

ISSN 1516-7860
ISSN 1517-0187

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA

Mariangela Hungria
Rubens José Campo
Iêda Carvalho Mendes



Comitê de Publicações

Presidente JOSÉ RENATO BOUÇAS FARIAS
Secretária Executiva CLARA BEATRIZ HOFFMANN-CAMPO
Membros ALEXANDRE LIMA NEPOMUCENO
ANTÔNIO RICARDO PANIZZI
CARLOS ALBERTO ARRABAL ARIAS
FLÁVIO MOSCARDI
JOSÉ FRANCISCO FERRAZ DE TOLEDO
LÉO PIRES FERREIRA
NORMAN NEUMAIER
ODILON FERREIRA SARAIVA
Bibliotecário ADEMIR BENEDITO ALVES DE LIMA
Coordenador de Editoração ODILON FERREIRA SARAIVA

diagramação

NEIDE MAKIKO FURUKAWA SCARPELIN

tiragem

3000 exemplares
Agosto/2001

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação
Embrapa Soja

Hungria, Mariangela.

Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja /
Mariangela Hungria, Rubens José Campo, Iêda Carva-
lho Mendes. - Londrina: Embrapa Soja. 2001.

48p. -- (Circular Técnica / Embrapa Soja, ISSN
1516-7860; n.35) (Circular Técnica / Embrapa Cerra-
dos, ISSN 1517-0187; n.13)

1.Fixação de nitrogênio-Soja. I.Campo, Rubens José.
II.Mendes, Iêda Carvalho. III.Título. IV.Série.

CDD 572.545

ã *Embrapa 2001*

Conforme Lei 9.610 de 19.02.98

Apresentação

A globalização da economia traz um inevitável aumento na competição entre os setores produtivos. No setor primário, maior eficiência na produção, seja através do aumento da produtividade ou da redução dos seus custos de produção, é condição necessária para os agricultores enfrentarem os desafios dessa competição.

A cultura da soja no Brasil seria inviabilizada economicamente se os produtores tivessem que aplicar todo o nitrogênio necessário para suprir as demandas da planta. Contudo, bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que se associam ao sistema radicular da soja, estabelecem uma importante simbiose fornecendo todo o nitrogênio que a planta necessita.

A presente publicação, "A fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja", que a Embrapa Soja e a Embrapa Cerrados ora apresentam, mostra aos pesquisadores, à assistência técnica, aos professores, aos estudantes e aos produtores de soja, resultados de pesquisas que vêm sendo conduzidas para maximizar o processo de fixação biológica do nitrogênio com a cultura da soja. Demonstra, também, uma maneira simples de como o produtor de soja pode se beneficiar desta tecnologia, aumentando a produtividade sem aumento considerável nos custos, e preservando a qualidade do solo e das águas na propriedade.

José Renato Bouças Farias

*Chefe Adjunto de
Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Soja*

Ronaldo Pereira de Andrade

*Chefe Adjunto de
Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Cerrados*

Sumário

Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja	11
1 Introdução	11
2 Como ocorre o processo de fixação biológica do N ₂ ?	14
3 Quando e por quanto tempo a soja consegue fixar N ₂ ?	15
4 A aplicação de fertilizante nitrogenado em outros estádios do crescimento da soja é necessária para a obtenção de altos rendimentos?	17
5 Por que é necessário inocular a soja em solos de primeiro cultivo?	19
6 Em áreas tradicionalmente cultivadas, vale a pena reinocular?	20
7 Os incrementos no rendimento obtidos pela reinoculação compensam financeiramente?	23
8 Esses ganhos também ocorrem em solos sob plantio direto?	25
9 Como deve ser o inoculante para a soja?	26
- Quais bactérias devem estar no inoculante?	26
- E o número de células, é importante?	27
- Como saber se o número de células do inoculante é adequado?	29
- Quais as vantagens do inoculante turfoso e em que dose ele deve ser usado?	29
- É importante usar uma substância adesiva para o inoculante turfoso?	31

- Os inoculantes líquidos também são recomendados pela pesquisa?	32
- Quais são os cuidados a tomar na hora da compra do inoculante?	34
- Como fazer a inoculação das sementes com inoculante turfoso e tambor rotatório?	34
- Como fazer a inoculação das sementes com inoculante turfoso e máquina de tratamento de sementes?	37
- Qual o volume de água recomendado no caso de fungicidas e micronutrientes líquidos?	38
- Como fazer a inoculação em caso de veículo não-turfoso?	38
10 No campo, quais os principais fatores limitantes à fixação biológica do N ₂ ?	38
- Aplicação de molibdênio e cobalto nas sementes	39
- Tratamento de sementes com fungicidas	41
- Como compatibilizar a inoculação com o tratamento das sementes com micronutrientes e fungicidas?	42
11 Existem outros inoculantes biológicos para a cultura da soja?	45
12 Como saber mais sobre a fixação biológica do N ₂ ?	45
13 Considerações finais	46
14 Literatura citada	46
15 Agradecimentos	48

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA

RESUMO - O teor elevado de proteína dos grãos de soja (*Glycine max*) resulta em uma demanda de nitrogênio (N) de 65 kg de N para a produção de 1.000 kg de grãos, devendo-se adicionar, a isso, cerca de 15 kg de N para a produção de folhas, caules e raízes, resultando em um total de 80 kg de N. Conseqüentemente, rendimentos de 3.000 kg/ha implicam na necessidade de 240 kg de N. Os fertilizantes químicos são caros, mas o processo biológico com bactérias pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* pode suprir todo o N necessário à cultura. Cultivares de soja e estirpes de *Bradyrhizobium* foram selecionadas para garantir a máxima atividade biológica nas diversas condições brasileiras e estão disponíveis para o agricultor. Vários experimentos foram conduzidos para estudar os efeitos da adubação nitrogenada no rendimento da soja e a aplicação de doses iniciais no plantio (20 a 40 kg de N/ha), no florescimento (50 kg a 100 kg de N/ha), no início do enchimento dos grãos (50 kg de N/ha) ou até 400 kg N/ha parcelados em dez vezes durante o crescimento das plantas resultou em decréscimos na nodulação sem trazer benefícios ao rendimento, tanto em plantio convencional, como em plantio direto. Os solos brasileiros são originalmente isentos de bactérias de *Bradyrhizobium* capazes de nodular de modo eficaz a soja, contudo, a maioria dos solos cultivados hoje já foi inoculada anteriormente e apresenta uma população elevada de estirpes, estimada em 10^3 a 10^5 células/g de solo. Em experimentos sobre efeitos da reinoculação foram constatados incrementos médios no rendimento de 7,8% na Região Sul e de 3,8% na Região Centro-Oeste. Além disso, foram constatados incrementos no rendimento da cultura que segue à da soja, por exemplo, o trigo (*Triticum aestivum*) na Região Sul. A qualidade do inoculante é essencial ao sucesso da fixação biológica do nitrogênio e é recomendado que resulte em pelo menos 300.000 células/semente. Os inoculantes devem ser isentos de contaminantes e um adesivo para

inoculantes turfosos, como solução açucarada a 10%, deve ser usado. O procedimento da inoculação é discutido neste boletim, bem como os principais fatores limitantes à fixação biológica do N₂ a campo. O tratamento de sementes deve compatibilizar o uso de fungicidas, micronutrientes e inoculantes. Os micronutrientes e, especialmente, os fungicidas podem diminuir drásticamente e rapidamente a viabilidade das células nas sementes, de forma que para garantir uma boa nodulação é importante usar produtos com baixa toxicidade ao *Bradyrhizobium* e inoculantes que garantam um número elevado de células nas sementes. Práticas alternativas ao uso de fungicidas e micronutrientes nas sementes foram estudadas, como a aplicação foliar de micronutrientes, o uso de sementes enriquecidas em molibdênio e de fungicidas menos tóxicos. A maximização do processo biológico é importante porque o custo do agricultor é reduzido e os tetos de produtividade garantidos.

Palavras chave: *Bradyrhizobium*, fixação biológica do nitrogênio, inoculação, nitrogênio, soja, tratamento de sementes.

BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION WITH THE SOYBEAN CROP

ABSTRACT - Due to the high protein content of the soybean (*Glycine max*) grains, around 65 kg of N are necessary to produce 1,000 kg of grains, added to 15 kg of N to the production of leaves, stems and roots, resulting in a need of 80 kg of N. Therefore to sustain yields of 3,000 kg/ha the crop needs around 240 kg of N. Chemical N fertilizers are very expensive, but the biological nitrogen fixation process with bacteria belonging to the genus *Bradyrhizobium* can supply the N demand of the crop. Soybean cultivars and *Bradyrhizobium* strains were selected to guarantee the maximum biological activity under the Brazilian conditions and are available to the farmers. Several experiments have been performed to study the effects of N-fertilization on soybean yield, and the application of starter doses at sowing (20 to 40 kg of N/ha), flowering (50 kg to 100 kg of N/ha), early mid pod filling stage (50 kg of N/ha) or up to 400 kg N/ha split ten times during the plant growth cycle resulted in decreases of nodulation with no benefits to the yield, in both conventional and no-tillage systems. Brazilian soils are originally free of effective soybean bradyrhizobia, however, most of the soils cropped today have been inoculated before and show a high population of naturalized strains, estimated in 10^3 to 10^5 cells/g soil. In other experiments, mean increases in yield by reinoculation were of 7.8% in the South Region and of 3.8% in the Central-West Region. Furthermore, yield increases in the crop that follows the soybean, e.g., the wheat (*Triticum aestivum*) in the South Region, were also observed. The quality of the inoculant is essential for the success of biological nitrogen fixation and it should allow at least 300,000 cells/seed. Inoculants should be void of contaminants and an adhesive for peat inoculants, such as a sugar solution (10%) must be used. Inoculation procedure is discussed in this bulletin, as well as the main factors limiting N_2 fixation under field conditions. In the seed treatment, fungicides, micronutrients and inoculants

must show compatibility. Micronutrients and especially fungicides can decrease drastically and quickly cell viability on the seeds, therefore to guarantee a good nodulation it is important to use products with low toxicity to the *Bradyrhizobium*, as well as inoculants that allow a high number of cells per seed. Alternative practices to the application of fungicides and micronutrients on the seeds have been studied, as the application of foliar micronutrients, the use of seeds enriched with molybdenum and fungicides with lower toxicity. The maximization of the biological nitrogen fixation is very important because the costs for the farmer are reduced, but maximum yield is guaranteed.

Key words: biological nitrogen fixation, *Bradyrhizobium*, inoculation, nitrogen, seed treatment, soybean.

Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja

Mariangela Hungria¹, Rubens José Campo¹, Iêda Carvalho Mendes²

1 Introdução

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], pois os grãos são muito ricos em proteínas, apresentando um teor médio de 6,5% N. Desse modo, para produzir 1.000 kg de grãos de soja são necessários 65 kg de N. Adicionem-se, a isso, pelo menos mais 15 kg de N para as folhas, caule e raízes, e tem-se uma necessidade de 80 kg de N. Conseqüentemente, para a obtenção de rendimentos de 3.000 kg de grãos/ha, são necessários 240 kg de N, dos quais 195 kg são retirados da lavoura pelos grãos. As fontes de fornecimento dessas doses elevadas de N são: 1 - o solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica; 2 - a fixação não-biológica, resultante de descargas elétricas, combustão e vulcanismo; 3 - os fertilizantes nitrogenados; e 4 - o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (N₂).

O reservatório de N presente na matéria orgânica do solo é limitado, podendo ser esgotado rapidamente após alguns cultivos. Além disso, as condições de temperatura e umidade predominantes no território brasileiro aceleram os processos de decomposição da matéria orgânica e de perdas de N, resultando em solos com teores pobres desse nutriente, capazes de fornecer, em média, apenas 10

¹ Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Soja, Cx. Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR; hungria@cnpso.embrapa.br, rjcampo@cnpso.embrapa.br

² Eng. Agr., Ph.D., Embrapa Cerrados, Cx. Postal 08223, CEP 73301-970, Planaltina, DF; mendes@cpac.embrapa.br

a 15 kg de N por cultura. Deve-se considerar, ainda, que a preservação da matéria orgânica com uma relação C/N adequada é importante para a manutenção dos microrganismos do solo, sem os quais a sustentabilidade dos sistemas agrícolas é inviável. A fixação abiótica, isto é, independente da ação de organismos vivos, é pequena e variável.

Os fertilizantes nitrogenados representam a forma assimilada com maior rapidez pelas plantas, mas a um custo elevado. O processo industrial que transforma o N_2 em amônia (NH_3) requer: 1 - hidrogênio (derivado de gás de petróleo); 2 - catalisador contendo ferro; 3 - altas temperaturas (300° a $600^\circ C$); e 4 - altas pressões (200 a 800 atm). Desse modo, o gasto de fontes energéticas não-renováveis é estimado em seis barris de petróleo por tonelada de NH_3 sintetizada. Um agravante na utilização dos fertilizantes nitrogenados reside na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50%. Isso significa que, se o agricultor colocar 100 kg de N no solo, 50 kg serão perdidos, em um curto espaço de tempo, pelos processos de lixiviação (lavagem no perfil do solo por percolação ou escoamento superficial) e transformação em formas gasosas, tanto pela desnitrificação (redução, pela ação dos microrganismos, para formas gasosas, N_2 e N_2O) como pela volatilização (perdas gasosas na forma de NH_3). Assim, para fornecer os 240 kg de N necessários para a produção de 3.000 kg/ha de soja seriam necessários, na verdade, 480 kg de N ou, considerando a aplicação de uréia (45% de N), 1.067 kg de uréia. Com o preço da uréia cotado a U\$ 160/ton, isso implicaria em um custo de U\$ 170/ha, inviabilizando economicamente a cultura. Deve-se considerar, ainda, que o uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados resulta em poluição ambiental, pois a lixiviação do N e o escoamento desse nutriente pela superfície do solo resultam em acúmulo de formas nitrogenadas nas águas dos rios, lagos e lençóis subterrâneos, podendo atingir níveis tóxicos aos peixes e ao homem. Diversas doenças, como câncer e problemas respiratórios, têm sido associa-

das ao consumo de águas contaminadas com nitrato, representando um problema sério em países da Europa. No Brasil, a experiência dos países do primeiro mundo deve servir para orientar uma política de uso racional de fertilizantes nitrogenados. Beneficiado com o processo biológico se está, também, concretizando as metas de uma agricultura moderna, que visa a obtenção de tetos máximos de produtividade, com a melhor relação custo/benefício e impacto ambiental mínimo.

A terceira fonte de N para a cultura da soja é representada pela fixação biológica do N_2 , processo realizado por diversas espécies de bactérias que habitam o solo. Embora o N_2 constitua 80% dos gases atmosféricos, que também se difundem para o espaço poroso do solo, nenhum animal ou planta consegue utilizá-lo como nutriente, devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos do N_2 , que é uma das mais fortes de que se tem conhecimento na natureza. As bactérias capazes de fixar biologicamente o N_2 possuem uma enzima chamada dinitrogenase, capaz de romper a tripla ligação do N_2 atmosférico e provocar a sua redução até amônia (NH_3), a mesma forma obtida no processo industrial. As bactérias se associam a diversas plantas em diferentes graus de especificidade, levando à classificação como bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas. No caso da soja, bactérias que pertencem ao gênero *Bradyrhizobium* se associam simbioticamente às plantas, formando estruturas especializadas nas raízes da soja, chamadas nódulos, nos quais ocorre o processo de fixação biológica. Ainda nos nódulos, a amônia sintetizada são, então, rapidamente incorporados íons hidrogênio (H^+), abundantes nas células das bactérias, ocorrendo a transformação em íons amônio (NH_4^+) que serão, então, distribuídos para a planta hospedeira e incorporados em diversas formas de N orgânico, como os ureídios, aminoácidos e amidas.

Em termos globais, estima-se que a fixação não-biológica contribua com cerca de 10% da entrada anual de N na Terra, enquanto

a produção industrial da amônia contribui com 25%. O processo biológico contribui, portanto, com 65% da fixação anual de N, sendo o maior provedor desse nutriente para a manutenção da vida na Terra.

2 Como ocorre o processo de fixação biológica do N₂?

As bactérias que formam nódulos nas raízes da soja eram classificadas, até alguns anos atrás, na espécie *Rhizobium japonicum*. Com os avanços nos estudos de taxonomia das bactérias foram detectadas grandes diferenças, particularmente genéticas, entre as estirpes dessas bactérias (equivalente a cultivares de plantas ou raças de patógenos), resultando na reclassificação em duas novas espécies, *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*. Em linguagem popular, essas bactérias são, muitas vezes, denominadas somente de rizóbio ou bradirrizóbio. A formação de um simples nódulo é resultante de um processo complexo, envolvendo diversos estádios. Inicialmente, as sementes em germinação e as raízes exsudam moléculas que atraem quimicamente os rizóbios, outras que estimulam o crescimento das bactérias na rizosfera da planta hospedeira e outras que desencadeiam a expressão de diversos genes, tanto da bactéria como da planta hospedeira. A seguir, as bactérias penetram na raiz da soja e provocam o crescimento de células específicas da planta hospedeira, formando os nódulos, onde ficarão alojadas. Quando os nódulos estão em plena atividade apresentam, em sua parte interna, coloração rósea intensa (Fig. 1), devido à atividade da leghemoglobina, cuja função é a mesma da hemoglobina do sangue humano, ou seja, o transporte do oxigênio, essencial às funções vitais desses microrganismos aeróbios.

É importante salientar que o N do fertilizante é mais facilmente absorvido pela soja porque já está em uma forma prontamente

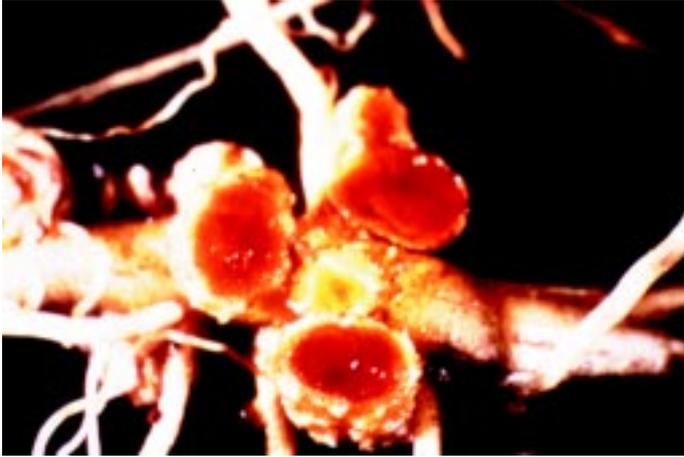


FIG. 1. Coloração interna rósea de um nódulo ativo, pela presença da leghemoglobina

disponível, ao passo que, no caso do processo biológico, a planta precisa “investir um pequeno capital energético inicial” na formação dos nódulos. Esse gasto inicial, porém, é recuperado logo no início do ciclo vegetativo, trazendo grande retorno à nutrição das plantas.

3 Quando e por quanto tempo a soja consegue fixar N₂?

Em condições de campo, entre cinco e oito dias após a emergência já é possível observar a formação dos primeiros nódulos com bom tamanho, e em número de quatro a oito, ao redor de dez a 12 dias após a emergência. Nessa etapa, muitas vezes se observa que as plantas noduladas estão um pouco amareladas, em relação àquelas que receberam uma dose inicial de fertilizante nitrogenado. Isso ocorre porque, conforme já mencionado, o fertilizante nitrogenado está “pronto” para ser utilizado, enquanto que a “máquina biológica de nitrogênio”, algumas vezes, ainda está em seus últi-

mos ajustes. Esses sintomas desaparecem após dois ou três dias e é importante mencionar que em diversos experimentos conduzidos pela Embrapa, nas regiões Sul, Central e Norte, não foi constatado nenhum incremento no rendimento das plantas devido à aplicação dessa dose inicial de fertilizante nitrogenado, também conhecida como dose “de arranque” ou dose “starter”, conforme exemplificado na Tabela 1. A soja, porém, é bastante sensível aos fertilizantes nitrogenados e, em alguns casos, foi constatado, inclusive, que doses baixas de N podem prejudicar a nodulação inicial, resultando em perdas no rendimento da cultura. Em Londrina, por exemplo, a adição de 20 kg de N/ha na semeadura resultou em diminuição na nodulação, avaliada aos 30 dias, de 14% e queda no rendimento de 147 kg de grãos/ha (Hungria et al., 2000).

Após esse período inicial, a nodulação e a fixação do N₂ intensificam até o período de formação de vagens. Na análise da raiz

TABELA 1. Efeito da complementação da inoculação (inoculante turfoso com as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080) com doses iniciais de fertilizante nitrogenado no rendimento da soja. Experimentos conduzidos em Planaltina, DF, com a cultivar Celeste na safra 1998/99 e em Londrina, PR, com a cultivar BR 37, na safra 1997/98, ambos em solos com população estabelecida de *Bradyrhizobium*

Planaltina ¹		Londrina	
Dose (kg de N/ha)	Rendimento (kg/ha)	Dose (kg de N/ha)	Rendimento (kg/ha)
Inocul. + 0	3.284 ²	Inocul. + 0	3.328 ²
Inocul. + 20	3.006	Inocul. + 10	3.070
Inocul. + 30	3.217	Inocul. + 20	3.165
Inocul. + 40	3.229	Inocul. + 30	3.232
CV (%)	6,5		7,1

¹ Segundo Mendes et al. (2000).

² Os dados representam médias de cinco (Planaltina) ou seis (Londrina) repetições e não diferem estaticamente (Duncan, 5%).

nodulada, é importante verificar, também, o tamanho dos nódulos, pois é desejável obter bom número de nódulos com tamanho igual ou superior a 2 mm, que são os com maior capacidade de fixação de N_2 . Na época do florescimento, uma planta de soja bem nodulada deve mostrar, no campo, entre 15 e 30 nódulos ou 100 a 200 mg de nódulos secos por planta. Os nódulos podem continuar ativos mesmo durante o período de enchimento dos grãos, quando, então, inicia o processo de senescência, observando-se uma alteração da coloração da leghemoglobina para tons esverdeados ou marrons. Frequentemente, observa-se formação secundária de nódulos após o florescimento, que também contribuirá para o fornecimento de N para a planta.

Em diversas pesquisas que utilizaram fertilizantes com ^{15}N , isto é, com um isótopo marcado que permite quantificar, com precisão, a contribuição do N do solo, do N do fertilizante e do N obtido pelo processo biológico, ficou determinado que as taxas de fixação do N_2 , na cultura da soja, em geral se situam entre 60 e 250 kg de N/ha. Em ensaios de quantificação conduzidos no Brasil foram constatadas contribuições de 109 a 250 kg de N/ha, representando de 70% a 85% do N total acumulado pelas plantas.

4 A aplicação de fertilizante nitrogenado em outros estádios do crescimento da soja é necessária para a obtenção de altos rendimentos?

As pesquisas desenvolvidas com a soja no Brasil permitiram um acréscimo fantástico no rendimento da cultura, com a média nacional passando de 1.166 kg/ha, em 1968/69, para 2.637 kg/ha, em 2000/01. Para fornecer nitrogênio a cultivares com alta produtividade, os rizobiologistas têm trabalhado na seleção de estirpes com maior capacidade de fixação de N_2 e melhorias na técnica de

inoculação. Assim, patamares superiores a 4.000 kg/ha são obtidos exclusivamente pela inoculação, não sendo necessária nenhuma complementação com fertilizantes nitrogenados. Como exemplo, a Tabela 2 mostra os resultados de três dos nove experimentos conduzidos na safra 2000/01, em Londrina, Ponta Grossa (PR) e Jaciara (MT), com a complementação de fertilizante nitrogenado em três estádios do crescimento das plantas. Nesse caso, como os solos apresentavam alta população estabelecida de *Bradyrhizobium* e as condições foram extremamente favoráveis na semeadura, não houve resposta significativa à reinoculação. Cabe salientar, ainda,

TABELA 2. Efeito da reinoculação com as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5080 em solos com população superior a 10^5 células/g de solo e da aplicação de fertilizante nitrogenado no rendimento da soja (kg/ha). Experimentos conduzidos na safra 2000/01 em Londrina (cv. EMBRAPA 48, plantio convencional), Ponta Grossa (cv. EMBRAPA 48, plantio direto) e Jaciara (cv. UFV-18, plantio direto)

Tratamentos	Londrina (PR) ¹	Ponta Grossa (PR) ¹	Jaciara (MT) ²
Sem inoculação	3.503 ³	2.975 ³	2.498 ³
Sem Inoc. + 200 kg N (50% plantio, 50% florescimento)	3.407	2.767	2.668
Inoculação padrão (IP) ⁴	3.497	2.922	2.781
IP + 30 kg N no plantio	3.333	3.056	2.535
IP + 50 kg N no pré-florescimento	3.253	3.088	2.580
IP + 50 kg N no início do enchimento de grãos	3.573	2.738	2.527

¹ Segundo Crispino et al. (2001).

² Segundo Loureiro et al. (2001).

³ Médias de seis repetições e os valores não diferem estatisticamente (Duncan, 5%).

⁴ Inoculante turfoso, aplicado na dose de 500 g de inoculante/50 kg de semente, com solução açucarada a 10% como adesivo e contendo 10^8 células de *Bradyrhizobium*/g de inoculante.

que, em mais de 50 ensaios de inoculação conduzidos pela “Rede Nacional de Ensaio de Inoculação da Soja”, o tratamento controle, com soja não inoculada recebendo 200 kg de N/ha, parcelados em 100 kg na semeadura e 100 kg no florescimento, não resultou em incremento no rendimento em relação ao tratamento só inoculado. Em outros ensaios conduzidos na Região Sul e nos Cerrados, não foram constatados incrementos no rendimento de grãos pela aplicação de 120 a 150 kg de N, no florescimento, ou até de 400 kg de N/ha, parcelados em dez vezes durante todo o ciclo da soja (Hungria et al., 1997).

5 Por que é necessário inocular a soja em solos de primeiro cultivo?

A soja é uma das culturas mais antigas do mundo, com centro genético de origem na China. A cultura foi trazida para o Brasil provavelmente em 1882, mas somente a partir da década de 1960 passou a ser utilizada com maior intensidade na Região Sul e, a partir da década seguinte, nos Cerrados. A simbiose resulta de um processo de evolução de milhões de anos, entre a planta hospedeira e a bactéria, para permitir a sobrevivência em condições de baixos teores de N no solo. Desse modo, como a soja não ocorre naturalmente no Brasil, também não existe rizóbio nativo capaz de nodulá-la, justificando a obrigatoriedade da inoculação em áreas de primeiro cultivo.

Em solos de primeiro ano sob vegetação de cerrado, foram relatados vários insucessos da inoculação. Algumas vezes, a falta de nodulação ocorre devido a fatores biológicos e químicos do solo ou, mais freqüentemente, devido a problemas com o inoculante, com o processo da inoculação ou com o tratamento de sementes. Na Embrapa Cerrados, nodulações bem sucedidas em áreas de pri-

meiro cultivado com soja foram obtidas pela inoculação do arroz que precede a soja, seguida pela reinoculação da soja. Essa técnica pode ser utilizada em outras regiões e com outras culturas.

Outras vezes, o teor de N nas áreas novas é elevado, principalmente pela mineralização do N da vegetação nativa. A inoculação, então, pode não resultar em incrementos no rendimento, mas auxilia o estabelecimento da população de rizóbios no solo, o que favorecerá culturas futuras, quando se esgotarem as reservas de N do solo. Contudo, é importante salientar que, nessa situação, as plantas também não respondem à aplicação do fertilizante nitrogenado, pois o N do solo já é suficiente para satisfazer as necessidades da soja.

6 Em áreas tradicionalmente cultivadas, vale a pena reinocular?

Atualmente, restam poucas áreas que ainda não receberam inoculantes e a população de bradirizóbios estabelecida nos solos, às vezes, é muito elevada, da ordem de 10^3 (1.000), podendo chegar a 10^6 (1.000.000) bactérias/ g solo. Essas bactérias do solo conseguem formar nódulos e fixar N_2 e, pela falta de informações sobre as necessidades da reinoculação, poucos agricultores utilizavam essa prática até há pouco tempo.

A partir da safra de 1992/93, foram conduzidos, por uma rede de pesquisadores pertencentes a instituições de pesquisa estaduais e federais, ensaios em solos com população estabelecida de bradirizóbios, nos estados do Maranhão, do Mato Grosso, do Mato Grosso do Sul, de Goiás, do Paraná, do Rio Grande do Sul e no Distrito Federal.

Como exemplo dos resultados obtidos, nos Cerrados, em experimentos conduzidos pela Embrapa, durante três safras, somente na primeira não houve efeito benéfico da reinoculação e, nos demais anos, os ganhos variaram de 80 a 291 kg/ha, correspondendo a incrementos de 4% a 12,5%. Nos experimentos conduzidos durante cinco safras no Paraná, em Londrina e Ponta Grossa, os incrementos no rendimento, pela reinoculação, variaram de 3,2% a 15,2%. Pela análise conjunta dos resultados obtidos em 13 experimentos conduzidos em todos os estados produtores de soja, com diversas cultivares e sob diferentes sistemas de cultivo, constataram-se incrementos médios, no rendimento, de 7,8%, nos ensaios da Região Sul, e de 3,8%, na Região Centro-Oeste. Em média, para todos os ensaios, o incremento foi de 4,5%, estatisticamente significativo em relação ao tratamento não inoculado. Contudo, em alguns experimentos, foram constatados incrementos de até 23% no rendimento e de até 25% no teor de N dos grãos. Nesses ensaios, a análise do teor de N nos grãos é importante, pois um problema freqüente da cultura da soja está no baixo teor de proteínas dos grãos, muitas vezes insuficiente para atender às necessidades da indústria de farelo e de alimentos. Mais uma vez, a ação das bactérias fixadoras de N_2 desempenha um papel fundamental para a solução desse problema, pois o N proveniente do processo biológico é mais facilmente translocado para os grãos do que o N mineral. Na Tabela 3, são apresentados, como exemplos, alguns resultados de ensaios sobre reinoculação.

E por que a reinoculação é importante, se no solo já existem tantas bactérias? O que ocorre é que, no solo, essas bactérias estão limitadas por diversos fatores ambientais e, principalmente, nutricionais. Estima-se que, de toda a população microbiana do solo, no máximo 10% dos microrganismos estejam no estágio ativo. Conforme mencionado, quando a germinação da soja inicia, os compostos liberados pelas sementes e, a seguir, pelas raízes, atraem as

TABELA 3. Efeito da reinoculação e da adubação nitrogenada, em solos com população superior a 10^3 células/g de solo, no rendimento da soja (kg/ha). Experimentos conduzidos em Londrina e Ponta Grossa (PR), na safra 1998/99, com a cultivar BR 37 inoculada com as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019, em Goiânia (GO), na safra 1993/94, com a cultivar Doko e as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019 e em Planaltina (DF), na safra 1997/98, com a cultivar Doko inoculada com as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080.

Tratamentos	Londrina ¹	Ponta Grossa ¹	Goiânia ²	Planaltina ³
Sem inoculação	3.836 a ⁴	2.697 b ⁴	2.341 a ⁴	2.483 a ⁴
Fertilizante (N) ⁵	3.434 b	2.872 ab	2.432 a	2.660 a
Reinoculado ⁶	4.025 a	2.912 a	2.462 a	3.119 a
CV (%)	9,9	8,1	8,8	7,0

¹ Modificado de Campo & Hungria (2000a).

² R. S. Araujo, dados não publicados.

³ I. C. Mendes, dados não publicados.

⁴ Os dados representam médias de seis repetições e quando seguidos pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente (Duncan, 5%).

⁵ 100 kg de N na semeadura e 100 kg de N no florescimento, como uréia.

⁶ Inoculante turfoso, aplicado na dose de 500 g de inoculante/50 kg de semente, com solução açucarada a 10% como adesivo e contendo 10^8 células de *Bradyrhizobium*/g de inoculante.

bactérias para as raízes e estimulam a sua multiplicação. Os segmentos de raízes, porém, são suscetíveis à formação de nódulos apenas por poucas horas, durante o crescimento. Desse modo, muitas vezes as bactérias somente atingem as raízes e se tornam aptas a formar nódulos quando já há um determinado crescimento das mesmas. Ao contrário, nas sementes inoculadas, carregando dezenas de milhares de bactérias, a formação de nódulos é imediata, havendo abundância de nódulos na coroa da raiz principal, conforme pode ser constatado na Fig. 2. Esses nódulos são muito importantes para o estabelecimento do processo de fixação biológica e para que a planta não sofra deficiência inicial de nitrogênio.



FIG. 2. Nodulação na coroa da raiz da soja, resultante da inoculação com uma população elevada de células de *Bradyrhizobium*

Esses e outros resultados positivos obtidos, indicando benefícios da reinoculação, nas taxas de fixação do N_2 e no rendimento de grãos, levaram os pesquisadores a difundir as vantagens da reinoculação e, hoje, estima-se que cerca de 60% dos agricultores utilizem essa prática.

7 Os incrementos no rendimento obtidos pela reinoculação compensam financeiramente?

O inoculante é um insumo barato, mas muitos agricultores reclamam que o processo da inoculação é laborioso. Podem, então, pairar dúvidas sobre as vantagens da reinoculação da soja nos casos de incrementos no rendimento ao redor de 4,5%. Contudo, vários pontos precisam ser considerados. Em um programa de melhoramento bem sucedido, esperam-se incrementos de rendimento

dessa grandeza a cada cinco anos de pesquisas intensivas e, portanto, ao deixar de inocular, o agricultor pode estar perdendo os ganhos que teria, por exemplo, por estar usando uma nova cultivar de soja mais produtiva. Deve-se considerar, ainda, que, com a globalização do mercado, a diferenciação entre agricultores bem ou mal sucedidos estará em pequenos incrementos no rendimento e na redução no custo da produção. Além disso, para se manter no mercado e preservar o valor de sua terra, o agricultor não pode ser imediatista. Assim, poderá ser retirado N do solo durante algumas safras mas, com o empobrecimento do solo, as produtividades cairão. Por outro lado, a competitividade do agricultor é estabelecida pela máxima relação custo/benefício, justificando a reinoculação e não o uso de um insumo caro, como é o caso do fertilizante nitrogenado. A longo prazo, evitando o uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados, o agricultor estará contribuindo, ainda, para a preservação das águas dos rios e lagos e economizando derivados de petróleo, uma fonte energética não-renovável.

Os retornos econômicos obtidos pela reinoculação podem ser muito importantes para o agricultor. Em um ensaio conduzido em Ponta Grossa, PR, na safra 1998/99, a reinoculação resultou em um incremento de 498 kg de grãos de soja/ha, ou seja, quase 8,3 sacas (60 kg). Considerando o custo da inoculação em US\$ 2,50/ha (inoculante + aplicação) e a saca de soja a US\$ 10 haveria, portanto, um ganho de US\$ 80,50/ha. Na COOPAVEL (Cooperativa Agropecuária Cascavel Ltda. Avaliações, resultados e comentários do show rural COOPAVEL/95. Publicação Técnica n° 3. Cascavel: COOPAVEL, 1995. 34p.), os benefícios foram ainda mais elevados, pois constatou-se que a reinoculação resultou em ganhos de 18 sacas/ha. Quanto aos efeitos residuais do processo biológico, sabe-se que uma cultura de soja fixando taxas elevadas de N_2 também enriquecerá o solo com seus restos culturais, deixando N para a cultura seguinte. No Paraná, por exemplo, têm-se cons-

tatado incrementos no rendimento do trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivado sobre as parcelas onde a soja havia sido reinoculada (Tabela 4), aumentando, assim, o retorno econômico da inoculação.

TABELA 4. Efeito residual da aplicação de fertilizante nitrogenado (200 kg de N/ha) e da reinoculação da soja no rendimento do trigo (kg/ha) que sucedeu a cultura da soja. Experimentos conduzidos na região de Londrina, PR, com a cultivar BR-18.

Tratamentos	1994	1998
Testemunha sem inoculação	1.827ab ¹	2.028 b ¹
Fertilizante nitrogenado	1.484 b	2.219ab
Inoculado	2.000a	2.449a
CV (%)	12,7	9,3

¹ Os dados representam médias de seis repetições e quando seguidos pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente (Duncan, 5%).

8 Esses ganhos também ocorrem em solos sob plantio direto?

O sistema de plantio direto tem-se mostrado extremamente favorável à biomassa microbiana do solo e a diversos microrganismos de importância agrícola, como bactérias fixadoras de N₂ de vida livre ou simbióticas e fungos micorrízicos (Campo & Hungria, 2000a; Hungria, 2000). Quando experimentos sob plantio direto ou convencional foram comparados, constatou-se que, para a soja, ocorrem incrementos no número de células viáveis de *Bradyrhizobium* no solo, na diversidade genética de *Bradyrhizobium*, na nodulação, no crescimento das plantas, nas taxas de fixação biológica do N₂ e no rendimento de grãos no plantio direto (Hungria, 2000). Essas informações têm gerado, às vezes, dúvidas sobre a necessidade de

reinoculação em solos sob plantio direto. Contudo, nos ensaios conduzidos em rede nacional em plantio direto, também foram constatados incrementos no rendimento da soja pela reinoculação, justificando a utilização dessa tecnologia para maximizar a produtividade da cultura.

Ainda em relação ao plantio direto, surgem dúvidas sobre a necessidade de complementação com uma dose inicial de fertilizante nitrogenado, visto que pode ocorrer imobilização elevada do N do solo pela palhada, causando deficiência desse nutriente na cultura. Contudo, quanto menor o teor de N do solo, maior será a contribuição do processo biológico e, mesmo em solos recebendo grande quantidade de resíduos vegetais, até 26 ton de matéria seca/ha, com alta relação C/N, não houve resposta à aplicação de até 30 kg de N/ha. Em outros ensaios conduzidos com soja em plantio direto, nas safras 1998/99 e 1999/00, nos Cerrados, também não houve resposta à aplicação de até 40 kg de N/ha (Mendes et al., 2000).

9 Como deve ser o inoculante para a soja?

Para que a inoculação dê retorno econômico ao agricultor, o inoculante precisa ser de boa qualidade. Para isso, alguns critérios precisam ser observados.

Quais bactérias devem estar no inoculante?

Os pesquisadores da área de microbiologia do solo procuram selecionar estirpes cada vez melhores, principalmente porque, como as novas cultivares de soja produzem mais, as bactérias devem apresentar taxas mais elevadas de fixação do N_2 . A determinação das estirpes recomendadas é complexa, pois deve considerar diver-

soos fatores, como a eficiência com todas as cultivares recomendadas, capacidade de competir com os organismos do solo, fermentação adequada na indústria e, principalmente, capacidade de se adaptar aos solos sem nenhum prejuízo à microflora natural do mesmo. Desse modo, para definir as melhores estirpes, os pesquisadores se reúnem, a cada dois anos e, após a análise dos resultados obtidos, uma lista com o nome das melhores estirpes é enviada ao Ministério da Agricultura. As indústrias de inoculante recebem, sem nenhum custo de pesquisa, essas bactérias. Inoculantes provenientes de outros países também podem ser comercializados no Brasil, desde que atendam às exigências da legislação, inclusive a de utilizar somente estirpes recomendadas pela pesquisa brasileira.

Hoje, são recomendadas quatro estirpes para a cultura da soja, duas da espécie *Bradyrhizobium elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) e duas da espécie *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079 ou CPAC 15 e SEMIA 5080 ou CPAC 7). Não importa em qual combinação venham as estirpes nos inoculantes, pois todas conseguem fornecer o N necessário à cultura. Na Fig. 3 podem ser visualizados alguns resultados obtidos com duas combinações de estirpes que vêm sendo comercializadas em larga escala, SEMIA 587 + SEMIA 5019, estirpes utilizadas com sucesso há vários anos e SEMIA 5079 + SEMIA 5080, selecionadas em trabalhos mais recentes de pesquisa da Embrapa Cerrados. É importante observar que a reinoculação não resultou em incrementos no rendimento em todos os ensaios, por exemplo, em Dourados, MS. Mas isso ocorre em quaisquer ensaios com outros nutrientes, por exemplo, fósforo, potássio, cálcio, pois a recomendação é baseada nos resultados encontrados na grande maioria dos ensaios.

E o número de células, é importante?

Pela nova legislação que está entrando em vigor, o número mínimo de células de um inoculante deve ser de 10^8 células/g ou ml

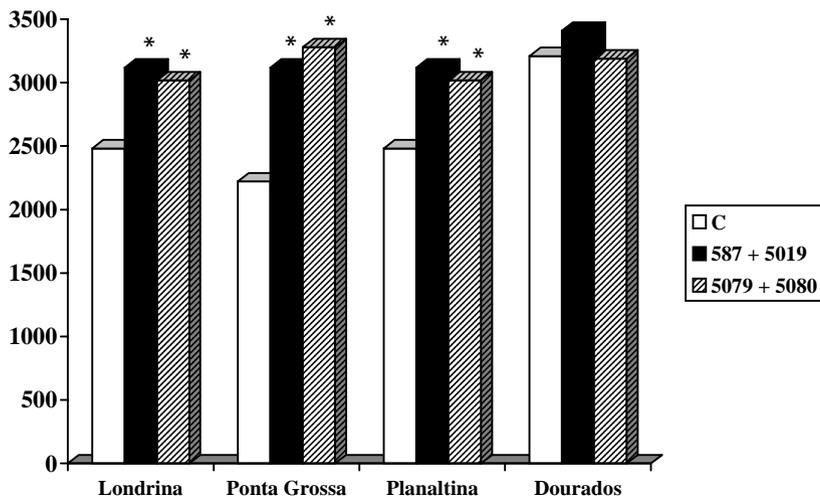


FIG. 3. Efeito da reinoculação com duas combinações de estirpes comerciais de *Bradyrhizobium* no rendimento da soja, em solos com população superior a 10^4 células/g de solo. As cultivares utilizadas foram a BR-37 (Londrina e Ponta Grossa, PR), Doko (Planaltina, DF) e EMBRAPA-4 (Dourados, MS). Os asteriscos indicam que, naquele local, o tratamento inoculado diferiu do controle (C) não inoculado. Em Dourados, o experimento foi conduzido pelo Dr. Shizuo Maeda e Dr. Carlos H. Kurihara (Embrapa Agropecuária Oeste).

de inoculante, com uma recomendação que resulte em um mínimo de 160.000 células/semente até o prazo final de validade do produto. À primeira vista, parece um número elevado, contudo, abaixo desse número, a probabilidade de sucesso é muito pequena, principalmente em solos já cultivados com a soja. Isso ocorre porque, em diversos estudos, foi determinado que, para conseguir competir com a população estabelecida do solo, é necessária uma vantagem numérica de pelo menos 1.000 vezes. Como a população estabelecida nas áreas tradicionais de soja freqüentemente atinge 10^3 a 10^5 bactérias por grama de solo, isto justifica a necessidade de inoculantes ricos em bactérias.

Embora a obrigatoriedade de um número elevado de células de rizóbio seja um grande avanço na melhoria da qualidade dos inoculantes comercializados, a concentração de células nas sementes exigida ainda é baixa. Na França e na Austrália, por exemplo, a exigência é de 1.000.000 de células/semente, sendo esse o nível que se deseja chegar, em um futuro próximo, no Brasil. Para a safra 2001/2002, no Estado do Paraná e na Região Central, a recomendação já é de 300.000 células/semente. A importância da concentração elevada ocorre porque, quanto maior o número de células nas sementes, maior será a probabilidade de nodulação bem sucedida, especialmente na coroa da raiz, iniciando prontamente a fixação biológica e o fluxo de N para a planta. Por isso, o agricultor deve considerar cuidadosamente algumas recomendações de diluição de produtos com altas concentrações de células pois, após ser diluído dez, 20 ou mais vezes, o produto não resultará em número adequado de células nas sementes.

Como saber se o número de células do inoculante é adequado?

Os fiscais do Ministério da Agricultura, da Pecuária e do Abastecimento (MAPA) estão recebendo treinamento intensivo na área de inoculantes. Desse modo, em caso de dúvida sobre a qualidade do inoculante, o fiscal responsável pela área deverá ser acionado para retirar amostras do local de venda, onde o armazenamento sob condições adequadas é obrigatório. Essas amostras serão enviadas para análise em um laboratório credenciado por esse Ministério.

Quais as vantagens do inoculante turfoso e em que dose ele deve ser usado?

Os inoculantes à base de turfa, cujo pH é previamente corrigido a 6,5 a 7,0, têm sido utilizados há anos, no Brasil e no exterior, com excelentes resultados. São o melhor veículo para o rizóbio,

visto que a turfa é rica em matéria orgânica, resultante da decomposição de restos vegetais, portanto uma fonte importante de nutrientes para as bactérias. Contudo, a turfa deve apresentar textura fina, baixo teor de argila e isenta de areia e partículas grosseiras. Essas características podem ser avaliadas tomando-se uma amostra de inoculante, adicionando água e pressionando essa mistura entre o indicador e o polegar, quando não deverá ser sentida a presença de areia.

Por suas características, a turfa fornece proteção física às bactérias e, por sua capacidade de retenção de umidade, permite maior sobrevivência em condições de deficiência hídrica, bem como sob temperaturas elevadas. A dose de inoculante turfoso usada deve ser aquela recomendada por cada fabricante, e que deve permitir uma concentração adequada de células na semente. Contudo, respostas favoráveis à reinoculação da soja pelo uso de 500 g de inoculante/50 kg de sementes, conforme pode ser constatado na Tabela 5 são, freqüentemente, observadas e provavelmente ocor-

TABELA 5. Efeito de doses de inoculante turfoso na aderência às sementes e no rendimento de soja¹, cv. BR-37. O inoculante contendo 10⁸ células/g foi aderido às sementes com 300 ml de solução açucarada a 15%

Dose do inoculante (g/50 kg)	Inoculante aderido		Rendimento (kg/ha)
	(%)	(g)	
0	–	–	2.878 bc ²
250	92,2a ²	230,4	2.804 c
500	88,5a	442,8	3.044a
750	80,0 b	600,0	2.884 bc
1000	66,2 c	666,2	2.954ab
CV(%)	31,0		6,7

¹ Segundo Brandão Junior et al. (1999).

² Os dados representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente (Duncan, 5%).

rem, em grande parte, devido à proteção física fornecida por essa maior quantidade de turfa. Entretanto, doses superiores a 500 g resultarão em acúmulo de turfa na caixa de sementes, dificultando a operação de semeadura e aumentando o desgaste das máquinas por abrasão mecânica.

A nova legislação exige obrigatoriamente a esterilização da turfa, de modo a eliminar contaminantes na diluição de 10^{-5} . Essa necessidade surgiu porque, na indústria, o rizóbio é multiplicado em grandes fermentadores industriais e um determinado volume é injetado nos saquinhos com turfa. Em turfa não-esterilizada, o rizóbio terá que competir com os outros microrganismos presentes na turfa, como fungos, actinomicetos e outras bactérias, o que prejudicará o seu crescimento, dificultando a obtenção do número adequado de células. Quando a turfa é esterilizada, não existe competição, contribuindo, de um modo decisivo, tanto para o maior número de células quanto para a manutenção das bactérias por um tempo maior.

É importante usar uma substância adesiva para o inoculante turfoso?

A aderência do inoculante turfoso às sementes depende das propriedades físicas e químicas de cada turfa, contudo, é geralmente baixa. Desse modo, é de extrema importância usar uma substância que permita a adesão do inoculante às sementes. Essa substância pode ser goma arábica a 20%, ou outros produtos recomendados pelos fabricantes, contudo, pela facilidade, a maior utilização é de solução açucarada a 10%. A importância da utilização do adesivo fica evidenciada pelos dados mostrados na Tabela 6, onde se constata um incremento de 90% na percentagem de inoculante aderido às sementes pelo uso de solução açucarada a 10%, resultando em maior produtividade a campo. Desse modo, se somente água fosse utilizada como aderente, o agricultor estaria deixando,

TABELA 6. Efeito de diferentes concentrações de solução açucarada na aderência do inoculante turfoso às sementes e no rendimento da soja, cv. BR-37. Aderente e inoculante (10^8 células/g) foram aplicados na dose de 300 ml de solução açucarada/500 g de inoculante/50 kg de semente, com as estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019. Os dados de cada local representam as médias de dois experimentos¹, conduzidos em solos com população estabelecida de *Bradyrhizobium*, nas safras 1994/95 e 1995/96

Concentração de açúcar (%)	Inoculante aderido		Rendimento (kg/ha)	
	(%)	(g)	Londrina	Ponta Grossa
0	48,2 b ²	241,0	2.692ab ²	2.312a ²
10	91,5 a	457,4	2.952a	2.290a
15	92,0a	460,0	2.568 b	2.460a
20	88,0a	440,0	2.680ab	2.393a
25	80,9a	404,5	2.710ab	2.363a
CV (%)	13,0		10,7	13,7

¹ Segundo Brandão Junior et al. (1999).

² Os dados representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente (Duncan, 5%).

na caixa de sementes, 259 g de cada 500g de inoculante. É importante salientar, ainda, que a pesquisa constatou que o uso de solução açucarada a 10% não resulta em doenças nas sementes, nem altera o vigor das mesmas.

Os inoculantes líquidos também são recomendados pela pesquisa?

Hoje cerca de 50% dos inoculantes comercializados no Brasil não são à base de turfa, pois os agricultores preferem utilizar novas formulações líquidas, que facilitem o trabalho da inoculação e diminuam o desgaste das máquinas. Em breve, para manter ou obter o registro no MAPA, todos os inoculantes não-turfosos devem comprovar a eficiência agrônômica, isto é, apresentar nodulação e ren-

dimento de grãos comparáveis aos obtidos com inoculante turfoso padrão e serem estatisticamente superiores à testemunha não inoculada. Os ensaios devem ser conduzidos por instituições públicas credenciadas junto ao MAPA para essa finalidade, por dois anos, em duas áreas representativas do cultivo da soja, tendo como responsável um pesquisador qualificado em microbiologia do solo e os rendimentos dos ensaios devem ser superiores a 2.000 kg/ha.

O bom desempenho de um inoculante não-turfoso depende das moléculas protetoras de rizóbio presentes nas formulações. Conforme já discutido, a turfa oferece uma boa proteção ao rizóbio em condições de estresses hídricos e temperaturas elevadas, que ocorrem com bastante frequência na hora da semeadura. As novas formulações precisam ser testadas, também, quanto à compatibilidade com fungicidas e micronutrientes. Conforme pode ser constatado pela Fig. 4, quando cinco inoculantes líquidos foram comparados com inoculante turfoso, nenhum deles apresentou número de nódulos comparável ao do turfoso e somente um deles apresentou

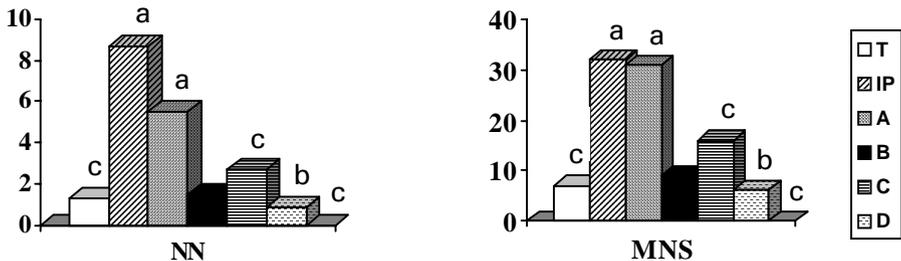


FIG. 4. Número de nódulos (NN, nº/planta) e massa de nódulos secos (MNS, mg/planta) em soja cv. BR-37 não inoculada (T), recebendo inoculante padrão (IP) (turfa, 500 g/50 kg de sementes, 10^8 células/g), e com quatro inoculantes não-turfosos comerciais, todos com população adequada à legislação, = 10^8 células/ml de inoculante. Experimento conduzido em solo de primeiro ano de cultivo, com menos de 100 células/g de solo, em Ponta Grossa, PR, na safra 1997/98. Médias de seis repetições e valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste "t" (5%).

mesma massa nodular, um parâmetro importante para a fixação do nitrogênio.

Quais são os cuidados a tomar na hora da compra do inoculante?

1. Verificar se o produto apresenta o número de registro do MAPA pois, freqüentemente, entram no País produtos de origem e qualidade duvidosas, com estirpes que não são as recomendadas pela pesquisa.
2. Verificar o prazo de validade do inoculante, que deve constar da embalagem. Jamais comprar inoculante vencido.
3. Certificar-se de que o produto, antes de ser comprado, estava sendo conservado em condições adequadas de umidade e temperatura (no máximo 30°C). Após a aquisição, conservar o inoculante em local protegido do sol e arejado até o momento da utilização. Não esquecer que o inoculante contém seres vivos, sensíveis ao calor.

Como fazer a inoculação das sementes com inoculante turfoso e tambor rotatório?

O processo de tratamento das sementes com inoculantes deve ser feito à sombra e, preferencialmente, pela manhã.

No caso de inoculante turfoso, com tambor rotatório (Fig. 5) com eixo excêntrico, proceder da seguinte maneira.

1. dissolver 100 g de açúcar (cinco colheres de sopa de qualquer tipo ou marca de açúcar) em um litro de água. O açúcar pode ser substituído por outras substâncias recomendadas pelos fabricantes;

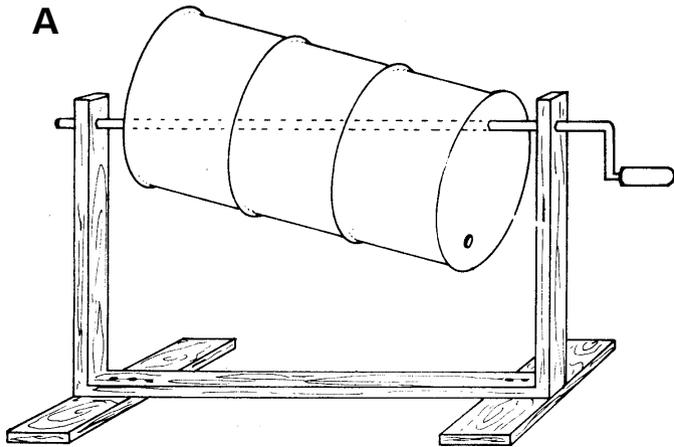


FIG. 5. Tambor rotatório (A) e máquina (B) utilizadas para tratamento de sementes e inoculação.

2. adicionar a solução açucarada às sementes, na proporção de 300 ml de solução para 50 kg de semente. Misturar no tambor rotatório, dando algumas voltas na manivela;
3. adicionar o inoculante turfoso, na proporção de 500 g por 50 kg de sementes ou conforme recomendação do fabricante e misturar no tambor rotatório. Alternativamente, pode-se misturar 300 ml da solução açucarada a 500 g de inoculante e, então, adicionar essa mistura a 50 kg de sementes;
4. espalhar as sementes inoculadas em camadas de 10 a 30 cm sobre uma superfície seca, à sombra. Deixar secar por pelo menos uma hora;
5. semear no mesmo dia ou, no máximo, após dois dias, desde que as sementes fiquem em ambiente protegido do sol e da umidade; e
6. durante a semeadura, se o depósito de sementes na máquina aquecer muito, deve-se interromper a atividade e resfriar a caixa, pois o calor pode matar as bactérias.

Quando for realizado também o **tratamento de sementes com fungicidas**:

1. adicionar a solução açucarada às sementes (300 ml de solução açucarada a 10% para 50 kg de sementes) e misturar no tambor rotatório;
2. adicionar o fungicida e misturar no tambor rotatório;
3. em seguida, adicionar o inoculante turfoso e misturar no tambor rotatório;
4. deixar secar à sombra por pelo menos uma hora;
5. semear em 24 horas. Caso isso não seja possível, repetir a inoculação no dia da semeadura; e

6. durante a semeadura, se o depósito de sementes na máquina aquecer muito, deve-se interromper a atividade e resfriar a caixa, pois o calor pode matar as bactérias.

No caso de **tratamento com micronutrientes**, seguir as mesmas recomendações descritas para “tratamento com fungicidas”, deixando a aplicação do inoculante por último.

A **inoculação diretamente na caixa semeadora** não é aconselhável, pois resulta em pouca aderência e cobertura desuniforme da semente.

Como fazer a inoculação das sementes com inoculante turfoso e máquina de tratamento de sementes?

Existem no mercado máquinas simples, eficientes e baratas que realizam o tratamento de sementes e a inoculação (Fig. 5). Nessas máquinas, os fungicidas são utilizados via líquida, diminuindo o risco de intoxicação do operador. Outra vantagem é a de que a máquina pode ser levada ao campo, pois possui engate para a tomada de força do trator. A principal vantagem dessa máquina é que possibilita inocular 60 a 70 sacas/hora. Com a máquina, proceder da seguinte maneira:

1. preparar a solução açucarada a 10% e colocar no primeiro compartimento. Quando for necessário fazer o tratamento com fungicida, adicionar a calda do fungicida com solução açucarada nesse primeiro compartimento. Se necessário adicionar, ainda, o micronutriente a esse compartimento;
2. no segundo compartimento, colocar o inoculante turfoso, sem excesso de umidade, sem adicionar água ou solução açucarada;
e

3. considerar as mesmas recomendações sobre armazenagem e semeadura citadas para a inoculação com tambor rotatório.

Qual o volume de água recomendado no caso de fungicidas e micronutrientes líquidos?

O excesso de água pode provocar danos sérios às sementes, razão pela qual o volume final de líquido não pode exceder 300 ml por 50 kg de sementes. Assim, quando da utilização de fungicidas ou micronutrientes líquidos, a água deve ser diminuída, para que o volume final não ultrapasse os 300 ml.

Como fazer a inoculação em caso de veículo não-turfoso?

Existem vários inoculantes não-turfosos no mercado, em veículos líquidos, géis, liofilizados. Para a inoculação com esses produtos, devem ser utilizadas as recomendações de cada fabricante. Ao comprar o produto, certificar-se de que a eficiência agrônômica já foi comprovada por uma instituição de pesquisa cadastrada no MAPA.

10 No campo, quais os principais fatores limitantes à fixação biológica do N_2 ?

As leguminosas que fixam N_2 são nutricionalmente mais exigentes, pois requerem os nutrientes necessários à planta hospedeira, ao rizóbio e ao sistema simbiótico. Desse modo, todo o trabalho de inoculação pode ser perdido se o agricultor não realizar calagem na dose adequada e com antecedência mínima para reação do calcário. O mesmo ocorre se houver deficiência de cálcio, fósforo, magnésio, enfim, todos os macro e micronutrientes. Ainda em rela-

ção aos nutrientes, a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio são drasticamente afetadas pela presença de quaisquer fontes de nitrogênio combinado.

As temperaturas elevadas e o estresse hídrico, muitas vezes atuando juntos, são os principais fatores ambientais limitantes à fixação biológica do N_2 nos trópicos, afetando a simbiose em todos os estádios. O período mais crítico, porém, é o inicial, quando o solo está descoberto, podendo atingir temperaturas superiores a 40°C na superfície, prejudicando a sobrevivência do rizóbio e a infecção das raízes. Nesse contexto, a semeadura direta é extremamente favorável, pois a cobertura do solo reduz as temperaturas e mantém a umidade por mais tempo.

Entre os fatores que mais afetam a nodulação e que podem ser controladas pelos agricultores está o tratamento de sementes com micronutrientes e fungicidas.

Aplicação de molibdênio e cobalto nas sementes

O molibdênio (Mo) é um componente da enzima dinitrogenase e, conseqüentemente, é de grande importância no processo biológico, enquanto o cobalto (Co) participa da coenzima cobamida, ativa nos rizóbios e nos bacteróides (forma modificada do rizóbio no interior dos nódulos). Mesmo em solos onde não ocorria deficiência desses micronutrientes, com a intensificação da agricultura tem sido constatado o empobrecimento de nutrientes e, com freqüência, deficiências de Mo e Co. Assim, grandes incrementos no rendimento da soja vêm sendo obtidos com a suplementação desses micronutrientes em solos deficientes. Como exemplo, a Tabela 7 mostra ganhos de rendimento de 492 kg/ha pela aplicação de Mo e Co ao tratamento inoculado em um Latossolo Roxo de Londrina que, tradicionalmente, não respondia à aplicação de micronutrientes

TABELA 7. Resposta da soja, cv. BR 37, à aplicação de Mo e Co na semente. Ensaio conduzido em um Latossolo Roxo de Londrina, PR, safra 1997/98

Tratamento	Rendimento	
	(kg/ha)	(%)
Sem inoculação	2310 c ¹	95
Inoculação padrão (IP) ²	2420 bc	100
IP + Co	2277 c	94
IP + Mo	2562 b	106
IP + (Co + Mo)	2912a	120
IP + 200 kg de N	3051a	126
CV(%)	11,0	-

¹ Os dados representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente (teste "t", 5%).

² Inoculante turfoso, aplicado na dose de 500 g de inoculante/50 kg de semente, com solução açucarada a 10% como adesivo e contendo 10⁸ células de *Bradyrhizobium*/g de inoculante.

após a calagem. Desse modo, as indicações técnicas atuais são de 2 a 3 g de Co e 12 a 30 g de Mo/ha.

Com a aplicação de micronutrientes no tratamento de sementes, porém, surgiram alguns problemas. Isso porque a aplicação de formas salinas ou formulações inadequadas nas sementes pode afetar drasticamente a sobrevivência da bactéria, a nodulação e a eficiência da fixação do N₂. Como exemplo, o teste de diversas fontes de Co e Mo mostrou diferenças, entre as mesmas, no nível de toxicidade ao *Bradyrhizobium*, conforme pode ser constatado na Figura 6.

Outras alternativas para a aplicação de Co e Mo mostraram-se viáveis, como a aplicação foliar, sozinha ou em conjunto com herbicidas, baculovirus ou inseticidas, nas mesmas doses recomendadas para as sementes (Campo et al., 1999). Contudo, quando

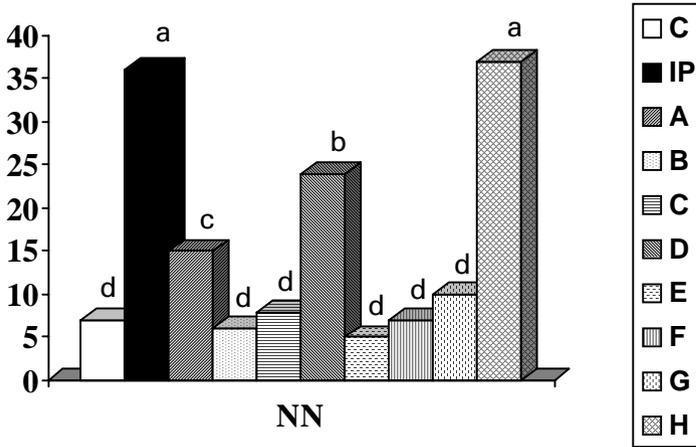


FIG. 6. Efeito de diversos produtos comerciais contendo Mo e Co no número de nódulos (NN/planta) de soja, cv. BR-37, em um solo de primeiro cultivo, sem população estabelecida de *Bradyrhizobium*, em Vera Cruz do Oeste, PR, na safra 1998/99. C refere ao controle não inoculado, IP ao inoculante turfoso padrão na dose de 500 g (10^8 células de *Bradyrhizobium*/g)/50 kg de sementes e os demais são produtos comerciais.

Mo e Co são aplicados via foliar, fazer a aplicação antes do início da floração, pois as sementes atualmente comercializadas possuem reservas capazes de sustentar o crescimento das sementes no máximo por esse período. Poderão ser constatadas deficiências caso seja programada uma aplicação mais tardia. No futuro, a utilização de sementes ricas em Mo poderá ser indicada, pois esta tecnologia tem-se mostrado, nas pesquisas que vêm sendo desenvolvidas na Embrapa Soja, como promissora.

Tratamento de sementes com fungicidas

Há muito se conhece que os rizóbios são sensíveis a fungicidas, herbicidas e nematicidas que, por isso, devem ser usados com cautela. Com a expansão da soja e a falta de cuidados fitossanitários,

um aumento na incidência de patógenos para todas as áreas cultivadas tem sido observado, resultando em aumento no número de princípios ativos de fungicidas recomendados. Além disso, para evitar problemas na emergência da soja, passou-se a recomendar as combinações de fungicidas sistêmico + contato. Contudo, com as alterações ocorridas nas formulações dos fungicidas e pelo uso da mistura de fungicidas, os efeitos tóxicos desses no processo de fixação biológica do N_2 tornaram-se muito significativos. Em consequência, nos últimos anos tem-se observado mortalidade elevada de células de *Bradyrhizobium* nas sementes tratadas com fungicidas, reduzindo a nodulação e, muitas vezes, o rendimento das culturas.

A Tabela 8 mostra que os efeitos mais drásticos dos fungicidas na população de *Bradyrhizobium* nas sementes, reduzindo a nodulação, ocorrem em solos de primeiro cultivo com a soja. Os efeitos variam também com o tipo de solo, particularmente em função de seu poder tampão, por exemplo, os efeitos em Terra Roxa foram superiores aos de Vera Cruz. O decréscimo drástico na nodulação, conforme observado em Terra Roxa, em solos pobres em nitrogênio, pode resultar em perda total da lavoura. Em solos com população estabelecida, também ocorre mortalidade das células e, em Cristalina, foi constatado decréscimo de 25% na nodulação. Contudo, dificilmente ocorre perda de rendimentos, pois existem muitas bactérias no solo em solos já inoculados anteriormente e, em geral, haverá a formação dos nódulos, embora os ganhos de rendimento resultantes da reinoculação sejam perdidos. O efeito tóxico do fungicida não é reduzido pelo tratamento prévio e secagem das sementes.

Como compatibilizar a inoculação com o tratamento das sementes com micronutrientes e fungicidas?

A atitude mais sensata é pensar sobre cada situação. Um fator importante é a utilização de sementes com alta qualidade fisio-

TABELA 8. Efeito do tratamento das sementes com fungicidas no número de nódulos e na porcentagem de redução de nódulos de soja, em experimentos conduzidos em solos de primeiro cultivo com soja (Terra Roxa do Oeste e Vera Cruz do Oeste, PR) ou solos com população estabelecida de *Bradyrhizobium* (Cristalina, GO)

Tratamento	Terra Roxa (nova)		Vera Cruz (nova)		Cristalina (velha)	
	n°	(%) red.	n°	(%) red.	n°	(%) red.
Testemunha sem inoculação	1	-	5	-	34	-
Inoculação padrão (IP) ¹	23	0	34	0	44	0
IP + Benomyl + Captan	6	74	26	24	-	-
IP + Benomyl + Thiram	5	78	27	21	-	-
IP + Benomyl + Tolyfluanid	5	78	25	27	-	-
IP + Carbendazin + Captan	11	52	33	3	-	-
IP + Carbendazin + Thiram	5	78	28	18	38	14
IP + Carbendazin + Tolyfluanid	4	83	26	24	-	-
IP + Carboxin + Thiram	14	39	29	15	33	25
IP + Difenconazole + Thiram	13	43	30	12	-	-
IP + Thiabendazole + Captan	3	87	25	27	-	-
IP + Thiabendazole + Thiram	7	70	23	32	-	-
IP + Thiabendazole + Tolyfluanid	5	78	32	6	34	23
IP + Tegram + Co + Mo	3	87	20	41	-	-
IP + Co + Mo	21	9	21	38	-	-
CV (%)	53	-	30	-	-	-
DMS 5% ²	3,6	-	6,2	-	-	-

¹ Inoculante turfoso, aplicado na dose de 500 g de inoculante/50 kg de semente, com solução açucarada a 10% como adesivo e contendo 10⁶ células de *Bradyrhizobium*/g de inoculante.

² Médias de seis repetições e o DMS indica diferença mínima significativa entre tratamentos em cada coluna (Teste "t", 5%).

lógica e sanitária. Campo & Hungria (2000b) fazem algumas recomendações sobre o teste da qualidade fisiológica e fitossanitária das sementes. Se as sementes forem de boa qualidade e as condições de umidade do solo forem favoráveis, particularmente em solos de primeiro cultivo, deve-se evitar o uso de fungicidas. Caso seja necessário usar fungicidas, tanto em áreas de primeiro cultivo, como em áreas com população estabelecida, deve-se dar preferência às combinações menos tóxicas, conforme recomendação de Campo & Hungria (2000b): carboxin + thiram, carbendazin + captan, difenoconazole + thiram, thiabendazole + tolylfluanid ou carbendazin + thiram. Alternativamente, caso haja conhecimento do principal patógeno que está ocorrendo na área ou na semente, o fungicida poderá ser escolhido em função da eficiência de cada produto em relação aquele patógeno. Contudo, deve-se fazer a ressalva de que, no caso do captan, há vários relatos, nacionais e internacionais, de toxicidade elevada aos rizóbios. Quando for necessário aplicar micronutrientes e fungicidas nas sementes, procurar aplicar, parcial ou totalmente, o Mo e Co via foliar, aos 25-30 dias após a emergência das plântulas, antes do início do florescimento. E, em ambos os casos, lembrar que a boa nodulação é o resultado da inoculação com grande número de células viáveis, estando o desejável ao redor de 1 milhão de células/semente. Assim, na presença de fungicidas e micronutrientes, colocar o maior número possível de células nas sementes, pois uma mortalidade de 80% de 1 milhão de células é melhor do que de 160.000 ou 300.000 células.

Em caso de insucesso da inoculação, pelo uso de inoculante de má qualidade, morte nas sementes ou algum outro problema, pouco pode ser feito, pois a cultura necessita no mínimo 80 kg de N/1000 kg de grãos e a aplicação dessa quantidade de N é inviável economicamente. Conseqüentemente, fica mais fácil e barato utilizar adequadamente todas as recomendações da pesquisa para maximizar o processo de fixação biológica do nitrogênio.

11 Existem outros inoculantes biológicos para a cultura da soja?

Como os benefícios da inoculação da soja com rizóbio são amplamente divulgados, diversos produtos têm sido comercializados, sem registro no MAPA, carregando microrganismos que, supostamente, poderiam trazer benefícios à soja ou às culturas que entram em rotação ou sucessão à soja. Esses produtos não possuem registro, não apresentam resultados de validade realizados por instituições de pesquisa idôneas e não trazem benefício ao agricultor. Além disso, a aplicação de um inoculante com microrganismos vivos resultará no estabelecimento desses seres no solo, sendo praticamente impossível retirá-los posteriormente. Conseqüentemente, as leis quanto à aplicação de produtos biológicos devem ser rígidas, para evitar futuros desequilíbrios ecológicos. Em caso de dúvida, procurar o fiscal do MAPA.

12 Como saber mais sobre a fixação biológica do N₂?

Para quem quiser conhecer em maior profundidade esse processo biológico e outros, como o da micorrização e da ciclagem de nutrientes, existem publicações que podem ser encontradas na Embrapa, Embrapa Soja ou Embrapa Cerrados: Microrganismos de importância agrícola; Microrganismos e processos biológicos do solo; Fixação biológica de nitrogênio em solos de Cerrados; Biologia dos solos dos Cerrados. Existem, ainda, publicações técnicas citadas ao final desta circular, que também podem ser adquiridas na Embrapa.

13 Considerações finais

Para que a soja não consuma o N do solo, e para que o agricultor não aumente o seu gasto com a compra de fertilizantes, basta inocular a soja. O inoculante possui bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que, quando associadas às raízes de soja, conseguem converter o N₂ em compostos nitrogenados, fornecendo todo o nitrogênio necessário para atingir tetos máximos de produtividade. Os fertilizantes nitrogenados prejudicam a fixação biológica do N₂ e, mesmo uma dose inicial, não traz benefícios ao rendimento de grãos. Em solos já inoculados anteriormente, a reinoculação adiciona bactérias em estágio fisiológico mais adequado à formação dos nódulos e em maior concentração junto às sementes, resultando em incrementos na nodulação e no rendimento de grãos, além de apresentar efeitos residuais, pela adição de restos culturais com teores mais elevados de N. Inocular o solo é, portanto, enriquecê-lo com microrganismos que trabalharão para fornecer, a baixo custo, grandes quantidades de N à soja, além de contribuir para melhorar os níveis de matéria orgânica do solo.

14 Literatura citada

BRANDÃO JUNIOR, O.; HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. **Inoculação de sementes de soja**: efeito da dose de inoculante turfoso e do uso de açúcar como aderente da turfa. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 7p. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 61).

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja em sistema plantio direto. In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS NO SISTEMA PLANTIO DIRETO, 1., 2000, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Associação dos Engenheiros Agrônomos, 2000a. p.146-160.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade do uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000b. 31p. (Embrapa Soja. Boletim de Pesquisa, 4).

CAMPO, R.J.; ALBINO, U.B; HUNGRIA, M. **Métodos de aplicação de micronutrientes na nodulação e na fixação biológica do N₂ em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. (Embrapa Soja. Pesquisa em Andamento, 19). 7p.

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 Soja, 2001. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 75).

HUNGRIA, M. Características biológicas em solos manejados sob plantio direto. In: REUNIÓN BIENAL DE LA RED LATINOAMERICANA DE AGRICULTURA CONSERVACIONISTA, 5., 1999, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: EPAGRI, 2000. p.1-15. CD ROM.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: WORKSHOP NITROGÊNIO NA SUSTENTABILIDADE DE SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA, 2000, Dourados. **Anais...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste/Embrapa Agrobiologia, 2000. p.51-75. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 26; Embrapa Agrobiologia. Documentos, 128).

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J.; GALERANI, P.R. **Adubação nitrogenada na soja?** Londrina: Embrapa Soja, 1997. 4p. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 57).

LOUREIRO, M.F.; SANTOS, E.N.; HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. **Efeito da reinoculação e da adubação nitrogenada no rendimento da soja em Mato Grosso**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 4p. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 74).

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M ; VARGAS, M.A.T. **Resposta da soja à adubação nitrogenada na semeadura, em sistemas de plantio direto e convencional na Região do Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2000. 15p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa, 12).

15 Agradecimentos

Os microbiologistas da Embrapa Soja e Embrapa Cerrados também são apoiados, em sua pesquisa, pelo CNPq/FINEP/MCT, Grupo de Excelência em Fixação do Nitrogênio (41.96.0884.00). M. Hungria agradece ao auxílio de bolsas e financiamento de projetos pelo CNPq (520396/96-0). Na Embrapa Soja, o auxílio técnico de José Zucca Moraes, Rubson N. R. Sibaldelle, Luciano de Souza, Rinaldo B. Conceição, Lígia Maria de O. Chueire e Leny M. Miura, e o apoio dos operários rurais João B. Conceição, Jorge J. Azevedo, Laércio Volpato, José S. Oliveira e Reginaldo B. dos Santos é essencial ao andamento das pesquisas. O agradecimento é estendido, na Embrapa Cerrados, ao auxílio técnico de Osmar T. de Oliveira, Maria das Dores Silva e Odete Justino dos Santos.