

## Notas Científicas

### Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura

Jerri Édson Zilli<sup>(1)</sup>, Leandro Carvalho Marson<sup>(2)</sup>, Bruno Franco Marson<sup>(2)</sup>, Vicente Gianluppi<sup>(1)</sup>, Rubens José Campo<sup>(3)</sup> e Mariangela Hungria<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Embrapa Roraima, Caixa Postal 133, CEP 69301-970 Boa Vista, RR. E-mail: zilli@cpafrr.embrapa.br, vicente@cpafrr.embrapa.br  
<sup>(2)</sup>Universidade Federal de Roraima, BR 174, Km 12, Campus Cauamé, Monte Cristo, CEP 69310-270 Boa Vista, RR. E-mail: novorumoplan@osite.com.br, brunofrancomarson@gmail.com  
<sup>(3)</sup>Embrapa Soja, Caixa Postal 231, CEP 86001-970 Londrina, PR. E-mail: rjcampo@cnpso.embrapa.br, hungria@cnpso.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar um método de inoculação de *Bradyrhizobium* em soja, por meio de pulverização em cobertura. Um experimento foi conduzido no Cerrado de Roraima com os tratamentos: controle sem inoculação; inoculação padrão com duas doses de inoculante comercial por hectare aplicadas às sementes; inoculação em cobertura, com o triplo da dose utilizada no padrão, 18 dias após a emergência das plantas (DAE); e adubação com 200 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, sem inoculação. A inoculação em cobertura aumentou a nodulação e a matéria seca das plantas aos 45 e 60 DAE; proporcionou, também, produtividade de grãos e acúmulo de nitrogênio igual ao tratamento nitrogenado e foi superior ao controle. A inoculação em cobertura foi inferior ao padrão apenas na produtividade de grãos.

Termos para indexação: *Glycine max*, *Rhizobium*, Cerrado, fixação biológica de nitrogênio, rendimento de grãos.

### Soybean inoculation by spraying *Bradyrhizobium* over plants

Abstract – The objective of this work was to evaluate a *Bradyrhizobium* inoculation method on soybean by spraying inoculant over plants. An experiment was conducted in the Cerrado of Roraima. Treatments tested were: control without inoculation; standard inoculation method with two doses of inoculant per hectare applied on seeds; inoculation with threefold standard inoculation dose applied 18 days after plants emergence (DAE); fertilization with 200 kg ha<sup>-1</sup> of nitrogen, without inoculation. The inoculation by spraying on covering increased nodulation and plant dry matter in the 45 and 60 DAE. It also increased significantly grain yield and N content, similarly to N fertilization treatment, and was superior to the control, and inferior to the standard inoculation related to grain yield.

Index terms: *Glycine max*, *Rhizobium*, Cerrado, biological nitrogen fixation, grain yield.

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) representa um dos principais fatores de competitividade da cultura da soja. Com a exploração desta tecnologia, que é prática amplamente difundida e utilizada pelos produtores de soja no Brasil, estima-se a economia de fertilizantes nitrogenados em três bilhões de dólares anuais (Hungria et al., 2005), e obtém-se alta produtividade de grãos (Zilli et al., 2006).

No cerrado de Roraima, onde atualmente são cultivados cerca de 10 mil ha com soja, os solos são predominantemente arenosos, com baixos teores de matéria orgânica (Melo et al., 2004), e não fornecem nitrogênio suficiente para o desenvolvimento da cultura.

Nessas condições, as lavouras são extremamente dependentes do processo de FBN.

Apesar de a inoculação ser uma prática adotada, frequentemente ocorrem casos de falha na nodulação das plantas na lavoura, especialmente em áreas de primeiro cultivo de soja, o que na maioria das vezes compromete o rendimento de grãos.

As causas desse insucesso estão associadas à baixa qualidade do inoculante e a vários fatores que afetam a sobrevivência da bactéria, como: aplicação do inóculo às sementes de forma inadequada; baixa umidade do solo por ocasião da semeadura; tratamento de sementes com fungicidas incompatíveis com a bactéria; e utilização

de inoculantes no final do prazo de validade, uma vez que a safra no cerrado de Roraima ocorre na entressafra das demais regiões produtoras do país e, raramente se encontram inoculantes recém-industrializados no comércio local.

Constatada a falha na nodulação na lavoura, o produtor necessita adotar estratégias de forma a contornar o problema. Na maioria das vezes, utiliza-se a adubação nitrogenada mineral, que eleva o custo de produção (Hungria et al., 2005). Em alguns casos, entretanto, são realizadas aplicações de inoculantes diluídos em água, em cobertura da lavoura, o que empiricamente tem mostrado respostas positivas.

Trabalho conduzido na Tailândia, na década de 80 do século passado, com um método de inoculação em pós-emergência, na linha de plantio de soja, mostrou que a aplicação de inoculante na proporção de  $10^6$  células bacterianas por plântula, até 15 dias após o plantio, proporcionou nodulação, massa de matéria seca das plantas e rendimento de grãos significativamente iguais aos proporcionados pela inoculação no plantio (Boonkerd et al., 1985). Foi observado neste trabalho, também, que a eficiência da inoculação em pós-emergência é grandemente afetada pela umidade do solo.

Este trabalho teve por objetivo avaliar os benefícios da inoculação de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, pela pulverização em cobertura, na nodulação, no desenvolvimento das plantas, na produtividade e no acúmulo de nitrogênio nos grãos.

Entre maio e outubro de 2007, conduziu-se um experimento no campo experimental Água Boa, da Embrapa Roraima ( $2^{\circ}15'0''N$ ,  $60^{\circ}39'54''W$  e altitude de aproximadamente 90 m), em área representativa do Cerrado de Roraima, com a cultivar de soja BRS Tracajá.

O solo, em área de primeiro cultivo, foi preparado com antecedência de seis meses, com incorporação da vegetação nativa por meio de grade aradora, tendo-se aplicado:  $1.500 \text{ kg ha}^{-1}$  de calcário dolomítico (PRNT 80%);  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $P_2O_5$ , na forma de superfosfato simples; e  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de FTE BR-12. Posteriormente, semeou-se milho, o qual foi dessecado com glifosato na dose recomendada, dez dias antes da semeadura da soja.

A análise de solo realizada antes do plantio, à profundidade de 0 a 20 cm, mostrou as seguintes características: pH em  $CaCl_2$ , 5,2; alumínio trocável,  $0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; K,  $0,04 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Ca,  $1,01 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Mg,  $0,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; matéria orgânica,  $10,03 \text{ g dm}^{-3}$ ; P,  $30,01 \text{ mg dm}^{-3}$ ; células de rizóbios nodulantes de soja, 2,1 unidades formadoras

de colônias (UFC) por grama de solo; areia,  $870 \text{ g kg}^{-1}$ ; argila,  $120 \text{ g kg}^{-1}$ ; e silte,  $10 \text{ g kg}^{-1}$ .

Como adubação de plantio, foram utilizados  $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $P_2O_5$  na forma de superfosfato simples e  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $K_2O$ , na forma cloreto de potássio, 50% no sulco de plantio e 50% aos 35 DAE, quando também se fez a adubação foliar com  $10,08 \text{ g ha}^{-1}$  de Co, na forma de cloreto de cobalto, e  $50,42 \text{ g ha}^{-1}$  de Mo, na forma de molibdato de sódio. Os demais tratos culturais foram realizados com base na recomendação para a região (Embrapa, 2005).

O experimento foi conduzido em blocos ao acaso, com seis repetições (parcelas de  $5 \times 4 \text{ m}$ ), tendo a semeadura consistido na distribuição manual das sementes, no espaçamento de 0,45 m entre linhas e 14 a 15 sementes por metro linear.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: controle – sem inoculação e sem adubação nitrogenada; padrão – inoculação com duas doses do inoculante comercial Biagro 10 ( $160 \text{ g ha}^{-1}$  do inoculante com aproximadamente  $2,65 \times 10^9$  células  $\text{g}^{-1}$ ); nitrogenado – adubação com  $200 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na forma de uréia (50% no plantio e 50% aos 35 DAE); e inoculação em cobertura – inoculação pela pulverização, aos 18 DAE, do triplo da dose de inoculante utilizada no padrão, com o produto comercial Biagro 10. Na semeadura, as sementes de todos os tratamentos foram umedecidas com solução açucarada 10% ( $3 \text{ mL kg}^{-1}$ ), tendo apenas o padrão recebido o inoculante. Aos 18 DAE, o tratamento com inoculação em cobertura recebeu o inoculante via pulverizador costal, ao final do dia, com cerca de  $200 \text{ L ha}^{-1}$  de calda com inoculante suspenso em água potável.

A precipitação pluvial, medida na semana da inoculação em cobertura, foi de 120,4 mm: 64,4 mm 3 dias antes da inoculação (DAI); 7,8 mm 2 DAI; 6 mm 1 DAI; 12,8 mm no dia da inoculação; 18,4 mm 1 dia depois da inoculação (DDI); 8,6 mm 2 DDI e 2,2 mm 3 DDI.

Os parâmetros avaliados foram: número e massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea das plantas, aos 35 DAE; rendimento de grãos na colheita (umidade 13%); e nitrogênio acumulado nos grãos avaliado pelo método de Kjeldahl (Liao, 1981). Adicionalmente, aos 45 e 60 DAE, avaliaram-se a nodulação e a matéria seca da parte aérea das plantas do tratamento com inoculação em cobertura.

A inoculação em cobertura proporcionou aumento significativo no número de nódulos entre as avaliações, realizadas aos 35 DAE e 45 DAE, ao passo que não

houve aumento significativo neste parâmetro dos 45 para os 60 dias (Tabela 1). No entanto, houve um aumento gradativo da massa de nódulos secos e também da massa de matéria seca da parte aérea das plantas, dos 35 para 45 e 60 DAE.

Aos 35 DAE, observou-se número de nódulos significativamente maior no tratamento inoculado em cobertura em relação ao controle e ao nitrogenado, e menor em relação ao padrão (Tabela 2). Além disso, a massa de matéria seca da parte aérea do tratamento com inoculação em cobertura foi igual ao controle e menor que o nitrogenado e o padrão.

O aumento da nodulação, observada nas plantas de soja do tratamento com inoculação em cobertura, certamente ocorreu pela aplicação do inoculante, pois, pela análise da população de rizóbios, constatou-se que o solo estava desprovido de bactérias nodulantes de soja e, portanto, não propiciaria efetiva nodulação das plantas, o que foi verificado nos tratamentos controle e nitrogenado.

Estes resultados corroboram os obtidos na Tailândia, com inoculação na linha de plantio em pós-emergência das plântulas de soja (Boonkerd et al., 1985) e, também, resultados obtidos na Austrália, com inoculação pela água de irrigação (Gault et al., 1994). Em ambos os estudos, foi constatada uma contribuição significativa da inoculação em pós-emergência, para a nodulação das plantas, em comparação ao tratamento sem inoculação.

**Tabela 1.** Número e massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea, de plantas de soja 'BRS Tracajá' com inoculação pela pulverização em cobertura<sup>(1)</sup>.

Dias da avaliação	Número de nódulos	Nódulos secos (mg)	Matéria seca da parte aérea (g)
35 dias	14,6b	60,7c	1,8c
45 dias	29,5a	179,7b	4,7b
60 dias	40,1a	475,0a	19,9a
CV (%)	17,0	20,1	12,9

<sup>(1)</sup>Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; os dados de número e massa de nódulos foram transformados para raiz quadrada.

**Tabela 2.** Número e massa de nódulos secos e massa de matéria seca da parte aérea, de plantas de soja 'BRS Tracajá', 35 dias após a emergência, e rendimento e nitrogênio acumulado nos grãos<sup>(1)</sup>.

Tratamento	Número de nódulos	Nódulos secos (mg)	Matéria seca da parte aérea (g)	Rendimento de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	Nitrogênio acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )
Controle	2,0c	30,7b	1,29b	1.858c	105,1b
Nitrogenado	2,7c	50,3b	4,96a	3.218ab	180,3a
Inoculação padrão	30,0a	229,0a	3,80a	3.680a	210,9a
Inoculação em cobertura	14,6b	60,7b	1,79b	2.946b	174,1a
CV (%)	20,6	21,7	26,4	12,0	13,8

<sup>(1)</sup>Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; os dados de número e massa de nódulos foram transformados para raiz quadrada.

Em relação à massa de matéria seca da parte aérea, o fato de não ter havido diferença significativa, entre o tratamento com inoculação em cobertura e o controle, e o fato de ambos terem propiciado valores inferiores aos demais tratamentos (Tabela 2) indicam que o baixo teor de matéria orgânica do solo não forneceu nitrogênio suficiente, para o desenvolvimento adequado das plantas nesses tratamentos. Indicam, também, que apesar de o número de nódulos ter sido maior no tratamento inoculado em cobertura, em relação ao controle, essa nodulação ainda não havia proporcionado ganhos significativos de matéria seca, certamente por terem transcorrido apenas 17 dias da inoculação na data dessa avaliação. Entretanto, o ganho significativo de massa de matéria seca, observado aos 45 e 60 DAE, no tratamento com inoculação em cobertura, proporcionou recuperação no desenvolvimento das plantas de soja (Tabela 1).

Na colheita, observou-se que o padrão proporcionou produtividade de grãos superior ao tratamento de inoculação em cobertura e, também, ao controle, ao passo que a inoculação em cobertura proporcionou rendimento também superior ao controle e igual ao nitrogenado (Tabela 2). Na média, o tratamento com inoculação em cobertura produziu mais 2.900 kg ha<sup>-1</sup>, o que representa cerca de 18 sacas por hectare de soja a mais, em comparação ao controle. Observou-se, ainda, não ter havido diferenças significativas entre os tratamentos padrão, nitrogenado e inoculação em cobertura, quanto ao acúmulo de nitrogênio nos grãos, porém proporcionaram acúmulos superiores ao controle.

A estratégia de inoculação em lavouras de soja pela pulverização em cobertura não é uma prática usualmente recomendada, embora empiricamente seja utilizada por produtores de soja, quando constatada falha na nodulação das plantas na lavoura e deficiência de nitrogênio.

Sabidamente, a melhor resposta das plantas ao inoculante se dá quando as bactérias estão espacialmente próximas ao sistema radicular das plântulas, nas primeiras semanas de desenvolvimento. Nesse estágio, os rizóbios captam os sinais moleculares da planta e infectam os pêlos radiculares, o que culmina na formação dos nódulos (Spaink, 1995; Hirsch et al., 2003).

Uma nodulação é considerada eficiente, quando a maioria dos nódulos se forma na coroa da raiz principal das plantas, o que normalmente acontece quando existe alta população de bactérias nodulantes no solo, e quando as bactérias são inoculadas nas sementes por ocasião do plantio (Hungria & Bohrer, 2000).

Na estratégia de inoculação em cobertura, aos 18 DAE, observou-se que a maior parte dos nódulos se formou em raízes secundárias das plantas de soja e logo abaixo da superfície do solo. Isto provavelmente ocorreu porque nessa zona radicular estava ocorrendo maior diferenciação celular para o desenvolvimento das raízes, no momento da inoculação, o que permitiu a troca de sinais moleculares com a bactéria. Provavelmente, também foi nessa posição do perfil do solo onde se concentraram as bactérias aplicadas pela pulverização (Boonkerd et al., 1985).

O solo onde se conduziu o presente trabalho apresentava alto teor de areia, cerca de 87%, inexpressiva palhada sobre o solo e alto teor de umidade, em consequência da precipitação de cerca de 120 mm, na semana da aplicação do inoculante em cobertura. Essas condições podem ter facilitado a infiltração da água e a consequente percolação das bactérias, nos primeiros centímetros do perfil do solo, e pode ser uma necessidade para o novo método ser bem sucedido.

Nas condições avaliadas, embora o inoculante tenha sido aplicado 18 dias após as plantas terem emergido, e os nódulos terem se formado em raízes secundárias, houve aumento da nodulação, o que resultou em recuperação das plantas (Tabela 1). Essa recuperação proporcionou rendimento de grãos significativamente maior que o controle e igual ao tratamento nitrogenado (Tabela 2).

Pelos resultados obtidos, a inoculação por pulverização em cobertura não deve ser uma prática para substituir a inoculação tradicional nas sementes, haja vista que o melhor resultado ocorreu com a inoculação padrão. Entretanto, mostrou-se viável como método complementar, para situações emergenciais em que ocorrer falha na nodulação das plantas, e como

consequência da deficiência de nitrogênio. Essa situação tende a ocorrer em áreas de primeiro cultivo de soja e em solos com baixos teores de matéria orgânica, como normalmente observado no Cerrado de Roraima.

Ademais, faz-se necessário avaliar o custo/benefício dessa prática, e se sua utilização, seguida de uma aplicação de nitrogênio, pode favorecer ainda mais a recuperação da lavoura. É importante identificar, ainda, até qual estágio de desenvolvimento da cultura a inoculação em cobertura se traduz em benefícios.

## Referências

- BOONKERD, N.; ARUNSRI, C.; RUNGRATTANAKASIN, W.; VASUVAT, Y. Effects of post-emergence inoculation on field grown soybeans. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.1, p.155-161, 1985.
- EMBRAPA. **Cultivo de soja no cerrado de Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2005. 135p. (Embrapa Roraima. Sistema de Produção, 1).
- GAULT, R.R.; BERNARDI, A.L.; THOMPSON, J.A.; ANDREWS, J.A.; BANKS, L.W.; HEBB, D.M.; BROCKWELL, J.S. Studies on alternative means of legume inoculation: appraisal of application of inoculant suspended in irrigation water (water-run inoculation). *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.34, p.401-409, 1994.
- HIRSCH, A.M.; BAUER, W.D.; BIRD, D.M.; CULLIMORE, J.; TYLER, B.; YODER, J. Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. *Ecology*, v.84, p.858-868, 2003.
- HUNGRIA, M.; BOHRER, T.R.J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. *Biology and Fertility of Soils*, v.31, p.45-52, 2000.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W.E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p.25-42.
- LIAO, C.F.H. Devarda's alloy method for total nitrogen determination. *Soil Science Society of American Journal*, v.45, p.852-855, 1981.
- MELO, V.F.; GIANLUPPI, D.; UCHÔA, S.C.P. **Características edafológicas dos solos do Estado de Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2003. 28p. (Embrapa Roraima. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 1).
- SPAINK, H.P. The molecular basis of infection and nodulation by rhizobia: the ins and outs of symbiogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, v.33, p.345-368, 1995.
- ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; CAMPO, R.J.; GIANLUPPI, V.; HUNGRIA, M.; SMIDERLE, O.J. **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Roraima, 2006. 9p. (Embrapa Roraima. Comunicado Técnico, 20).