



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 Agrônomo 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.