). Também não observou-se interação significativa entre as estirpes inoculadas e os fungicidas nos dois experimentos. Entretanto, quando comparados todos os tratamentos em cada experimento, observou-se na área de primeiro cultivo que o tratamento nitrogenado proporcionou rendimento de grãos superior aos tratamentos que receberam fludioxonil, muito

embora o rendimento destes tratamentos tenha sido significativamente igual ao inoculado com a estirpe BR3262 e sem a aplicação do fungicida (Figura 2A).

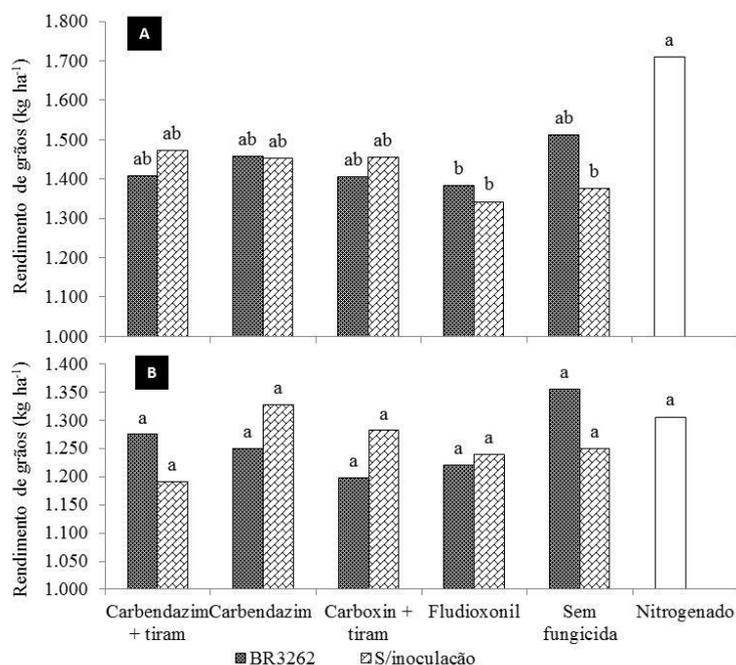


Figura 2 – Rendimento de grãos do feijão-caupi em experimentos conduzidos no Campo Experimental Água Boa da Embrapa Roraima avaliando o tratamento de sementes com diferentes formulações fungicidas e inoculação de sementes com a estirpe de rizóbio BR3262. A – área de primeiro cultivo e B. área com histórico anterior de cultivo. Médias seguidas de mesmas letras em cada área, não diferem entre si pelo teste t ($p < 0,05$).

De uma forma geral, o rendimento médio obtido para feijão-caupi pode ser considerado satisfatório, acima de 1200 kg ha^{-1} chegando a 1700 no nitrogenado na área de primeiro cultivo (Figura 2 A e B). De fato, o rendimento do tratamento nitrogenado na área de primeiro cultivo produziu cerca de 400 kg a mais que o mesmo tratamento na área já cultivada, mesmo que a massa das plantas tenham sido maior nesta área. Provavelmente, a alta incidência de chuvas e a maior fertilidade observada na área já cultivada tenha proporcionado maior vegetação das plantas que acabou interferindo na reprodução das plantas.

Contribuições significativas da inoculação do feijão-caupi com a estirpe BR3262 vêm sendo frequentemente mostrados de forma que esta estirpe, assim como as demais recomendadas para o feijão-caupi são consideradas eficientes na FBN (GUALTER et al., 2011; ZILLI et al., 2009b). Contudo, pelo fato do feijão-caupi

nodular com diversas espécies de rizóbios nativas de solos brasileiros, também frequentemente observa-se nodulação espontânea, que é capaz de suprir as demandas de nitrogênio da cultura, como ocorreu nos experimentos de campo nesse trabalho (ZILLI et al., 2006).

Em relação ao efeito dos fungicidas sobre a cultura no campo, apesar de ter ocorrido um rendimento de grãos significativamente menor para os tratamentos com fludioxonil em comparação ao tratamento nitrogenado na área de primeiro cultivo, não detectou-se efeitos negativos pronunciados. Isso se torna mais contundente considerando que nas avaliações de laboratório não denotou-se efeito sobre a sobrevivência das células do inoculante. No ensaio na casa de vegetação não houve expressiva redução da nodulação e, no campo, nem grandes alterações pela presença dos fungicidas, tanto na nodulação quanto produção de biomassa e especialmente no rendimento de grãos (Figura 2A e 2B).

4.6. CONCLUSÃO

O tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas a base de carbendazim, carbendazim + thiram, carboxin + thiram e fludioxonil é compatível com a inoculação das estirpes BR3262, BR3267, INPA03-11B e UFLA 03-084 aplicadas em veículo turfoso.

5. ARTIGO B: EFEITO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM FUNGICIDAS NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE CINCO CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI.

RESUMO

Objetivou-se verificar o efeito de fungicidas sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas de cinco cultivares de feijão-caupi em casa de vegetação. As avaliações foram realizadas em esquema fatorial com cinco cultivares (BRS Guariba, BRS Nova-era, BRS Tumucumaque, BRS Cauamé, e BRS Xique-xique), cinco fungicidas (fludioxonil, carbendazim, carbendazim + thiram, carboxin + thiram, controle) e quatro repetições. O primeiro ensaio com sementes armazenadas por 120 dias e germinação de 85% e o segundo, utilizando sementes recém-colhidas e germinação de 95%, ambos conduzidos em casa de vegetação em vasos de plástico com 2 litros de areia. Foram avaliados a germinação, a velocidade de germinação e a massa seca da parte aérea das plântulas. Para o primeiro experimento as cultivares cauamé e a xique-xique apresentaram diferença estatística entre si para germinação quando sementes tratadas com os fungicidas vitavax+thiram e maxim respectivamente, chegando a uma redução superior a 50%. Para velocidade e a massa seca de plântula não foi observado diferenças significativas. No segundo experimento, a cultivar Nova-era apresentou uma redução significativa na germinação quando as sementes não receberam tratamento com fungicidas, superando os 25%, esta mesma cultivar apresentou velocidade de germinação reduzida sem o tratamento com fungicida, apresentando massa seca de plântulas de 0,71g. Os fungicidas vitavax+thiram e maxim reduzem a germinação de sementes de feijão-caupi das cultivares BRS Cauamé e BRS Xiquexique armazenadas por 120 dias. Sementes da cultivar BRS Nova-era de menor vigor não são influenciada pelo tratamento com fungicidas e as de maior vigor são beneficiadas pelos fungicidas derosal plus e maxim.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, Tratamento de Sementes, Vigor.

EFFECT OF TREATMENT WITH FUNGICIDE SEED GERMINATION AND EARLY GROWTH IN FIVE CULTIVARS COWPEA.

ABSTRAT

This study aimed to verify the effect of fungicides on germination and seedling development in five cultivars of cowpea in the greenhouse. The evaluations were conducted in factorial with five cultivars (BRS Guariba, New-BRS was Tumucumaque BRS, BRS Cauamé, and BRS-Xique xique), five fungicides (fludioxonil, carbendazim, carbendazim + Thiran, carboxin + thiram, control) and four replications. The first rehearsal with seeds stored for 120 days and germination of 85% and the second, using fresh seeds and germination of 95%, both conducted in a greenhouse in plastic pots with 2 liters of sand. We evaluated the germination, speed of germination and dry matter of the tops. For the first experiment and cultivars Cauamé xique-xique statistical difference between them for germination when seeds treated with fungicides + Vitavax Thiran and Maxim respectively, reaching a reduction of over 50%. For speed and seedling dry weight was not observed significant differences. In the second experiment, the cultivar-Nova was significantly reduced germination when seeds untreated with fungicides, exceeding 25%, the same cultivar showed reduced germination rate without fungicide treatment, with seedling dry weight of 0,71g. The fungicides thiram and Vitavax + maxim reduce germination of seeds of cowpea cultivars BRS and BRS Cauamé Xiquexique stored for 120 days. BRS was lower New-force are not influenced by treatment with fungicides and the most vigorous are benefited by Derosal plus fungicides and Maxim.

Keywords: *Vigna unguiculata*, Seed Treatment, Vigor.

5.3. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média). Devido ao seu valor nutritivo, o feijão-caupi é cultivado principalmente para a produção de grãos, verdes ou secos, visando o consumo humano *in natura*, na forma de conserva ou desidratado. Além disso, o caupi também é utilizado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal e, ainda, como adubação verde e proteção do solo (ANDRADE JÚNIOR, 2000).

No feijão-caupi, a composição de aminoácidos das sementes revela a presença de todos os aminoácidos essenciais (treonina, valina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, metionina, triptofano, arginina), denominados assim por não serem sintetizados no organismo de animais (GRANGEIRO et al., 2005).

No Brasil, historicamente, a produção desta cultura concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares) do país. No entanto, a cultura está conquistando espaço na região Centro-Oeste, em razão do desenvolvimento de cultivares com características que favorecem o cultivo mecanizado. O feijão-caupi contribui com 35,6 % da área plantada e 15 % da produção de feijão total (feijão-caupi + feijão-comum) no país (SILVA, 2009).

Anualmente, em média, têm sido produzidas 482 mil toneladas em 1,3 milhão de hectares. A produtividade média do feijão-caupi, no Brasil, é baixa (366 kg ha⁻¹), em função do baixo nível tecnológico adotado no cultivo. No entanto, estados como Amazonas, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso apresentam produtividades superiores a 1.000 kg ha⁻¹. O avanço da cultura na região central do Brasil propiciará incremento na produtividade média, em função, principalmente, do uso de tecnologias que possibilitam que o feijão-caupi desenvolva o potencial produtivo (SILVA, 2009).

Representa alimento básico para a população de baixa renda do Nordeste brasileiro, sendo cultivado principalmente em condições de subsistência (AMARAL; BELTRÃO; SILVA, 2005). Apresenta ciclo curto, baixa exigência hídrica e rusticidade

permitindo se desenvolver em solos de baixa fertilidade e, por meio da simbiose com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, tem a habilidade para fixar nitrogênio do ar (ANDRADE JUNIOR et al., 2003).

Dentre as condições necessárias para produção satisfatória do feijoeiro, a germinação das sementes e a formação do “stand”, número de plantas por unidade de área no campo, são as mais importantes (CARDOSO, 2004). A prática de tratamento de sementes com fungicidas vem sendo utilizada intensivamente pelos produtores, nas diversas culturas pelos benefícios imediatos e a longo prazo. Em muitos casos, e principalmente em áreas onde o plantio é anual, se faz necessário o tratamento de sementes com fungicidas para evitar a incidência de doenças presentes no solo que afetem a cultura. Os fungicidas são compostos químicos que possuem ação protetora, curativa e sistêmica (JULIATTI, 2007). O tratamento químico controla patógenos da semente, presentes no solo, fungos de armazenamento e patógenos foliares iniciais Menten e Moraes, (2010), tem apresentado grandes avanços nos últimos anos (BAUDET; PESKE, 2006).

A semente é um dos componentes essenciais para a produção agrícola. A qualidade genética da semente, associada às suas características físicas, sanitárias e fisiológicas influenciam diretamente para a planta atingir o máximo do seu potencial produtivo. O tratamento de sementes é utilizado para proteção à semente tanto no campo como no armazenamento. Associada à tecnologia de desenvolvimento de novos ingredientes ativos estão a tecnologia de formulação do mesmo e de recobrimento das sementes (JULIATTI, 2007)

A rápida expansão dos cultivos nas últimas décadas, quase sempre feita sem o mínimo cuidado fitossanitário, permitiu que a maioria dos patógenos fosse disseminada para as regiões produtoras, por meio da semente, principal veículo de disseminação e introdução em novas áreas de cultivo (HENNING et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de sementes com fungicidas na germinação e desenvolvimento de plântulas de cinco cultivares de feijão-caupi em casa de vegetação.

5.4. MATERIAL E MÉTODOS

Entre os meses de dezembro de 2010 a janeiro de 2011 foram conduzidos dois experimentos em condições controladas (28°C $65 \pm 5\%$ de umidade relativa do ar) em casa de vegetação na sede da Embrapa Roraima, localizada na BR174, Km 08, município de Boa Vista – RR.

Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em ambos os experimentos em esquema fatorial de 5×5 , constituído de cinco cultivares de feijão-caupi, (BRS Guariba, BRS Nova-era, BRS Tumucumaque, BRS Cauamé e BRS Xiquexique) e cinco fungicidas, (derosal Plus, derosal 500sc, vitavax + thiran, maxim e controle) (Tabela 6).

Tabela 6 – Produto comercial fungicida, ingrediente ativo (i.a.), concentração e dose de i.a. utilizadas no tratamento das sementes de feijão-caupi

Fungicida	Ingrediente Ativo (i.a.)	Concentração i.a.*	Dose 100 kg sementes**
Maxim	fludioxonil	25 g/L	200 mL
derosal 500sc	carbendazim	500 g/L	100 mL
derosal plus	carbendazim + thiran	150 +350 g/L	200 mL
vitavax-thiran	carboxin + thiran	200 + 200 g/L	300 mL

**Recomendação para a cultura da soja

Para a condução dos experimentos, dois lotes de sementes do feijão-caupi foram utilizadas sendo o primeiro com sementes armazenadas por 120 dias e germinação de 85%, e o segundo experimento com sementes novas obtidas logo após a colheita com germinação de 95%. O ciclo de cultivo (dias), o hábito de crescimento das plantas e a massa de 1000 sementes das cinco cultivares em estudo estão na tabela 7.

Cada tratamento foi composto por 10g de sementes de feijão-caupi, dispostas em copos plásticos de 50 mL, onde receberam os respectivos tratamentos com o fungicida conforme a dose comercial recomendada pelo fabricante para utilização em sementes de soja (tabela 6).

Tabela 7. Ciclo (dias), hábito de crescimento da planta, massa de 100 sementes (g) das cultivares BRS guariba, BRS nova-era, BRS tumucumaque, BRS cauamé e BRS xiquexique

Cultivar	Ciclo	Hábito	Massa	Referência
BRS guariba	65-70	Semi-ereto	19,5	VILARINHO, A.A. et al. (2007)
BRS nova-era	65-70	Semi-ereto	20,0	VILARINHO, A.A. et al. (2006)
BRS tumucumaque	65-70	Semi-ereto	20,5	VILARINHO, A.A. et al. (2008a)
BRS cauamé	65-70	Semi-ereto	17,2	VILARINHO, A.A. et al. (2008b)
BRS xiquexique	65-75	Semi-prostrado	16,5	VILARINHO, A.A. et al. (2008c)

O plantio foi realizado em vasos de plástico contendo como substrato aproximadamente dois kg de areia de textura média, semeando-se 10 sementes da cultura por vaso. A umidade do substrato foi mantida próxima da capacidade de campo (70%), adicionando-se água destilada quando necessário.

Para avaliar a velocidade e a porcentagem germinação de plântulas, foram realizadas contagens diárias do número de plântulas emergidas até o período de 7 dias após a semeadura. Com os valores obtidos, calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG) utilizando a fórmula proposta por Maguire (1962): $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ onde: G_1, G_2, G_n = número de plântulas germinadas na primeira, na segunda, e até a última contagem; e N_1, N_2, N_n = número de dias desde a primeira, segunda, até a última contagem. Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem e foi estabelecido o índice para a velocidade de germinação das sementes das cinco cultivares em areia.

Para a análise da massa de matéria seca das plântulas obtida dos tratamentos foram coletadas todas as plântulas germinadas, após a última contagem realizada aos 7 dias, acondicionando-se as mesmas em sacos de papel e levando-as para secagem em estufa com circulação de ar a 60°C, até atingir peso constante (BATAGLIA et al., 1985). Assim, as amostras de plântulas dos tratamentos tiveram a massa determinada por pesagem em balança de precisão de 0,001 g.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, pelo teste F a 5% de probabilidade com auxílio do programa Sisvar (Ferreira, 2008), e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados da avaliação prévia da qualidade fisiológica inicial das sementes de feijão-caupi, utilizadas nos dois experimentos, verificou-se para o primeiro experimento, realizado com as sementes que permaneceram armazenadas por 120 dias, que entre as cultivares analisadas nos valores obtidos para germinação de sementes não apresentaram diferença estatística. Ressaltando-se porém, que os valores de percentagem de germinação das sementes, exceto para as sementes da cultivar BRS Xiquexique (77%), atendem ao percentual de germinação de sementes de grandes culturas, como o feijão-caupi, exigido para comercialização Brasil (1992), que atualmente é de valores superiores a 80%.

Os resultados de germinação verificados, de modo geral, foram superiores aos obtidos por Santos; Correa (2011) trabalhando com sementes de genótipos de feijão-caupi (BRS Tumucumaque, BRS Cauamé, BRS Itaim e BRS Guariba e das linhagens MNC03-737F-5-1, MNC03-737F-5-4, MNC03-737F-5-9 e MNC03-737F-5-1), semeados em rolos de papel toalha tipo germitest, umedecidos com água o equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, e colocado para germinar a 25°C. O que sinaliza para sementes vigorosas.

Quanto ao vigor das sementes medido pela velocidade de germinação e massa seca de plântulas, observou-se que a cultivar BRS Guariba, diferiu das cultivares BRS Cauamé e BRS Xiquexique (Tabela 8). É conhecido que germinação seguida de rápida emergência é altamente desejável, uma vez que, as plântulas ficam menos tempo vulneráveis às condições adversas do meio, por emergirem mais rapidamente e passarem menos tempo nos estádios iniciais de desenvolvimento (SANTOS; CORREA, 2011).

A determinação da massa seca de plântulas foi realizada, tendo em vista que as amostras que expressam os maiores valores são mais vigorosas. Isso ocorre devido ao fato das sementes mais vigorosas originarem plântulas com maior taxa de crescimento, em função da maior translocação das reservas dos tecidos de armazenamento para o crescimento do eixo embrionário. As reservas de nutrientes armazenados pelas plantas nas sementes são provisões para o desenvolvimento do

embrião e estabelecimento da nova planta, perpetuando assim a espécie (LOPES, 2010).

Portanto os resultados de massa seca de plântulas verificados neste experimento refletem o potencial que cada semente tem em armazenar esses nutrientes, que pode ser relacionado com o peso de 100 sementes apresentado pelas cinco cultivares, que quando correlacionados com a massa seca de plântulas (Tabela 8) pode ser observado que quanto maior o peso das sementes (Tabela 7) maior foi à massa seca de plântulas obtida nos dois experimentos.

Tabela 8. Médias de germinação (%), velocidade de germinação (índice) e massa seca da parte aérea de plântulas (g), obtidas em sementes de cinco cultivares de feijão-caupi analisadas¹

Cultivar	Germinação	Velocidade de Germinação	Massa seca de plântulas
Experimento 1			
BRS guariba	93 a	14,6 a	1,46 a
BRS nova-era	88 a	12,0 ab	1,26 a
BRS tumucumaque	87 a	12,5 ab	1,51 a
BRS cauamé	80 a	10,1 b	0,82 b
BRS xiquexique	77 a	10,0 b	0,73 b
CV (%)	18,92	24,84	18,59
Experimento 2			
BRS guariba	97 a	40,1 a	1,46 a
BRS nova-era	91 ab	34,7 b	1,48 a
BRS tumucumaque	90 ab	33,6 b	1,41 a
BRS cauamé	91 ab	30,8 b	1,46 a
BRS xiquexique	87 b	30,3 b	0,97 b
CV (%)	9,72	14,12	20,37

(1) Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados médios de germinação obtidos no segundo experimento apresentaram porcentagem de germinação elevada para todas as cultivares, enquadrando todas as cultivares analisadas acima do percentual de germinação mínimo aceito para comercialização no Brasil. Destaque para a cultivar BRS guariba cujas sementes apresentaram 97% de germinação em média. A média de germinação obtida neste experimento está acima das médias obtidas por Teixeira; Silva; Oliveira, (2010) e Santos; Correia, (2011), que foram 80% e 90%,

respectivamente. Salientando que nestes trabalhos, os testes de germinação realizados em rolos de papel toalha tipo germitest, umedecidos com água o equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, e colocado para germinar a 25°C, no interior de germinador. O que indica condições ótimas para que as sementes germinem.

Observa-se que a cultivar BRS guariba também se destaca com velocidade de germinação de 40,1, significativamente superior as sementes das demais cultivares, resultado este que supera os valores obtidos por Santos; Correia, (2001), em que para as cultivares avaliadas, obtiveram índice de velocidade de germinação inferior a 11,09. Além disso, é bem superior ao obtido, para estas mesmas cultivares, no experimento 1, onde foram verificados índices de 10 a 14,6.

Quanto à massa seca de plântulas do segundo experimento, as médias seguem a tendência de armazenamento de nutrientes dos grãos, destacando a cultivar BRS cauamé, que apresenta massa de 1000 sementes inferior (Tabela 7) aos das cultivares BRS guariba, BRS tumucumaque e BRS nova-era, mas apresentou média de massa seca similar a estas (Tabela 8).

Avaliando os efeitos dos tratamentos com fungicidas sobre a germinação das sementes que permaneceram armazenadas (experimento 1 – Tabela 9), as cultivares BRS Guariba, BRS Tumucumaque e BRS Nova-era não apresentaram diferença significativas para os fungicidas aplicados (derosal plus, derosal 500, vitavax+thiran, maxim) e ao controle (sem aplicação de fungicidas).

Na cultivar BRS Guariba as sementes tratadas com os fungicidas derosal plus, vitavax+thiran e maxim obtiveram germinação superior ao controle, com acréscimo de até 13%, chegando a 100%. Enquanto para a cultivar BRS Cauamé o fungicida vitavax+thiran causou efeito significativo, prejudicando a germinação das sementes, chegando a 47%, resultado inverso a esse foi verificado por Oliveira; Andrade; Fraga, (1997), com sementes de feijão carioca, tratadas com o fungicida vitavax+thiran, em que obteve média de germinação de 89%. Para a mesma cultivar, os demais fungicidas aplicados apresentaram germinação superior a 80%, semelhantes ao controle.

A cultivar BRS Xiquexique quando tratada com os fungicidas maxim e vitavax+thiran apresentou média de germinação inferior as estabelecidas pela legislação brasileira como mínimo para comercialização como sementes (54% e

74%), respectivamente, demonstrando que os mesmos não devem ser utilizados para tratamento de sementes desta cultivar armazenadas por 120 dias (Tabela 9). Já, segundo Oliveira; Andrade; Fraga et al. (1997) sementes de feijão carioca contaminadas pelo fungo *R. solani*, tratadas com vitavax+thiram, apresentaram bons índices de controle do fungo e germinação de plântulas normais similares ao verificado na testemunha absoluta.

Para as determinações de vigor de sementes, índice de velocidade de germinação e massa seca de plântulas nos valores médios obtidos, não houve diferença significativa para as cultivares avaliadas tratadas com os fungicidas derosal plus, derosal 500, vitavax+thiran, maxim e controle (Tabela 9).

Tabela 9. Valores médios de germinação, velocidade de germinação e massa seca de plântulas obtidos de sementes das cinco cultivares de feijão-caupi tratadas com os quatro fungicidas - experimento 1¹

Fungicidas	BRS Guariba		BRS Tumucumaque		BRS Cauamé		BRS Nova-era		BRS Xiquexique	
	GERMINAÇÃO (%)									
derosal plus	100	a	94	a	87	a	80	a	87	ab
derosal 500	80	a	87	a	80	ab	94	a	80	ab
vitavax+thiran	100	a	93	a	47	b	87	a	74	ab
maxim	100	a	80	a	87	a	94	a	54	b
controle	87	a	80	a	100	a	87	a	94	a
VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (índice)										
derosal Plus	16,4	a	12,5	a	10,0	a	10,6	a	11,9	a
derosal 500	12,9	a	12,8	a	10,2	a	12,9	a	9,9	a
vitavax+thiran	15,8	a	13,9	a	6,6	a	10,2	a	8,5	a
maxim	15,4	a	11,3	a	11,0	a	14,1	a	7,4	a
controle	12,6	a	12,2	a	12,9	a	12,2	a	12,3	a
MASSA SECA PLÂNTULA (g)										
derosal Plus	1,84	a	1,43	a	0,95	a	1,11	a	0,92	a
derosal 500	1,10	a	1,76	a	0,82	a	1,31	a	0,80	a
vitavax+thiran	1,58	a	1,70	a	0,54	a	1,18	a	0,50	a
maxim	1,57	a	1,38	a	0,90	a	1,53	a	0,63	a
controle	1,20	a	1,28	a	0,90	a	1,20	a	0,81	a

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Para o segundo experimento (Tabela 10), utilizando sementes novas, com a qualidade de recém-colhidas, os valores de germinação e velocidade de germinação das cultivares avaliadas não apresentaram diferenças significativas quando tratadas

com os quatro fungicidas, com exceção feita para a cultivar BRS nova-era que obteve diferença significativamente inferior para o tratamento controle em relação aos fungicidas, apresentando média de germinação de 74%, considerada inferior ao permitido no Brasil, para comercialização de sementes e índice de velocidade de germinação de 28,3, este valor foi inferior aos demais quando tratados com fungicidas, porém superior dos obtidos no experimento 1 (Tabela 8).

Para massa seca de plântulas a cultivar BRS cauamé apresentou média inferior quando as sementes foram tratadas com o fungicida derosal plus (Tabela 10) em relação ao tratamento com maxim, demonstrando que o mesmo reduziu significativamente o desenvolvimento das plântulas de caupi. Para a cultivar BRS nova-era, os resultados demonstraram que o tratamento das sementes com os quatro fungicidas avaliados influenciaram positivamente no desenvolvimento das plântulas além da germinação, apresentando resultados de massa seca de plântulas superiores aos obtidos pelo tratamento controle (Tabela 10).

Tabela 10. Médias de germinação, velocidade de germinação e massa seca de plântulas obtidas nas sementes das cinco cultivares tratadas com os quatro fungicidas - experimento 2¹

Fungicidas	BRS guariba		BRS tumucumaque		BRS cauamé		BRS nova-era		BRS xiquexique	
GERMINAÇÃO (%)										
derosal plus	100	a	90	a	87	a	100	a	97	a
derosal 500	97	a	87	a	83	a	90	ab	84	a
vitavax+thiran	100	a	100	a	93	a	93	ab	84	a
Maxim	97	a	84	a	97	a	100	a	87	a
Controle	90	a	94	a	97	a	74	b	87	a
VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (índice)										
derosal Plus	40,1	a	34,7	a	28,5	a	40,2	a	33,1	a
derosal 500	40,1	a	32,8	a	29,5	a	34,4	ab	28,3	a
vitavax+thiran	38,0	a	36,4	a	30,0	a	32,9	ab	27,2	a
Maxim	42,7	a	28,6	a	32,4	a	37,5	ab	31,3	a
Controle	39,6	a	35,7	a	33,6	a	28,3	b	31,6	a
MASSA SECA PLÂNTULAS (g)										
derosal Plus	1,45	a	1,34	a	1,13	b	2,06	a	0,96	a
derosal 500	1,48	a	1,55	a	1,39	ab	1,64	a	0,94	a
vitavax+thiran	1,36	a	1,32	a	1,29	ab	1,46	a	0,88	a
Maxim	1,50	a	1,41	a	1,77	a	1,53	a	1,09	a
Controle	1,50	a	1,41	a	1,71	ab	0,71	b	0,98	a

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 1% de probabilidade.

5.6. CONCLUSÕES

Os fungicidas vitavax+thiram e maxim reduzem a germinação de sementes de feijão-caupi das cultivares BRS Cauamé e BRS Xiquexique armazenadas por 120 dias.

Sementes da cultivar BRS Nova-era de menor vigor não são influenciada pelo tratamento com fungicidas e as de maior vigor são beneficiadas pelos fungicidas derosal plus e maxim.

6. REFERÊNCIAS

AMARAL, J. A. B; BELTRÃO, N. E. M; SILVA, M. T. - **Zoneamento Agrícola do Feijão-Caupi no Nordeste Brasileiro Safra 2005/2006** - Estado da Paraíba. Comunicado Técnico 253, Campina Grande, PB.

ANDRADE JUNIOR, A. S.; SANTOS, A. A. dos; ATHAYDE SOBRINHO, C.; BASTOS, E. A.; MELO, F. de B.; VIANA, F. M. P.; FREIRE FILHO, F. R.; CARNEIRO, J. da S.; ROCHA, M. de M.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S. da; RIBEIRO, V. Q. Cultivo de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: Embrapa-Meio Norte. **Sistema de Produção**, 2. p.110. 2003

ANDRADE JÚNIOR, A.S. de. **Viabilidade da irrigação, sob risco climático e econômico, nas microrregiões de Teresina e Litoral Piauiense**. Tese (Doutorado) – ESALQ, Piracicaba. P.566. 2000.

ANDRADE, D.S.; HAMAKAWA, P.J. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio no solo e em inoculantes por infecção em plantas. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., eds. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, Embrapa-SPI, p.63-94. 1994.

ARAUJO, A. S. F.; ARAUJO, R. S. . Sobrevivência e nodulação do *Rhizobium tropici* em sementes de feijão tratadas com fungicidas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 973-976, 2006.

ATHAYDE SOBRINHO, C. **Patossistema caupi x *Macrophomina phaseolina*: método de detecção em sementes, esporulação e controle do patógeno**. Piracicaba, SP, Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, ESALQ/USP. 2004.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônomo, (Boletim Técnico, 78). p. 48.1985.

BAUDET, L.; PESKE, S.T. A logística do tratamento de sementes. **Revista Seed news**, n.1, ano X, 2006.

BIGATON, D.; ARRUDA BACCHI, L.M.; MERCANTE, F.M. et al. **Fungicidas aplicados em tratamento de sementes de soja e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio**. 2004. [S.l.:S.N.].

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: **MARA/SNDA/DNDV/CLV**, p.365. 1992.

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. Seção 1, p.3-7. 2011.

BUENO, C.J. ; MEYER, M.C. ; SOUZA, N.L. . Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 e Semia 5079) e na nodulação da soja. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, p. 231-235, 2003.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Efeito do Tratamento de Sementes de Soja com Fungicidas na Nodulação e Fixação Simbiótica do N₂**. SSG da Embrapa Soja, p.4. 1999.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATORIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRICOLA (RELARE), 2006, Londrina. **ANAIS**. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja. Documentos, 290). p.89-123. 2007.

CARDOSO, V. J. M. Germinação. In: KERBAUY, G.B., **Fisiologia Vegetal**, Guanabara-Koogan. Cap. 17, p. 386-407. 2004.

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.

COSTA, J. V.T.;LIRA JUNIOR, M.A.;FERREIRA, R.L.C.; STAMFORD, N.P.; SILVA ARAÚJO F.A. Desenvolvimento de nódulos e plantas de caupi (*vigna unguiculata*) por métodos destrutivo e não destrutivo. **Caatinga**, v.19, n.1, p.11-19. 2006.

EADY, R. R.; POSTGATE, J. R. Nitrogenase. **Nature**, n. 249, p. 805-810, 1974.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA — EMBRAPA. Manual de métodos de análises de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, p. 212, 1997.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and Agricultural commodities production. 2009.**

FERGUSON, S. J. Nitrogen cycle enzymology. Curr. Opin. **Chem. Biol.** n. 2, p. 182-193, 1998.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V.M. **Algumas Limitações à Fixação Biológica de Nitrogênio em Leguminosas**. Embrapa-CNPAB, (Série documentos nº 252). 2008.

FERNANDES JÚNIOR, P.I. ; SILVA JÚNIOR, E.B. ; SILVA JÚNIOR, S. ; SANTOS, C.E.R.S. ; OLIVEIRA, P.J. ; 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.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

FILGUEIRAS, G.C.; SANTOS, M.A.S DOS; HOMMA, A.K.O.; REBELLO, F.K.; CRAVO, M. DA S. **Aspectos socioeconômicos**. In ZILLI, J.E.; VILARINHO, A.A.; ALVES, J.M.A. A cultura do feijão-caupi na Amazônia brasileira. Boa Vista, RR: EMBRAPA RORAIMA, 356P. 2009. In: ZILLI, J.E.; VILARINHO, A.A. & ALVES, J.M.A., eds. A cultura do feijão-caupi na Amazônia Brasileira. Boa Vista, Embrapa Roraima, 2009. p.185-221.

FRANCISCO, F.G. **Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão, com diferentes graus de umidade, em armazenamento hermético a temperaturas constantes**. 2001. P.58. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola da Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas), Campinas, Fevereiro, 2001.

FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A. de A.; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.519. 2005.

FREITAS, A. C. R.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G. R. **Aumenta a produtividade do feijão-caupi na região Pré-Amazônia com a inoculação com rizóbios.. In: Portal do Agronegócio, Embrapa Agrobiologia, 2008 In.: www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/artigos/produtividade-feijao-caupi.html. Acessado em: 20/07/2010**

FROTA, A.B.; PEREIRA, P.R. Caracterização da produção de feijão caupi na região Meio-Norte do Brasil. In: CARDOSO, M.J. (Org.). **A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, cap. 1, p.9-45. 2000.

FURLAN, S.H.; GOULART, A.C.P. **Evolução do tratamento de sementes: o caso da ferrugem asiática**. 2008. [S.l.:S.N.].

GRANGEIRO, T. B.; CASTELLÓN, R. E. R.; ARAÚJO, F. M. M. C. de; SILVA, S. M. de S. e; FREIRE, E. de A.; CAJAZEIRAS, J. B.; AMARAL NETO, M.; GRANGEIRO, M. B.; CAVADA, B. S. **Composição bioquímica da semente**. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Eds.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 338-365. 2005.

GUALTER, R.M.R.; BODDEY, R.M.; RUMJANEK, N.G.; REIS DE FREITAS, A.C.; XAVIER,G.R. Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em feijão-caupi cultivado na região da Pré-Amazônia maranhense. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.46, n.3, p.303-308, mar. 2011.

HENNING, A.A.; FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; LORINI, I. Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La niña”. Londrina: **Informativo ABRATES**, v.20, n.1/2, 2010, p. 55-61.

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, (Documentos, 283). p.80. 2007.

JULIATTI, F.C. **Modo de ação dos fungicidas sobre plantas e fungos**. Disponível em: <<http://ppi-ppic-ipi.org/ppiweb/pbrasil.nsf>>. Acesso em: 15 jun. 2007.

KIM, J.; REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry**, n. 33, p. 389-397, 1994.

LACERDA, A.M.; MOREIRA, F.M.S.; ANDRADE, M.J.B.; SOARES, A. L.L. Yield and nodulation of cowpea inoculated with selected strains. **Revista Ceres**, Viçosa, v.51, p.76-82, 2004.

LOPES, L.S. **Efeito ambiental sobre a reserva protéica e capacidade de hidratação em sementes de feijão-caupi**. Fortaleza, 2010. 59 f. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2010.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-177, 1962.

MARQUES, R.O.; ALVES, V.M.; LIMA, M.L.P. et al. Avaliação sanitária e fisiológica de feijão oriundos de Unaí – MG, Paracatu-MG e Cristalina- GO. **Summa Phytopathologica**, v.32, p.44. 2006.

MARTINS, L.M.V. **Características ecológicas e fisiológicas de rizóbio que nodula caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) isolados a partir de solos da região Nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. p.213.1996.

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.

MELO, R.B.; FARIA, S.M. **Compatibilidade de bactérias fixadoras de nitrogênio, rizóbio, com espécies da família leguminosae**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 3p. (comunicado técnico, N°27). 1998.

MELO, S.R.; ZILLI, J.É. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.9, p.1177-1183, set. 2009

MENEZES, A. C. de S. G.; ZILLI, J. E.; VILARINHO, A. A.; GALVÃO A.; MESSIAS, O. I.; MELO, V. F. **Importância sócio-econômica e condições de cultivo do feijão-caupi em Roraima**. EMBRAPA-Roraima. 2007. In: WORKSHOP Sobre a Cultura do Feijão-caupi em Roraima. Documentos 04.

MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. Londrina: **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p. 52-53. 2010.

MIRANDA, T. R.; SOUZA, F.A.; efeito do tratamento com fungicida thiabendazol na germinação de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 02, nº 1, p.35-42, 1980.

MONTEIRO, R. T. R.;BARAIBAR, A.; TSAI, S. M. et al. Sobrevivência de *Rizobium leguminosarum* bv *phaseoli* em sementes tratadas com fungicidas. **Revista de Microbiologia**,v.21, p.55-59. 1990.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**, 2 a ed. Lavras; UFLA, p.729. 2006.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soybean and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.889-895, 1997.

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.

OLIVEIRA, J.A.; ANDRADE, M. J.B FRAGA, A.C. Eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de feijão (*phaseolus vulgaris* L.) Para o controle da podridão radicular causada por *rhizoctonia solani* kuhn. **Revista Brasileira de Sementes**,.vol. 19, no 1, p. 91-95. 1997.

PEREIRA BRITO, M.M.; MURAOKA, T.; CABRAL DA SILVA, E. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão e caupi. *Bragantia*, Campinas, v. 70, n. 1, p.206-215, 2011

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@mbiente On-line**, v. 4, p. 62-66, 2010.

ROCHA, M.R.; COSTA, G.O.; FILHO, N.A.P.; et al. Eficiência de fungicidas para o tratamento de sementes de soja (*Glicine max*).**Pesquisa Agropecuária tropical**. v.27 p. 35-42. 1997.

RODRIGUES, A.A.C.; MENEZES, M. Detecção de fungos endolíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n. 5, p.532-537. 2002.

SANTOS, A.; CORREA, A.M. avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi de porte ereto e semi-ereto produzidas em aquidauana- ms. **Periodicos.uems.br**, 2011.

SILVA, Kaesel.J.D. **Estatística da produção de feijão-caupi**. 2009. [S.l.:S.N.].

SINGH,B.B.;EHLERS, J.D.;SHARMA, B; FREIRE FILHO, F.R. **Recent progress in cowpea breeding**. In: FATOKUN, C.A.;TARAWALI, S.A.; SINGH, B.B.; KORMAWA, P.M.; TAMO, M. (Ed.). Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. Ibadan; IITA, p.287-300. 2002.

SINHA, A.; SINGH, S.K.; QAISAR, J. Seed mycoflora of French bean and its control by means of fungicides. **Tropenlandwirt. Witzenhausen**, v.11, n.1, p.59-67. 1999.

SOARES, C.S. Eficiência de estirpes de rizóbio no rendimento e qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Areia. **UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**. p.110. 2007.

SULEIMAN, K. **Tratamento de sementes de soja com fungicidas: eficácia e baixo custo**. Embrapa imprensa, 08 set. 2009. Disponível em: <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2009/setembro/2a-semana/tratamento-de-sementes-de-soja-com-fungicidas-eficacia-e-baixo-custo>. Acesso em: 02 jul. 2012.

TAIZ, L. ZEIGER, E.. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Eliane Romano Santarém. [et al.] – 3.ed. – Porto Alegre: Artmed, p.719. 2004.

TEIXEIRA, I.R.; SILVA, G.C.; OLIVEIRA, J.P.R. Desempenho agrônômico e qualidade de sementes de cultivares de feijão-caupi na região do cerrado. **Revista ciência agrônômica**. abr-jun, v. 41, n. 2, p. 300-307. 2010.

TEMPRANO, F.J.; ALBAREDA, M.; CAMACHO, M.; DAZA, A.; SANTAMARIA, C.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D.N. Survival of several *Rhizobium/Bradyrhizobium* strains on different inoculant formulations and inoculated seeds. **Int. Microbiol.** V. 5, p. 81-86. 2002.

TORRES, S.B.; BRINGEL, J.M.M. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão macassar. **Caatinga**, Mossoró, v.18, n.2, p.88-92. 2005.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2 ed. Campinas: UNICAMP,NEPA,2006.P.50-51.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; CALDAS, M.T. Comportamento do feijão-fradinho na primavera-verão na zona da mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.7, p.1359-1365. 2000.

VILARINHO, A. A. *et al.* **BRS Xiquexique: Cultivar de Feijão-Caupi Rica em Ferro e Zinco para Cultivo em Roraima**. Boa Vista, 2008c. p.5 (Comunicado Técnico, 16.).

VILARINHO, A. A. *et al.* **Cultivar de Feijão-Caupi BRS Cauamé: Nova Cultivar para Roraima. Boa Vista, 2008b. p.5** (Comunicado Técnico, 15.).

VILARINHO, A. A. *et al.* **Cultivar de Feijão-Caupi BRS Tumucumaque: Nova Cultivar para Roraima. Boa Vista, 2008a. p.5** (Comunicado Técnico, 19.).

VILARINHO, A. A. *et al.* Recomendação do Cultivar de Feijão caupi BRS Novaera para Cultivo em Roraima. Boa Vista, 2006. p.5 (Comunicado Técnico, 215.).

VILARINHO, A.A. **BRS Guariba – cultivar de feijão-caupi de alto desempenho em Roraima.** 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_4/Guariba/index.htm>. Acesso em: 12/4/2012.

VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. **Oxford, Blackwell Scientific**, p.164. 1970.

XAVIER, T.F.; ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; CAMPOS, F.L. Inoculação e adubação nitrogenada sobre a nodulação e a produtividade de grãos de feijão-caupi, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.2037-2041, out, 2008.

ZILLI, J. E.; FERREIRA, E. P. B.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Efficiency of fast-growing rhizobia capable of nodulating cowpea. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.71, p. 553-560, 1999.

ZILLI, J. É.; RIBEIRO, K.G.; CAMPO, R. J. *et al.* Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira Ciência Solo**. v.33, p.917-923. 2009a.

ZILLI, J.E.; XAVIER, G.R.; MOREIRA, F.M.S. ; *et al.* Fixação biológica de nitrogênio. In: Jerri Edson Zilli; Aloisio Alcantara Vilarinho; José Maria Arcanjo Alves. (Org.). **A Cultura do Feijão-Caupi na Amazônia Brasileira**. Boa Vista: Embrapa Roraima,p. 185-221. 2009b.

ZILLI, J.E.; XAVIER, R.G.; RUMJANEK, N.G. Signalling specificity of rhizobia isolated from nodules of Phaseoleae and Indigofereae tribes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.70, p.743-750, 1998.

ZILLI, J.E.; MARSON, L.C; XAVIER, G.R. **Avaliação de estirpes de Rizóbios para a cultura do feijão Caupi em Roraima.** Embrapa/RR Circular Técnico 01, p.2-4. Dezembro de 2006.

ZILLI, J. É.; SILVA NETO, M. L.DA ; FRANÇA JÚNIOR, I.; PERIN, L.; MELO, A. R.DE . Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de Bradyrhizobium recomendadas para a soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** (Impresso), v. 35, p. 739-742, 2011.

APÊNDICE

Tabela 14. Valores de quadrado médios e significância estatística para percentagem de germinação, velocidade de germinação e massa seca de plântulas, obtidos na análise de variância realizada para sementes de cinco cultivares de feijão-caupi tratadas com quatro fungicidas e um controle. Boa Vista, RR – 2012

Fonte de Variação	Germinação	Velocidade Germinação	Massa seca plântulas
EXPERIMENTO 1			
Cultivar	618,6666 ^{ns}	0,5403 ^{**}	1,9581 ^{**}
Fungicida	258,6666 ^{ns}	0,0473 ^{ns}	0,0742 ^{ns}
Repetição	581,3333 ^{ns}	0,0966 ^{ns}	0,1489 ^{ns}
Cultivar*Fungicida	535,3333 [*]	0,1108 ^{ns}	0,1452 ^{ns}
Erro	259,1111 ^{ns}	0,0871 ^{ns}	0,1632 ^{ns}
EXPERIMENTO 2			
Cultivar	168,0000 ^{ns}	2,3083 ^{**}	0,7153 ^{**}
Fungicida	158,0000 ^{ns}	0,1585 ^{ns}	0,1201 ^{ns}
Repetição	69,3333 ^{ns}	0,1673 ^{ns}	0,0272 ^{ns}
Cultivar *Fungicida	143,8333 [*]	0,2867 ^{ns}	0,2214 ^{**}
Erro	79,0555 ^{ns}	0,2298 ^{ns}	0,0765 ^{ns}

* - significativo a 5% de probabilidade

** - significativo a 1% de probabilidade

^{ns} - não significativo

ANEXOS

Solução de nutritiva utilizada no presente estudo (NORRIS; T'MANNETJE, 1964)
(modificada)

Reagente	Quantidade	Preparo da solução estoque
K_2HPO_4	1ml	Solução 1M (87,1g em 0,5L de água destilada esterilizada)
KCL	1ml	Solução 1M (37,26g em 0,5L de água destilada esterilizada)
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1ml	Solução 1M (123,23g em 0,5L de água destilada esterilizada)
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,344g	
Solução de micronutrientes para a solução de Norris	0,5ml	H_3BO_3 ...1,43g; $MnSO_4 \cdot H_2O$...2,03g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$...0,22g; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$...0,08g; $(NH_4)_6Mo_7O_2 \cdot 4H_2O$...0,01g; Completar o volume para 1L com água destilada esterilizada
Solução de Fe para a Solução de Norris	0,5ml	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$...5g; Ácido cítrico... 5g; Completar o volume para 1L com água destilada esterilizada
Água destilada esterilizada	Completar o volume de 2L	

Meio de cultura YMA

Solução 1000 ml

Reagentes	Fórmula	Quantidade
Fosfato de Potássio	K_2HPO_4	0,5gr
Sulfato de Magnésio Heptahidratado	$MnSo_4.H_2O$	0,2gr
Cloreto de Sódio	Na Cl	0,1gr
Manitol	-	10gr
Extrato de Levedura	-	0,4gr
Azul de Bromotimol 0,5%	-	5ml
Água destilada	H_2O	1000ml
Agrar	-	15gr

Ajustar PH para 6,8 a 7,0 com solução 10% de (NaOH ou HCl).