

# EFEITO DE TIPOS E NÍVEIS DE INOCULANTES NA SOJA CULTIVADA EM UM SOLO DE CERRADOS<sup>1</sup>

MILTON ALEXANDRE T. VARGAS e ALLERT ROSA SUHET<sup>2</sup>

**RESUMO** - Foi conduzido um experimento de campo em um solo de primeiro ano de cultivo com a soja (*Glycine max* (L.) Merrill), variedade IAC-2, visando a estudar o efeito de níveis de inoculantes e o comportamento de quatro inoculantes, sendo dois comerciais e dois preparados em laboratório. Um dos comerciais é recomendado para a cultivar IAC-2 e o outro é indicado para as demais cultivares de soja. Dos inoculantes fabricados em laboratório, um foi preparado com a estirpe 965 e o outro com a estirpe 29 W. Incluíram-se dois tratamentos com 400 kg/ha de N divididos em cinco aplicações em cobertura. Em um destes tratamentos, foram feitas aplicações suplementares de N via foliar (46 kg/ha de N divididos em cinco aplicações semanais a partir do início de formação dos grãos). O melhor tratamento de inoculação foi o do inoculante preparado em laboratório com a estirpe 29 W. Seguiu-se a este o tratamento com o inoculante recomendado para a variedade IAC-2. Os níveis de inoculante exerceram efeito significativo na nodulação e atividade da nitrogenase e um pequeno efeito no N total e produção de grãos. Os tratamentos com N mineral proporcionaram um rendimento de grãos e N total superiores aos obtidos nos tratamentos de inoculação. O N foliar apresentou um pequeno efeito no N percentual dos grãos. Depreende-se, dos resultados obtidos, que a variedade IAC-2 apresenta especificidade em relação às estirpes de *Rhizobium*, e que as estirpes testadas não apresentam grau de eficiência suficiente para permitir às plantas expressarem todo o seu potencial de produção.

Termos para indexação: soja, níveis de inoculação, estirpes, adubação foliar.

## EFFECT OF LEVELS AND KINDS OF INOCULANT ON SOYBEAN CULTIVATED ON A "CERRADO" SOIL

**ABSTRACT** - A field experiment was carried out with soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) variety IAC-2, in order to study the effect of inoculant levels and four inoculants, two of them commercial and the others prepared in the laboratory. One of the commercial inoculants was recommended for the variety IAC-2, and the other one was a general non-specific inoculant for the remaining soybean varieties. The two laboratory-prepared inoculants were pure strains of 29 W and 965. Two treatments of 400 kg/ha of N divided into five side-dressing applications were included. One of those treatments received foliar applications of urea (46 kg/ha of N). The best inoculant treatment was the one prepared in the laboratory with the strain 29 W, followed by the commercial inoculant for the variety IAC-2. Levels of the latter inoculant had a significant effect on nodulation and nitrogenase activity but only a small effect on total N and grain yield. The foliar N application increased slightly the percentage of N in the seeds, but had no effect on grain yield. Apparently, the variety IAC-2 tends to require specific *Rhizobium* strains and the strains and inoculants tested did not allow maximum expression of yield potential.

Index terms: soybean, levels of inoculant, strains, foliar fertilization.

## INTRODUÇÃO

A soja tem se mostrado bastante viável para os solos de cerrados, tanto no desbravamento, quanto em áreas já abertas com outras culturas. O interesse em sua exploração pode ser atribuído principalmente à alta capacidade da soja em utilizar o nitrogênio atmosférico, reduzindo substancialmente os investimentos necessários ao cultivo, pela economia em fertilizantes nitrogenados. Contudo, frequentemente são observados problemas de nodulação da soja cultivada pela primeira vez em solos de

cerrados, comprometendo a produção e, em consequência, tornando necessária a adubação nitrogenada.

A cultivar de soja recomendada para primeiro ano de cultivo nos cerrados é a IAC-2, devido, principalmente, a sua rusticidade. Em trabalhos conduzidos no Rio de Janeiro, ficou evidenciado que esta cultivar possui certa especificidade em relação às estirpes de *Rhizobium japonicum*, com apenas a 29 W e a 965 apresentando uma nodulação satisfatória (Johanna Döbereiner, comunicação pessoal). Este deve ser o principal fator responsável pelo insucesso da inoculação de sementes desta cultivar com inoculantes comerciais (Vargas et al. 1979). A inclusão da estirpe 965 em inoculantes comerciais específicos para a cultivar IAC-2 foi re-

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 19 de março de 1980.

<sup>2</sup> Eng.º Agr.º, M.Sc., Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC) - EMBRAPA, Caixa Postal 70.0023, CEP 73.300 - Planaltina, DF.

comendada após trabalho realizado a nível de campo em solo de cerrado (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 1979), que comprovou a eficiência dessa estirpe para esta cultivar.

Outro fator que tem contribuído para a nodulação insuficiente da soja nos cerrados é a utilização de doses baixas de inoculante. Vargas et al. (1979) citam que níveis altos de inoculante (2.000 a 4.000 g/40 kg de sementes) elevaram significativamente o nitrogênio fixado e o peso dos nódulos da soja em um solo de cerrados, em comparação com o nível de 250 g, que é o tradicionalmente utilizado na região. Trabalhos realizados em outros locais (Hely 1965, Schiffman & Alper 1968, Weaver & Frederick 1972), têm demonstrado a necessidade de se empregar níveis mais elevados de inoculantes para se superar as condições adversas ao *Rhizobium*. Segundo Date (1970), o nível de inoculante precisa ser aumentado de até 1.000 vezes quando as condições são adversas à multiplicação do *Rhizobium*.

Existem alguns estudos (Boot et al. 1978, Garcia & Hanway 1976) visando a aumentar a produção da soja através da adubação foliar. Garcia & Hanway (1979) obtiveram um aumento de produção da soja com aplicações foliares de uma solução de sacarose e uréia, a partir do início de formação dos grãos. Esse aumento foi mais expressivo quando a aplicação incluiu P, K e S. Contudo, Boot et al. (1978), em trabalho semelhante, não observaram nenhum efeito benéfico da adubação foliar.

O objetivo deste trabalho foi o de testar a eficiência de dois inoculantes comerciais, e de dois inoculantes fabricados em laboratório com apenas uma estirpe cada um, para a soja IAC-2 em um solo de cerrado de primeiro ano de cultivo. Objetivou-se, também, estudar os efeitos de níveis de inoculante e da adubação nitrogenada foliar.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de campo, no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), Brasília, DF, em um Latossolo Vermelho Amarelo, textura argilosa, desmatado três anos antes, sendo deixada apenas a vegetação herbácea natural. A análise química do solo indicou os seguintes valores: pH = 4,75,  $Al^{3+}$  = 0,47 mE/100cc,  $Ca^{2+} + Mg^{2+}$  = 0,82 mE/100cc, P = 1,5 ppm e K = 49 ppm. Foi efetuada a calagem na dose

de 2,5 t/ha de calcário dolomítico (PRNT = 100%), e a adubação a lanço com 270 kg/ha de  $P_2O_5$  (superfosfato simples), 70 kg/ha de  $K_2O$  (cloreto de potássio) e 28 kg/ha de FTE (BR-12), incorporados com arado até 20 cm de profundidade, 20 dias antes da semeadura. A adubação em sulco foi efetuada na época da semeadura, nas doses de 130 kg/ha de  $P_2O_5$ , 80 kg/ha de  $K_2O$  e 2 kg/ha de FTE.

O delineamento estatístico foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições. As parcelas tiveram as dimensões de 5 x 6 m. O espaçamento entre as linhas foi de 50 cm, sendo semeadas 30 sementes viáveis por metro linear. A cultivar usada foi a IAC-2. Os tratamentos foram os seguintes:

1. Testemunha;
2. 500 g do inoculante "A";
3. 1.000 g do inoculante "A";
4. 2.000 g do inoculante "A";
5. 1.000 g do inoculante "B";
6. 1.000 g do inoculante "C";
7. 1.000 g do inoculante "D";
8. 1.000 g do inoculante "A" + 400 kg/ha de N, e
9. 1.000 g do inoculante "A" + 400 kg/ha de N + 46 kg/ha de N, via foliar.

O inoculante "A" é um inoculante comercial recomendado para a cultivar IAC-2, que incluiu a estirpe 965. A contagem por diluição em placas de agar (meio sólido de Fred & Waksman 1928) revelou uma população de  $2 \times 10^9$  células de *Rhizobium* por grama desse inoculante. O inoculante "B" é um inoculante comercial muito usado na região dos cerrados, recomendado indiscriminadamente para todas as cultivares, mas que não apresenta resultados satisfatórios com a cultivar IAC-2. Sua análise revelou uma população de  $6 \times 10^9$  células/g. Os inoculantes "C" e "D" foram preparados em laboratório, com apenas uma estirpe cada um, sendo o "C" com a estirpe 965 e o "D" com a 29 W, contendo  $2 \times 10^8$  e  $7 \times 10^7$  células por grama, respectivamente.

A adubação nitrogenada, nos dois tratamentos com N, foi feita na forma de uréia. Foram efetuadas cinco aplicações em cobertura, a intervalos de 25 dias a partir da emergência das plantas. O N foliar foi também aplicado em cinco vezes, a intervalos de uma semana a partir do início de formação de grãos. A forma usada foi uma solução com uma concentração de 0,15% de uréia e 0,15% de sacarose (reagentes analíticos). É recomendada (Camargo & Silva 1975) a adição de sacarose à solução quando se faz a aplicação de uréia, para retardar a atividade da urease, evitando que o acúmulo de amônia nas folhas atinja níveis tóxicos.

As três linhas centrais de cada parcela foram utilizadas para determinações de nodulação e atividade da nitrogenase, e as demais, exceto as bordaduras, para a produção de grãos.

Para a determinação da atividade da nitrogenase foram coletadas nove plantas em cada parcela, e colocadas as raízes com os nódulos dentro de frascos de 260 ml (três

plantas/frasco); substituiu-se, então, 10% do ar atmosférico por acetileno. Após uma hora de incubação à temperatura ambiente, amostras de 0,5 ml do gás foram retiradas e injetadas em um cromatógrafo de gás CG-27 Instrumentos Científicos, com coluna Poropak N e nitrogênio como gás de arraste. A atividade da nitrogenase foi expressa em função do etileno produzido no período de incubação (Hardy et al. 1973).

As determinações de nitrogênio dos grãos (secos a 60°C) foram feitas pelo método semimicro Kjeldahl.

Para a avaliação do número e peso dos nódulos, estes foram destacados das raízes após a determinação da atividade da nitrogenase, secos à 65°C por 48 horas, contados e pesados.

Para análise estatística, os dados foram transformados em  $\sqrt{x+1}$  (nodulação e nitrogênio total nos grãos), em logaritmo neperiano de  $\sqrt{x+1}$  (atividade da nitrogenase), e em arco seno de  $\sqrt{\frac{x}{100}}$  (% N nos grãos). Tais transformações visam a ajustar os dados de forma a se obter uma distribuição que permita uma análise estatística paramétrica (Snedecor & Cochran 1973).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados sobre nodulação, atividade da nitrogenase, produção de grãos e N percentual e total dos grãos encontram-se na Tabela 1. Para a discussão, os tratamentos foram divididos em dois grupos, ou sejam: o grupo de níveis de inoculante - que compreende todos os tratamentos com o inoculante "A" -, e o grupo de tipos de inoculante que compreende os tratamentos com a dose de 1.000 g de inoculante/40 kg de sementes. Estes tratamentos foram comparados com os tratamentos de N

mineral.

Houve diferença significativa entre os níveis de inoculante, para a nodulação e atividade da nitrogenase. Para estas variáveis, o tratamento com 2.000 g de inoculante foi superior aos demais na avaliação de 86 dias. Estes dados concordam com os de Hely (1965), Schiffman & Alper (1968) e Weaver & Frederick (1972), que demonstraram a necessidade de se elevar as doses de inoculante para se superar as condições adversas ao *Rhizobium*, e com os de Vargas et al. (1979) que obtiveram aumentos significativos do N fixado e do peso de nódulos da soja, através do aumento da dose de inoculante. O nível mais baixo de inoculante empregado neste trabalho ( $3 \times 10^6$  células/semente) foi superior aos níveis considerados ideais em trabalhos realizados em outros locais, de cerca de  $10^5$  células/semente (Date 1970, Freire 1977), e  $10^3$  células/semente (Weaver & Frederick 1972). Ainda assim, as respostas aos níveis de inoculante foram significativas. Estes dados parecem indicar que os fatores adversos ao estabelecimento de *Rhizobium* são presentes em maior intensidade nos solos de cerrados do que em outros solos.

Apesar das diferenças altamente significativas entre os tratamentos com 500, 1.000 e 2.000 g de inoculante para os dados de nodulação e atividade da nitrogenase, não ocorreram diferenças significativas entre os mesmos, para as variáveis peso e N percentual e total dos grãos. Estes dados sugerem a

TABELA 1. Efeito de tipos e níveis de inoculantes e da adubação nitrogenada na soja variedade IAC-2. Dados médios de quatro repetições.<sup>1</sup>

| Tratamentos <sup>2/</sup> | Nº nódulos/planta <sup>3/</sup> |           | Peso nódulos/planta <sup>3/</sup><br>(86 dias)<br>(mg) | Atividade nitrog./planta <sup>4/</sup><br>(86 dias)<br>(umoles etil./h) | Rendimento<br>de grãos<br>(kg/ha) | Nitrogênio nos grãos |                                |
|---------------------------|---------------------------------|-----------|--|---|-----------------------------------|----------------------|--------------------------------|
|                           | (12 dias)                       | (86 dias) |  |   |                                   | % <sup>5/</sup>      | total <sup>3/</sup><br>(kg/ha) |
| Testemunha                | 0,0 d                           | 3 d       | 25 f   | 2 de  | 1.003 d                           | 5,77 b               | 58,0 d                         |
| 500 g "A"                 | 1,9 bc                          | 17 c      | 86 cd  | 11 e  | 1.212 cd                          | 5,68 b               | 68,5 cd                        |
| 1.000 g "A"               | 3,5 bc                          | 18 c      | 120 c  | 16 bc   | 1.331 bc                          | 5,67 b               | 76,0 bc                        |
| 2.000 g "A"               | 4,5 b                           | 58 b      | 241 b  | 36 ab   | 1.340 bc                          | 5,67 b               | 75,9 bc                        |
| 1.000 g "B"               | 0,0 d                           | 8 cd      | 39 de  | 3 d   | 1.029 d                           | 5,77 b               | 58,8 d                         |
| 1.000 g "C"               | 0,5 cd                          | 5 cd      | 18 f   | 1 f   | 958 d                             | 5,89 ab              | 56,8 d                         |
| 1.000 g "D"               | 7,9 a                           | 93 a      | 567 a  | 45 a  | 1.569 b                           | 5,88 ab              | 92,2 b                         |
| 1.000 g "A"+N             | 2,3 b                           | 8 cd      | 21 f   | 3 d   | 1.885 a                           | 6,13 ab              | 115,7 a                        |
| 1.000 g "A"+N+N foliar    | 2,4 b                           | 8 cd      | 23 f   | 3 d   | 1.836 a                           | 6,37 a               | 116,8 a                        |
| Coefficiente de variação  | 21                              | 28        | 23   | 8   | 13                                | 3                    | 7                              |

<sup>1</sup> Para análise estatística (teste Duncan) os dados foram transformados em  $\frac{2/}{\sqrt{x+1}}$ ,  $\frac{4/}{\logaritmo\ neperiano\ de\ (x+1)}$  e  $\frac{5/}{\arcseno\ de\ \sqrt{\frac{x}{100}}}$ . Os tratamentos com as mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5%.

<sup>2</sup> Tratamentos: gramas de inoculante/40 kg de sementes. O tratamento "A" representa um inoculante comercial recomendado para a variedade IAC-2; o "B" um inoculante comercial; o "C", um inoculante fabricado em laboratório com estirpe 965, e o "D", um inoculante fabricado em laboratório com a estirpe 29 W.

existência de problemas ligados ao metabolismo do nitrogênio na planta, pois uma maior atividade da nitrogenase não se refletiu numa maior translocação de N para os grãos. Esse fenômeno assume importância relevante se considerarmos que o N foi o principal fator limitante, comprovado pelas produções mais elevadas obtidas nos tratamentos que receberam N mineral (superior em 41% ao rendimento de grãos observado no tratamento de 2.000 g do inoculante "A").

Com relação aos tipos de inoculantes, verificaram-se também diferenças significativas para todas as variáveis, à exceção para o N percentual dos grãos. Em todas estas avaliações, o inoculante "D" contendo a estirpe 29 W destacou-se como o melhor tratamento. Para o peso e N total dos grãos este tratamento foi estatisticamente semelhante ao inoculante comercial "A", que é recomendado para a cultivar IAC-2, porém com dados bem superiores aos deste tratamento. No caso da produção de grãos, esta diferença foi de 238 kg/ha. Foi observada uma diferença de 540 kg/ha entre as produções dos tratamentos com os inoculantes "D" e "B". Este último é um inoculante comercial largamente usado na região dos cerrados. Estes dados concordam com os de J. Döbereiner (comunicação pessoal), que demonstrou a existência de certa especificidade da cultivar IAC-2 em relação a estirpes de *Rhizobium*. Isto vem confirmar a necessidade de se utilizar um inoculante específico para a cultivar IAC-2 (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 1979). Há, entretanto, indícios de uma interação tríplice entre planta, estirpe e solo, visto que em outro solo de cerrados, a estirpe 965 do inoculante "C" superou a estirpe 29 W para a cultivar IAC-2 (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária 1979).

Um caráter altamente desejável é a nodulação precoce, pois um início de fixação de N<sub>2</sub> mais cedo, reduz o tempo em que as plantas dispõem como fontes de N apenas o nitrogênio do solo e o N presente nos tecidos de reserva da semente. Esta nodulação precoce foi verificada no tratamento com a estirpe 29 W, que apresentou plantas aos doze dias de idade com média de oito nódulos na raiz principal. Os dados da avaliação efetuada aos 36 dias não foram apresentados, pois mostraram a mesma tendência dos valores obtidos na avaliação

efetuada aos 86 dias, exceto para a atividade específica da nitrogenase (umoles etileno/g nódulo/h). Para a estirpe 29 W, esta atividade foi de 210 umoles, mais do dobro da encontrada para a estirpe 965 (89 umoles) na avaliação aos 36 dias, enquanto que aos 86 dias, esses valores foram de 82 e 95 umoles para as estirpes 29 W e 965, respectivamente. Contudo, a atividade específica é um parâmetro de difícil interpretação, pois varia com o ciclo da cultura e apresenta picos distintos para cada estirpe, e algumas vezes mostra valores bastante elevados em plantas com baixa nodulação.

O inoculante "A" apresentou-se superior ao inoculante "C", exceto para o número de nódulos % de N nos grãos, apesar de ambos conterem a estirpe 965. Isto pode ter sido devido a maior concentração de células de *Rhizobium* no inoculante "A" (cerca de 10 vezes mais).

A adubação nitrogenada foi significativamente superior aos tratamentos com inoculação na produção e N total dos grãos. Isto parece indicar que, apesar de a estirpe 29 W apresentar-se como a melhor entre os tratamentos com inoculação, futuros estudos fazem-se necessários visando à obtenção de estirpes mais adequadas às condições dos cerrados.

Não houve efeito da adubação foliar na produção de grãos, o que coincide com o que obtiveram Boot et al. (1978) e não concorda com os resultados obtidos por Garcia & Hanway (1976). Contudo, houve um pequeno aumento da % N nos grãos com a adubação foliar.

## CONCLUSÕES

1. É necessário a utilização de níveis mais elevados de inoculante no primeiro cultivo da soja em solos de cerrados.
2. A cultivar IAC-2 de soja apresenta uma certa especificidade hospedeira em relação às estirpes de *Rhizobium*. Os melhores resultados na inoculação dessa variedade nos cerrados são encontrados com a estirpe 29 W, mas o nível de fixação de N<sub>2</sub> com essa estirpe não é suficiente para atender à potencialidade das plantas em metabolizar nitrogênio. Futuros estudos fazem-se necessários, visando à obtenção de estirpes de *Rhizobium japonicum* capazes de promover uma associação mais eficiente.

3. A adubação foliar com nitrogênio não apresentou efeito no rendimento e nitrogênio total dos grãos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Técnico de Laboratório Ademildo Santos, ao Auxiliar de Laboratório Emílio Taveira e ao Técnico Agrícola Osmar Teago, pelo valioso auxílio na instalação, condução e avaliações efetuadas no experimento.

#### REFERÊNCIAS

- BOOT, K.J.; GALLER, R.N.; ROBERTSON, W.W.; HINSON, K. & HAMMOND, L.C. Effect of foliar fertilization on photosynthesis, leaf nutrition and yield of soybeans. *Agron. J.*, 70(5):787-91, 1978.
- CAMARGO, P.N. & SILVA, O. Manual de adubação foliar. São Paulo, Ed. La Librería, 1975. 258 p.
- DATE, R.A. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. *Plant Soil*, 32:703-25, 1970.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado, Planaltina, DF. Relatório técnico anual 1977/1978. Brasília, DF. 1979. 195 p.
- FRED, E.B. & WAKSMAN, S. *Laboratory manual of general microbiology*. New York, McGraw-Hill, 1928.
- FREIRE, J.J.R. *Inoculation of soybeans*. Hawaii, University Cooperative Extension Service, 1977. 145 p. (Miscellaneous Publications).
- GARCIA, L. & HANWAY, J.J. Foliar fertilization of soybeans during seed filling period. *Agron. J.*, 68(4):653-7, 1976.
- HARDY, R.W.H.; BURNS, R.C. & HOLSTEN, R.D. Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.* 5:47-81, 1973.
- HELLY, F.W. Survival studies with *Rhizobium trifolii* on seeds. *Aust. J. Agr. Res.*, 16:575-89, 1965.
- SCHIFFMAN, J. & ALPER, Y. Inoculation of peanuts by application of *Rhizobium* suspension into planting furrows. *Exp. Agric.*, 4:219-26, 1968.
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6. ed. Iowa State University Press, U.S.A., 1973. 593 p.
- 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. São Paulo, 1979. p. 519.
- WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. Effect of inoculation size on nodulation of *Glycine max*. *Agron. J.*, 64(5):597-9, 1972.