



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ALLEF BARBOSA DOS SANTOS

**USO DE FUNGICIDAS SOBRE RIZÓBIOS INOCULADOS EM AMENDOIM:
CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

**CAMPINA GRANDE -PB
JUNHO DE 2019**

ALLEF BARBOSA DOS SANTOS

**USO DE FUNGICIDAS SOBRE RIZÓBIOS INOCULADOS EM AMENDOIM:
CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia agrícola

Orientador: Prof. Dr. Alberto Soares de Melo

Coorientadora: Profa. Dra. Liziane Maria de Lima

**CAMPINA GRANDE -PB
JUNHO DE 2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S237u Santos, Allef Barbosa dos.]

Uso de fungicidas sobre rizóbios inoculados em amendoim [manuscrito] : crescimento, nodulação e fixação biológica de nitrogênio / Allef Barbosa dos Santos. - 2019.

38 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.

"Orientação : Prof. Dr. Alberto Soares de Melo ,
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."

"Coorientação: Profa. Dra. Liziane Maria de Lima ,
Embrapa Algodão"

1. Fungicidas . 2. Tratamento químico. 3. Cultura do amendoim. 4. Bradyrhizobium. I. Título

21. ed. CDD 579

ALLEF BARBOSA DOS SANTOS

**USO DE FUNGICIDAS SOBRE RIZÓBIOS INOCULADOS EM AMENDOIM:
CRESCIMENTO, NODULAÇÃO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia agrícola

Aprovado em: ___/___/_____

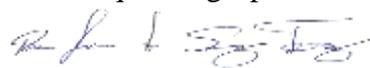
BANCA EXAMINADORA



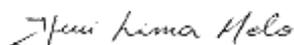
Prof. Dr. Alberto Soares de Melo (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Liziane Maria de Lima (Coorientadora)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Algodão)



Prof. Dr. Rener Luciano de Souza Ferraz
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Yuri Lima Melo
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maria Rosa e Nivaldo Barbosa,
pelo amor e apoio incondicional,
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo Dom da vida, e por me iluminar durante toda a minha trajetória acadêmica, me dando sabedoria e discernimento em cada passo dado.

À minha família pelo apoio afetivo, financeiro e por sempre está ao meu lado em todo o percurso.

Aos meus irmãos, Jaqueline, Janicleide, Nanão, Jairo e Nilson e meu cunhado Ronaldo pelo apoio e companheirismo.

Aos meus colegas de turma, Cleuton, Genielisson, Alexandre, Igor Martinho Omessias, Dani, Celeste, Josi e todos os demais, pelos momentos de aprendizado durante a caminhada acadêmica.

A equipe do Laboratório de Biotecnologia, por todo incentivo e por ter contribuído para minha formação profissional.

Agradeço á Sabrina, Dani, Samara, Matheus pela contribuição e auxílio na experimentação do trabalho.

A minha orientadora Dra. Liziane Maria de lima, pelos ensinamentos e orientação durante o meu percurso acadêmico, levarei para vida. Agradeço pela confiança depositada em mim e por fazer parte da minha formação como pessoa e como profissional.

Aos meus colegas de apartamento, Genyelisson e Martinho pelo companheirismo durante os 3 anos de convívio em Campina Grande.

À Embrapa Algodão, UEPB e o CNPq por me propiciar as condições necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos pesquisadores Tarcísio Marcos e o Professor: Alberto Soares pelas contribuições fornecidas.

Aos Professores da UEPB e todos que direta e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento da pesquisa.

“Acredito na intuição e na inspiração”.
Albert Einstein”

RESUMO

O tratamento químico de sementes com fungicidas é uma prática importante para o controle dos principais fitopatógenos na cultura do amendoim, evitando a perda de plantações no campo. Entretanto, é documentado que o uso destes produtos pode prejudicar bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* e inibir processos microbiológicos como a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Portanto, objetivou-se com este trabalho verificar a compatibilidade e os efeitos resultantes do tratamento de sementes de amendoim cv. BR1 com dois fungicidas da classe de produtos de contato e sistêmico, e inoculadas com estirpes de *Bradyrhizobium spp.* O experimento foi conduzido em casa de vegetação nas instalações da Embrapa Algodão, usando dois fungicidas (Vitavax Thiram^(R) e Standak Top^(R)) e uma testemunha sem fungicida, dois inoculantes a base de *Bradyrhizobium spp* (SEMIA 6144 e ESA 123) uma testemunha com fonte química nitrogenada (nitrato de amônio). Foram feitas uma e duas inoculações: Sendo uma no momento da semeadura e a segunda na semeadura e 15 dias após a emergência. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com esquema fatorial 3 (2 fungicidas e 1 sem fungicida) x 4 (2 inoculações a base de rizóbios, 1 fonte química de N e 1 sem N) x 2 (aplicações de inoculantes), com 5 repetições. Foram avaliadas a massa seca da raiz e massa seca da parte aérea, altura de plantas, nodulação e acúmulo de nitrogênio nas folhas. Os dados foram analisados por meio do programa SISVAR versão 5.6, os quais foram submetidos às análises de variância pelo teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de significância. A nodulação das plantas inoculadas com as estirpes de *Bradyrhizobium spp* foi reduzida pela aplicação de ambos os fungicidas, principalmente pelo Vitavax Thiram, com decréscimos do número e da massa de nódulos, tanto nos tratamentos com uma quanto com duas inoculações. O crescimento vegetativo foi afetado negativamente pelo Vitavax Thiram com redução na altura da planta, massa seca (raiz e parte aérea); bem como diminuição no nitrogênio nas folhas. Já para o Standak Top verificou-se incrementos superiores aos da testemunha sem fungicidas. Entre os inoculantes, SEMIA 6144 foi o mais sensível aos efeitos dos fungicidas na nodulação, e entre os fungicidas o Standak Top foi o mais compatível à inoculação com as estirpes de *Bradyrhizobium*. Em relação ao número de inoculações, observou-se maior rendimento das variáveis avaliadas com o aumento da frequência de inoculações.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium spp.* Tratamento químico de sementes. *Arachis hypogaea*.

ABSTRACT

The chemical treatment of seeds with fungicides is an important practice for the control of the main phytopathogens in the peanut crop, avoiding the loss of plantations in the field. However, it is documented that the use of these products may harm bacteria of the genus *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* and inhibit microbiological processes such as biological nitrogen fixation (BNF). Therefore, the objective of this work was to verify the compatibility and the effects resulting from the treatment of seeds of peanut cv. BR1 with two fungicides of the contact and systemic product class, and inoculated with *Bradyrhizobium* spp. The experiment was conducted in a greenhouse at the Embrapa Algodão facilities, using two fungicides (Vitavax Thiram^(R) e Standak Top^(R))) and one control without fungicide, two inoculants based on *Bradyrhizobium* spp (SEMIA 6144 and ESA 123) a chemical nitrogen source (ammonium nitrate). One and two inoculations were done: One at the time of sowing and the second at sowing and 15 days after emergence. The experimental design was completely randomized with factorial scheme 3 (2 fungicides and 1 without fungicide) x 4 (2 inoculations based on rhizobia, 1 chemical source of N and 1 without N) x 2 (inoculant applications), with 5 replicates. The dry mass of the root and dry mass of the aerial part, height of plants, nodulation and accumulation of nitrogen in the leaves were evaluated. Data were analyzed using the SISVAR version 5.6 program, which were submitted to analysis of variance by the F test and the comparison of means by the Tukey test at 5% of significance. The nodulation of the plants inoculated with the *Bradyrhizobium* spp strains was reduced by the application of both fungicides, mainly by Vitavax Thiram, with decreases in number and mass of nodules, both in the treatments with one and two inoculations. The vegetative growth was negatively affected by Vitavax Thiram with reduction in plant height, dry mass (root and shoot); as well as decrease in nitrogen in the leaves. For the Standak Top, there were higher increments than the controls without fungicides. Among inoculants, SEMIA 6144 was the most sensitive to the effects of fungicides on nodulation, and among fungicides, Standak Top was the most compatible with inoculation with *Bradyrhizobium* strains. In relation to the number of inoculations, it was observed a higher yield of the variables evaluated with the increase of the frequency of inoculations.

Keywords: *Bradyrhizobium*. Chemical treatment of seeds. *Arachis hypogaea*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Tratamentos das sementes de amendoim cv. BR1 usando a dose de 300 mL/100 kg. (A) sem fungicida, (B) Vitavax Thiram, (C) Standak Top.
.....20
- Figura 2 - Interação entre número de inoculações x tratamento com fungicidas. (A) número de nódulos; (B) massa seca de nódulos. (Letras maiúsculas comparando as médias entre o número de inoculações e letras minúsculas comparando entre os fungicidas e a testemunha).....27
- Figura 3 - (A) Interação entre fonte de N x tratamento com fungicidas para o acúmulo de N da parte aérea das plantas; (B) Efeitos da interação: número de inoculações x tratamentos com as estipes na presença dos fungicidas (não mencionados) para o acúmulo de N da parte da aérea. **A** - Letras maiúsculas comparando as médias entre as fontes de N e letras minúsculas comparando entre os fungicidas e a testemunha. **B**- - Letras maiúsculas comparando as médias entre o número de inoculações e letras minúsculas comparando entre as estipes.
.....30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características dos isolados de rizóbio inoculados em sementes de amendoim cv. BR1.....19
- Tabela 2 – Fungicidas usados no tratamento de sementes de amendoim cv. BR1.....19
- Tabela 3 - Análise da amostra de solo.....20
- Tabela 4 - Resumo das análises de variância (Quadrado Médio) dos dados referentes, altura de plantas (AP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), obtidos da cv. BR1 tratada com fungicida e inoculada com *Bradyrhizobium* spp., Campina Grande, PB, 2019.22
- Tabela 5 - Massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e altura de plantas, das plantas de amendoim, de acordo com a inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* spp em sementes de amendoim tratadas com fungicidas, sob adubação nitrogenada ou não, no experimento de casa de vegetação.24
- Tabela 6 - Resumo das análises de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes a número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN) obtidos da cv. BR1 tratada com fungicidas e inoculada com *Bradyrhizobium* spp., Campina Grande, PB, 2019.26
- Tabela 7 - Valores médios referentes à NN e MSN e % de interação entre tratamentos com fungicidas, fontes de nitrogênio e número de inoculações. Campina Grande, PB, 2019.28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
t	Toneladas
cv	Cultivar
CV%	Coeficiente de Variação
INOC	Inoculação
NN	Número de nódulos
MSN	Massa seca de nódulos
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da Raiz
ANPA	Acúmulo de Nitrogênio da parte aérea
AP	Altura de Planta
NI	Número de inoculações
TF	Tratamento Fungicidas
FN	Fontes de Nitrogênio
GL	Graus de Liberdade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Aspectos da cultura do amendoim.....	15
3.2 Aspectos econômicos da cultura do amendoim.....	15
3.3 Inoculantes de <i>Bradyrhizobium</i>	16
3.4 Tratamentos de sementes com fungicidas x inoculação com <i>Bradyrhizobium</i>	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 Condução do experimento.....	19
4.2 Preparo dos inoculantes a base de <i>Bradyrhizobium</i>	20
4.3 Variáveis de crescimento vegetativo.....	21
4.4 Análise de nitrogênio nas folhas.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1 Crescimento vegetativo.....	22
5.2 Nodulação.....	25
5.3 Acúmulo de nitrogênio na parte aérea.....	29
6. CONCLUSÕES.....	31
7. REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que cerca de 40 a 66 milhões de toneladas de N_2 são fixadas anualmente por leguminosas, quase metade de todo o nitrogênio usado na agricultura no mundo (EGAMBERDIEVA et al., 2017). A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) traz benefícios tanto econômicos quanto ambiental, visto que em solos com deficiência mineral de nitrogênio a associação com bactérias simbiotes fixadoras de nitrogênio supre as demandas necessárias desse mineral à cultura. Tal processo viabiliza a substituição dos fertilizantes nitrogenados, os quais demandam altos preços e elevados custos de produção (HUFFAKER e RAINS, 1978; COBA DE LA PEÑA e PUEYO, 2012).

A simbiose de microrganismos com raízes de leguminosas fornece quantidade expressiva de nitrogênio às plantas hospedeiras. Os rizóbios possuem a capacidade de romper a ligação tríplice do nitrogênio atmosférico tornando-o 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 (GEURTS, et al., 2016; FERNANDES JUNIOR e REIS, 2008).

O amendoim (*Arachis hypogaea* sp.) é uma das principais leguminosas cultivadas no Brasil e no mundo. No cenário mundial, China e Índia se destacam como os principais produtores apresentando, respectivamente, 17 e 9 milhões de toneladas em 2017, enquanto o Brasil apresentou mais de meio milhão de toneladas no mesmo ano (FAOSTAT, 2017), indicando uma oportunidade de aumentar os rendimentos brasileiros de acordo com as tecnologias aplicadas nos diferentes sistemas de cultivo no país. No Sudeste do Brasil, o Estado de São Paulo, destaca-se como o principal produtor de amendoim, embora a cultura venha conquistando espaço na região Nordeste e Centro-Oeste, em razão da adoção de tecnologias, favorecendo melhoria no sistema de cultivo (CONAB, 2019).

O amendoim é capaz de se associar eficientemente a diferentes linhagens de rizóbios (MELO et al., 2016), mas apresenta maior eficiência com o gênero *Bradyrhizobium* (VALETTI et al., 2016). Sua produtividade pode ser maximizada pelo uso de inoculantes contendo cepas eficientes, favorecendo o manejo da cultura por pequenos produtores (SIZENANDO et al., 2016; VALETTI et al., 2016).

Para um desenvolvimento satisfatório da produção dessa e de outras culturas, a germinação das sementes está entre os fatores mais importantes. Em muitas áreas, onde o amendoim e outras leguminosas são cultivadas, torna-se necessário o tratamento de sementes com fungicidas para evitar a incidência de doenças que afetem a cultura (SARTORATO e RAVA, 1994). No entanto, apesar da eficiência dos fungicidas aplicados nas sementes ser

notória para as culturas, muitos deles podem apresentar efeitos negativos sobre os microrganismos e processos microbiológicos como a FBN (NETO et al., 2013).

Comumente é documentado na literatura que o uso dos principais defensivos químicos para o tratamento de sementes de leguminosas é de certa forma danosa para os rizóbios (PEREIRA et al., 2009; SILVA NETO et al., 2013). Outros estudos reportam a possibilidade de interações compatíveis entre os fungicidas e as bactérias (SILVA NETO et al., 2013; SHAHID , 2018). No entanto, ainda existem muitas lacunas relacionadas às desvantagens ou não desses defensivos agrícolas em relação aos processos de nodulação e fixação biológica de nitrogênio. O aprofundamento no assunto auxiliará o produtor na tomada de decisão quanto ao tratamento mais adequado a ser utilizado e o emprego do fungicida de menor impacto sobre a eficiência de nodulação e a FBN.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a compatibilidade e os efeitos resultantes do tratamento de sementes de amendoim (*A. hypogaea* sp.) com fungicidas (sistêmico e de contato) e inoculadas com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento vegetativo das plantas tratadas com fungicidas e inoculadas com *Bradyrhizobium* (ESA 123 e SEMIA 6144).

- Avaliar a nodulação das plantas tratadas com fungicidas e inoculadas com *Bradyrhizobium* (ESA 123 e SEMIA 6144).

- Determinar o acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas tratadas com fungicidas e inoculadas com *Bradyrhizobium* (ESA 123 e SEMIA 6144).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos da cultura do amendoim

Dentre as inúmeras representantes das leguminosas, o gênero *Arachis* agrupa na sua maioria espécies de plantas cuja principal característica é a intensa simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium e Bradyrhizobium*, sendo este gênero nativo da América do Sul, presente naturalmente desde os Andes até o Oceano Atlântico (FERREIRA, 2014). Supõe-se que sua aparição tenha ocorrido entre o nordeste do Paraguai e Mato grosso do Sul (BARKLEY et al., 2016; STALKER et al., 2016). O Brasil é um dos grandes centros de diversidade desta oleaginosa; das várias espécies do gênero, 64 ocorrem no país e 48 são endêmicas do território nacional (VALLS e SIMPSON, 2005).

O amendoim (*A. hypogaea*) é a espécie cultivável do gênero *Arachis*, apresentando-se dividida em duas subespécies, a *hypogaea* e a *fastigiata*, e entre estas seis variedades botânicas, conforme o hábito de crescimento (*hypogaea*, *hirsuta*, *fastigiata*, *vulgaris*, *aequatoriana* e *peruviana*) (NOGUEIRA et al., 2013).

As subespécies passam a ser diferenciadas a partir de grupos botânicos, sendo os mais comerciais os tipos Virgínia, Valência e Spanish. O tipo Virgínia é representado por acessos da subespécie *hypogaea*, que tem em comum o hábito de crescimento rasteiro, semirrasteiro e arbustivo, ciclo longo (120 a 140 dias), sem flores na haste principal e vagens com duas sementes. Já os tipos Valência e Spanish são representados pelas subespécies *fastigiata* e *hypogaea*, respectivamente, ambas possuem hábito de crescimento ereto ou semiereto, ciclo curto (90 a 100 dias) e haste principal com flores (GODOY et al., 2005).

O amendoim é uma planta anual, dicotiledônea, autógama, herbácea, com caule ereto central e ramificações que podem variar de rasteiras a eretas (VIEIRA et al., 2001). A formação dos frutos do amendoim é de natureza hipógea, necessitando de solos de textura arenosa ou franco-arenosa, de boa drenagem e aeração, de modo a favorecer o desenvolvimento das raízes e frutos, como também o suprimento de microrganismos simbióticos para a fixação de nitrogênio (FERRARI NETO et al., 2012).

3.2. Aspectos econômicos da cultura do amendoim

O amendoim possui grande importância no mercado mundial de grãos, sendo um importante produto da economia em mais de 100 países. Sua produção mundial alcançou média acima dos 47 milhões de toneladas, com área de cultivo acima de 24 milhões de hectares (FAOSTAT, 2017).

No Brasil, estima-se para o ano de 2019 cerca de 145,5 mil ha de área plantada, com uma produção total de 515,7 mil toneladas e produtividade média de 3.544 kg ha⁻¹. A Região Sudeste apresenta a maior produção nacional de amendoim, seguida pelas regiões Centro-Sul, Sul e Nordeste. O Estado de São Paulo é responsável por mais de 90% da produção nacional com o plantio sendo realizado nas regiões conhecidas como Alta Paulista e Alta Mogiana (CONAB, 2019).

No Nordeste, a produção da cultura ainda é pouca expressiva, sendo estimada para safra de 2018/2019 cerca de 2,1 t da produção nacional, com parte dessa produção (1,4 t) vindo do estado da Bahia (CONAB, 2019). O cultivo na região é realizado por pequenos e médios produtores nos quais as sementes constituem a parte de maior interesse econômico devido aos elevados teores de proteínas e óleo comestível, podendo este último ultrapassar 40% em algumas variedades (SUASSUNA et al., 2008; FERREIRA, 2014). Esta oleaginosa apresenta largo aproveitamento alimentar atendendo os vários segmentos de consumo *in natura* ou industrializado, sendo também demandado para atender os mercados de óleo comestível e combustível (VASCONCELOS et al., 2015).

Um dos fatores relevantes para a expansão da cultura no mercado brasileiro tem sido a incorporação de tecnologias. A Embrapa vem contribuindo para a evolução da cultura no Brasil através do desenvolvimento de variedades adaptadas às condições climáticas nas diferentes regiões do País, além de implementar novas tecnologias para alavancar a produtividade da cultura (VASCONCELOS et al., 2015; EMBRAPA, 2016).

3.3. Inoculantes a base de *Bradyrhizobium*

A inoculação de sementes usando culturas bacterianas puras só foi iniciada em 1899 com a descoberta da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e o isolamento de rizóbios nos nódulos de raízes (URENHA et al., 1994). Desde então sua utilização como produto biotecnológico vem favorecendo o desenvolvimento de inúmeros grupos de plantas leguminosas, levando a melhoria dos sistemas agrícolas e o aumento dos rendimentos em campo. As bactérias contidas nos inoculantes são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, possibilitando a substituição do uso de adubos nitrogenados nas lavouras (EMBRAPA, 2016; SINGH et al., 2019).

A FBN é um dos processos naturais mais importantes do planeta, ao lado da fotossíntese. Em termos de agricultura, a simbiose entre bactérias fixadoras de nitrogênio (denominadas rizóbios) e plantas leguminosas é a mais significativa. Essas bactérias, quando em contato com as raízes das leguminosas, induzem a formação de pequenas estruturas,

chamadas nódulos, onde ficam alojadas. No interior dos nódulos ocorre o processo de aproveitamento do nitrogênio do ar (EMBRAPA, 2016; TAIZ et al., 2017; SINGH et al., 2019).

De acordo com Prevost e Antoun (2006), a inoculação de estirpes de alta performance pode gerar uma eficiência de fixação de nitrogênio nas raízes das plantas hospedeiras de 70% a 90%. A exigência de estirpes mais eficientes tem levado a adoção de uma série de critérios na seleção de rizóbios para a produção de inoculantes em escala industrial.

Para uma maior eficiência nos processos de FBN leva-se em conta a qualidade do inoculante, o baixo percentual de contaminantes e o número mínimo de células viáveis de *Bradyrhizobium*, que deve ser de 1,2 milhões por sementes (MAPA, 2011). Dentre outros critérios, tem-se a seleção de estirpes altamente competitivas, capazes de manter altos desempenhos em variados tipos de estresses e condições, e entre as características desejáveis está a tolerância a fungicidas e inseticidas, normalmente empregados no plantio de leguminosas (URENHA et al., 1994).

3.4. Tratamentos de sementes com fungicidas x inoculação com *Bradyrhizobium*

O tratamento com fungicida tem sido uma prática importante e recomendada para o controle de fungos associados às sementes de várias espécies visando melhorar seu desempenho (PLOTTEGHER et al., 2017). Estes defensivos agrícolas têm sido importantes na redução das perdas de produção das culturas no campo, sendo utilizado por um número cada vez maior de produtores para garantir populações adequadas de plantas (GOULART, 2005; CHAHAL et al., 2012).

Contudo, as recomendações de tratamento de sementes de leguminosas com fungicidas enfrentam séria restrição quando se pretende utilizar inoculantes contendo estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (MONTEIRO et al., 1990). O tratamento das sementes coloca as bactérias em contato direto com os fungicidas, o que pode ser prejudicial à sobrevivência do inóculo, acarretando diminuição da sua população nas sementes com consequente redução da nodulação e rendimento de grãos da cultura (ARAUJO e ARAUJO, 2006).

O tratamento de sementes de soja com vários ingredientes ativos mostrou que, em determinadas circunstâncias, os fungicidas podem reduzir a nodulação de plantas em mais de 50% e a produtividade de grãos em mais de 20% (CAMPO et al., 2009). Trabalho realizado por Pereira et al. (2010) demonstrou que o tratamento de sementes de soja com os fungicidas a base de carbendazin + thiram e thiabendazole + thiram, e inoculadas com as estirpes SEMIA

5079 e SEMIA 5019, provocam reduções no número de nódulos. De acordo com Silva Neto et al. (2013), a aplicação dos fungicidas pode comprometer a simbiose por afetar a sinalização rizóbio-planta, levando a redução direta na nodulação. Além do mais, os princípios ativos empregados na formulação desses produtos e seus mecanismos de ação estão entre os responsáveis pela mortalidade e incompatibilidade com os rizóbios (CAMPOS e HUMGRIA, 2000).

A fim de investigar a compatibilidade, vários trabalhos vêm testando a combinação de inúmeros fungicidas com estirpes de *Bradyrhizobium* na busca por interações mais compatíveis, que possibilitem a utilização conjunta dos dois produtos. De acordo com Marks et al. (2013), a escolha da melhor interação depende da composição empregada na formulação desses químicos e das características de tolerância dos rizóbios a eles. Essa combinação foi encontrada por Silva Neto et al. (2013) ao verificar que o tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas, combinada a inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. não afetou a sobrevivência dos rizóbios, nodulação e rendimento de grãos. Outro trabalho confirma que determinadas linhagens de *Bradyrhizobium* podem tolerar os efeitos tóxicos dos princípios ativos dos fungicidas, melhorando as características da planta e aumentando a rentabilidade e produtividade (SHAHID E KHAN, 2018).

Diante da necessidade cada vez maior de reduzir as perdas de produção no campo, fica evidente a necessidade do controle de fitopatógenos por defensivos agrícolas, e considerando a importância econômica dos inoculantes no incremento de fatores produtivos na cultura do amendoim, surge a necessidade de mais estudos envolvendo a interação entre tratamento químico e emprego de agentes biológicos em sementes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se dois inoculantes de *Bradyrhizobium sp.*, sendo um isolado pela equipe coordenada pelo Dr. Paulo Ivan da Embrapa Semiárido (ESA 123) e um recomendado pelo MAPA (SEMIA 6144) (Tabela 1); dois fungicidas comerciais da classe de defensivos químicos sistêmico e de contato (Vitavax Thiran e Standak Top) (Tabela 2); e 1 genótipo de amendoim (cv. BR 1) desenvolvido pela Embrapa e recomendado para o semiárido nordestino (SANTOS et al., 2016)

Tabela 1. Características dos isolados de rizóbio inoculados em sementes de amendoim cv. BR 1.

Bactérias	Gênero	Crescimento	pH do meio	Origem	Instituição
ESA 123	<i>Bradyrhizobium</i>	Lento	alcalino	Brasil	Embrapa
SEMIA 6144	<i>Bradyrhizobium</i>	Lento	alcalino	Brasil	IAC

Fonte: Cunha (2013).

Tabela 2. Fungicidas usados no tratamento de sementes de amendoim cv. BR 1.

Fungicidas	Ingrediente ativo	Classe	Dose (mL/100 kg)
Vitavax	Carboxina + Tiran	Sistêmico e de	300
Thiran	Piraclostrobina +	contato	300
Standak Top	Tiofanato Metílico + Fipronil	Sistêmico e de Contato	

4.1. Condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Algodão, em Campina Grande, PB (07° 13' S; 53° 31' W), com o plantio realizado em 26 de fevereiro de 2019 e a coleta nos dias 01 e 02 de abril de 2019. Utilizou-se vasos de 30 x 15 cm, preenchidos com solo franco arenoso. O solo foi submetido previamente à análise no Laboratório de Solos da Embrapa Algodão (Tabela 3) e corrigido antes da semeadura conforme a necessidade da cultura, com 3 mg de superfosfato simples por vaso.

As sementes para cada tratamento foram separadas, pesadas e tratadas com os fungicidas na dose recomendada (Tabela 2, Figura 1). No tratamento sem fungicida, as sementes foram desinfestadas com peróxido de hidrogênio 30% por 20 min e lavadas 10 vezes com água destilada (DRECHSEL e BALDANI, 2006). Em cada vaso foram colocadas

quatro sementes, após 10 dias da emergência foi realizado o desbaste, deixando-se apenas 1 planta/vaso. A irrigação foi feita diariamente procurando-se manter o teor de umidade do solo próximo à capacidade de campo.

Este ensaio foi conduzido com um genótipo de amendoim (cv. BR1) em delineamento experimental inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3 (2 fungicidas + 1 testemunha absoluta) x 4 (2 fontes biológicas de N + 1 fonte mineral de N + 1 testemunha absoluta) x 2 n° de inoculações (sendo um tratamento com uma aplicação dos inoculantes na semente e outro tratamento com duas aplicações dos inoculantes na semente e 15 dias após a emergência) com 5 repetições. Para a fonte mineral de N foi aplicados 1 g (nitrato de amônio) por vaso e para os inoculantes 1 ml por semente.

Os resultados foram analisados por meio do programa estatístico SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011), no qual foi feita a análise de variância pelo teste F e as médias foram comparadas a partir do teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 3. Análise da amostra de solo.

pH	g/kg	Complexo Sortivo e Nutrientes				
		mmolc/dm ³				
1:2,5	M.O	Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	P
5,5	7,0	0,0	12,3	5,6	2,3	10,1

Ca⁺² - Cálcio; Mg⁺² - Magnésio; K⁺ - Potássio; Al⁺³ - Alumínio trocável, P - Fósforo; M.O - Matéria Orgânica.

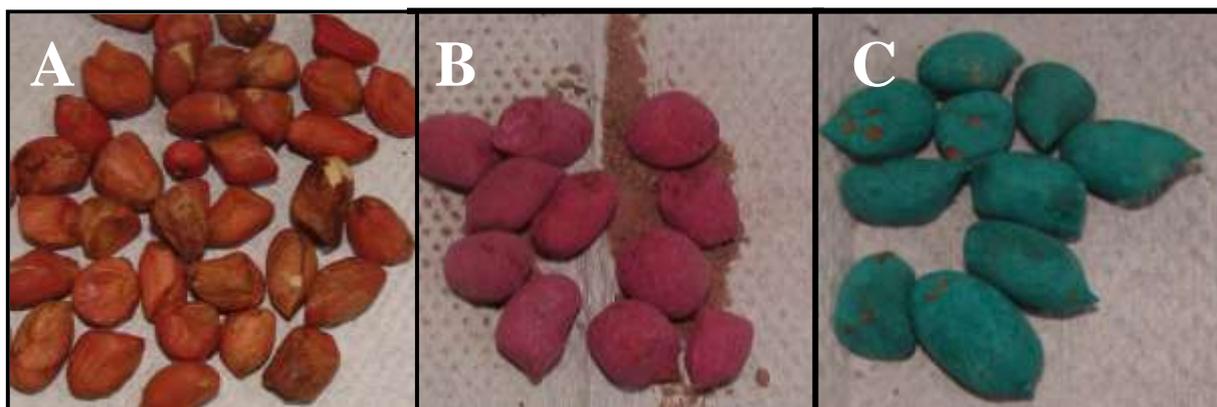


Figura 1. Tratamentos das sementes de amendoim cv. BR1 usando a dosagem de 300 mL/100 kg. (A) sem fungicida, (B) Vitavax Thiram e (C) Standak Top.

4.2. Preparo dos inoculantes a base de *Bradyrhizobium*

Para o preparo dos inoculantes, as bactérias foram inicialmente cultivadas em placas de Petri em meio sólido contendo “*Yeast Extract Malt Agar*”, YMA (glicose 1%, ágar 2%, peptona 0,5%, malte 0,3%, extrato de levedura 0,3%), e incubadas por cinco dias a 28 °C em BOD. Em seguida, foram inoculadas em meio YMA líquido a 28 °C, sob agitação de 150 rpm, por aproximadamente 7 dias, até o final da fase exponencial de crescimento das bactérias (VINCENT, 1970).

4.3. Variáveis de crescimento vegetativo

Para a avaliação das variáveis de crescimento: com o auxílio de uma régua foi medida a altura da planta (AP) (cm) desde a base até o ápice da haste principal; para a massa seca da parte aérea (MSPA) (g) e a massa seca da raiz (MSR) (g), o material foi seco em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 64 °C, durante 72 horas até atingir massa constante. Após a secagem o material foi pesado em balança de precisão.

Para o número de nódulos (NN), os mesmos foram retirados das raízes e contados. Já para a massa seca de nódulos (MSN) (g) os nódulos após secagem foram pesados em balança de precisão 0,0000 g

4.4. Análise de nitrogênio nas folhas

A análise de nitrogênio total nas folhas foi baseada no método de digestão sulfúrica descrito por Kjeldahl e adaptado por Bezerra Neto e Barreto (2011). A parte aérea das plantas foi seca em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 64 °C por 72 horas e depois foi triturado em moinho. Uma alíquota de material vegetal seco (1 mg) foi misturada a 50 mg de sulfato de sódio, 0,5 mg de sulfato de cobre (5%) e 5 mL de ácido sulfúrico para a pré-digestão a frio, em temperatura ambiente, durante 12 horas. Em seguida a solução foi aquecida em um bloco digestor a 350 °C até dissolver toda matéria orgânica e clarear a solução.

Para a quantificação do nitrogênio foi utilizado 1 mL do extrato digerido em balão volumétrico de 50 mL contendo 40 mL de água deionizada, 1 mL de hidróxido de sódio (10%), 1 mL de silicato de sódio (10%) e 2 mL do reagente de Nessler, o volume foi completado com água deionizada para 50 mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 410 nm. A partir do teor de nitrogênio foi calculado o nitrogênio acumulado na parte aérea, multiplicando o teor de nitrogênio pela massa seca da parte aérea, de acordo com Alcantara et al. (2014), expresso em (kg^{-1}).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Crescimento vegetativo

No resumo das análises de variância dos dados obtidos (Tabela 4), observa-se diferença significativa ($P < 0,05$) para todos os fatores: número de inoculações (NI), tratamentos com fungicidas (TF) e fonte de nitrogênio (FN). Observa-se ainda interação entre TF x FN para todas as variáveis testadas. A análise de variância também revelou que, a julgar pelos valores do coeficiente de variação (CV%), houve boa precisão experimental na estimativa das características em estudo.

Tabela 4. Resumo da análise de variância (Quadrado Médio) dos dados referentes, altura de plantas (AP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e acúmulo de nitrogênio na parte aérea (ANPA), obtidos da cv. BR1 tratada com fungicida e inoculada com *Bradyrhizobium* spp., Campina Grande, PB, 2019.

Fonte de Variação	Quadrado Médio				
	GL	AP	MSPA	MSR	ANPA
Nº de inoculações	1	26,7**	0,52*	0,01**	11,0**
Fonte de N (FN)	3	100**	1,10**	0,01**	174**
Trat. Fungicidas (TF)	2	61,2**	2,10**	0,00*	8,74**
FN X TF	(6)	25,6**	0,51**	0,00**	18,3**
Resíduo	34	3,23	0,09	0,00	0,67
CV (%)		5,78	11,37	14,7	4,36
Média		31,1	2,73	0,27	18,8

ns não significativo e **, * significativo a 1% e 5% respectivamente de probabilidade pelo teste F.

Houve diferença na massa seca da raiz e parte aérea nos tratamentos das estirpes avaliadas, na interação com os fungicidas testados, na qual o Vitavax Thiram foi o mais prejudicial a produção de MSR, com reduções que variaram entre 19% e 23% para ESA 123 e SEMIA 6144, respectivamente quando comparados com a testemunha sem fungicida. Enquanto que para a MSPA observou-se decréscimos de 37% para a SEMIA 6144 em relação a testemunha apenas inoculada; já para ESA 123, embora não tenha sido detectado diferenças estatísticas para MSPA observou-se uma redução de 13% quando tratada com o Vitavax Thiran em relação ao controle não tratado com o fungicida

O menor crescimento das plantas provenientes de sementes tratadas com estes fungicidas pode ser uma consequência da redução do número e da matéria seca dos nódulos, que, por conseguinte reduziu o aporte de nitrogênio para a planta. O nitrogênio é um elemento essencial na nutrição das plantas, sendo elemento constituinte de enzimas e componente estrutural de macromoléculas como proteínas e ácidos nucleicos. Assim, a deficiência desse elemento nos tecidos vegetais resulta em um menor acúmulo de matéria seca na planta (MARSCHNER, 1995).

Por outro lado, na testemunha não inoculada e sem nitrogênio o tratamento com o fungicida Vitavax Thiram promoveu o aumento da massa seca da raiz em mais de 39%, o que corrobora com os estudos realizados por Cunha et al. (2015), os quais observaram que o tratamento de sementes de soja com fungicidas (imidacloprido + tiodicarbe) e sem inoculantes promoveu aumento da massa seca da raiz. De acordo como mesmo autor provavelmente o tratamento químico proporcionou aumento do sistema radicular, o que pode estar atrelado ao maior desenvolvimento de raízes secundárias, propiciando uma maior absorção de nutrientes levando ao aumento de massa seca.

Nos tratamentos nitrogenados, não se observaram diferenças nos tratamentos com Vitavax Thiran, em relação à testemunha sem fungicida, para MSR, MSPA e AP; embora tenha sido notado restrição na MSPA, da ordem de 11% em relação ao controle não tratado.

Incrementos foram verificados nos tratamentos com o fungicida Standak Top, nos quais se observou para a ESA 123 incrementos de mais de 7% para MSR e AP, (Tabela 5). Enquanto que com SEMIA 6144, a MSR e AP foram semelhantes à testemunha não tratada, indicando que de acordo com a interação, o tratamento com o Standak Top pode estimular o crescimento.

Esses efeitos podem estar relacionados à presença de piraclostrobina na composição do produto o qual é reportado por estar envolvida na melhoria do crescimento vegetal. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram os encontrados por Balardin et al. (2011), os quais registraram incrementos na produção de MSR e AP quando as sementes foram tratadas com fungicidas a base de piraclostrobina.

Nesse contexto, Fagan (2010) mencionou que o incremento de fitomassa em plantas tratadas com produtos a base de piraclostrobina ocorre devido ao aumento da atividade fisiológica das mesmas. Esse pesquisador afirma que a possível causa do incremento de fitomassa está associada ao aumento da fotossíntese líquida, diminuição da respiração, maior assimilação de CO₂ e ao aumento da assimilação de nitrogênio por uma maior atividade da enzima nitrato redutase. Por outro lado, Castro et al. (2007) mencionaram que os inseticidas e

fungicidas são desenvolvidos visando à eficiência no controle de pragas e doenças, sendo que alguns podem provocar efeitos ainda pouco conhecidos, capazes de modificar o metabolismo e a morfologia vegetal.

Tabela 5. Massa seca da raiz, massa seca da parte aérea e altura de plantas, das plantas de amendoim, de acordo com a inoculação de estirpes de *Bradyrhizobium* em sementes de amendoim tratadas com fungicidas, sob adubação nitrogenada ou não, no experimento de casa de vegetação.

Estirpes	Vitavax Thiran	Standak Top	Sem fungicida
Massa seca da raiz (MSR)			
SEMIA 6144	0,27Bab	0,31ABa	0,35Aa
ESA 123	0,22Bb	0,29Aa	0,27ABb
Nitrogenado	0,21Ab	0,27Aa	0,20Ab
Controle	0,32Aa	0,28ABa	0,23Bb
dms	0,07	0,07	0,07
Massa seca da parte aérea (MSPA)			
SEMIA 6144	2,13Ba	3,07Aa	3,40Aa
ESA 123	2,53Aa	2,92Aa	2,94Aab
Nitrogenado	2,15Aa	1,97Ab	2,43Ab
Controle	2,56Ba	3,38Aa	2,69Bb
dms	0,59	0,59	0,59
Altura de plantas (AP)			
SEMIA 6144	32,50Ba	33,75Aba	35,53Aa
ESA 123	30,11Aa	32,58Aab	30,30Ab
Nitrogenado	26,33ABb	29,66Ab	25,33Bc
Controle	23,83Cb	35,16Aa	30,50Bb
dms	3,43	3,43	3,43

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, para cada variável, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5.2. Nodulação

Em relação à nodulação, verifica-se na análise de variância diferenças ($P < 0,01$) para todos os fatores e para a interação entre FN x TF e NI x TF para o número de nódulos; e para a interação entre FN x TF e NI x TF x FN para massa de nódulos (Tabela 6).

Observa-se na Tabela 7 que houve diferenças no NN e MSN produzidos pelas estirpes avaliadas e que os fungicidas afetaram negativamente ($P < 0,01$) essas variáveis, independentes do número de inoculações, embora tenha se verificado que a segunda inoculação tenha favorecido uma melhor nodulação das plantas mesmo na presença dos fungicidas (Figuras 2A a 2B).

Entre os tratamentos químicos, o Vitavax Thiram foi o mais prejudicial, reduzindo em até 70% o número e a massa de nódulos para ambas as estirpes, em ambas inoculações (Tabela 7). Esses resultados corroboram aqueles obtidos por Pereira et al. (2009), os quais registraram que esses fungicidas, além de reduzirem o número de nódulos, comprometem também o crescimento dos mesmos. Resultados similares foram constatados por Mercante et al. (2010), em que o número e matéria seca de nódulos reduziram entre 77% e 96%, respectivamente, com a aplicação dos fungicidas (captan, carbendazim + thiram, thiram e carboxin + thiram).

Verificou-se que no uso de Standak Top com uma inoculação, os efeitos negativos variaram entre 14% e 23% em relação a testemunha sem fungicida (Tabela 7). Apesar de ter notado incremento na nodulação com a segunda inoculação, o aumento não anulou a fungitoxicidade dos produtos, visto que os decréscimos no número e massa de nódulos variaram entre 5% e 54% com duas inoculações comparada ao controle não tratado (Tabela 7). Comparando ao Vitavax + Thiran, a interação do Standak Top com as estirpes SEMIA 6144 e ESA 123, apesar de negativa, foi melhor. Efeitos negativos também foram constatados por Zilli et al. (2010), em trabalho com soja, ao usarem o fungicida Carbendazim + Thiram, mesmo com o aumento da doze do inoculante.

Para Pereira et al. (2009) a aplicação de fungicidas sobre as sementes pode afetar negativamente a sobrevivência de *Bradyrhizobium spp* na superfície das mesmas devido aos seus ingredientes ativos, pH e/ou solventes utilizados nas formulações. Deve-se ressaltar que fungicidas de contato, quando aplicados na superfície das sementes, agem como uma barreira tóxica, impedindo a entrada de qualquer microrganismo. Além disso, devido ao seu modo de ação não específico, podem penetrar no interior dos microrganismos e provocar reações químicas não específicas com grupos químicos presentes em proteínas, ácidos nucleicos e seus precursores (GARCIA, 1999).

No contexto, por não se decomporem facilmente pela ação de fatores do ambiente e permanecerem na rizosfera do solo por mais tempo sem lixiviar, seus efeitos podem ser prolongados (GARCIA, 1999), o que explica os decréscimos na nodulação das plantas mesmo com uma segunda inoculação das estirpes (Tabela 7).

De acordo com Martensson (1992), a presença destes químicos na rizosfera altera os exsudados das raízes, conseqüentemente inibem a emissão de sinais moleculares e os estágios iniciais necessários ao processo de nodulação. Juntamente a isto, trabalhos mostram que os fungicidas a base de Thiram e Captam são pouco compatíveis com a inoculação (CAMPOS e HUMGRIA, 2000). No presente estudo, o tratamento de sementes a base de Thiram

possivelmente foi prejudicial as bactérias inoculadas, proporcionando um menor percentual de nodulação nos tratamentos em que houve contato direto dos inoculantes com as sementes tratadas (ROSANI et al., 2013).

O Standak Top, embora tenha apresentado efeitos negativos na nodulação, mostrou-se menos fitotóxico em relação ao Vitavax Thiram, sendo observados incrementos de 8% para NN com ESA 123 e 10% para MSN com SEMIA 6144 (Tabela 7; Figura 2). Kintschev et al. (2014) testaram o efeito de vários fungicidas na sobrevivência de estirpes recomendadas para o feijoeiro comum e verificaram que os produtos à base de fipronil + tiofanato metílico + piraclostrobina não inibiram o crescimento dos rizóbios, o que pode estar correlacionado com os efeitos menos tóxicos dos princípios ativos.

Tabela 6. Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes a número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN) obtidos da cv. BR1 tratada com fungicidas e inoculada com *Bradyrhizobium* spp., Campina Grande, PB, 2019.

Fonte de Variação	GI	Quadrado Médio	
		NN	MSN
Número de Inoculações (NI)	1	160**	0,00**
Fontes de Nitrogênio (FN)	3	185**	0,00**
Tratamento Fungicidas (TF)	2	861**	0,00**
FN x TF	6	221**	0,00**
NI x TF x FN	2	6,26ns	0,00**
NI x TF	2	170**	0,00ns
Resíduo	34	16,5	0,00
CV (%)		28,8	30,0
Média		14,0	0,010

ns não significativo e **, * significativo a 1% e 5% respectivamente de probabilidade pelo teste F.

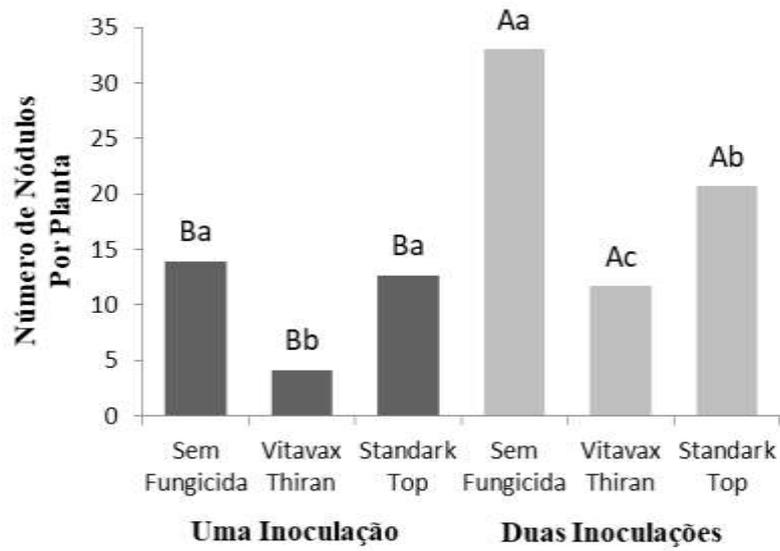
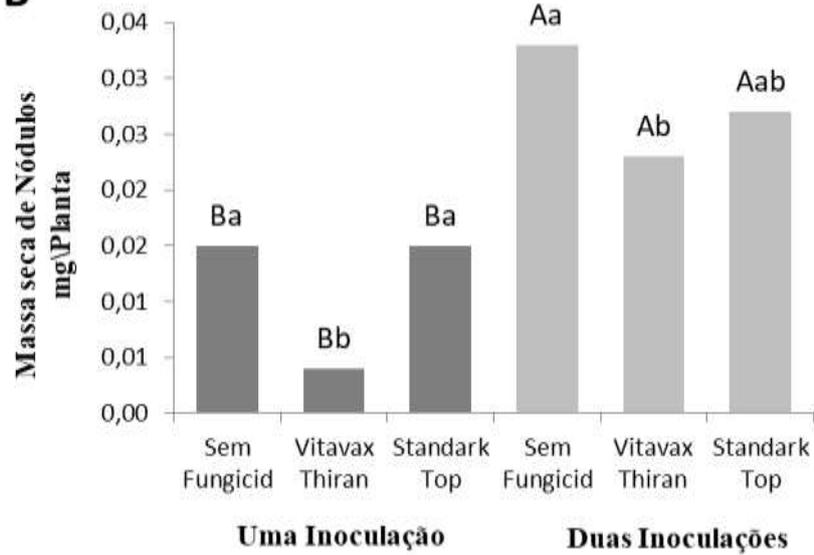
A**B**

Figura 2. Interação entre número de inoculações x tratamento fungicidas. (A) número de nódulos (A); (B) massa seca de nódulos. (Letras maiúsculas comparando as médias entre o número de inoculações e letras minúsculas comparando entre os fungicidas e a testemunha).

Tabela 7. Valores médios referentes à NN e MSN e % de interação entre tratamentos com fungicidas, fontes de nitrogênio e número de inoculações. Campina Grande, PB, 2019.

Tratamento	UMA INOCULAÇÃO							
	NN				MSN			
	SEMIA 6144	(%)	ESA 123	(%)	SEMIA 6144	(%)	ESA 123	(%)
Sem fungicida	30,0Aa		25,66Aa		0,028Aa		0,034Aa	
Vitavax Thiran	8,33Ab	-72	8,00Ab	-68	0,008Ab	-71	0,009Ab	-73
Standak Top	23Aa	-23	27Aa	8	0,031Aa	10	0,029Aa	-14
DUAS INOCULAÇÕES								
Sem fungicida	46,00Aa		20,00Ba		0,039Aa		0,027Ba	
Vitavax Thiran	12,00Ab	-70	11,33Aa	-43	0,028Aa	-28	0,018Ba	-33
Standak Top	21Ab	-54	19Aa	-5	0,030Aa	-23	0,023Aa	-14

Letras maiúsculas comparando as médias nas linhas entre as estirpes e letras minúsculas nas colunas comparando os tratamentos entre os fungicidas e a testemunha (teste de Tukey, $p < 0,05$).

5.3. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea

Houve diferenças ($P < 0,05$) no acúmulo de N total da parte aérea pelo uso dos dois fungicidas no tratamento das sementes. Os teores de N na parte aérea foram mais elevados no tratamento com N mineral quando comparados com as outras fontes de N (Figura 3A). Para os tratamentos inoculados, observou-se que os efeitos mais negativos foram para o Vitavax Thiram sobre a SEMIA 6144 em relação aos outros tratamentos, enquanto que para a ESA 123 não se verificou diferença entre esse fungicida e a testemunha não tratada (Figura 3A). Resultados similares foram encontrados por Zilli et al. (2010), em trabalho desenvolvido em campo, os quais observaram efeito negativo no acúmulo de N na parte aérea em plantas de soja inoculadas e tratadas com carbendazim + tiram.

Já para o Standak Top não se observou efeito negativo no acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas. Tendo em vista os incrementos positivos deste fungicida em outras variáveis já avaliadas neste trabalho. O Standak Top também proporcionou incrementos positivos na concentração de N em todos os tratamentos avaliados, com exceção do controle não inoculado e sem nitrogênio (Figura 3A).

Fagan et al. (2010), ao avaliarem o efeito da aplicação de piraclostrobina sobre variáveis fisiológicas, observaram incremento na taxa fotossintética e, conseqüentemente, maior produção de fitomassa. Contudo, os autores frisam que o incremento de fitomassa em plantas não requer apenas a assimilação de carbono pelo aumento da fotossíntese, mas também a disponibilidade de nitrogênio.

Em outros estudos, Soares et al. (2011) verificaram aumento na atividade da nitrato redutase com a aplicação de fungicida a base de piraclostrobina em cultura de soja. Para esses pesquisadores, o acréscimo na absorção de nitrogênio devido à aplicação da piraclostrobina pode estar correlacionado às alterações fisiológicas que vão desde o aumento no teor de clorofila e incremento na assimilação de nitrogênio, via nitrato redutase, refletindo no aumento do rendimento da cultura.

A assimilação de nitrogênio é um processo vital que controla o desenvolvimento e crescimento de plantas e tem efeitos marcantes sobre a produção de fitomassa e produtividade de grãos (REIS, 2007). Em relação ao número de inoculações, observou-se maior incremento na taxa de nitrogênio nos tratamentos que receberam duas inoculações para ambas as estirpes, embora tenha se verificado as melhores respostas para a ESA 123 (Figura 3B).

Deve-se salientar que quanto menor o número de bactérias viáveis na rizosfera menor a probabilidade dos rizóbios nodular e fixar o N e havendo toxicidade provocada por qualquer

componente do fungicida utilizado, poderia ocorrer uma redução na nodulação das raízes e, conseqüentemente, menor eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio.

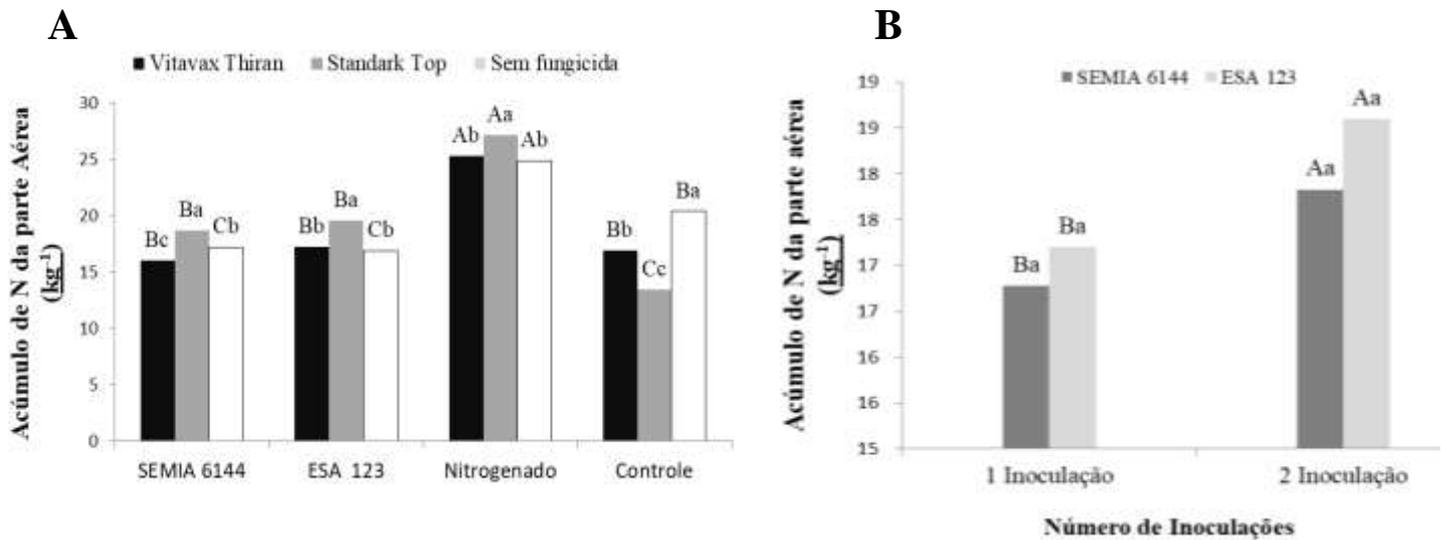


Figura 3. (A) Interação entre fonte de N x tratamento com fungicidas para o acúmulo de N da parte aérea das plantas; (B) Interação entre número de inoculações x tratamentos com as estipes na presença dos fungicidas para o acúmulo de N da parte da aérea. (A)- Letras maiúsculas comparando as médias entre as fontes de N e letras minúsculas comparando entre os fungicidas e a testemunha. (B)- - Letras maiúsculas comparando as médias entre o número de inoculações e letras minúsculas comparando entre as estipes.

Neste sentido, para minimizar os danos causados por determinados fungicidas sobre os rizóbios e, conseqüentemente, perdas de produtividade de grãos nas lavouras, devido à indisponibilidade de N em quantidades suficientes para obtenção de altos rendimentos, tem sido sugerido a utilização de doses mais elevadas de inoculante microbiano (COSTA et al., 2013).

Os resultados do presente estudo confirmam outros anteriores em relação aos efeitos dos fungicidas na nodulação e crescimento das plantas, contudo deve-se observar que seus efeitos variaram conforme as propriedades químicas dos produtos e características de tolerância do *Bradyrhizobium spp.* Nesse sentido, estudos que enfoquem no efeito de fungicidas sobre inoculantes de *Bradyrhizobium spp.* em amendoim é de grande valia para compreender os efeitos destes produtos sobre a nodulação e a FBN, e fornecer dados que possam subsidiar no futuro o desenvolvimento de defensivos químicos mais compatíveis aos rizóbios ou propiciar a seleção de estipes mais tolerantes a esses químicos.

6. CONCLUSÕES

- Os fungicidas aplicados reduziram a nodulação (número e massa de nódulos) e o crescimento vegetativo das plantas inoculadas com os isolados de *Bradyrhizobium* spp;
- O fungicida Standak Top, apesar de afetar a nodulação, foi o menos tóxico aos *Bradyrhizobium* spp., além disso proporcionou crescimento das plantas e incremento na massa seca e acúmulo de nitrogênio na parte aérea;
- O aumento do número de inoculações amenizou os efeitos dos fungicidas na nodulação e proporcionou maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea;
- Dentre os isolados, ESA 123 foi o mais tolerante aos efeitos dos fungicidas.

8. REFERÊNCIAS

ALCANTARA, R.M.C.M.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G.; ROCHA, M.M.; CARVALHO, J.S. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. *Revista Ciência Agronômica*, v. 45, n, 1, p. 1-9, 2014.

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

BARKLEY, N.A.; UPADHYAYA, H.D.; LIÃO, B.; HOLBROOK, C.C. Global Resources of Genetic Diversity in Peanut: STALKER, H.; WILSON, R. *Peanuts*, AOCS PRESS, p. 267-287. 2016.

BALARDIN, R.S.; SILVA, F.D.L.; DEBONA, D.; CORTE, G.D.; FAVERA, D.D.; TORMEN, N.R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. *Ciência Rural*, v.41, n.7, p.1120-1126, 2011.

BEZERRA NETO, E.; BARRETO, L.P. *Análises químicas e Bioquímicas em Plantas*. Imprensa Universitária da UFRPE, p. 261, 2011.

CAMPO, R.J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. *Symbiosis*, v.48, p.154-163, 2009.

CAMPOS, R.J.; HUNGRIA, M. *Compatibilidade de uso de inoculante e fungicidas no tratamento de sementes de soja*. - Londrina: Embrapa Soja, 2000.

CASTRO, P.R.C. et al. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiametoxam através de biotestes. *Publicatio*, v.13, n.3, p.25-29, 2007.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em 23 fevereiro de 2019.

COBA DE LA PEÑA, T.; PUEYO, J.J. Legumes in the reclamation of marginal soils, from cultivar and inoculant selection to transgenic approaches. *Agronomy for Sustainable Development*, 32. p.65–91, 2012.

COSTA, M.R.; CAVALHEIRO, J.C.T.; GOULART, A.C.P.; MERCANTE, F.M. Sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* em sementes de soja tratadas com fungicidas e os efeitos sobre a nodulação e a produtividade da cultura. *Summa Phytopathologica*, v.39, n.3, p.186-192, 2013.

CHAHAL, G.S.; JORDAN, D.L.; SHEW, B.B.; BRANDENBURG, R.L.; BURTON, J.D.; DANEHOWER, D.; YORK, A.C. Interactions of agrochemicals applied to peanut; part 2: Effects on fungicides. *Crop Protection*, 41, p. 143 – 140, 2012.

CUNHA, J. B. de A.; NUNES, I. A.; GAVA, C. A. T.; SANTOS, R.C.; MARTINS, L. M. V.; FERNANDES JUNIOR, P. I.; Diversidade cultural de bactérias isoladas de nódulos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) cultivados em solos do Nordeste do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Ciências do Solo, Anais: ISBN 978-85-85014-71-1. SBCS, 2013.

CUNHA, R.P.; CORREAL, M.F.; SHUCH, L.O.B.; CAETANO DE OLIVEIRA, R.; JUNIOR, J.S.B.; SILVA, J.D.G.; ALMEIDA, T.L Different treatments of seeds on the development of soybean plants. *Ciência Rural*, v.45, n.10, p.1761-1767, out, 2015.

DRECHSEL, M.M.; BALDANI, V.L.D. Método de desinfestação superficial para obtenção de sementes de milho livres de microrganismos. EMBRAPA Agrobiologia, 2006.

EGAMBERDIEVA, D.; RECKLING, M.; WIRTH, S. Biochar-based *Bradyrhizobium* inoculum improves growth of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) under drought stress. *European Journal of Soil Biology* 78, p. 38-42, 2017.

EMBRAPA. Tecnologia de Fixação Biologia de Nitrogênio. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes www.anpii.org.br CGPE 11678 Tiragem: 1.000 exemplares, 2016.

FAGAN, E.B.; NETO, D.D.; VIVIAN, R.; FRANCO, R.B.; YEDA, M.P.; MASSIGNAM, L.F.; OLIVEIRA, R.F.; MARTINS, K.V. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. *Bragantia*, v. 69, n. 4, p. 771-777, 2010.

FERNANDES JUNIOR, P.I.; REIS, V.M. Algumas Limitações a Fixação Biológica de Nitrogênio em Leguminosa. Embrapa- CNPAB, (Serie documentos n 252), 2008.

FERREIRA, D.F. SISVAR: A computer statistical analysis system. *Ciencia e Agrotecnologia*, Lavras, v, 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, T. Sanitary aspects of peanut culture. *REB Volume 7 (3): 301-320*, ISSN, p. 1983-7682, 2014.

Food Agriculture Organization of United Nations (FAOSTAT). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em 22 de março de 2019.

GARCIA, A. Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF, p.32 1999.

GEURTS, R.; XIÃO, T.T.; HUREK, B.R. What Does It Take to Evolve A Nitrogen-Fixing Endosymbiosis? *Trends Plant Sci*, 2016.

GOULART, A.C.P. Fungos em Sementes de Soja Detecção, Importância e Controle. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005.

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; ZANOTTO, M.D.; SANTOS, R.C. Melhoramento do amendoim. In: *Melhoramento de espécies cultivadas*, UFV, p. 54-95, 2005.

HUFFAKER, R.C.; RAINS, W. Factors influencing nitrate acquisition by plants: Assimilation and fate of reduced nitrogen In: NIELSEN, D.; macDONALD, J.G. *Nitrogen in the environment*. Academic Press. p.01- 38, 1978.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa No 13, de, 24 de março de 2011, p. 28, 2010.

MARKS, B.B.; BANGEL, E.V.; TEDESCO, V.; SILVA, S.L.C.; FERREIRA, S.B.; VARGAS, R.; SILVA, G.M. Evaluation of survival *Bradyrhizobium* spp. in soybean seed treated with fungicides, guard and cellular inoculant. *Revista Internacional de Ciências* · v.3 - n.1 · jan./jun. 2013

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. San Diego: Academic, 1995.

MARTENSSON, A. M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast- growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. *Soil Biology and Biochemistry*. Elmsford, v.24, n.5, p.435-445, may 1992.

MELO, E.B.S.; LIMA, L.M.; FERNANDES- JUNIOR, P.I.; ALDAR, S.D.T.; FREIRE, M.A.O.; FREIRE, R.M.M.; SANTOS, R.C. Nodulation, gas exchanges and production of peanut cultivated with *Bradyrhizobium* in soils with different textures. *Comunicata Scientiae* 7(2), p. 160-166, 2016.

MERCANTE, F.M.; MORETTO, H.J.N.; TARASIUK, V.A.; GOULART, A.C.P. Efeitos de fungicidas na nodulação de feijoeiros inoculados com *Rhizobium tropici*. In: Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbiológicos de Interesse Agrícola, 14., 2010, Bonito, MS. Anais: Embrapa Agropecuária Oeste, . p. 50-51.2010.

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.

NETO, M.L.S.; SMIDERLE, O.J.; SILVA, K.; FERNANDES JUNIOR, P.V.; RIBEIRO XAVIER, G.; EDSON ZILL, J. Compatibilidade do tratamento de sementes de feijao-caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.1, p.80-87,2013.

NETO, J. F.; COSTA, C. H. M.; CASTRO, G. S. A. Ecofisiologia do amendoim. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 11, n. 4, p. 1-13, 2012.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; TÁVORA, F.J.A.F.; ALBUQUERQUE, M.B.; NASCIMENTO, H.H.C.; SANTOS, R. C. Ecofisiologia do Amendoim (*Arachis hypogaea* L.). In: SANTOS, R. C.; FREIRE, R.M.M.; LIMA, L.M. O Agronegócio do Amendoim no Brasil. Embrapa Algodão. p. 81-113, 2013.

PLOTEGHER, F.; MAJARON, R.F.; HUMGRIA, M.; RIBEIRO, C.O uso de Biofilmes como Barreira física para a proteção de células de rizóbios em sementes de soja pré-tratadas com fungicidas. Embrapa Instrumentação, 21 a 22 de novembro de 2017.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.E.; ROSA, M.C.M.; NETO.; J.C. Fungicide treatment by film coating and soybean seed inoculation with *Bradyrhizobium*. *Revista Ciência Agronômica* 40, p.433-440, 2009.

PREVOST, D; ANTOUN, H. Chapter 31 Root Nodule Bacteria and Symbiotic Nitrogen Fixation. By Taylor & Francis Group, LLC, 2006.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.A.; BOTELHO, F.J.E. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com *Bradyrhizobium*. *Revista Agro@mbiente On-line*, v. 4, n. 2, p. 62-66, 2010.

REIS, A.R. Metabolismo do nitrogênio e estado nutricional do cafeeiro (*Coffea arabica*). 2007. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura, ESALQ/USP, 2007.

ROSANI, A.L.; PINHEIRO, M.G.; PURIN, S. Efeitos de diferentes formulações e técnicas de inoculação no crescimento da soja. XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 2013.

SANTOS, F.; MEDINA, P.F.; LOURENÇÃO, A.L.; PARISI, J.S.; GODOY, I.J. Damage caused by fungi and insects to stored peanut seeds before processing. *Bragantia*, v. 75, n. 2, p.184-192, 2016.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília: EMBRAPA-SPI, p.300, 1994.

SINGH, M.; SINGH, D.; GUPTA, A.; PANDEY, K.D.; SING, P.K.; KUMAR, A. Plant growth promoting rhizobacteria: application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. In: SINGH, A.K.; KUMAR, A.; SINGH, P.K. PGPR Amelioration in sustainable agriculture. Elsevier Inc. 1st Edition. p. 41-66. 2019.

SHAHID, M.; KHAN, M.S. Fungicide tolerant *Bradyrhizobium japonicum* mitigate toxicity and enhance greengram production under hexaconazole stress. The Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2018.

SIZENANDO, C.I.T.; RAMOS, J.P.C.; FERNANDES JUNIOR, P.I.; LIMA, L.M.; FREIRE, R.M.M.; SANTOS, R.C. Agronomic efficiency of *Bradyrhizobium* in peanut under different environments in Brazilian Northeast. African Journal of Agricultural Research, v. 11, p. 3482–3487, 2016.

SOARES, L.H.; FAGAN, E.B.; CASAROLI, D.; ANDRADE, D.D.; SOARES, A.L.; MARTINS, K.L.; ROCHA, F.J. Application of different strobilurin on the soybean crop. Revista da FZVA, v.18, n. 1, p. 78-97, 2011.

SUASSUNA, T.M.F.; COUTINHO, W.M.; SOFIATTI, V.; SUASSUNA, N.D.; GONDIM, T.M.S. Manual de Boas Práticas Agrícolas para a Produção do Amendoim no Nordeste do Brasil, Embrapa Algodão, 2008.

STALKER, T.H.; TALLURY, S.P.; SEIJO, G.R.; LEAL-BERTIOLI, S.C. Biology, Speciation, and Utilization of Peanut Species: STALKER, H.; WILSON, R. Peanuts, AOCS PRESS, p. 267-287, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal. Ed. 6. Artmed, 2017.

URENHA, L.C.; PRADELLA, J.G.C.; OLIVEIRA, M.S.; BONOMI, A.: Capítulo 4 Produção de Biomassa Celular de Rizóbios: HUMGRIA, M.; ARAUJO, R.S. Manual de Métodos empregados em Estudos de Microbiologia Agrícola. EMBRAPA, 1994.

VALETTI, L.; ANGELINI, J.G.; TAURIAN, T.; ANZUAY, M.S.; FABRA, A.; CERIONI, G.A. Development and field evaluation of liquid inoculants with native bradyrhizobial strains for peanut production. *African Crop Science Journal*, v. 24, p. 1-13, 2016.

VALLS, J. F. M.; SIMPSON, C. E. New Species of *Arachis* from Brazil. *Bonplandia*, v.14, n.2, p. 35-64, 2005.

VASCONCELOS, R.A.; LUZ, L.N.; CABRA, N.T.C.; JUNIOR, J.O.L.O.; SANTIAGO, A.D.; SGRILLO, E.; FARIAS, F.J.C.; FILHO, P.A.M.; SANTOS, R.C. Comparison of adaptability and stability estimates in upright peanut genotypes cultivated. *Ciência Rural*, v.45, n.8, 2015.

VIEIRA, R. F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R. F. Leguminosas graníferas, Viçosa: Ed. da UFV. 206p., 2001.

VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: Blackwell Science Publication, 1970.

KINTSCHEV, M.R.; GOULART, A.C.P.; MERCANTE, F.M. Compatibility between rhizobium inoculation and fungicide application in seeds of common beans. *Summa Phytopathologica*, v.40, n.4, p.338-346, 2014.

ZILLI, J.E.; GIANLUPPI, V.; CAMPOS, R.J.; ROUWS, J.R.C.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja com Bradyrhizobium no sulco de semeadura alternativamente a inoculação no sulco de semeadura. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.34, p. 1875-1881, 2010.