

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 13 (4)

April 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/1342020848>

Article link

<http://sea.ufr.edu.br/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=848&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Efeito de inoculante com tecnologias integradas no crescimento inicial da soja

Effect of inoculant with technologies integrated in initial soybean growth

O. Fernandes Júnior Neto, C. L. R. Santos, V. M. M. Lima, C. F. Silva

UNIVAR – Barra do Garças

Author for correspondence: calersantos@gmail.com

Resumo: A soja é um dos grãos mais produzidos no mundo, e pelo elevado custo dos adubos nitrogenados, novas tecnologias na inoculação de bactérias diazotróficas vêm sendo desenvolvidas. Objetivou-se avaliar o efeito de doses de inoculante à base de *Bradyrhizobium* e moléculas de lipo-quito-oligosacarídeos (LCOs), juntamente com protetor bacteriano como aditivo, comparado a um inoculante convencional na inoculação de sementes de soja. O experimento foi realizado em casa de vegetação, com terra proveniente de um Latossolo Vermelho de textura arenosa. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 3 repetições, sendo os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 5 x 2 (2 inoculantes e 5 doses de cada inoculante). As sementes da cultivar M8866 de soja foram inoculadas e semeadas nos vasos que continham 11 L de substrato, onde duas plantas permaneceram por 45 dias. Avaliaram-se nove parâmetros biométricos-produtivos. O aumento da dose, independente do inoculante, proporcionou aumento no comprimento de raiz e nódulos provavelmente ativos. De modo geral, pôde-se observar superioridade estatística do inoculante com tecnologias integradas em relação ao convencional, independente da dose, ao comparar os inoculantes quanto a essas duas variáveis. Ainda, o inoculante com tecnologias integradas proporcionou maior massa de matéria fresca e seca dos nódulos com a aplicação da maior dose de inoculante (3,6 bilhões de UFC mL⁻¹). Notou-se que o aumento da dose de inoculante convencional não causou o aumento da massa de matéria fresca e seca dos nódulos tal como o inoculante com tecnologias integradas, sugerindo a ação benéfica do bioprotetor e das moléculas de LCOs.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, fixação biológica de nitrogênio, inoculação, LCOs, protetor bacteriano.

Abstract: Soybeans are one of the most produced grains in the world, and because of the high cost of nitrogen fertilizers, new technologies in the inoculation of diazotrophic bacteria have been developed. The objective of this study was to evaluate the effect of *Bradyrhizobium*-based inoculant doses and Lipo-chito-oligosaccharide molecules (LCOs), together with bacterial protector as an additive, compared to a conventional inoculant in the inoculation of soybean seeds. The experiment was carried out in a greenhouse, with soil from a Red Oxissol of sandy texture. The experimental design was in randomized blocks with 3 replicates, the treatments being distributed in a 5 x 2 factorial scheme (2 inoculants and 5 inoculant doses). The seeds of the soybean cultivar M8866 were inoculated and seeded in the pots containing 11 L of substrate, where two plants remained for 45 days. Nine biometric-productive parameters were evaluated. Increasing the dose, regardless of the inoculant, provided an increase in root length and probably active nodules. In general, it was possible to observe statistical superiority of the inoculant with technologies integrated in relation to the conventional one, independent of the dose, when comparing the inoculants with respect to these two variables. Furthermore, the inoculant with integrated technologies provided a higher mass of fresh and dry matter of the nodules with the application of the highest inoculant dose (3.6 billion UFC mL⁻¹). It was noted that increasing the dose of conventional inoculant did not cause the increase of fresh and dry matter mass of the nodules such as the inoculant with integrated technologies, suggesting the beneficial action of the bioprotectant and of the LCOs molecules.

Keywords: bacterial protector, biological nitrogen fixation, diazotrophic bacteria, inoculation, LCOs.

Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das culturas mais produzidas no mundo e uma das principais fontes de proteína e óleo vegetal, sendo

muito utilizada como matéria prima na fabricação de ração para animais. No Brasil, segundo maior produtor mundial, na safra 2017/2018, a cultura ocupou uma área 35,149 milhões de hectares, que

totalizou uma produção de 119,281 milhões de toneladas, com produtividade de 3.394 (Conab, 2018).

Devido ao teor elevado de proteína dos seus grãos, cerca de 40%, um componente fundamental na sua composição é o nitrogênio (N), que é também um macronutriente essencial para o desenvolvimento da planta. Isso faz com que a cultura necessite de grandes quantidades desse nutriente (Crispino et al., 2001). Como afirma Vargas et al. (2004), o aproveitamento dos adubos nitrogenados é apenas a metade do que foi aplicado ao solo. A outra metade é perdida por lixiviação, desnitrificação e volatilização, sendo grande quantidade também imobilizada na matéria orgânica. Por isso, e pelo alto custo dos fertilizantes, a adubação nitrogenada seria uma atividade inviável economicamente no cultivo da soja (Vargas et al., 2004).

O uso de inoculantes com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium* é consolidado como alternativa indispensável para a nutrição nitrogenada da cultura da soja no Brasil (Hungria et al.; 2017). Essa prática representa uma economia substancial de energia fóssil, que seria utilizada na fabricação dos adubos nitrogenados. Para se ter a noção da importância das bactérias diazotróficas, estima-se que, 65% do total de N introduzido na agricultura do planeta sejam através da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Reis et al., 2006), o que traz vantagens ecológicas e econômicas. A economia com a utilização desses inoculantes em relação aos adubos nitrogenados é bem expressiva. De acordo com cálculos realizados pela Embrapa no ano agrícola 2012/2013, considerando os 27,7 milhões de hectares plantados com soja no Brasil naquela safra, a economia proporcionada pela não utilização de adubos nitrogenados ficou em torno de R\$ 24,9 bilhões (Embrapa, 2019).

Com a grande utilização de inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio na soja, foram desenvolvidas ao passar dos anos várias tecnologias, com a finalidade de melhorar a eficiência do processo de FBN. Atualmente, como grandes desafios, estão: o tratamento industrial visando inoculação antecipada e o desenvolvimento de novas formulações de inoculantes com protetores de bactérias que garantam a sua sobrevivência na presença de condições de estresse (Hungria e Nogueira, 2018). Assim, a eficiência do processo de fixação biológica do nitrogênio pode ser aumentada e o tempo necessário para o início da simbiose pode ser reduzido. Segundo Sei (2013), há algum tempo já é possível encontrar no mercado moléculas e substâncias que podem ser adicionadas ao inoculante para melhorar sua eficiência.

Alguns inoculantes estão sendo comercializados tendo em sua composição moléculas como lipo-quitto-oligossacarídeos (LCOs). Estas substâncias, também conhecidas com

Fatores NOD, são metabólitos secundários microbianos essenciais para a comunicação e o estabelecimento da relação simbiótica entre leguminosas e rizóbios (Collimore et al., 2001). Assim, atuam como sinalizadores moleculares e estão relacionados a nodulação nas plantas de soja, podendo promover o crescimento inicial das plantas e o enraizamento.

Outra tecnologia também encontrada no mercado são os aditivos protetores bacterianos (Ribeiro Neto et al., 2018), que possuem formulação em microemulsão e podem proporcionar proteção física e osmótica às células, aumentando a sobrevivência das bactérias e consequentemente melhorando a nutrição nitrogenada.

Os resultados de Marks et al. (2013) mostraram que a utilização de um aditivo celular na prática de inoculação de sementes de soja tratadas com fungicidas garante melhorias na sobrevivência e longevidade dos bradirrizóbios nas sementes. Cerezini et al. (2016) mostraram uma atenuação no efeito da seca na nodulação da soja quando foi usado inoculante contendo moléculas de LCOs. Neste mesmo sentido, Ribeiro Neto et al. (2018), conduziram de 2010 a 2015 em três Estados brasileiros, quarenta e cinco ensaios de campo com a cultura inoculada com produto que continha tecnologias integradas (LCOs e aditivos protetores), e verificaram que a inoculação antecipada foi tão efetiva como a inoculação na semeadura, além de aumentar o número de nódulos na raiz principal. Sei et al. (2018) também demonstraram efeitos benéficos de um protetor biológico comercial no incremento de produtividade e na viabilidade de seu uso para inoculação antecipada com *Bradyrhizobium* na cultura da soja.

Devido ao papel de auxiliar na proteção e ampliar a vida útil das bactérias, é possível que os inoculantes com novas tecnologias integradas possam proporcionar maior eficácia na prática da inoculação, uma vez que poderia viabilizar sua aplicação no tratamento de sementes industrial (preparo antecipado das sementes) sem prejuízos no processo simbiótico, contudo, mais estudos nesse seguimento ainda são necessários. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de doses de inoculante à base de *Bradyrhizobium* e moléculas de lipo-quitto-oligossacarídeos (LCOs), juntamente com protetor bacteriano como aditivo, comparado a um inoculante convencional na inoculação de sementes de soja.

Métodos

O experimento foi conduzido entre os dias 06 de março a 19 de abril de 2018 em casa de vegetação telada na área experimental do Cento Universitário do Vale do Araguaia – UNIVAR, Barra do Garças – MT, tendo como coordenadas geográficas latitude 15°53'40" e longitude 52°16'40" e altitude de 322 metros. As amostras de solo utilizadas nos tratamentos foram provenientes de um Latossolo Vermelho de textura arenosa, retirado

de uma área no município de Montes Claros – GO, onde segundo seu histórico foi utilizada por muitos anos como área de pastejo e estava atualmente sendo destinada ao cultivo da soja. Os resultados da análise química e física da amostra de solo apresentaram os seguintes valores: pH em $\text{CaCl}_2 = 5,15$; $\text{P} = 8,74 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{S-SO}_4^{2-} = 2,75 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K}^+ = 26 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K}^+ = 0,07 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca}^{2+} = 1,46 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg}^{2+} = 1,07 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Al}^{3+} = 0,02 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{H+Al} = 1,19 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; M.O. = $19,35 \text{ g dm}^{-3}$; CTC = $3,8 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; V = $68,7 \%$; m = $0,7 \%$; B = $0,09 \text{ mg dm}^{-3}$; Na = $1,00 \text{ mg dm}^{-3}$; Cu = $2,89 \text{ mg dm}^{-3}$; Fe = $90,12 \text{ mg dm}^{-3}$; Mn = $15,67 \text{ mg dm}^{-3}$; Zn = $15,27 \text{ mg dm}^{-3}$; Areia = 83% ; Silte = 4% ; Argila = 13% .

Com base nos valores da análise química do solo, seguindo as recomendações de Souza e Lobato (2004), foi necessária adubação com P aplicando o equivalente a 30 kg ha^{-1} de P_2O_5 (75 mg dm^{-3} por vaso) e foi utilizado como fonte de P_2O_5 , o Superfosfato Simples, que continha 18% de P_2O_5 . Também foi necessária adubação com K, onde se aplicou o equivalente a 25 kg ha^{-1} de K_2O (22 mg dm^{-3} por vaso) e foi utilizado como fonte de K_2O , o Cloreto de Potássio, que possuía 58% de K_2O . Constatou-se também a necessidade de adubação com B, que foi realizada aplicando $1,05 \text{ mg dm}^{-3}$ por vaso e foi utilizado o Ácido Bórico (H_3BO_3) como fonte de B, que possuía $17,5\%$ de B. Para a aplicação de Co e Mo, assim como para a de B, considerou-se as recomendações de Galvão (2004), foi utilizado como fonte desses nutrientes o Molibdato de Amônio [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$], destinando $0,02 \text{ mg dm}^{-3}$ por vaso, e o Cloreto de Cobalto (CoCl_2), destinando $0,08 \text{ mg dm}^{-3}$ por vaso, todos dissolvidos em 6 litros de água aplicando 200 mL de solução diretamente na superfície do solo de cada vaso.

O delineamento utilizado foi o delineamento em blocos casualizados, com o fatorial 2×5 , com 3 repetições de cada tratamento. Cada parcela experimental (vaso), continha $0,011 \text{ m}^3$ de terra. O primeiro fator foi com aplicação do inoculante 1 (convencional) e com a aplicação do inoculante 2 (com tecnologias integradas), por sua vez, o segundo fator foi composto por cinco doses de cada inoculante [0 (controle), 0,9; 1,8; 2,7 e 3,6 unidades

formadoras de colônias (UFC mL^{-1})] aplicados na semeadura da soja (Tabela 1).

Foram utilizados dois inoculantes comerciais líquidos: um Convencional (Inoculante 1) e outro com tecnologias integradas (Inoculante 2 = com moléculas de lipo-quitto-oligossacarídeos (LCOs), juntamente com protetor bacteriano como aditivo). O Inoculante 1 continha na sua formulação bactérias da espécie *Bradyrhizobium japonicum* (estirpes: SEMIA 5079 e 5080) e o Inoculante 2, a combinação de duas espécies (*Bradyrhizobium japonicum* estirpe SEMIA 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* estirpe 5019).

Para a inoculação, as doses dos inoculantes foram aplicadas instantes antes da semeadura com auxílio de uma pipeta volumétrica em 100 g de sementes de soja cultivar M8866, seguido da homogeneização. Todas as sementes haviam sido tratadas previamente com fungicida/inseticida. Cada vaso recebeu 5 sementes, mas aos 10 dias após emergência realizou-se o desbaste deixando duas plantas por vaso. Ao decorrer do período experimental foram realizadas capinas manual, controle de pragas e irrigação.

As avaliações foram realizadas quando as plantas estavam no estágio fenológico V8 de desenvolvimento da soja (que correspondeu a 45 dias após a germinação). Foram avaliados: Altura das plantas, Comprimento de raiz, Número de nódulos na raiz principal, Número de nódulos nas raízes secundárias, Número de nódulos provavelmente ativos (se observado a coloração rósea característica ou não), Massa da matéria fresca dos nódulos, Massa da matéria seca dos nódulos (após estufa de circulação forçada por 72 horas a 65°C), Massa da matéria seca da parte aérea e Massa da matéria seca de raiz.

Os dados obtidos foram submetidos à análise para a verificação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$), e na sequência, realizou-se a análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de F a 5% de probabilidade de erro e para as doses realizou-se um estudo por meio de regressão polinomial, utilizando o programa estatístico SISVAR.

Tabela 1. Proporções de inoculantes e aditivo misturados às sementes calculadas a partir da recomendação do fabricante para se obter as doses utilizadas no experimento

Inoculante 1	Inoculante 2	Doses
----- (mL por 100 g de sementes) -----		(bilhões UFC mL^{-1})
0	0	0
0,3*	0,6** + 0,28***	0,9
0,6	1,2 + 0,56	1,8
0,9	1,8 + 0,84	2,7
1,2	2,4 + 1,12	3,6

* = Quantidade calculada a partir da recomendação do fabricante (150 mL de produto para tratamento de 50 kg de semente) considerando a garantia de 3×10^9 UFC para cada 1 mL do Inoculante 1 para resultar na dose de 0,9 bilhões de UFC mL^{-1} . ** = Quantidade calculada a partir da recomendação do fabricante (150 mL de produto para tratamento de 50 kg de semente) considerando a garantia de $1,5 \times 10^9$ UFC para cada 1 mL do Inoculante 2 para resultar na dose de 0,9 bilhões de UFC mL^{-1} . *** = Quantidade calculada a partir da recomendação do fabricante (70 mL para cada 50 kg de semente) para misturar ao inoculante 2.

Resultados e discussão

A inoculação das sementes de soja com doses de dois inoculantes comerciais não afetou aos 45 dias (estádio V8) a altura de plantas, a massa de matéria seca de parte aérea, o número de nódulos nas raízes principais, o número de nódulos nas raízes secundárias e a massa da matéria seca da raiz (Tabela 2), apresentando os valores médios de 45,08 cm; 3,05 g; 16,67; 47,44 e 1,94 g, respectivamente. Deuber e Novo (2006) também observaram que a massa seca de parte aérea das plantas não diferiu, com média de 4,97 g, aos 41 dias quando inocularam sementes de soja com as mesmas estirpes do inoculante 1 usado neste trabalho. Contudo, sob condições de campo, Viana et al. (2009) avaliando cultivo solteiro de soja inoculada, observaram que a massa de matéria seca das plantas que estavam no estágio R7 foi 25,25% superior ao tratamento inoculado.

No presente estudo, a não observação de diferenças significativas nas variáveis produtivas e na maioria das biométricas, pode ser atribuída a provável presença no solo de bactérias fixadoras de nitrogênio, pois a área em que foi retirado o solo para o experimento, provinha de safras subsequentes com o cultivo de soja inoculada nas sementes e via sulco.

Desta forma, isso pode ter acarretado o aumento significativo no número de bactérias fixadoras de nitrogênio no solo, o que provavelmente fez com que até a testemunha obtivesse semelhanças estatísticas aos tratamentos com os inoculantes. Porém, mesmo em áreas contendo populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* (contendo mais de 1 bilhão de células bacterianas por grama de solo) a reinoculação anual demonstra ser com base em dezenas de experimentos uma atividade importante,

que garante incrementos no rendimento de grãos em até 25% (Hungria, 2011). No presente estudo não foi avaliada a produtividade de grãos, mas dado às significâncias estatísticas encontradas nas variáveis ligadas a presença de nódulos na soja (Tabela 2), infere-se que ao final do ciclo a inoculação contribuiria para o aumento da produtividade.

Segundo Hungria et al. (2017) tanto a soja plantada em áreas novas como em áreas proveniente de sucessivos cultivos precisam de inoculação com doses de no mínimo $2,4 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ e podem responder em nodulação e aumento de produtividade com o uso de doses superiores. No estudo de Moretti et al. (2018), a inoculação de sementes na semeadura aumentou o rendimento de grãos em 27% em relação ao controle não inoculados. Sei et al. (2018), avaliando a inoculação de sementes de soja juntamente com um protetor biológico comercial, no momento da semeadura, também notou produtividade estatisticamente superior aos tratamentos testemunha e inoculação padrão (sem protetor), com acréscimo de 32 e 15%, respectivamente. Segundo Ribeiro Neto et al. (2018), em média, os tratamentos inoculados produziram em seu experimento com diferentes inoculantes 8,7% a mais do que o controle.

O comprimento de raiz e o número de nódulos provavelmente ativos foram influenciados tanto pelo produto como pelas doses (Tabela 2). Para as variáveis massa da matéria fresca dos nódulos e massa da matéria seca dos nódulos foi observada interação significativa, ao nível de 5% de probabilidade, entre as doses do inoculante e os produtos (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância do experimento, com os resultados das variáveis analisadas aos 45 dias após a germinação da soja utilizando doses de dois inoculantes no tratamento de sementes.

	Altura (cm)	MSpa (g/pl)	CRaiz (cm)	Nod1	Nod2	NPAtiv	MFno (g/pl)	MSno (g/pl)	MSr (g/pl)
Produtos (F)	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	8,06 [*]	0,22 ^{ns}	0,78 ^{ns}	6,72 [*]	1,68 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Dose (F)	0,82 ^{ns}	0,81 ^{ns}	3,06 [*]	0,89 ^{ns}	1,38 ^{ns}	5,30 ^{**}	2,11 ^{ns}	2,31 ^{ns}	0,31 ^{ns}
Interação (F)	0,32 ^{ns}	1,24 ^{ns}	1,76 ^{ns}	1,25 ^{ns}	1,00 ^{ns}	2,76 ^{ns}	3,94 [*]	2,98 [*]	0,59 ^{ns}
Média geral	45,08	3,05	57,71	16,67	47,44	43,44	0,74	0,44	1,94
C.V. (%)	10,59	9,56	12,09	26,55	28,77	20,17	16,63	8,93	31,06

MSpa = massa da matéria seca da parte aérea; CRaiz = comprimento de raiz; Nod1 = número de nódulos nas raízes principais; Nod2 = número de nódulos nas raízes secundárias; NPAtiv = número de nódulos provavelmente ativos; MFno = massa da matéria fresca dos nódulos (Dados de MSno transformados em raiz quadrada); MSno = massa da matéria seca dos nódulos; MSr = massa da matéria seca da raiz; ^{ns} = não significativo, ^{*} = significativo a 5%, ^{**} = significativo a 1%; g/pl = gramas por planta; F = F calculado.

A aplicação dos inoculantes nas sementes de soja promoveu incremento significativo linear para o comprimento de raiz aos 45 dias, independente do produto usado, partindo de 52,48 cm (sem inoculação) e atingindo 62,95 cm com o uso da dose 3,6 UFC mL⁻¹ (Figura 1A). Ao se

comparar as médias dos dois produtos, independente da dose, o inoculante 2 foi o que promoveu maior comprimento de raiz (61,3 cm), este valor foi estatisticamente superior ao observado nas plantas que tiveram as sementes tratadas com o inoculante 1 (54,1 cm) (Figura 1B).

Viana et al. (2009) avaliaram em até 20 cm de profundidade a massa de matéria seca de raiz em soja no estágio R7 e verificaram incremento de quase 70% no tratamento com inoculação em relação ao não inoculado evidenciando o efeito benéfico da inoculação na produção de raízes em estádios mais avançados. Neste trabalho, a massa de matéria seca das raízes não foi influenciada pela inoculação (Tabela 2), e as raízes foram mais compridas nos tratamentos inoculados (Figura 1A), e também quando se usou o inoculante 2 (com tecnologias integradas), sugerindo que as raízes provenientes de sementes inoculadas com o inoculante 2 fossem mais finas.

Raízes com maiores comprimento e finas, caso o solo não possua impedimentos físicos, podem atingir profundidades maiores o que pode

proporcionar melhor suporte físico às plantas dado ao maior estabilidade conferida e melhores condições de absorção de água e nutrientes que se encontram nas camadas mais profundas do solo e maior superfície específica para absorção. As raízes das plantas com os dois inoculantes foram consideradas moderadamente profundas [classificação que segundo Pereira e Gomes (2019) varia de 51 a 100 cm]. A diferença de 7,2 cm a mais observada no tratamento com o inoculante 2 (tecnologias integradas) poderia contribuir com a diminuição de perdas caso a lavoura passasse por estresses como o ataque de pragas e doenças, veranicos, chuvas com ventos fortes ou mesmo geadas.

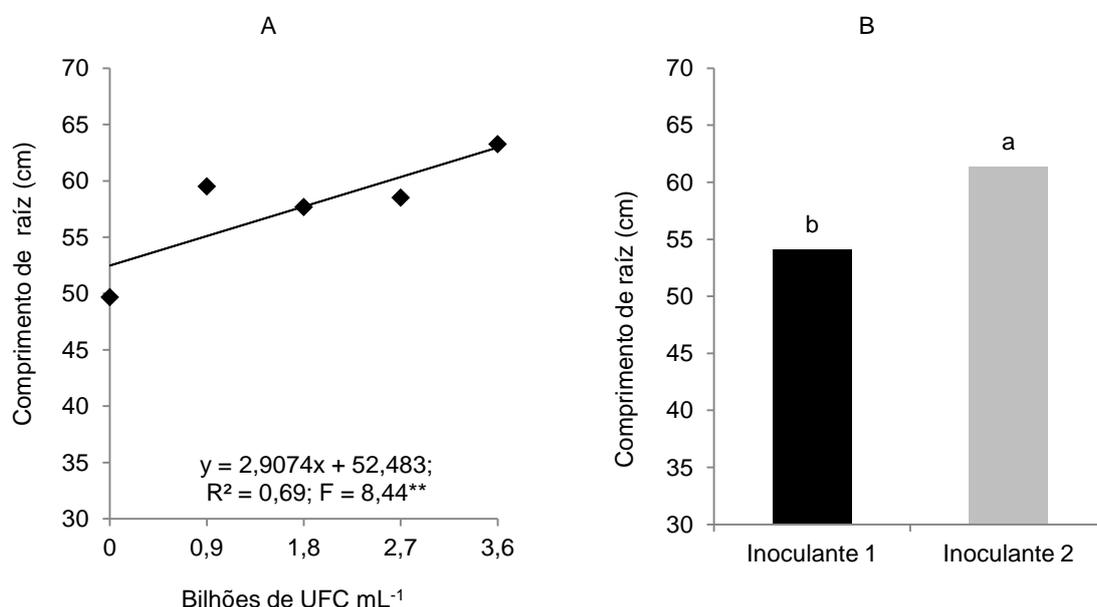


Figura 1. Comprimentos de raiz de soja submetida a doses (A) de dois inoculantes (B), medidos aos 45 dias após a germinação. F = F calculado; ** = significativo a 1%; Valores seguidos de letras diferentes sobre as barras diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

A inoculação, independentemente do produto utilizado, promoveu incremento significativo quadrático, ao nível de 1% de probabilidade, no número de nódulos provavelmente ativos nas raízes, atingindo 49,72 nódulos (ponto máxima da curva) com o uso da dose 2,48 UFC mL⁻¹ (Figura 2A). Na testemunha, observou-se um valor médio estimado de 31,17 nódulos provavelmente ativos, valor este inferior em 37,31% ao maior valor estimado com o uso da dose de 2,48 UFC mL⁻¹.

Na análise de nódulos ativos, percebe-se na Figura 2A, que houve um aumento expressivo entre a testemunha e as doses aplicadas com relação ao número de nódulos de coloração interna rósea (indicativo da presença de leg-hemoglobina), o que indica efetividade do processo de fixação biológica de N. Segundo Reis (2013), somente os nódulos

que contém a leg-hemoglobina estão realmente fixando N, pois ela atua como mecanismo protetor do complexo nitrogenase que é responsável pela redução do N₂ atmosférico.

No estudo de Viana et al. (2009), observou-se que a quantidade de nódulos encontrados ativos nos tratamentos inoculados foram inferiores ao do atual estudo, destacando o fato de que o experimento de Viana et al. (2009) ter sido conduzido em condições de campo e que a planta foi avaliada estando no estágio fenológico reprodutivo (R7). Os autores observaram valor médio de 38,7 nódulos ativos por planta, utilizando um inoculante turfoso que tinha na sua composição as espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 587), e valor médio de 4,5 nódulos quando

não se inoculou, quantidade bem inferior ao observado no controle do presente trabalho (31,17). Deuber e Novo (2006) utilizando inoculante que continha as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 de *B. japonicum*, observaram que aos 41 dias após a semeadura o número de nódulos totais foi maior no tratamento inoculado. Sem inoculação o valor foi de 15,35 nódulos por planta e com inoculação o valor foi de 70,6.

As plantas inoculadas com o inoculante 1, independente da dose, obtiveram em média 39,2 nódulos ativos por planta, valor 17,47% menor que o obtido quando do uso do inoculante 2 (47,5 nódulos provavelmente ativos por planta) (Figura 2B). Assim, observou-se superioridade de 8,3 nódulos ativos por planta quando utilizou o inoculante 2 comparado ao inoculante 1, o que sugere a maior eficiência das tecnologias em proteger e prolongar a vida útil das bactérias, proporcionando uma maior quantidade de N a planta, o que pode levar ao aumento da produtividade da cultura. Cerezini et al. (2016) notaram que a aplicação de inoculante contendo as

estirpes de *B. japonicum* (SEMIA 5079) e *B. diazoefficiens* (*B. japonicum*) (SEMIA 5080) juntamente com LCOs aumentou a produtividade de grãos em 7% em relação ao inoculante convencional.

No trabalho de Ribeiro Neto et al. (2018), o tratamento com inoculantes e aditivos protetores bacterianos juntamente com inoculação antecipada proporcionou respostas mais estáveis de nodulação, com 27% a mais de nódulos na raiz principal aos 45 dias quando comparado ao controle não inoculado. Os autores observaram que o número total de nódulos também aumentou. Também Maks et al. (2013) comparando a performance de plantas de soja inoculadas com combinações de espécies de rizóbios e LCOs observaram o maior número de nódulos (21% a mais) no tratamento contendo LCOs. Estes achados sugerem a ação das tecnologias integradas ao inoculante proporcionando ganhos devido à combinação de efeitos.

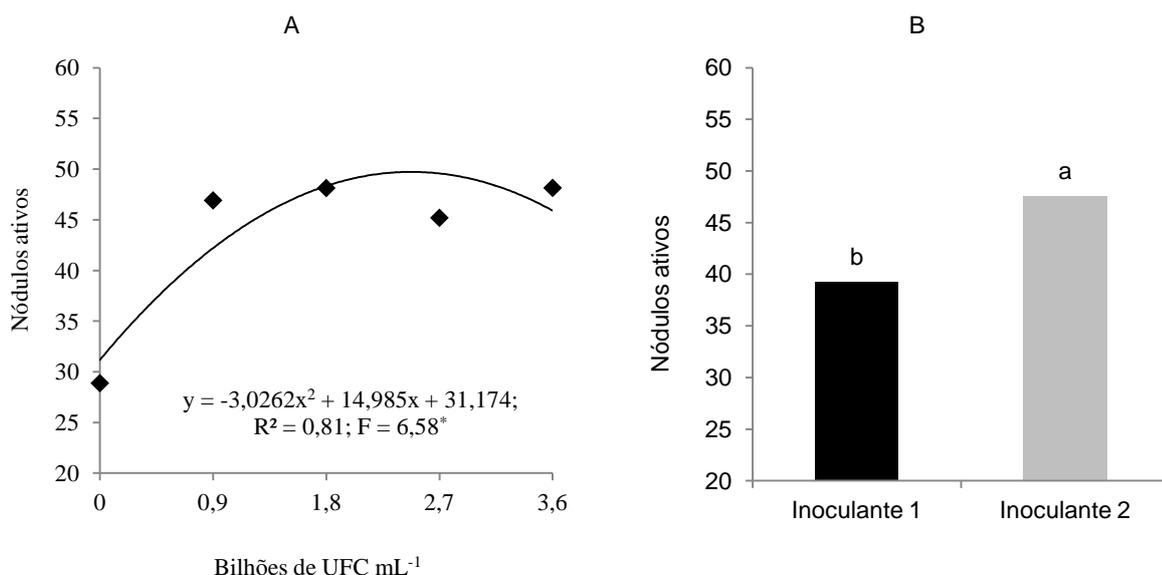


Figura 2. Número de nódulos provavelmente ativos em raiz de uma planta de soja submetida a doses (A) de dois inoculantes (B), contados aos 45 dias após a germinação. F = F calculado; * = significativo a 5%; Valores seguidos de letras diferentes sobre as barras diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Houve interação entre o tipo de inoculante e as doses aplicadas na semente apenas para as massas de matéria fresca e seca de nódulos (Tabela 2). Após o desdobramento da interação através do estudo da regressão polinomial, pode-se observar que, a aplicação do inoculante 2 nas sementes de soja proporcionou incremento significativo linear para a massa de matéria fresca de nódulos aos 45 dias, atingindo 0,91 g por planta com o uso da dose de 3,6 UFC mL⁻¹ (Figura 3). O controle (sem inoculação) apresentou valor de 0,64

g por planta. Por sua vez, a dose do inoculante 1 não influenciou a massa de matéria fresca de nódulos em plantas de soja obtendo média de 0,72 g por planta (Figura 3).

No estudo realizado por Deuber e Novo (2006) foi observado que o valor de massa de matéria fresca de nódulos foi superior quando as sementes foram inoculadas (1,41 g), quando não inoculadas o valor médio da massa fresca de nódulos foi de 0,75 g. Todavia, o trabalho citado foi conduzido em estufa, com total controle dos fatores

abióticos e este em casa telada, e foi utilizado na ocasião um inoculante turfoso com as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080). Como tal, em condições iguais ou menos favoráveis, os produtos avaliados neste trabalho teria alto potencial para proporcionar valores similares, ou até mesmo superiores ao citado, pois foram verificados resultados significativos dos inoculantes mesmo sob condições mais limitantes, dado à menor possibilidade de controle dos fatores ambientais.

O tipo de inoculante aplicado nas sementes de soja afetou a massa de matéria fresca dos

nódulos apenas quando do uso da maior dose (Tabela 3). Se comparado os inoculantes, nesta dose, nota-se que ao utilizar o inoculante 2 ocorreu o acréscimo significativo a 5% de probabilidade pelo teste F de 65% do valor observado com o uso do inoculante 2. Quando não inoculou as sementes o valor médio obtido foi de 0,63 g por planta, e com o uso das doses 0,9; 1,8 e 2,7 dos dois inoculantes os valores médios observados foram de 0,76; 0,77 e 0,71 g, respectivamente.

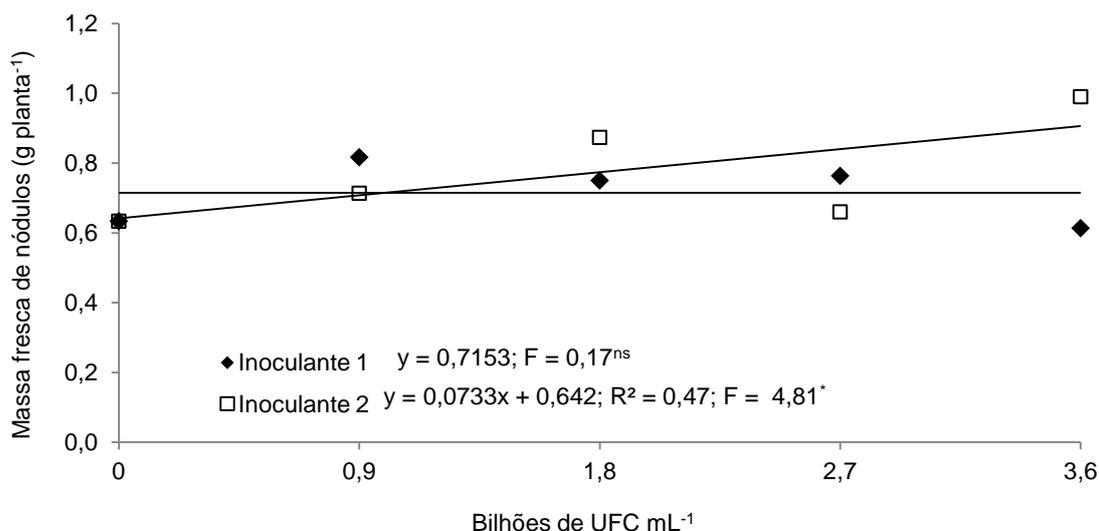


Figura 3. Massa de matéria fresca dos nódulos de soja com 45 dias após germinação em função de doses de dois inoculantes. F = F calculado; ^{ns} = não significativo; * = significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Massa de matéria fresca dos nódulos de soja com 45 dias após germinação tratadas com doses do Inoculante 1 e do Inoculante 2.

UFC mL ⁻¹ (Bilhão)	Inoculante 1 (g planta ⁻¹)	Inoculante 2 (g planta ⁻¹)
0	0,63 a	0,63 a
0,9	0,81 a	0,71 a
1,8	0,75 a	0,87 a
2,7	0,76 a	0,66 a
3,6	0,61 a	0,99 b

UFC mL⁻¹ = unidades formadoras de colônia por mililitro; Valores seguidos de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Após o desdobramento da interação observada entre os fatores estudados na variável massa de matéria seca de nódulos por planta (Tabela 2), procedeu-se o estudo da regressão e os resultados mostraram que o uso do inoculante 2 proporcionou incremento significativo linear para esta variável. O valor mínimo observado foi quando não se inoculou (0,42 g elevado ao quadrado), o maior valor (0,49 g elevado ao quadrado) foi

observado quando do uso da dose 3,6 UFC mL⁻¹ (Figura 4). A dose do inoculante 1 não influenciou a massa de matéria seca de nódulos na soja, obtendo média de 0,44 g elevado ao quadrado (Figura 4).

Deuber e Novo (2006) não observou diferença significativa entre as massas de matéria seca de nódulos de plantas inoculadas e não inoculadas, apresentando 0,29 g. Moretti et al. (2018), fizeram a inoculação com as estirpes SEMIA

5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) e SEMIA 5080 [*B. diazoefficiens* (*B. japonicum*)] e também notaram a ausência de diferença estatística das massas de matéria seca de nódulos, mas comentaram que houve aumento de 2,3 para 3,8 g, o que não descarta a possibilidade do efeito benéfico não ter sido identificado devido ao erro experimental.

A massa de matéria seca de nódulos foi influenciada pelo tipo de inoculante exclusivamente quando se utilizou a maior dose do produto (3,6 UFC mL⁻¹). Nota-se que o inoculante 2 promoveu uma diferença de 21,44% a mais que o inoculante 1 (Tabela 4). Sem a inoculação das sementes o valor médio obtido foi de 0,40 g (elevado ao quadrado) por planta, e com o uso das doses 0,9; 1,8 e 2,7 os valores médios observados foram de 0,46; 0,46 e 0,43 g elevados ao quadrado, respectivamente.

Observou-se que nas maiores doses de inoculante as massas de matérias fresca, e também seca, de nódulos foram maiores quando se usou o inoculante 2. Silva et al. (2011), compararam doses de inoculante contendo as mesmas estirpes que as do inoculante 1 usado neste trabalho na inoculação da soja. As doses foram equivalentes a 0,9 e a 1,8 bilhões de UFC mL⁻¹ e também não observaram diferenças significativas nas variáveis produtivas avaliadas. O atual resultado indica que é possível que com doses elevadas de inoculante com

tecnologias integradas (acima de 3,6 bilhões de UFC mL⁻¹) possa ocorrer uma maior efetividade do produto.

Possivelmente, conforme relato de Marks et al. (2013), a maior efetividade se dá pela combinação de efeitos atribuídos aos compostos secundários (LCOs) adicionados ao inoculante, aos fitormônios produzidos e pelo potencial da estirpe de bactéria. Os autores observaram um incremento modesto de 4,8% na produtividade quando usaram um inoculante com tecnologias integradas, mas ressaltaram o alto potencial que a mistura de metabólitos microbianos no inoculante tem para aumentar a receita do produtor. Somado a isto, o protetor bacteriano pode ter proporcionado a maior sobrevivência das células, indicando que o aumento de doses de inoculante e do protetor bacteriano seria viável, contudo, mais estudos são necessários. Os resultados de Moretti et al. (2018) indicaram que as raízes de soja podem formar novos nódulos em resposta à inoculação adicional com aplicação foliar, o que poderia promover o aumento na fixação biológica de N e conseqüente aumento de produtividade, o que também poderia acontecer caso o tempo de sobrevivência junto as raízes fosse aumentado por um protetor bacteriano.

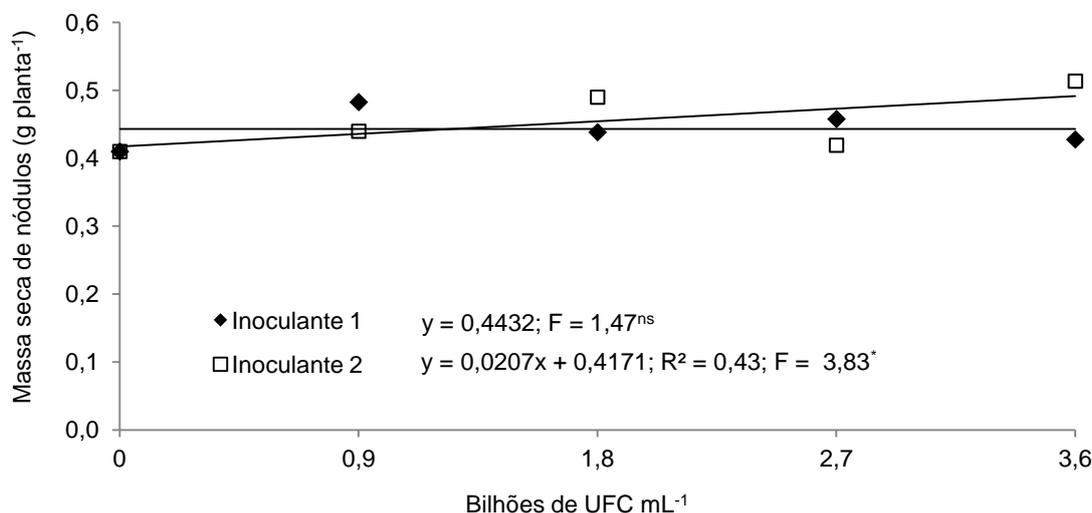


Figura 4. Massa de matéria seca dos nódulos de soja com 45 dias após germinação tratadas em função de doses de dois inoculantes; dados transformados em raiz quadrada. F = F calculado; ^{ns} = não significativo; * = significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Massa de matéria seca dos nódulos de soja com 45 dias após germinação tratadas com doses do Inoculante 1 e do Inoculante 2; dados transformados em raiz quadrada.

UFC mL ⁻¹ (Bilhão)	Inoculante 1 (g planta ⁻¹)	Inoculante 2 (g planta ⁻¹)
0	0,40 a	0,40 a
0,9	0,48 a	0,43 a
1,8	0,43 a	0,48 a
2,7	0,45 a	0,41 a
3,6	0,42 a	0,51 b

UFC mL⁻¹= unidades formadoras de colônia por mililitro; Dados de MSnod transformados em raiz quadrada. Valores seguidos da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Conclusões

O aumento da dose, independente do inoculante, proporcionou aumento no comprimento de raiz e nódulos provavelmente ativos. De modo geral, pôde-se observar superioridade estatística do inoculante com tecnologias integradas em relação ao convencional, independente da dose, ao comparar os inoculantes quanto a essas duas variáveis. Ainda, o inoculante com tecnologias integradas proporcionou maior massa de matéria fresca e seca dos nódulos com a aplicação da maior dose de inoculante (3,6 bilhões de UFC mL⁻¹). Notou-se que o aumento da dose de inoculante convencional não causou o aumento da massa de matéria fresca e seca dos nódulos tal como o inoculante com tecnologias integradas, sugerindo a ação benéfica do bioprotetor e das moléculas de LCOs.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário do Vale do Araguaia pelo aporte.

Referências

Cerezini, P.; Kuwano, B. H.; Santos, M. B.; Terassi, F.; Hungria, M.; Nogueira, M. A. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. *Field Crops Research*, v. 196, p. 160-167, 2016.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira, v.12, safra 2017/18. Brasília: CONAB, 2018. 148 p.

Crispino, C. C.; Franchini, J. C.; Moraes, J. Z.; Sibaldelle, R. N. R.; Loureiro, M. F.; Santos, E. N.; Campo, R. J.; Hungria, M. Adubação nitrogenada na cultura da soja. Londrina: Embrapa, 2001. 6 p.(Comunicado Técnico, 75).

Cullimore, J. V.; Ranjeva, R., Bono, J. J. Perception of lipo-chitooligosaccharidic Nod factors in legumes. *Trends Plant Science*, v. 6, n. 3, p. 24-30, 2001.

Douber, R; Novo, M. C. S. S. Nodulação e desenvolvimento de plantas de soja IAC-19 com aplicação dos herbicidas Diclosulam e Flumetsulam.

Revista Brasileira de Herbicidas, v. 5, n. 2, p. 57-63, 2006.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Fixação biológica de nitrogênio. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio/nota-tecnica>>. Acesso em: 01. fev. 2019.

Hungria, M.; Araujo, R. S.; Silva Júnior, E. B.; Zilli, J. É. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. *Agronomy Journal*, v. 109, n. 3, p. 1-7, 2017.

Hungria, M. Fixação biológica do nitrogênio na perspectiva do Mercosul: novos conhecimentos e tecnologias disponíveis. In: CONGRESSO DE LA SOJA DEL MERCOSUR PRIMER. 5., FORO DE LA SOJA ASIA – MERCOSUR. 1., 2011, Rosário. Anais... Rosario: Asociación de la Cadena de la Soja Argentina, 2011. 1. CD-ROM.

Hungria, M.; Nogueira, M. A. Estágio da aplicação de inoculantes no país: do tratamento industrial de sementes à aplicação foliar. In: SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION WITH NON LEGUMINOSAS, 16., LATINAMERICAN WORKSHOPING OF PGPR, 4., RELARE, 19., 2018, Foz do Iguaçu. Anais... Brasília: Embrapa, 2018.

Galvão, E. Z. Micronutrientes. In: Sousa, D. M. G.; Lobato, E. Cerrado: correção do solo e adubação. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2004. p.185-226.

Marks, B. B.; Bangel, E. V.; Tedesco, V.; Silva, S. L. C.; Ferreira, S. B.; Vargas, R.; Silva, G. M. Avaliação da sobrevivência de *Bradyrhizobium* Spp em sementes de soja tratadas com Fungicidas, protetor celular e inoculante. *Revista Internacional de Ciências*, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2013.

Marks, B. B., Megías, M., Nogueira, M. A., Hungria, M. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp.

- and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. *AMB Express*, v. 3, n. 21, p. 1-10, 2013.
- Pereira, L. C.; Gomes, M. A. F. Profundidade efetiva e produtividade do solo: conceitos e importância. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=33953&secao=Artigos%20Especiais>>. Acesso em: 31. jan. 2019.
- Reis V, M. Como fazer uma agricultura verde usando o mais antigo processo de obtenção de nitrogênio em plantas. *Acta Scientiae & Technicae*, v.1, n. 1, p. 15 -23, 2013.
- Reis, V. M.; Oliveira, A. L. M.; Baldani, V. L. D.; Olivares, F. L.; Baldani, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. Nutrição mineral de plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 154-174.
- Ribeiro Neto, M.; Jakoby, I. C. M. C.; Buso, P. H. M; Bermudez, M.; Diaz-Zorita, M.; Souchie E. L. Anticipated inoculation of soybean seeds treated with agrochemicals under brazilian production conditions. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, v. 20, n. 1, p. 188-199, 2018.
- Sei, F. B. Novos produtos e tecnologias em inoculantes para cultura do soja no Brasil. 2013. Disponível em: <<https://brasilagro.wordpress.com/2013/09/30/novos-produtos-e-tecnologias-em-inoculantes-para-cultura-do-soja-no-brasil/>> Acesso em: 02. fev. 2019.
- Sei, F. B.; Souchie, E. L.; Ribeiro Neto, M.; Jakoby, I. C. M. C. Efeito do tratamento antecipado de sementes de soja com inoculantes e protetor biológico na produtividade em duas safras de cultivo. In: SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION WITH NON LEGUMINOSAS, 16., LATINAMERICAN WORKSHOPING OF PGPR, 4., RELARE, 19., 2018, Foz do Iguaçu. Anais... Brasília: Embrapa, 2018.
- Silva, A. F.; Carvalho, M. A. C.; Schoninge, E. L.; Monteiro, S.; Caione, G.; Santos, P. A. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. *Bioscience Journal*, v. 27, n. 3, p. 404-412, 2011.
- Sousa, D. M. G.; Lobato, E. Calagem e adubação para culturas anuais e semiperenes. In: Sousa, D. M. G; Lobato, E. Cerrado: correção do solo e adubação. 2. ed., Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2004. p. 283-316.
- Vargas, M. A. T.; Mendes, I. C.; Carvalho, A. M.; Lobo-Burle, M.; Hungria, M. Inoculação de leguminosas e manejo de adubos verdes. In: Sousa, D. M. G.; Lobato, E. Cerrado: correção do solo e adubação. 2. ed., Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2004. p. 97-128.
- Viana, J. S.; Bruno, R. L. A.; Santos, H. C.; Silva, I. F.; Oliveira, A. P.; Braga Junior, J. M. Fitomassa de cultivares de soja verde em sistemas de cultivo com milho. *Scientia Agraria*. v. 10, n. 5, p. 413-418, 2009.