

XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

Sanidade de sementes de feijão-caupi produzidas no cerrado de Roraima em experimento de inoculação de estirpes fixadoras de nitrogênio ⁽¹⁾.

Taise Pereira da Silva ⁽²⁾; Hyanameyka Evangelista Lima-Primo ⁽³⁾, Eliane do Nascimento Cunha Farias ⁽⁴⁾, Kelly Naiane Andrade Costa ⁽⁵⁾; Krisle da Silva ⁽⁶⁾, Ezequiel Souza Queiroz ⁽⁷⁾

- (1) Trabalho executado com recursos de Macroprograma 02 (02.14.01.006.00.02.006) da Embrapa.
- (2) Estudante do curso de Agronomia – Universidade Federal de Roraima-UFRR, Campus Cauamé, Monte Cristo, Boa Vista/RR. E-mail: taise_pereira19@hotmail.com.
- (3) Pesquisadora em Fitopatologia, Embrapa Roraima - CPAF-RR, Boa Vista/RR. E-mail: hyanameyka.lima@embrapa.com;
- (4) Técnica do laboratório de Microbiologia do solo, Embrapa Roraima - CPAF-RR, Boa Vista/RR. E-mail: eliane.farias@embrapa.com;
- (5) Estudante de Agronomia, Faculdade Roraimense de Ensino Superior-FARES, Boa Vista/RR. E-mail: keellynaiane@gmail.com;
- (6) Pesquisadora em Microbiologia do solo, Embrapa Florestas, Curitiba/PR. E-mail: krisle.silva@embrapa.com
- (7) Assistentes de documentação e pesquisa de projeto, ALIDCIRR/ Embrapa Roraima, Boa Vista/RR. E-mail: ezequielqueirozezq@gmail.com

RESUMO: A utilização de sementes de alta qualidade é um fator determinante para o sucesso de qualquer cultura. Além disso, as sementes são a principal via de transporte de patógenos sendo necessária a utilização de sementes de qualidade. Neste trabalho objetivou-se identificar os fungos associados às sementes de feijão-caupi produzidas no cerrado de Roraima, provenientes de experimento de inoculação com estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio. A cultivar BRS Guariba foi produzida no período de junho a outubro de 2016 no Campo Experimental Água Boa, Boa Vista/RR, pertencente a Embrapa Roraima. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro blocos e 11 tratamentos, sendo 09 tratamentos inoculando diferentes estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio, 01 tratamento sem inoculante e 01 sem inoculante e com adição de 50 kg de N mineral. As sementes foram colhidas em outubro de 2016, trilhadas, sendo realizada a retirada das impurezas para armazenamento em sacos de papel Kraft, em câmaras à 23 ± 3 °C, com UR de $60 \pm 5\%$ durante dois meses. Para a detecção dos fungos nas sementes dos 11 tratamentos, adotou-se o método de “bloter test” em caixas gerbox, com 16 repetições de 25 sementes cada, totalizando 400 sementes analisadas para cada tratamento, utilizando-se uma folha de papel de filtro previamente esterilizada e embebida em solução de 2,4-D, a 0,1%, mantidas em BOD a 25 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas. Foram identificados 10 espécies fúngicas associadas às sementes de feijão-caupi. Os fungos que apresentaram maior incidência foram *Macrophomina phaseolina* e *Aspergillus flavus*.

Termos de indexação: *Vigna unguiculata*, patologia de sementes, fixação de nitrogênio.

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

INTRODUÇÃO

O cultivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das culturas que apresenta grande potencial produtivo para o estado de Roraima, tendo em vista que é uma planta rústica, apresenta elevada capacidade de fixação biológica de nitrogênio atmosférico e se adapta bem aos solos de baixa fertilidade natural da região (Vilarinho, 2010).

A produtividade de feijão, no Brasil, pode ser considerada extremamente baixa, cerca de 900 kg ha⁻¹ (Conab 2014), não refletindo o potencial de rendimento das atuais cultivar recomendadas, que é superior a 2.000 kg ha⁻¹. Dentre os fatores que podem estar contribuindo para essa realidade estão o cultivo em locais de baixa fertilidade dos solos; o baixo uso de insumos (Barbosa Filho et al. 2005), resultando em inadequada nutrição mineral da cultura (Binotti et al. 2009, Biscaro et al. 2011); e, provavelmente, a incipiência no uso da fixação biológica de nitrogênio (FBN), por meio da técnica de inoculação. Apesar do aumento na produtividade resultante do uso intensivo desses insumos, essa prática requer alta energia e gera custos ambientais. Sendo assim, torna-se necessária a busca por métodos alternativos para melhoria da fertilidade do solo e manejo de insetos e doenças (Gopalakrishnan et al. 2014). Os solos de regiões tropicais, geralmente, são deficientes em nitrogênio (N), devido aos baixos teores de matéria orgânica, sendo considerado esse um dos fatores limitantes à produção agrícola (Souza & Moreira 2011, Silva et al. 2012). Em contrapartida, fontes alternativas de nitrogênio estão disponíveis, como, por exemplo, a FBN.

Para Gaspar e Nakagawa (2002), a semente é um insumo indispensável na produção agrícola, pois desempenha importante papel para o aumento quantitativo e qualitativo de produtividade, sendo assim, a utilização de sementes de alta qualidade é um fator determinante para o sucesso de qualquer cultura. Além disso, as sementes são a principal via de transporte de patógenos, sendo necessária a utilização de sementes de qualidade e livre de patógenos ou com baixos níveis de infestação e ou infecção por patógenos que não causem danos econômicos ao produtor.

Neste trabalho objetivou-se identificar os fungos associados às sementes de feijão-caupi produzidas no cerrado de Roraima, provenientes de plantas cultivadas em experimento de inoculação com 09 estirpes de bactérias fixadoras de nitrogênio.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de feijão-caupi da cultivar BRS Guariba foram produzidas no período de junho a outubro de 2016 no Campo Experimental Água Boa, localizado no município de Boa Vista/RR, pertencente a Embrapa Roraima. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro blocos e 11 tratamentos, tais como: T1= sem inoculação e sem adição de N mineral; T2= sem inoculação e com adição de 50 kg de N mineral (parcelado metade no plantio e o restante aos 25 dias); T3= inoculação com estirpe BR 3262; T4= inoculação com estirpe BR3267; T5= inoculação com estirpe ERR 510; T6= inoculação com estirpe ERR 42; T7= inoculação com estirpe BR 3296; T8= inoculação com estirpe BR 110015; T9= inoculação com estirpe BR 3215; T10= inoculação com estirpe BR 3251 e T11= inoculação com estirpe BR 3299. As estirpes ERR 510 e ERR 42 foram isoladas em Roraima, no campo experimental do Água Boa e no município de Alto Alegre, respectivamente. As demais estirpes foram isoladas da cultura feijão-caupi em outros Estados, e pertencem ao CRB-Johanna Döberiner, que foram fornecidas pela Embrapa Agrobiologia. A área do plantio foi corrigida com 1200 kg ha⁻¹ de superfosfato simples e 25 kg ha⁻¹ de FTE BR 12. A adubação de plantio correspondente a 80 kg⁻¹ de P2O5 e 60 kg⁻¹ de K2O. As sementes foram colhidas em outubro de 2016, trilhadas, sendo realizada a retirada das impurezas e enviadas ao laboratório de Microbiologia do solo da Embrapa Roraima para armazenamento em sacos de papel Kraft, em câmaras à 23 ± 3 °C, com UR de 60 ± 5% durante dois meses. Após este período, as amostras de sementes foram enviadas ao laboratório de fitopatologia, para realização do teste de

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

sanidade e identificação de fungos associados às sementes de feijão-caupi. Para a detecção dos fungos nas sementes adotou-se o método de “bloter test” em caixas gerbox, com 16 repetições de 25 sementes cada, com 11 tratamentos, totalizando 400 sementes analisadas para cada tratamento. As sementes foram colocadas individualmente com auxílio de uma pinça esterilizada por flambagem em caixas gerbox (caixas 11x 11 x 3,5 cm), previamente desinfetadas com álcool a 70%, contendo no seu interior, uma folha de papel filtro para gerbox umedecido em água destilada e esterilizada. Junto à água foi adicionado 2,4 D na proporção de 0,01% para inibir a germinação das sementes de feijão-caupi. Após um período de incubação de sete dias, à temperatura de 25°C±2, sob regime de luz fluorescente de 40 watts, em alternância de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, foi efetuada a contagem das espécies fúngicas e sua respectiva identificação, conforme Neeargaard (1979). As sementes foram analisadas individualmente em microscópio estereoscópico (lupa). Quando não foi possível realizar a identificação, foram retiradas estruturas fúngicas das sementes contaminadas e feitas lâminas para serem examinadas ao microscópio óptico multifocal. As lâminas foram montadas pelo processo de pescagem direta que consiste na raspagem das sementes contaminadas com o uso de estiletos (feitos com agulha de costura fina). O estilete foi previamente esterilizado pelo processo de flambagem. O material retirado da semente foi colocado em lâminas de vidro onde foi sobreposta uma lamínula contendo água estéril. Após a lâmina montada, foi levada ao microscópio óptico onde a visualização foi primeiramente feita na lente objetiva de aumento quatro vezes (4x), depois na lente de dez vezes (10x), vinte vezes (20x) e quarenta vezes (40x) até a identificação da espécie fúngica, onde as imagens visualizadas foram comparadas com as figuras e/ou fotos com gêneros de fungos (Reis Casa, 1998). Sendo os resultados expressos em porcentagem, os quais foram submetidos à análise de variância, sendo os dados qualitativos comparados pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 4400 sementes de feijão-caupi analisadas nos 11 tratamentos, foram identificados 10 gênero diferentes de fungos (Tabela 1), onde os que apresentaram maior incidência foram os fungos *Macrophomina phaseolina* e *Aspergillus flavus*. Já os fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Alternaria alternata*, *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Rizopus* sp., *Phomopsis* sp. e *Phoma* sp. apresentaram baixa incidência. Os fungos *M. Phaseolina* e *Fusarium* sp., são os agentes causais predominantes de podridões radiculares de feijoeiro comum, enquanto *Alternaria alternata* e *Colletotrichum* sp. são os causadores de mancha foliares em campo.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos para a incidência dos fungos *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum* sp., *Rhizopus* sp. e *Phoma* sp. quando comparados pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. Tais resultados demonstraram que independente da estirpe de bactérias fixadoras de nitrogênio utilizada a incidência de fungos detectados nas sementes de feijão-caupi não apresentou diferença com relação aos tratamentos que não utilizaram inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio (T1 e T2), comprovando que não há influência destas estirpes testadas sobre estes fungos detectados nas sementes do presente trabalho. Entretanto, para os fungos *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Macrophomina phaseolina* e *Phomopsis* sp. houve diferença significativa (Tabela1).

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

Tabela 1. Valores médios (%) da incidência de fungos associados às sementes de feijão-caupi cv. BRS Guariba produzidas no campo experimental Água Boa da Embrapa Roraima, Boa Vista, RR, Brasil, 2016.

Trat	Feijão-caupi									
	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>Rhizopus sp.</i>	<i>Phomopsis sp.</i>	<i>Phoma sp.</i>
T1	4,5 ab	1,1 a	1,2 ab	1,3 a	1,0 a	2,1 abc	10,4 ab	1,9 a	1,4 ab	2,0 a
T2	5,2 ab	1,1 a	1,4 ab	1,4 a	1,0 a	2,7 a	6,5 c	1,6 a	1,1 ab	1,9 a
T3	4,5 ab	1,4 a	1,6 a	1,3 a	1,1 a	1,9 abc	8,4 bc	1,6 a	1,5 a	1,4 a
T4	5,1 ab	1,0 a	1,2 ab	1,5 a	1,0 a	1,5 bc	10,2 ab	2,3 a	1,0 c	1,5 a
T5	2,4 b	1,0 a	1,3 ab	1,2 a	1,1 a	1,1 c	12,3 a	1,0 a	1,3ab	2,1 a
T6	5,6 ab	1,2 a	1,2 ab	1,3 a	1,1 a	1,5 bc	8,1 bc	1,9 a	1,3 ab	2,0 a
T7	3,6 ab	1,0 a	1,1 ab	1,4 a	1,0 a	1,7 abc	10,8 ab	2,5 a	1,0 c	1,9 a
T8	5,3 ab	1,4 a	1,0 b	1,6 a	1,0 a	1,4 bc	8,8 bc	1,9 a	1,0 c	1,5 a
T9	5,9 ab	1,2 a	1,0 b	1,2 a	1,0 a	1,3 c	10,9 ab	1,6 a	1,1 ab	1,8 a
T10	3,0 ab	1,2 a	1,2 ab	1,1 a	1,1 a	2,4 ab	8,9 bc	1,6 a	1,1 ab	2,3 a
T11	6,35 a	1,1 a	1,2 ab	1,1 a	1,0 a	1,5 bc	11,0 ab	1,3 a	1,0 c	1,4 a
Média	4,73	1,18	1,25	1,33	1,06	55,65	9,68	1,78	1,18	1,85
CV (%)	71,33	47,22	46,28	60,55	29,04	1,75	32,77	105,46	43,68	61,12

Trat= Tratamentos T1= sem inoculação e sem adição de N mineral; T2= sem inoculação e com adição de 50 kg de N mineral (parcelado metade no plantio e o restante aos 25 dias); T3= inoculação com estirpe BR 3262; T4= inoculação com estirpe BR3267; T5= inoculação com estirpe ERR 510; T6= inoculação com estirpe ERR 42; T7= inoculação com estirpe BR 3296; T8= inoculação com estirpe BR 110015; T9= inoculação com estirpe BR 3215; T10= inoculação com estirpe BR 3251 e T11= inoculação com estirpe BR 3299. *médias seguidas de mesma letra na coluna pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott, não diferindo ao nível de 5% de probabilidade.

A incidência do fungo *Aspergillus flavus* variou entre os tratamentos, havendo maior incidência deste fungo nas sementes provenientes do T11, que não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, exceto do T5, que foi o tratamento que apresentou a menor incidência deste fungo nas sementes. Os fungos do gênero *Aspergillus* não são patogênicos à cultura do feijão-caupi em campo, mas são considerados fungos importantes na fase de armazenamento e o mais comum na deterioração de alimentos, podendo causar prejuízos, pois, segundo Torres e Bringel (2005), os mesmos podem causar danos como redução de germinação, aumento da taxa de ácidos graxos, descoloração da semente, alterações bioquímicas, produção de toxinas prejudiciais ao homem e outros animais e redução do peso seco da semente, sendo importante evitar o desenvolvimento destes fungos nas sementes. Assim, os resultados apresentados pelo T5 são de extrema importância, pois a estirpe ERR 510 que foi isolada em Roraima reduziu a sobrevivência do fungo *Aspergillus flavus* nas sementes de feijão-caupi no presente trabalho. Este fungo é uma das espécies mais importantes do gênero, devido à produção de aflatoxinas, que pode causar câncer em humanos e animais, sendo a redução da incidência deste fungo nas sementes um fator bastante almejado, pois o feijão-caupi é muito utilizado em culinária e é a principal fonte de proteínas para populações do Norte e Nordeste do Brasil.

Apesar da baixa incidência do fungo *Penicillium sp.* nas sementes, houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo a maior incidência observada no T3, que não diferiu de T1, T2, T4, T5,

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

T6, T7, T10 e T11 e estes não diferiram dos tratamentos T8 e T9 que foram os que apresentaram a menor incidência. Fungos de armazenamento como *Penicillium sp.* podem ser altamente prejudiciais às sementes, podendo reduzir a germinação e causar a morte do embrião, bem como o apodrecimento da semente, aquecimento da massa com a aceleração da taxa respiratória e, conseqüente, deterioração destas, além de atuar na produção de micotoxinas, algumas sendo letais ao homem e aos animais, como a aflatoxina (Carvalho & Nakagawa, 2012).

Para o fungo *Fusarium sp.* a maior incidência de fungos analisados foi no T2, que não diferiu significativamente do T1, T3, T7 e T10, os tratamentos que apresentaram a menor incidência deste fungo foram os T5 e T9, sendo T5 a estirpe ERR 510, que foi isolada do Água Boa, devendo-se investir em estudo futuros para determinar como ocorre essa interação e se essa estirpe de bactéria pode apresentar-se eficiente também na redução da incidência deste fungo em sementes de outras cultivares de feijão-caupi ou de outras culturas, bem como a avaliação da eficiência simbiótica das estirpes de bactérias testadas.

Dentre os patógenos detectados nas sementes, merece destaque o fungo *Macrophomina phaseolina*, agente causal do fungo podridão-cinzenta-do-caule, o qual pode infectar várias partes da planta de feijão-caupi, sendo responsável pela redução no estande da cultura e na sua produtividade (Athayde Sobrinho et al., 2005). No presente estudo, este fungo apresentou diferença significativa entre os tratamentos, sendo T5 o que apresentou maior incidência deste fungos nas sementes (Tabela 1). Apesar da estirpe ERR510 ter sido coletada no campo água Boa, mesmo local onde foi montado o presente experimento, esse inoculante não foi capaz de proporcionar redução na incidência de *M. phaseolina* em sementes de feijão-caupi. Acredita-se que isso ocorreu devido a esses dois microrganismos terem convivido juntos no mesmo ambiente, o que ocasionou a adaptação da sobrevivência de ambos, não havendo efeito de um sobre o outro. Entretanto, para o T2 que foi o tratamento sem inoculação e com adição de 50 kg de N mineral foi observada uma redução da incidência do fungo *M. phaseolina* diferindo significativamente dos tratamentos T1, T4, T5, T7, T9 e T11. Conforme relato de Soares et al. (2001), a atividade saprofítica de *M. phaseolina* é reduzida em solo enriquecido com Nitrogênio.

Para o fungo *Phomopsis sp.* apesar de baixa incidência deste fungo nas sementes houve diferença significativa entre os tratamentos, onde o T3 apresentou maior incidência e os T4, T7, T8 e T11 menor incidência, diferindo significativa dos demais tratamentos.

CONCLUSÕES

Os resultados indicaram a presença de dez espécies fúngicas associadas às sementes de feijão-caupi cv. BRS Guariba produzidas em condições de cerrado em Roraima.

Os fungos *Macrophomina phaseolina* e *Aspergillus flavus* apresentaram maiores incidências nas sementes de feijão-caupi produzidas em condições de cerrado em Roraima.

A inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio utilizando a estirpe ERR510 proporcionou redução da incidência de *Aspergillus flavus* nas sementes de feijão-caupi cv. BRS Guariba.

A utilização de nitrogênio reduziu a incidência de *M. phaseolina* nas sementes de feijão-caupi cv. BRS Guariba.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC e a Embrapa Roraima pelo suporte financeiro à pesquisa através do projeto Macroprograma 02 (02.14.01.006.00.02.006).

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXX CBA CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA

12 à 15
SETEMBRO DE 2017
FORTALEZA - CE

REFERÊNCIAS

ATHAYDE SOBRINHO, C.; VIANA, F. M. P.; SANTOS, A. A Doenças fúngicas e bacterianas. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. Feijão-caupi: avanços tecnológicos Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 463-484.

BARBOSA FILHO, M. P.; FAGERIA, N. K.; ZIMMERMANN, F. J. P. Atributos de fertilidade do solo e produtividade do feijoeiro e da soja influenciados pela calagem em superfície e incorporada. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 29, n. 3, p. 507-514, 2005.

BISCARO, G. A. et al. Nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar no feijoeiro irrigado cultivado em solo de Cerrado. Acta Scientiarum Agronomy, Maringá, v. 33, n. 4, p. 665-670, 2011.

BINOTTI, F. F. S. et al. Fontes, doses e modo de aplicação de nitrogênio em feijoeiro no sistema plantio direto. Bragantia, Campinas, v. 68, n. 2, p. 473-481, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5. ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). *Acompanhamento da safra brasileira de grãos*. 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia. Lavras-MG, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GASPAR, C. M.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em função do número de sementes e da quantidade de água para sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes, v. 24, n. 2, p.70-76, 2002.

GOPALAKRISHNAN, S. et al. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. 3 Biotech, Berlin, v. 5, n. 4, p. 355-377, 2014.

NEERGAARD, P. Seed Pathology. 2.ed. London, MacMillan Press, 1979.

REIS, E. M.; CASA, R. J. Patologia de Sementes de Cereais de Inverno. Passo Fundo, Ed. Aldeia Norte, 1998.

SOARES, A.C.F.; Silva, T.O.da; Cerqueira, A.V.; Lima, J.A.M. de; Lima, J.L. Adubação nitrogenada e redução da incidência da podridão cinzenta do caule em feijoeiro. Fitopatologia Brasileira, v.26 (Suplemento), p. 379. Ago. 2001.

SOUZA, P. M.; MOREIRA, F. M. S. Potencial econômico da inoculação de rizóbios em feijão-caupi na agricultura familiar: um estudo de caso. Em Extensão, Uberlândia, v. 10, n. 2, p. 37-54, 2011.

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

VILARINHO, A. A. Feijão-caupi com grãos para exportação. Melhoramento de culturas anuais. Embrapa Roraima. 2010.

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO

