



EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DA PRÉ-INOCULAÇÃO DE BRADYRHIZOBIUM EM SOJA.

Oswaldo Machineski⁽¹⁾; Maria Aparecida Matos⁽¹⁾; Inês Fumiko Ubukata Yada⁽²⁾; Arnaldo Colozzi Filho⁽³⁾

⁽¹⁾ Analista em C&T do Instituto Agronômico do Paraná-IAPAR, Área de Solos, Laboratório de Microbiologia de Solos do IAPAR, (omachine@iapar.br); ⁽²⁾ Analista em C&T, Área de Biometria do IAPAR; ⁽³⁾ Pesquisador da Área de Solos, Laboratório de Microbiologia de Solos, IAPAR, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 375, CEP 86047-902, Londrina-PR. (acolozzi@iapar.br).

RESUMO: A tecnologia da FBN permite alcançar elevada produtividade na cultura da soja com a eliminação da aplicação de fertilizantes nitrogenados. A pré-inoculação do inoculante em soja pode diminuir custos e aumentar a sua eficiência. O objetivo foi avaliar a eficiência da pré-inoculação do inoculante comercial RIZOLIQLLI em soja, com antecipação de 60, 45 e 30 dias, utilizando o protetor celular Premax e diferentes tratamentos químicos de sementes. O experimento foi instalado em Santa Tereza-Pr, e teve os tratamentos, controle, inoculante líquido Rizoliq, constituído de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe Semia-5079 e Semia-5080) no dia do plantio e da pré-inoculação das sementes com o inoculante comercial RIZOLIQLLI, aos 30, 45 e 60 dias do plantio, com adição do protetor celular e tratamento químicos de sementes diferenciados. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com cinco repetições. A correção do solo e adubação foram realizadas conforme interpretação do resultado de análise de solo e recomendações para a cultura. A condução do ensaios e avaliações foram realizadas conforme previsto na Instrução Normativa (IN) 13 do MAPA. O protetor celular foi eficiente e manteve as células de *Bradyrhizobium* viáveis em até 60 dias. Houve efeito da pré-inoculação na produção de grãos, igual ou maior que o obtido com o inoculante comercial aplicado no dia do plantio. Os demais parâmetros avaliados da eficiência biológica de N se comportaram de forma diferenciada.

Termos de indexação: *Bradyrhizobium japonicum*, protetor celular, inoculação antecipada.

INTRODUÇÃO

A utilização tecnológica da fixação biológica de nitrogênio (FBN) permite alcançar elevada produtividade na cultura da soja com a eliminação da aplicação de fertilizantes nitrogenados. Atualmente o inoculante é aplicado às sementes no dia do plantio. Isso gera um trabalho extra e demanda tempo e mão de obra adicional no momento do plantio, o que pode causar redução na utilização da inoculação. Novas tecnologias estão

sendo estudadas para eliminar a necessidade de realização concomitante de algumas fases da inoculação pelo produtor, entre elas está a pré-inoculação das sementes com as estirpes de rizóbium recomendadas para a soja.

O uso dessas novas tecnologias pode eliminar o preparo e a aplicação do inoculante nas sementes no momento do plantio, e poderá aumentar a eficiência da FBN em soja, uma vez que as sementes serão comercializadas pré-inoculadas com a garantia do mínimo de células viáveis de rizóbios. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da pré-inoculação do inoculante Rizoliq LLI em soja, aplicado as sementes com antecedência de 60, 45 e 30 dias em conjunto com o o protetor celular Premax e tratadas com diferentes produtos químicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo na estação experimental do IAPAR em Santa Tereza-Pr. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com cinco repetições. Foi determinada a umidade e a estimativa da população de rizóbios nodulantes de soja no solo segundo o método de infecção de plantas (MAPA, 2010). Determinou-se a contagem de células viáveis de *Bradyrhizobium* nos inoculantes RIZOLIQLLI e RIZOLIQL. A recuperação e quantificação de células viáveis de *Bradyrhizobium* em sementes pré-inoculadas foram realizadas após o tempo de armazenamento previsto nos tratamentos, antes da semeadura (MAPA, 2010). As análises de solo foram realizadas no Laboratório de Solos e Tecidos Vegetais do IAPAR em Londrina, seguindo a metodologia de Pavan et al. 1992.

Foram instalados 11 tratamentos, em cinco blocos, como descritos na Tabela 1. Como inoculantes foram utilizados o inoculante líquido RIZOLIQL, constituído de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe Semia 5079 e Semia 5080) e o inoculante RIZOLIQLLI; a pré-inoculação ocorreu aos 60, 45 e 30 dias antes da semeadura; com aplicação do protetor celular Premax. Os tratamentos químicos das sementes foram realizados com o produto Rocks da FMC - Standack Top da Basf - ou Maxim



XL da Syngenta - Nas dosagens recomendadas pelo fabricante.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos

| Trat | Inoculante | Pré-inoc. | Prot. Cel | Trat. Químico |
|------|--------------------------|-----------|-----------|---------------|
| 1 | Sem | Sem | Sem | Sem |
| 2 | Rizoliq | Sem | Sem | Sem |
| 3 | Rizoliq LLI [®] | 60 | Premax | Rocks |
| 4 | Rizoliq LLI [®] | 60 | Premax | Standack Top |
| 5 | Rizoliq LLI [®] | 60 | Premax | Maxim XL |
| 6 | Rizoliq LLI [®] | 45 | Premax | Rocks |
| 7 | Rizoliq LLI [®] | 45 | Premax | Standack Top |
| 8 | Rizoliq LLI [®] | 45 | Premax | Maxim XL |
| 9 | Rizoliq LLI [®] | 30 | Premax | Rocks |
| 10 | Rizoliq LLI [®] | 30 | Premax | Standack Top |
| 11 | Rizoliq LLI [®] | 30 | Premax | Maxim XL |

A variedade de soja utilizada foi a BMX potência RR. Após o tratamento de pré-inoculação, as sementes ficaram armazenadas em saco de papel durante o período descrito por tratamento. O tamanho das parcelas do experimento e a colheita foram determinados pela Instrução Normativa (IN) nº 13 (MAPA 2011). A adubação e calagem foram realizadas com base na análise de solo (Tabela 2) e as recomendações previstas na IN13 do MAPA.

A semeadura foi realizada em 30/10/2014 e os tratamentos culturais foram realizados com o herbicida pós-emergente Roundup Original e Trope o inseticida Lannate BR e Match + Mustang, Belt, Engeo Pleno, e o controle de fungos com Fox e Opera nas dosagens recomendadas pelo fornecedor.

Para determinação da eficiência do processo de pré-inoculação, os seguintes parâmetros foram analisados: análise dos inoculantes RIZOLIQ e RIZOLIQ LLI, número de nódulos (n° planta⁻¹), massa seca de nódulos (mg planta⁻¹), massa seca de raiz (g planta⁻¹), massa seca da parte aérea (g planta⁻¹), massa de mil sementes (g), produção de grãos (kg ha⁻¹) e concentração de N na parte aérea da soja (mg N planta⁻¹). A coleta de raízes e parte aérea para avaliação foi realizada no florescimento da soja. A determinação de N da parte aérea foi realizada no Laboratório de solos do IAPAR conforme método descrito por Miyazawa, et al. 1992. As demais avaliações foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Solo do IAPAR.

As análises estatísticas foram realizadas usando o programa estatístico Statistical Analysis System - SAS e quando significativas as médias foram comparadas pelo teste de Duncan 10% de probabilidade.

Tabela 2. Característica química do solo

| P | C | pH | Al | H+Al | Ca | Mg | K |
|--------------------|-------------------|-----|--|------|------|------|------|
| mg dm ³ | g dm ³ | |cmol _c dm ³ de solo ⁻¹ | | | | |
| 16,9 | 25,71 | 4,8 | 0,05 | 8,35 | 5,87 | 3,57 | 0,52 |

P e K: Melhlich I; Ca, Mg e Al: KCl; pH: CaCl₂ 0,01M; C: Walkley Black.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações dos inoculantes utilizados, bem como das sementes pré-inoculadas e população nativa do solo da área experimental apresentaram as seguintes características: A Semia 5080 apresentou número de células viáveis de *Bradyrhizobium* em média de $1,0 \cdot 10^9$ UFC mL⁻¹ no solo. A avaliação de células viáveis de rizóbios naturalizados nodulantes de soja no solo, foi estabelecida em $5,58 \text{ Log}_{10} \text{ g solo}^{-1}$. A contagem de células viáveis de *Bradyrhizobium* no inoculante RIZOLIQ LLI e RIZOLIQ constituído por *Bradyrhizobium japonicum*, estirpes Semia-5079 e Semia-5080, recomendadas para soja, avaliados no período de incubação de 0 a 60 dias, não apresentaram diferenças significativas entre si, cujos valores médios de n° de células viáveis de *Bradyrhizobium* foram de $9,19 \text{ Log}_{10} \text{ mL inoculante}^{-1}$. Nos testes de eficiência dos inoculantes em solução nutritiva, em casa de vegetação, houve nodulação nas raízes de soja em todos os tratamentos, com exceção do controle. Estes resultados demonstram que a pré inoculação de até 60 dias com inoculante RIZOLIQ LLI com a utilização conjunta do protetor celular Premax e tratamento químico das sementes não afetou a viabilidade das células de *Bradyrhizobium* aderidas as sementes. Esses tratamentos não se diferenciaram do inoculante RIZOLIQ utilizado no dia da semeadura.

Observou-se que não houve diferenças significativas entre a população de *Bradyrhizobium japonicum* com o uso do inoculante o RIZOLIQ e os inoculantes: RIZOLIQ LLI+Premax+Rocks após 60 e 45 dias de incubação nas sementes, RIZOLIQ LLI+Premax+Maxim XL após 60 e 45 dias de incubação nas sementes e RIZOLIQ LLI+Premax+Standack Top após 45 e 30 dias de incubação nas sementes de soja.

A nodulação de plantas foi maior que o controle no tratamento T2 em que foi realizada a inoculação no dia do plantio e no tratamento T6 (Tabela 3). A massa seca de nódulos foi significativamente maior no T6 em relação aos demais tratamentos. Observou-se maior massa seca de raiz no T2, T9 e T10. Já a massa seca da parte aérea teve aumento no T10. Os tratamentos T4, T8 e T11 apresentaram maiores valores de massa de 1000 sementes. A



produção de grãos foi influenciada positivamente pela inoculação em todos os tratamentos, exceto no T3, T8, T10 e T11. Os demais tratamentos apresentaram aumentos na produção de grãos de forma significativa em relação ao controle (**Tabela 3**). Quanto aos teores de N da parte aérea, o T11 foi o que apresentou maior teor de N. Todos os tratamentos inoculados com RIZOLIQ LLI e RIZOLIQ apresentaram significativamente maiores teores de N que o controle, e os tratamentos pré-inoculados aos 60 dias, T3, T4, T5 não diferiram significativamente quando comparados a inoculação RIZOLIQ, T2.

Quando se comparou só o efeito da pré-inoculação na produção de grãos, todos os tratamentos foram superiores ao controle, porém não houve diferença entre si (**Tabela 4**), o mesmo ocorreu quando se comparou o efeito do tratamento químico de sementes (**Tabela 5**). Os dados mostram a viabilidade da pré-inoculação utilizada em conjunto com o uso de protetores celulares. Os resultados de produção confirmam que a tecnologia de pré-inoculação proposta se equívaleu à inoculação das sementes no momento do plantio, não diferindo estatisticamente do inoculante comercial RIZOLIQ recomendado para a cultura da soja.

CONCLUSÕES

Houve eficiência simbiótica da pré-inoculação de sementes de soja com RIZOLIQ LLI, nos diferentes tempos de armazenamento e tratamentos químicos das sementes.

REFERÊNCIAS

MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, **INSTRUÇÃO NORMATIVA, nº 30, 12 nov. 2010**. Estabelecer os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza na forma desta Instrução Normativa.

MAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, Instrução Normativa nº 13 de 2011 (protocolo de procedimento de fixação biológica de N em Leguminosas – alterado).

MIYAZAWA, M. et al. **Análise química de tecido vegetal**. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 1992. 17p (circular 74).

PAVAN, M. A et al. **Manual de análise química de solo e controle de qualidade**. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná; 1992.



Tabela 3. Resultados dos parâmetros avaliados em soja pré-inoculada com inoculante Rizoliq LLI + protetor celular Premax e diferentes tratamentos de semente, cultivada no IAPAR de Santa Tereza.

| Tratamentos | Nódulos | MS Nódulos | MS raiz | MS PA | 1000 sementes | Produção | N |
|-------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------|---------------------|--------------------|
| | nº planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g | kg ha ⁻¹ | g kg ⁻¹ |
| T1 | 45,92cde | 0,1224bcd | 1,51bcd | 8,46b | 126,51d | 2449,41e | 22,66e |
| T2 | 56,00ab | 0,1272bcd | 1,75a | 9,42ab | 131,12bc | 2671,81abc | 32,80d |
| T3 | 54,12abc | 0,1488bc | 1,60abcd | 9,50ab | 130,19c | 2592,57bcde | 33,96d |
| T4 | 45,96cde | 0,1132d | 1,46cd | 9,17ab | 134,90a | 2757,24a | 33,55d |
| T5 | 48,32bcd | 0,1354bcd | 1,43d | 8,49b | 128,44cd | 2688,43abc | 35,74cd |
| T6 | 60,74a | 0,1898a | 1,44d | 8,54ab | 131,06bc | 2666,09abc | 38,67abc |
| T7 | 39,85ef | 0,1118d | 1,73ab | 9,64ab | 130,42c | 2666,15abc | 38,62abc |
| T8 | 47,44cd | 0,1320bcd | 1,69abc | 9,19ab | 134,10ab | 2521,69de | 39,55abc |
| T9 | 42,92def | 0,1508b | 1,77a | 9,69ab | 129,18cd | 2707,77ab | 40,99ab |
| T10 | 35,56f | 0,1184cd | 1,80a | 10,35a | 130,22c | 2560,46bcde | 36,85bcd |
| T11 | 35,92f | 0,1194cd | 1,46cd | 8,28b | 135,24a | 2557,05cde | 40,56a |
| CV % | 15 | 19 | 12 | 16 | 2 | 5 | 11 |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 10% de probabilidade.

T-1: Testemunha sem Inoc/sem N, T-2: Inoculação Rizo-LIQ, T-3: 60d- Rizoliq LLI+Premax+Rocks, T-4: 60d- Rizoliq LLI+Premax+Standak Top, T-5: 60d- Rizoliq LLI+Premax+Maxim XL, T-6: 45d- Rizoliq LLI+Premax+Rocks, T-7: 45d- Rizoliq LLI+Premax+Standak Top, T-8: 45d- Rizoliq LLI+Premax+Maxim XL, T-9: 30d- Rizoliq LLI+Premax+Rocks, T-10: 30d- Rizoliq LLI+Premax+Standak Top, T-11: 30d- Rizoliq LLI+Premax+Maxim XL.

Tabela 4. Efeito do tempo de pré-inoculação (0, 30 45 e 60 dias de pré-inoculação) da soja inoculada com inoculante Rizoliq LLI + protetor celular Premax, cultivada no IAPAR em Santa Tereza.

| Tratamentos | Nódulos | MS Nódulos | MS raiz | MS PA | 1000 sementes | Produção | N |
|-------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------|---------------------|--------------------|
| | nº planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g | kg ha ⁻¹ | g kg ⁻¹ |
| T1 -Test | 45,92b | 0,1226 | 1,5124bc | 8,4596 | 126,52b | 2449,41b | 22,66c |
| T2 -0 dias | 56,00a | 0,1272 | 1,7524a | 9,4220 | 131,12a | 2671,81a | 32,80b |
| T3-30 dias | 49,47b | 0,1325 | 1,4984c | 9,0541 | 131,18a | 2679,42a | 34,42b |
| T4-45 dias | 48,74b | 0,1444 | 1,6224abc | 9,1224 | 131,86a | 2617,98a | 38,95a |
| T5-60 dias | 38,13c | 0,1296 | 1,6749ab | 9,4417 | 131,55a | 2608,43a | 39,80a |
| CV % | 11 | 14 | 9 | 11 | 2 | 4 | 10 |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 10% de probabilidade.

Tabela 5. Efeito do tratamento de sementes sobre a eficiência agrônômica do inoculante RIZILIQ LLI, usado em pré-inoculação da soja, cultivada no IAPAR em Santa Tereza do Oeste, PR.

| | Nódulos | MS Nódulos | MS raiz | MS PA | 1000 sementes | Produção | N |
|----------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------|---------------------|--------------------|
| | nº planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g planta ⁻¹ | g | kg ha ⁻¹ | g kg ⁻¹ |
| T1 -Test | 45,92b | 0,1226cb | 1,5124b | 8,4596b | 126,52b | 2449,4b | 22,66c |
| T2 - Inoc sem trat | 56a | 0,1272cb | 1,7524a | 9,4220ab | 131,12a | 2671,8a | 32,80b |
| T3-Rocks FMC | 52,59a | 0,1632a | 1,6031ab | 9,2426ab | 130,15a | 2655,5a | 37,87a |
| T4-Standak Top Basf | 3986c | 0,1144c | 1,6637ab | 9,7206a | 131,85a | 2661,3a | 36,34ab |
| T5-Maxim XL Syngenta | 43,89cb | 0,1288b | 1,5289b | 8,6551ab | 132,60a | 2589,06a | 38,95a |
| CV % | 10 | 9 | 8 | 10 | 2 | 4 | 10 |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 10% de probabilidade.