

EFEITO DE DOSES DE INOCULANTE TURFOSO NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO PELA CULTURA DA SOJA⁽¹⁾

O. BRANDÃO JUNIOR⁽²⁾ & M. HUNGRIA⁽³⁾

RESUMO

A inoculação e a reinoculação da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] são essenciais para garantir a maximização do processo de fixação biológica do N₂. A maioria dos inoculantes comercializados para a soja no País utiliza, como veículo, a turfa, mas existem controvérsias sobre a dose a ser recomendada, especialmente em condições desfavoráveis ou em áreas já inoculadas. Assim, para a região central do Brasil, tem sido recomendado usar 1.000 g de inoculante/50 kg de sementes, com solução açucarada como adesivo. Neste estudo, porém, constatou-se que a dose máxima de turfa aderida às sementes está entre 500 g e 600 g de inoculante/50 kg. O uso de doses superiores resultará, portanto, em acúmulo na semeadora, dificultando o plantio. Em condições de casa de vegetação, em vasos esterilizados, a dose de 250 g foi suficiente para garantir boa nodulação e fixação, mas, em vasos com solo não esterilizado e em campo, os melhores resultados foram obtidos com a dose de 500 g. Em geral, a reinoculação com 500 g de inoculante turfoso (10⁸ células/g) e solução açucarada como adesivo incrementou, em campo, o rendimento e o N total dos grãos.

Termos de indexação: *Bradyrhizobium*, inoculação, nodulação, tratamento de sementes.

⁽¹⁾ Parte da Tese de Mestrado do primeiro autor, como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina - UEL. Recebido para publicação em abril de 1999 e aprovado em maio de 2000.

⁽²⁾ Engenheiro-Agrônomo, Praça Raul Cardoso, n.118, CEP 16200-000 Birigui (SP).

⁽³⁾ Engenheira-Agrônoma, Ph.D., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPS), Caixa Postal 231, CEP: 86001-970 Londrina (PR).

SUMMARY: *EFFECTS OF PEAT INOCULANT DOSES ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION BY SOYBEAN CROP*

Soybean [Glycine max (L.) Merrill] inoculation and reinoculation are essential to guarantee the maximization of the biological N₂ fixation process. Most inoculants commercialized for soybean in Brazil are peat-based, but there are doubts about the dose of peat inoculant which should be recommended, specially under stressing conditions or in areas previously inoculated. Therefore, for the central region of Brazil, the recommendation is 1.000 g of inoculant/50 kg of seeds, with a sugar cane solution as adhesive. However, in this study it was shown that the maximum dose of peat inoculant adhered to the seeds ranges between 500 g to 600 g/50 kg seeds. The use of higher doses will thus result in peat accumulated in the sowing machine. Under sterile greenhouse conditions, the dose of 250 g of peat inoculation was sufficient to allow a good nodulation and nitrogen fixation, but in pots containing non-sterile soil or under field conditions, the best results were obtained with the dose of 500 g. In general, reinoculation with 500 g of peat inoculant (10⁸ cells/g) with a sugar cane solution as adhesive, under field conditions, increased yield and total N in grains.

Index terms: Bradyrhizobium, inoculation, nodulation, seed treatment.

INTRODUÇÃO

Diversas leguminosas podem suprir suas necessidades de N por três fontes: (a) N do solo, proveniente da decomposição da matéria orgânica e das rochas; (b) N fornecido pelos fertilizantes, e (c) N atmosférico (N₂), o qual é biologicamente fixado por bactérias simbiotes dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium* e *Azorhizobium*. Esse processo biológico ocorre em estruturas típicas e altamente específicas, os nódulos, que são formados após o estabelecimento da simbiose entre o microssimbionte e a planta hospedeira. O produto da fixação biológica do N₂ (FBN) sintetizado nos nódulos, amônio é, então, exportado para a planta hospedeira que, por sua vez, abastece os micros-simbiontes com fotossintatos, que fornecem energia e esqueletos de carbono para a incorporação da amônia fixada (Siqueira & Franco, 1988; Hungria et al., 1994; Vargas & Hungria, 1997).

O principal objetivo da inoculação de leguminosas é assegurar um número suficiente de rizóbios na zona da raiz para garantir uma nodulação efetiva (Katiyar & Pant, 1993). A inoculação já era praticada no século passado, com o transporte de terra de alfafais já estabelecidos, na Inglaterra, para áreas novas onde se desejava introduzir essa leguminosa. No final do século passado, começaram a ser produzidos os primeiros inoculantes comerciais em ágar, forma líquida, solo esterilizado e culturas secas em algodão. Somente no final da década de 1920, porém, com uso da turfa, houve incremento na

utilização de inoculantes e esse é o substrato predominante, mundialmente, até hoje (Hungria, et al., 1994; Smith, 1997).

Walter & Paau (1992) indicam que um inoculante, para ser um sucesso comercialmente, deve estar disponível em quantidade suficiente, apresentar preços econômicos e uma formulação efetiva, uniforme e prontamente aplicável pelo consumidor. Ainda segundo estes autores, existem muitas opções na produção e formulação de inoculantes, variando do mais sofisticado à forma rotineira, mais simples.

A turfa constitui um dos melhores suportes para a elaboração de inoculantes em pó comerciais, mas deve atender às especificações de um bom veículo, ou seja, alta retenção de umidade, facilidade de processamento, ausência de toxidez para a bactéria, facilidade de esterilização, disponibilidade em grande quantidade, baixo custo e boa adesão às sementes (Burton, 1981; Ronchi & Balatti, 1991; Smith, 1992). A turfa tem sido o principal veículo usado para inoculantes de leguminosas produzidos no Brasil (Frankenberg et al., 1995), embora a participação de outros tipos de inoculantes, líquidos e géis, esteja crescendo nos últimos anos. Na safra de 1997/98, os inoculantes comerciais turfosos, para a cultura de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], representaram 57% do volume total comercializado⁽⁴⁾. A pesquisa, porém, recomenda exclusivamente os inoculantes à base de turfa, que garantem uma boa resposta à inoculação (EMBRAPA, 1998a,b).

Quando bem inoculada, a soja nodula e fixa o nitrogênio atmosférico (N₂) eficientemente. A eficiência de inoculação da soja, em nossos solos, já está bem estabelecida, podendo-se recomendar, portanto, que sempre se inoculem as sementes, e

⁽⁴⁾ Associação Nacional dos Produtores de Inoculantes (ANPI) (Comunicação Pessoal).

nunca se aplique adubo nitrogenado (Hungria et al., 1997a, b). O sucesso da inoculação, porém, depende de diversos fatores, tais como: a eficiência e capacidade competitiva das estirpes, a qualidade do inoculante no momento do uso, a correção dos fatores adversos à sobrevivência do *Bradyrhizobium* no solo, dentre outros (Hungria et al., 1994). No caso dos inoculantes turfosos para a cultura da soja, o uso de solução açucarada como adesivo é importante para a aderência da turfa às sementes e sucesso da FBN (Vargas & Suhel, 1980; Vargas et al., 1982; Brandão Junior & Hungria, 2000).

Um processo freqüentemente utilizado para superar condições adversas ao rizóbio é o da utilização de doses mais elevadas de inoculante (Hely, 1965; Vargas et al., 1979). Vargas et al. (1979), trabalhando em um solo sob Cerrado, observaram que, com níveis mais elevados de inoculante (1 a 2 kg/40 kg de sementes), a soja apresentou uma nodulação significativamente mais elevada do que com níveis mais baixos (0,25 a 0,50 kg).

Vargas et al. (1992) relataram, ainda, que, mesmo em áreas de Cerrado já cultivadas com soja, a inoculação aumenta a produtividade dessa cultura e que, tanto para áreas de primeiro cultivo como para áreas de mais de um ano de cultivo, deve-se usar 1 kg do inoculante para 40 kg de sementes, uma vez que não houve resposta à inoculação quando se utilizou a dose de 200 g de inoculante. Contudo, o uso de doses elevadas é freqüentemente contestado, particularmente pelas dificuldades no plantio, como o acúmulo de inoculante na semeadeira.

Pretendeu-se, neste trabalho, verificar, em experimentos de laboratório, casa de vegetação e em campo, a dose do inoculante turfoso mais adequada para a inoculação de sementes de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da pesquisa

Os estudos foram realizados, entre 1994 e 1996, nos laboratórios, casa de vegetação, em campo experimental da Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPS), em Londrina (PR), e no campo experimental da Embrapa - Serviço de Produção de Sementes Básicas (Embrapa Sementes Básicas), em Ponta Grossa (PR).

Planta hospedeira

Soja [*Glycine max* (L.) Merrill] do cultivar BR-37, de ciclo médio, recomendada para o estado do Paraná (EMBRAPA, 1994a,b).

Estirpes e preparo do inoculante

Foram utilizadas duas estirpes de *Bradyrhizobium elkanii*, SEMIA 5019 (= 29w) e a SEMIA 587,

recomendadas comercialmente para a cultura da soja. O preparo dos inoculantes foi realizado conforme descrição anterior (Brandão Junior & Hungria, 2000).

Deve-se salientar apenas que a turfa apresentou pH em CaCl₂ 0,001M, 6,5 e tamanho de partículas com material retido em peneira ABNT n° 10 (2,0 mm), 0,0%; material retido em peneira ABNT n° 50 (0,3 mm), 2,63%; fundo de peneira, 97,37%. A concentração de células no inoculante, antes do plantio, foi confirmada em 10⁸ células/g de inoculante, por contagem em placas e plantas, segundo Andrade & Hamakawa (1994).

Inoculação e doses de inoculante turfoso testados

A recomendação vigente, para a cultura da soja, é de: 500 ml de solução açucarada (25%): 500 g de inoculante turfoso: 50 kg de sementes. Neste estudo, foram testadas cinco doses de inoculante turfoso, 0, 250, 500, 750 e 1.000 g.

Experimentos em laboratório

Dissolveu-se o açúcar (açúcar comercial), na percentagem de 25% (dose recomendada, EMBRAPA, 1994a,b), em água, misturaram-se as doses de inoculante turfoso a serem testadas e, a seguir, adicionaram-se as sementes de soja. Após três dias de secagem à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), as sementes foram retiradas, cuidadosamente, dos frascos. A turfa não aderida foi removida por lavagem com água à temperatura ambiente e, após o transporte para béqueres pré-pesados, colocada em estufa até atingir massa constante e, então, pesada. Por outro lado, a remoção da turfa aderida às sementes foi feita com água quente ($90^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) com tween (1%), sendo também pesada após secagem. A soma da turfa não aderida com a turfa aderida resultou na soma da turfa adicionada às sementes, com um desvio máximo de 5%. Os experimentos foram efetuados em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Experimentos em casa de vegetação

Frascos de vidro esterilizados: O efeito das doses de inoculante turfoso foi estudado em frascos de vidro de 500 ml de capacidade com 250 ml de solução nutritiva isenta de N mineral e papel absorvente como suporte das plantas (Andrade & Hamakawa, 1994). As sementes foram pré-germinadas por dois dias em câmara de germinação, procedendo-se ao plantio de uma semente pré-germinada de soja, com os diferentes tratamentos, por frasco. As plantas foram coletadas cinco semanas após a emergência.

Vasos com solo não esterilizado: As sementes inoculadas foram plantadas em vasos com 2,5 kg de solo (Latosolo Roxo-LR), com população de 10⁵ células de *Bradyrhizobium*/g de solo, avaliada em plantas

de soja, cultivar BR-37, segundo Andrade & Hamakawa (1994). Os resultados da análise química do solo foram descritos anteriormente (Brandão Junior & Hungria, 2000). Foram plantadas cinco sementes por vaso, procedendo-se ao desbaste, uma semana após o plantio, deixando-se duas plantas por vaso. Incluíram-se controles não inoculados, com e sem a adição de 40 mg N/planta/semana, como nitrato de potássio (KNO₃). As plantas foram coletadas cinco semanas após a emergência.

Os experimentos foram realizados em delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco repetições, em frascos estéreis, e quatro repetições, no experimento em vasos com solo não esterilizado.

A coleta e as análises obedeceram a descrição anterior de Brandão Junior & Hungria (2000).

Experimento em campo

Em Londrina, o experimento foi realizado em um LR com população estabelecida de 10⁵ células de *Bradyrhizobium*/g de solo e, em Ponta Grossa, em um Latossolo Vermelho-Escuro (LVe) com 10³ células/g de solo. As propriedades químicas e o número de células de *Bradyrhizobium* dos solos foram descritos anteriormente (Brandão Junior & Hungria, 2000).

Inicialmente, preparou-se uma solução açucarada a 25% e, nos diversos tratamentos, as doses de inoculantes testadas, de 0, 250, 500, 750 e 1.000 g, foram adaptadas à proporção recomendada, de 500 ml de solução açucarada, mais 500 g de inoculante turfoso, para 50 kg de sementes.

As parcelas experimentais mediram 3,0 x 2,0 m, com 0,5 m entrelinhas e foram separadas por 2,0 m e pequenos terraços, para evitar contaminação. Os experimentos foram feitos em delineamento de blocos ao acaso, com seis repetições. Não houve irrigação na época de semeadura ou durante a realização dos experimentos.

Na safra 1994/1995, foram amostradas dez plantas por repetição, em duas épocas de coleta para cada local, no estádio vegetativo (V3, três nós no caule principal com folhas plenamente desenvolvidas, escala de Fehr & Caviness, 1977) e no início do florescimento (R2), em Londrina, e no estádio vegetativo (V3) e de formação das vagens (R4), em Ponta Grossa. Nas coletas, as plantas foram separadas em parte aérea e raiz e o material foi seco em estufa, a 65°C, até atingir massa constante. Os nódulos foram coletados das raízes, contados, secos e pesados. O N total da parte aérea foi avaliado pelo método espectrofotométrico do azul de indofenol (Feije & Anger, 1972). Na coleta final, nas duas safras, foram avaliados o rendimento e o N total dos grãos. O rendimento foi corrigido para 13% de umidade, após leitura em um aparelho determinador de umidade Vurroughf 700.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos dados de laboratório e casa de vegetação foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, enquanto as médias dos dados de campo foram comparadas pelo teste de Duncan a 5%. Foram utilizados os programas SANEST-PC (Zonta et al., 1982) e SAS para Macintosh.

RESULTADOS

As doses de 250 e 500 g de inoculante permitiram a aderência máxima do inoculante turfoso às sementes, com uma queda drástica na dose de 1.000 g, quando somente 66% do inoculante ficou aderido às sementes (Quadro 1). Analisando a quantidade de inoculante aderido, verifica-se que as sementes conseguiram aderir 666 g de turfa por 50 kg de sementes, embora, na dose de 500 g/50 kg, tenha ocorrido uma perda de 57,2 g de inoculante. Conseqüentemente, para as condições atuais de recomendação no Brasil, fica claro que doses superiores a 500 g de inoculante/50 kg de sementes acarretam perda de grande parte do inoculante adicionado e, pelas dificuldades relacionadas com essas doses, como o depósito no fundo da semeadora, dificultando a operacionalização do plantio, não se justifica seu uso.

Em condições axênicas, em sistema esterilizado com frascos que continham solução nutritiva estéril isenta de N, na ausência de competição com outros rizóbios, a dose de 250 g já assegurou boa nodulação. Nessas condições, não houve diferença estatística, entre todas as doses testadas, em relação à massa nodular, massa de parte aérea e N total acumulado na parte aérea (Quadro 2).

Quadro 1. Efeito de doses do inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes) na porcentagem de aderência do inoculante às sementes de soja, cv. BR-37. Experimento realizado em laboratório, utilizando, como aderente, 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%

Dose do inoculante	Aderência às sementes	Total do inoculante aderido
g	%	g/50 kg
250	92,2 a ⁽¹⁾	230,4 b
500	88,6 a	442,8 b
750	80,0 b	600,0 a
1.000	66,2 c	666,2 a
C.V. (%)	31,0	

⁽¹⁾ Médias de quatro repetições e, quando seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

Quadro 2. Efeito de doses do inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes), utilizando as estirpes SEMIA 587 e 5019 (10^8 células/g de inoculante), na nodulação e acúmulo de massa e N total da parte aérea de soja, cultivar BR-37. Como aderente, foram utilizados 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%. O experimento foi realizado em frascos com solução nutritiva isenta de N e plantas coletadas cinco semanas após a emergência

Dose do inoculante	Nodulação		Parte aérea	
	Número	Massa	Massa	N total
g	n°/pl.	mg/pl.	g/pl.	mg N/pl.
250	38,8 a ⁽¹⁾	47,6 a	0,51 a	17,2 a
500	22,8 b	34,5 a	0,48 a	16,2 a
750	24,2 b	47,1 a	0,54 a	19,8 a
1.000	25,8 b	42,1 a	0,48 a	16,1 a
C.V. (%)	26,6	22,8	10,7	9,9

⁽¹⁾ Médias de cinco repetições e, quando seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

Já em vasos que continham solo não esterilizado, embora não fossem detectadas diferenças estatísticas, as doses de 500 e 750 g permitiram maior massa nodular, refletindo em maior massa e N total acumulado na parte aérea, este último parâmetro estatisticamente diferente dos demais tratamentos (Quadro 3). Desse modo, a inoculação com as doses de 500 e 750 g permitiu um acúmulo no N na parte aérea de, respectivamente, 35 e 43% em relação à população naturalizada do solo. Por outro lado, a aplicação de uma fonte mineral de N, equivalente a 40 mg N/planta/semana, reduziu a massa nodular em 47%, em relação à testemunha sem inoculação, e em 57%, em relação aos tratamentos com 500 e 750 g de inoculante, sem, contudo, resultar em qualquer incremento no N acumulado na parte aérea, em relação a esses dois níveis de inoculante (Quadro 3).

No experimento no LR de Londrina, na safra 1994/1995, não foram detectadas diferenças estatísticas, entre os tratamentos, em todos os parâmetros analisados, pois a população naturalizada do solo formou boa nodulação, que resultou em taxas elevadas de fixação do N₂ (Quadro 4). Contudo, no LVe de Ponta Grossa, na safra 1994/1995, o maior rendimento foi obtido com a dose de 500 g de inoculante, que proporcionou um incremento de 31% no rendimento de grãos, em relação à população naturalizada, e de 26%, em relação à dose de 250 g. No tratamento com 500 g, houve, também, um incremento de 34% no N total acumulado nos grãos, em relação ao tratamento com a população naturalizada do solo (Quadro 5).

Para a safra 1995/1996, são apresentados somente os resultados relativos ao rendimento e N total acumulado nos grãos de soja. Em Londrina, a reinoculação resultou em ganhos no rendimento e N total dos grãos. O maior rendimento foi obtido com a dose de 500 g de inoculante, embora não houvesse diferença estatística em relação às demais doses de inoculante. A inoculação com 500 g, porém, permitiu um ganho de 1.151 kg de grãos e 87,6 kg de N total nos grãos por hectare, em relação à população naturalizada do solo (Quadro 6). Resultados semelhantes foram obtidos, nessa safra, no experimento de Ponta Grossa, também com destaque para a dose de 500 g de inoculante/50 kg de sementes. Em Ponta Grossa, as diferenças foram estatisticamente significativas, com incrementos, pela inoculação com 500 g, de 18% no rendimento de grãos e de 12% no N total dos grãos, em relação à população naturalizada do solo (Quadro 6).

DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos em experimentos da região dos Cerrados (Vargas et al., 1979; 1982; 1993; Vargas & Suhet, 1980; Peres et al., 1994), a

Quadro 3. Efeito de doses do inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes), utilizando as estirpes SEMIA 587 e 5019 (10^8 células/g de inoculante), na nodulação e acúmulo de massa e N total da parte aérea de soja, cultivar BR-37. Como aderente, foram utilizados 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%. O experimento foi realizado em vasos com LR com população estabelecida (10^5 células de *Bradyrhizobium/g* de solo) e plantas coletadas cinco semanas após a emergência

Dose do inoculante	Nodulação		Parte aérea	
	Número	Massa	Massa	N total
g	n°/pl.	mg/pl.	g/pl.	mg N/pl.
250	40,8 ab ⁽¹⁾	57,7 a	0,87 a	19,1 b
500	46,8 a	75,6 a	1,05 a	25,2 a
750	37,5 ab	75,6 a	1,07 a	26,8 a
1.000	41,5 ab	61,1 a	0,85 a	18,7 b
T ⁽²⁾	37,8 ab	60,6 a	0,85 a	18,7 b
T + N ⁽²⁾	33,5 b	32,3 b	0,85 a	25,2 a
C.V. (%)	31,4	28,9	12,5	11,7

⁽¹⁾ Médias de quatro repetições e, quando seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%). ⁽²⁾ Testemunha sem inoculação, sem (T) e com (T + N) 40 mg N (KNO₃)/planta/semana.

Quadro 4. Efeito do doses de inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes), utilizando as estirpes SEMIA 587 e 5019 (10^8 células/g de inoculante), no número (NN) e massa de nódulos secos (MNS) na coleta realizada no estádio vegetativo; no N total acumulado na parte aérea (NTPA) de plantas, coletadas no início do florescimento e no rendimento e N total dos grãos (NTG) de soja, cultivar BR-37. Experimento realizado em Londrina, na safra 1994/1995, em um LR com população naturalizada (10^5 células de *Bradyrhizobium*/g de solo). Como aderente, foram utilizados 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%

Dose do inoculante	Vegetativo		Florescimento	Coleta final	
	NN	MNS	NTPA	Rendimento ⁽¹⁾	NTG
g	n°/planta	mg/planta	mg N/planta	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹ N
0	17,8 ⁽²⁾	13,79	93,00	2.816	141,4
250	19,1	13,56	95,10	2.647	138,4
500	17,7	12,91	98,24	2.868	139,7
750	19,6	12,43	97,51	2.746	135,4
1.000	15,8	11,14	89,67	2.898	150,7
C.V. (%)	17,1	30,4	24,7	10,5	13,1

⁽¹⁾ Rendimento de grãos corrigido para 13% de umidade. ⁽²⁾ Os valores representam médias de seis repetições e não houve diferença estatística entre os tratamentos em todos os parâmetros analisados, pelo teste de Duncan, a 5%.

Quadro 5. Efeito de doses do inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes), utilizando as estirpes SEMIA 587 e 5019 (10^8 células/g de inoculante), no número (NN) e massa de nódulos secos (MNS) na coleta realizada no estádio vegetativo; no N total acumulado na parte aérea (NTPA) de plantas, coletadas no estádio de formação de vagens, e no rendimento e N total dos grãos (NTG) de soja, cultivar BR-37. Experimento realizado em Ponta Grossa, na safra 1994/1995, em um LVe com população naturalizada (10^3 células de *Bradyrhizobium*/g de solo). Como aderente, foram utilizados 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%

Dose do inoculante	Vegetativo		Formação das vagens	Coleta final	
	NN	MNS	NTPA	Rendimento ⁽¹⁾	NTG
g	n°/planta	mg/planta	mg N/planta	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹ N
0	12,5 a ⁽²⁾	14,48 a	181,9 a	1.942 c	102,7 b
250	11,1 ab	11,96 a	206,6 a	2.008 c	108,8 b
500	13,6 a	13,47 a	190,0 a	2.538 a	137,8 a
750	13,0 a	15,07 a	191,7 a	2.326 ab	126,5 ab
1.000	9,8 b	11,80 a	143,6 a	2.164 bc	119,0 ab
C.V. (%)	21,3	29,1	30,0	12,2	13,3

⁽¹⁾ Rendimento de grãos corrigido para 13% de umidade. ⁽²⁾ Os valores representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, não diferem estatisticamente, pelo teste de Duncan, a 5%.

recomendação para a cultura da soja, na região central, na safra de 1993/1994, era de 1.000 g de inoculante: 50 kg de sementes (EMBRAPA, 1993b). Contudo, pelas dificuldades geradas com tal recomendação visto que, mesmo com a solução açucarada a 25%, grande quantidade de turfa ficava depositada no fundo da semeadeira, no Paraná, recomendou-se, nessa mesma safra, o uso de 500 g de inoculante:50 kg de sementes (EMBRAPA, 1993a). Nessa época, porém, a questão da dose a ser recomendada não ficou suficientemente esclarecida.

A recomendação de doses elevadas de inoculante turfoso, no Brasil, teve, como princípio, superar condições desfavoráveis, como as que ocorrem, com frequência, nas condições inóspitas dos Cerrados. Nessas áreas, inclusive, há problemas de estabelecimento de uma nodulação efetiva da soja no primeiro ano de cultivo. Atualmente, muitos relatos de insucessos, em especial nos primeiros anos de cultivo, são atribuídos à má qualidade do inoculante e ao uso de estirpes incompatíveis com os cultivares recomendados nos anos 70s (Vargas &

Quadro 6. Efeito de doses do inoculante turfoso (g de inoculante/50 kg de sementes), utilizando as estirpes SEMIA 587 e 5019 (10^8 células/g de inoculante), no rendimento e N total dos grãos (NTG) de soja, cultivar BR-37. Experimentos realizados na safra 1995/1996, em Londrina, em um LR com população naturalizada (10^5 células de *Bradyrhizobium*/g de solo), e em Ponta Grossa, em um LVe com população naturalizada (10^3 células de *Bradyrhizobium*/g de solo). Como aderente, foram utilizados 500 ml/50 kg da solução açucarada a 25%

Dose do inoculante	Londrina		Ponta Grossa	
	Rendimento ⁽¹⁾	NTG	Rendimento ⁽¹⁾	NTG
g	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹ N	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹ N
0	2.555 b ⁽²⁾	153,3 b	2.855 b	169,7 b
250	3.566 a	221,1 a	3.186 ab	169,4 ab
500	3.706 a	240,9 a	3.372 a	189,7 a
750	3.605 a	219,9 a	3.075 ab	169,6 ab
1.000	3.653 a	224,6 a	3.101 ab	167,4 b
C.V. (%)	8,2	8,5	6,9	7,1

⁽¹⁾ Rendimento de grãos corrigido para 13% de umidade. ⁽²⁾ Os valores representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, não diferem estatisticamente, pelo teste de Duncan, a 5%.

Hungria, 1997). Doses maciças de inoculantes também são recomendadas para superar outras condições adversas, como o tratamento de sementes com produtos tóxicos (De-Polli et al., 1986). Nessas condições, sugeriu-se a complementação de inoculante turfoso com a adição de inoculante líquido ao solo, abaixo das sementes (Hely et al., 1976).

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram que, mesmo com uma turfa de granulometria desejada, a capacidade máxima de aderência do inoculante turfoso às sementes de soja de cultivares recomendados atualmente, em sua maioria com tamanho similar ao da BR-37, foi de 500 a 600 g de inoculante/50 kg de sementes, com o uso de solução açucarada como adesivo. Conforme constatado anteriormente (Brandão Junior & Hungria, 2000), a aderência da turfa foi semelhante em concentrações de 10, 15 ou 25%, esta última utilizada neste experimento, por ser a dose recomendada para a cultura na época dos experimentos. Brandão Junior & Hungria (2000), verificaram, porém, que a concentração de 10% de açúcar mostrou-se suficiente para atingir o máximo de aderência do inoculante turfoso e garantir boa nodulação e fixação do N₂. Com o uso de adesivos, recomendações superiores a 500 g de inoculante turfoso/50 kg de sementes resultarão, portanto, em desperdício e acúmulo de inoculante na semeadora.

No ano 2000, deve entrar em vigor a legislação que estabelece que o número de células de *Bradyrhizobium*, no inoculante, deve aumentar das 10⁷, recomendadas atualmente, para 10⁸ células/g de inoculante. Em amostragens de solos brasileiros cultivados com soja e inoculados anteriormente, verificou-se que a população naturalizada de *Bradyrhizobium* variou de 10³ a 10⁶ células/g de solo

(Hungria et al., 1994; Vargas & Hungria, 1997). A população encontrada neste estudo também está nessa faixa. Sabe-se que a estirpe carregada no inoculante, para se estabelecer no solo, deve apresentar uma superioridade numérica de, pelo menos, mil vezes em relação à população naturalizada do solo (Weaver & Frederick, 1974). Conseqüentemente, inoculantes com concentrações de células inferiores a 10⁸ são impraticáveis, sendo desejável, até, uma concentração de 10⁹ células/g de inoculante. Deve-se considerar, ainda, que, teoricamente, com o aumento da dose de 500 para 1.000 g de inoculante, o número de células disponíveis duplicaria, na hipótese de a aderência ser total. Com o aumento da concentração de 10⁷ para 10⁸ células/g de inoculante, porém, esse aumento seria de dez vezes. Conseqüentemente, investir em um inoculante com concentração elevada de células é fundamental para garantir taxas elevadas de fixação biológica do N₂.

Os experimentos deste estudo já levaram em consideração a nova legislação, pois os inoculantes foram preparados na concentração de 10⁸ células/g. Na ausência de outros microrganismos, em frascos esterilizados, a dose de 250 g/50 kg já foi suficiente para garantir boa nodulação e FBN. Contudo, em vasos com solo não esterilizado e em campo, os melhores resultados foram obtidos, de modo geral, com a dose de 500 g/50 kg. Doses superiores a essa acarretam desperdício do inoculante, que não consegue aderir às sementes, enquanto doses inferiores podem limitar o processo de FBN nos locais onde a população naturalizada do solo é elevada.

A turfa tem sido, tradicionalmente, o veículo mais utilizado para inoculantes de leguminosas, no Brasil e no mundo (Frankenberg et al., 1995; Smith, 1997).

Nos últimos anos, porém, o uso de fórmulas líquidas e liofilizadas vem crescendo no Brasil. Segundo informações da Associação Nacional dos Produtores de Inoculante (ANPI)⁽⁵⁾, na safra 1997/1998, 43% dos inoculantes comercializados para a soja não eram à base de turfa. A pesquisa, porém, continua a recomendar o inoculante turfoso (EMBRAPA, 1998a,b), pois, embora a concentração de células em alguns inoculantes líquidos seja elevada, as respostas, em campo, freqüentemente, ainda são inferiores às obtidas com inoculante turfoso. É possível que a turfa confira certa proteção ao rizóbio, particularmente nos casos de estresse hídrico, variação de temperatura e contato com fungicidas e micronutrientes.

A soja brasileira é um dos casos mais bem sucedidos de FBN no mundo, aplicado em níveis comerciais. Os dados apresentados neste trabalho indicam que o uso de inoculante turfoso, com concentração de 10^8 células/g de inoculante, aplicado na dose de 500 g de inoculante/50 kg, com solução açucarada como adesivo, aumenta a FBN e o rendimento da cultura, mesmo em solos já inoculados anteriormente e com população naturalizada elevada.

CONCLUSÕES

A recomendação de inoculantes turfosos (contendo 10^8 células/g de inoculante) para a cultura da soja deve ser de 500 g de inoculante/50 kg de sementes, usando solução açucarada como adesivo.

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia do Solo, Lígia Maria de O. Chueire e Rinaldo B. Conceição, pelo auxílio técnico na realização dos experimentos. Aos Técnicos Agrícolas José Zucca Moraes e Rubson N.R. Sibaldelli, pelo auxílio nos experimentos em campo. À pesquisadora M.C. Neves de Oliveira, pelo auxílio nas análises estatísticas. Ao prof. Dr. Édison Miglioranza (UEL) e ao Dr. Rubens J. Campo (EMBRAPA Soja), pelas sugestões e discussões do manuscrito. O. Brandão Junior agradece à CAPES, pela bolsa de mestrado, e M. Hungria ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa (520396/96-0). Trabalho financiado parcialmente pelo CNPq (520396/96-0) e FINEP/CNPq/MCT, Grupo de Excelência em Fixação do Nitrogênio (41.96.0884.00).

⁽⁵⁾ Comunicação Pessoal.

LITERATURA CITADA

- ANDRADE, D.S. & HAMAKAWA, P.J. Estimativa do número de células viáveis de rizóbio, no solo e em inoculantes por infecção em plantas. In: HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S., eds. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.63-94.
- BRANDÃO JUNIOR, O. & HUNGRIA, M. Efeito de concentrações de solução açucarada na aderência do inoculante às sementes de soja. R. Bras. Ci. Solo, 24:515-526, 2000.
- BURTON, J.C. *Rhizobium* inoculants for developing countries. Trop. Agric., 58:291-295, 1981.
- DE-POLLI, H.; SOUTO, M. & FRANCO, A.A. Compatibilidade de agrotóxicos com *Rhizobium* spp. e a simbiose das leguminosas. Seropédica, 1986. 71p. (EMBRAPA-UAPNPBS. Documento, 3)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná - 1994/95. Cascavel, 1994a. 140p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 79)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja na Região Central do Brasil - 1994/95. Londrina, 1994b. 127p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 77)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná - 1993/94. Londrina, 1993a. 128p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 62)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja na Região Central do Brasil - 1993/94. Londrina, 1993b. 119p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 64)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná - 1998/99. Londrina, 1998a. 201p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 119)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Recomendações técnicas para a cultura da soja na Região Central do Brasil - 1998/99. Londrina, 1998b. 182p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 120)
- FEHR, W.R. & CAVINESS, C.E. Stages of soybean development. Ames, Iowa State University, 1977. (Special Report, 80)
- FRANKENBERG, C.L.C.; FREIRE, J.R.J. & THOMAS, R.W.S.P. Growth and competition between two strains of *Bradyrhizobium japonicum* in broth and in a peat-based inoculant: dinitrogen fixation efficiency and competition for nodulation sites. R. Microbiol., 26:211-218, 1995.
- HELLY, F.W. Survival studies with *Rhizobium trifolii* on seed of *Trifolium incarnatum* L. Inoculated for aerial sowing. Aust. J. Agric. Res., 16:575-589, 1965.

- HELY, F.W.; HUTCHINGS, R.J. & ZORIN, M. Legume inoculation by spraying suspensions of nodule bacteria into soil beneath seed. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 42:241-244, 1976.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. & CAMPO, R.J. A inoculação da soja. Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1997a. 28p. (EMBRAPA-CNPSO - Circular Técnica, 17; EMBRAPA-CPAC - Circular Técnica, 34)
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. & PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S. & HUNGRIA, M., eds. *Microorganismos de importância agrícola*. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.9-89.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J. & GALERANI, P.R. Adubação nitrogenada na soja? Londrina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997b. 4p. (EMBRAPA-CNPSO - Comunicado Técnico, 57)
- KATIYAR, A.K. & PANT, L.M. Effect of methods of *Bradyrhizobium* inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean. *Leg. Res.*, 16:79-85, 1993.
- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; MENDES, I.C. & VARGAS, M.A.T. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de Cerrado. *R. Bras. Ci. Solo*, 18:415-420, 1994.
- RONCHI, A.L. & BALATTI, A.P. Selección de soportes para la producción de inoculantes para leguminosas. *R. Fac. Agron.*, 12:209-217, 1991.
- SIQUEIRA, J.O. & FRANCO, A.A. *Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília, Ministério da Educação e Cultura, 1988. p.191-204 (Série Agronomia)
- SMITH, R.S. Legume inoculant formulation and application. *Can. J. Microbiol.*, 38:485-492, 1992.
- SMITH, R.S. New inoculant technology to meet changing legume management. In: ELMERICH, C.; KONDOROSI, A. & NEWTON, E.D., eds. *Biological nitrogen fixation for the 21st century*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1997. p.621-622.
- VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M., eds. *Biologia dos solos dos cerrados*. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. p.297-360.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R. & PERES, J.R.R. Duas novas estirpes de rizóbio para a inoculação da soja. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1992. 3p. (EMBRAPA-CPAC - Comunicado Técnico, 62)
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R. & PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio. In: ARANTES, N.E. & SOUZA, P.I.M., eds. *Cultura da soja nos cerrados*. Piracicaba, POTAFOS, 1993. p.159-182.
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R. & SUHET, A.R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. *Pesq. Agropec. Bras.*, 17:1127-1132, 1982.
- VARGAS, M.A.T. & SUHET, A.R. Efeito de tipos e níveis de inoculantes na soja cultivada em um solo de Cerrados. *Pesq. Agropec. Bras.*, 15:343-347, 1980.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. & PERES, J.R.R. Efeito de níveis de inoculação na simbiose e desenvolvimento da soja em um solo de Cerrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 31., Fortaleza, 1979. *Anais. Fortaleza, Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, 1979. p.519.
- WALTER, J.F. & PAAU, A.S. Microbial inoculant production and formulation. In: DEKKER, M., ed. *Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management*. New York, 1992. p.579-594.
- WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. I - Greenhouse studies. *Agron. J.*, 66:229-232, 1974.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. & SILVEIRA JUNIOR, P. Sistema de análise estatística - SANEST, Registro SEI n° 066060. Pelotas, 1982.

