

*COMPATIBILIDADE DE USO DE  
INOCULANTES E FUNGICIDAS NO  
TRATAMENTO DE  
SEMENTES DE SOJA*

**Comitê de Publicações**

Clara Beatriz Hoffmann-Campo  
Presidente

Alexandre José Cattelan  
Alexandre Lima Nepomuceno

Flávio Moscardi

Ivania Aparecida Liberatti

Léo Pires Ferreira

Milton Kaster

Norman Neumaier

Odilon Ferreira Saraiva

**Tiragem**

3000 exemplares

Novembro/2000

Campo, Rubens José.

Compatibilidade de uso de inoculante e fungicidas no tratamento de sementes de soja / Rubens José Campo, Mariangela Hungria. - Londrina: Embrapa Soja, 2000.

32p. (Circular Técnica / Embrapa Soja, ISSN 1516-7860; n.26).

1.Soja-Semente-Tratamento. I.Hungria, Mariangela. II.Titulo. III. Série.

CDD 633.3421

## Apresentação

O Brasil é, hoje, o segundo maior produtor de grãos de soja, representando uma fonte importante de recursos para a economia e de proteínas para a população. A viabilidade econômica da cultura, porém, deve-se, em grande parte, ao processo de fixação biológica do nitrogênio, realizado pela simbiose com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*. Na ausência dessa simbiose, seria necessário a aplicação de doses elevadas de nitrogênio mineral, inviabilizando economicamente a cultura. A aplicação desse nitrogênio, além dos custos para o agricultor, poderia implicar em um impacto ambiental negativo, pelas grandes perdas, associadas aos fertilizantes nitrogenados, por lixiviação, resultando na poluição de lagos e rios, e por desnitrificação, com implicações na camada de ozônio.

Uma taxa de germinação elevada e o suprimento adequado de nutrientes já no início da cultura são essenciais para atingir produções satisfatórias e, conseqüentemente, diversos produtos vêm sendo adicionados às sementes de soja no plantio. No desenvolvimento desses defensivos agrícolas e nutrientes, porém, vem sendo dada pouca atenção à compatibilidade com inoculantes de *Bradyrhizobium*. Neste trabalho, portanto, procurou-se verificar a compatibilidade dos inoculantes com os produtos atualmente recomendados para o tratamento de sementes de soja. Espera-se que, a partir da publicação desta circular técnica, a verificação dessa compatibilidade torne-se uma atividade de rotina, para que seja possível maximizar a contribuição do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja.

*José Renato Bouças Farias*

*Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento  
Embrapa Soja*



## *Sumário*

1	Introdução .....	7
2	Discussão Preliminar .....	9
3	Material e Métodos .....	13
4	Resultados .....	15
	4.1 Solo LVa de Ponta Grossa, PR .....	15
	4.2 Solo TReD de Vera Cruz do Oeste, PR .....	18
	4.3 Solo LEE de Terra Roxa, PR .....	20
5	Discussão .....	23
6	Conclusões e Indicações Tecnológicas .....	26
	Agradecimento .....	28
	Referências Bibliográficas .....	28



# *COMPATIBILIDADE DE USO DE INOCULANTES E FUNGICIDAS NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA*

Rubens José Campo<sup>1</sup>  
Mariangela Hungria<sup>1</sup>

**1**

## *Introdução*

Sucessivos incrementos na produtividade da soja aumentam a demanda do principal nutriente para essa cultura, o nitrogênio (N). A cada 1000 kg de soja produzidos são necessários, aproximadamente, 80 kg de N. Se o suprimento de N para a cultura fosse feito com fertilizantes nitrogenados, essa necessidade dobraria, ou seja, seria de 160 kg de N ou 355 kg de uréia (45% de N), isso porque a eficiência de utilização do N, proveniente de fertilizantes nitrogenados, é em torno de 50%. Nessa situação, uma cultura de soja para produzir 5000 kg/ha, necessitaria da aplicação de 800 kg de N, ou 1,8 ton. de uréia, tornando inviável economicamente o seu cultivo. Felizmente, a soja, pela sua alta capacidade de obter o N que necessita pelo processo de fixação biológica do N<sub>2</sub> (FBN), não necessita de qualquer fonte mineral de N. Todo o N que a soja necessita pode ser obtido apenas com a inoculação das sementes com bactérias específicas, como ficou demonstrado pelo trabalho desenvolvido por Peoples & Craswell (1992), que constataram taxas de FBN de 450 kg de N/ha, superior, em 50 kg de N, ao que seria necessário para produzir 5000 kg de soja/ha.

---

<sup>1</sup> Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup>, Ph.D., Pesquisador da Embrapa Soja.

## 2

### *Discussão Preliminar*

► **É possível obter produtividades de soja de 5000 kg /ha no Brasil?**

Níveis de produtividade de soja de 5000 kg/ha (83 sacos/ha) têm sido obtidos, com bastante frequência, em trabalhos de pesquisa, comprovando a capacidade produtiva das cultivares ora disponíveis. Entretanto, em lavouras comerciais, raramente a soja produz mais que 4000 kg (66 sacos/ha). Sistemáticamente, tem-se observado que baixas produtividades de soja estão relacionadas com baixos teores de N nos grãos, caracterizando, assim, um suprimento inadequado de N da FBN.

► **Quais seriam as causas dessa baixa eficiência de fixação simbiótica do N<sub>2</sub>?**

A eficiência da FBN depende de uma série de fatores inerentes à bactéria, à planta e ao ambiente onde essa simbiose ocorre. Dentre esses, é sabido que, aumentando a população de células viáveis da bactéria na semente, através da inoculação, independente da população existente no solo, aumenta-se a ocorrência de nódulos na coroa do sistema radicular da soja, que são os que possuem maior eficiência de FBN (Weaver & Frederick, 1974). Com uma maior população de células na semente aumenta-se, ainda, o número de nódulos, aumentando a eficiência de FBN e a quantidade de N fixado.

► **Como é possível aumentar a população de células nas sementes de soja?**

A população de células da bactéria na semente pode ser incrementada pelo aumento da quantidade e da qualidade do inoculante e pela melhor proteção dessa bactéria na semente. Por isso, esforços têm sido feitos, junto às indústrias de inoculante e ao Ministério da Agricultura e do Abastecimento, para melhorar a qua-



lidade dos inoculantes. Como resultado, a nova legislação passou a exigir  $10^8$  células/g ou ml de inoculante, em vez dos  $10^7$  células/g ou ml recomendados anteriormente. Além disso, a recomendação anterior da pesquisa, de 200 g de um inoculante turfoso com população mínima de bactéria de  $1 \times 10^7$  por 50 kg de semente, passou para 500 g de inoculante por 50 kg de semente, com população mínima de  $1 \times 10^8$  células/g ou ml do produto. Por outro lado, sabe-se que de nada adianta aumentar a população da bactéria nas sementes se elas não forem protegidas das altas temperaturas, incidência direta dos raios solares, ou da presença de agentes tóxicos, como por exemplo, fungicidas nas sementes.

► **Estariam os fungicidas limitando a nodulação e a eficiência da fixação simbiótica do  $N_2$ ?**

No passado, a prática do tratamento de semente com fungicidas era pouco difundida e o número de produtos usados era pequeno. Entretanto, mesmo naquela época já existia a preocupação de se avaliar os efeitos tóxicos daqueles produtos sobre a FBN. Trabalhos compilados pela FAO (1985) e pela Embrapa (De Polli *et al.*, 1986) mostram que os fungicidas à base de metais pesados, como Zn, Cu e Pb, são poucos compatíveis com a inoculação. Os fungicidas orgânicos, embora em menor intensidade que os metais pesados, também são tóxicos, podendo afetar a sobrevivência da bactéria na semente ou, ainda, se a bactéria permanecer viva, perder a capacidade de infectar as raízes e formar nódulos.

Atualmente, a expansão da cultura da soja e a falta de cuidados fitossanitários ocasiona aumento na incidência de patógenos para todas as áreas cultivadas; conseqüentemente, há um aumento no número de princípios ativos recomendados (Henning *et al.*, 1997). Além disso, para evitar problemas de emergência da soja, passou-se a recomendar as combinações de fungicidas sistêmico + contato. Estima-se que 80% da soja plantada no Brasil esteja sendo tratada com fungicidas antes do plantio. Com as alterações ocorridas

nas formulações dos fungicidas e pelo uso da mistura de fungicidas, os efeitos tóxicos destes no processo de FBN tornaram-se muito mais significativos.

► **Estaria a combinação dos fungicidas (contato + sistêmico) afetando a eficiência da fixação simbiótica do  $N_2$ ? Quais são as combinações mais tóxicas ao *Bradyrhizobium*? Qual é o efeito da adição de micronutrientes aos fungicidas?**

Até o momento, informações nesse sentido são escassas. Diatloff (1986) comparou os efeitos da aplicação de fungicidas sistêmicos com os de contato em sementes de soja e verificou que os sistêmicos foram menos tóxicos ao *Bradyrhizobium*; entretanto, informações técnicas com a mistura de ambos na FBN são desconhecidas. A recomendação atual de fungicidas, por parte das instituições brasileiras de pesquisa (Embrapa Soja, 2000), contempla a aplicação do sistêmico mais contato, podendo, com restrições, serem adicionados micronutrientes. Estudos adicionais foram recentemente realizados pela Embrapa Soja com a mistura dos fungicidas (sistêmico + contato) para avaliação dos seus efeitos na nodulação, fixação simbiótica do  $N_2$  e produtividade de grãos. Os resultados desses estudos são discutidos nessa publicação.

► **De que forma os fungicidas podem agir na eficiência de fixação simbiótica do  $N_2$ ?**

1. Diretamente na sobrevivência do *Bradyrhizobium*

Diversos trabalhos têm demonstrado o efeito dos fungicidas na redução da sobrevivência da bactéria nas sementes (Curley & Burton, 1975; Gupta *et al.*, 1988; Sinclair, 1993; Singh & Lodha, 1997; Andrés *et al.*, 1998b; Campo & Hungria, 1999). Entretanto, estudos adicionais devem ser realizados para determinarem-se as causas da mortalidade da bactéria pelos fungicidas. Presume-se que, além do princípio ativo e do pH, os solventes usados nas formula-

ções dos produtos comerciais estejam entre os responsáveis pela mortalidade da bactéria.

## 2. Na nodulação

A redução da nodulação da soja em função da aplicação dos fungicidas ocorre devido à redução do número de células viáveis na semente, causada pelo contato direto dos fungicidas com a bactéria, e pela ação na formação dos nódulos. A presença dos fungicidas na rizosfera da soja altera os exudatos das raízes (Kosslak *et al.*, 1987; Martensson, 1992) e, como consequência, a emissão dos sinais moleculares e os estágios iniciais da infecção radicular, diminuindo a nodulação e, conseqüentemente, a FBN (Kosslak *et al.*, 1987; Martensson, 1992, Andrés *et al.*, 1998a e b).

### ► Os fungicidas são indispensáveis no tratamento de sementes?

Diversos experimentos (29) foram conduzidos, a campo, nos anos agrícolas 1993/94 a 1995/96 (Subprojeto Embrapa Soja N° 04.0.94.327-04), para avaliação do efeito do tratamento de sementes com fungicidas na emergência e na produtividade da soja. Em 83% deles o tratamento da semente com fungicida aumentou significativamente a emergência a campo, em relação às parcelas não tratadas. Entretanto, dos experimentos que foram favorecidos pelo tratamento de sementes, em apenas 30% deles houve também acréscimo no rendimento de grãos. Tomando-se somente os experimentos com média de rendimentos superiores a 2500 kg/ha (condições normais de produção), em apenas 20% deles houve resposta simultânea do tratamento de sementes em emergência e em rendimento de grãos. Por que, em 70 a 80% desses experimentos, os fungicidas não favoreceram os rendimentos grãos? Seria porque a redução da população de plantas não foi suficiente para causar diferenças de produtividade? Ou seria porque a aplicação desses fungicidas nas sementes afetou a nodulação e a FBN e limitou, dessa forma, a ocorrência de resposta para rendimento de grãos?

## 3

**Material e Métodos**

Os estudos foram realizados em três ambientes distintos: Embrapa Negócios Tecnológicos (SNT) em Ponta Grossa, PR, Latossolo Vermelho amarelo (LVa) de fertilidade média, safra 1997/98; Vera Cruz do Oeste, PR, Terra Roxa Estruturada distrófica (TREd) de textura argilosa, safra 1998/99; e Terra Roxa do Oeste, PR, Latossolo Vermelho-Escuro eutrófico (LEe) de textura arenosa, safra 1998/99. As características químicas desses solos podem ser visualizadas na Tabela 1. Não foram detectadas, nesses solos, células de *Bradyrhizobium* na diluição  $10^{-2}$ , segundo metodologia descrita por Andrade & Hamakawa, (1994). Os solos, após calagem, receberam, em pré-semeadura, a adubação recomendada para a soja, em função da sua fertilidade.

**TABELA 1. Características químicas dos solos LVa de Ponta Grossa, solo TREd de Vera Cruz do Oeste e solo LEe de Terra Roxa.**

Solo	pH CaCl <sub>2</sub>	Al	K	Ca	Mg	H+Al	Al	C	P
		Cmolc/kg					g/kg		mg/kg
Ponta Grossa	5,20	0,00	0,24	1,55	1,45	4,21	0,00	21,3	2,2
Vera Cruz	4,84	0,02	0,18	10,17	3,49	5,93	0,14	26,0	0,6
Terra Roxa	5,11	0,00	0,07	2,10	1,19	4,37	0,00	13,0	4,5

No solo LVa de Ponta Grossa, foram realizados dois experimentos: no primeiro deles, foi testado o efeito das diferentes misturas de fungicidas (sistêmico + contato) sobre a nodulação e o rendimento da soja; no segundo, testou-se o efeito de três dessas misturas de fungicidas (Benomyl + Thiram, Benomyl + Captan e Thiabendazole + Captan) na presença dos micronutrientes Co e Mo, fontes  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . No solo TREd de Vera Cruz do Oeste, foram testadas as diferentes misturas de fungicidas (sistêmico + contato) e uma das misturas de fungicidas com a

adição dos micronutrientes Co + Mo. E, finalmente, no solo LEE de Terra Roxa, com características bem distintas dos anteriores, por ser mais arenoso, foram realizados dois experimentos: no primeiro deles, foi testado o efeito das diferentes misturas de fungicidas (sistêmico + contato) sobre a nodulação; no segundo, testou-se o efeito de duas dessas misturas de fungicidas com os micronutrientes Co + Mo e com o produto Cofermol pó.

A inoculação das sementes de soja foi efetuada logo após a aplicação dos fungicidas (Tabela 2) nas doses recomendadas pela pesquisa (EMBRAPA, 1997), conforme segue. Nos tratamentos com os fungicidas, efetuou-se a sua mistura com água açucarada a 10%, completando o volume da solução para 300 ml por 50 kg de semente. A seguir, a solução foi aplicada às sementes e homogeneizada e adicionou-se o inoculante turfoso, na dose de 500 g de inoculante por 50 kg de semente, com posterior homogeneização, secagem à sombra e semeadura. Para o tratamento testemunha sem fungicida e com inoculação (inoculação padrão - IP), as sementes, após umedecidas com 300 ml água açucarada, receberam o inoculante na dose mencionada. O inoculante turfoso utilizado no experimento conduzido em Ponta Grossa consistia das estirpes recomendadas comercialmente, SEMIA 5079 (CPAC 15) + SEMIA 5080 (CPAC 7), com população de células de  $3,7 \times 10^9$  por grama de inoculante. O inoculante turfoso utilizado em Vera Cruz do Oeste e Terra Roxa consistia das estirpes recomendadas comercialmente, SEMIA 587 + SEMIA 5019, com população de células de  $3,0 \times 10^{10}$  por grama de inoculante.

A semeadura dos experimentos foi manual, com 20 a 25 sementes viáveis por metro linear. As parcelas experimentais mediam 4,0 x 5,0 m e foram distanciadas em 1,0 m. As parcelas foram compostas por 10 fileiras com 0,5 m de espaçamento. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com seis repetições.

Aos 30 dias após a emergência, 10 plantas por parcela foram coletadas para avaliação da nodulação, da massa da parte aérea

**TABELA 2.** Fungicidas e respectivas doses, para o tratamento de sementes de soja. XIX Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central e XXV Reunião de Pesquisa da Região Sul do Brasil. 1997 (EMBRAPA, 1997).

<b>Fungicidas</b>		<b>Dose/kg de semente</b>
<b>Nome comum</b>		<b>ingrediente ativo (g)</b>
<b>Produto comercial</b>		<b>produto comercial (g ou ml)</b>
1. Benomyl + Captan		0,3 g + 0,9 g
Benlate 500 + Captan 750 TS		0,6 g + 1,2 g
2. Benomyl + Thiram		0,3 g + 0,7 g
Benlate 500 + Rhodiauran 500 SC		0,6 g + 1,4 ml
3. Benomyl + Tolyfluanid		0,3 g + 0,5 g
Benlate 500 + Euparen M 500 PM		0,6 g + 1,0 g
4. Carbendazin + Captan		0,3 g + 0,9 g
Derosal 500 SC + Captan 750 TS		0,6 ml + 1,2 g
5. Carbendazin + Thiram		0,3 g + 0,7 g
Derosal 500 SC + Rhodiauran 500 SC		0,6 ml + 1,4 ml
6. Carbendazin + Tolyfluanid		0,3 g + 0,5 g
Derosal 500 SC + Euparen M 500 PM		0,6 ml + 1,0 g
7. Carboxin + Thiram		0,75 g + 0,75 g
Vitavax + Thiram PM		2,0 g
Vitavax + Thiram 200 SC		2,5 ml
8. Difenconazole + Thiram		0,05 g + 0,7 g
Spectro + Rhodiauran 500 SC		0,33 ml + 1,4 ml
9. Thiabendazole + Captan		0,15 g + 0,9 g
Tecto 100(PM e SC) + Captan 750TS		150 g ou 31 ml + 120 g
10. Thiabendazole + Thiram		0,17 g + 0,7 g
Tecto 100 (PM e SC) + Rhodiauran 500 SC		1,7 g ou 0,35 ml + 1,4 ml
11. Thiabendazole + Tolyfluanid		0,15 g + 0,5 g
Tecto 100 (PM e SC) + Euparen M 500 PM		1,5 g ou 0,31 ml + 1,0 g

seca e do N total da parte aérea. A colheita dos grãos foi feita nas seis fileiras centrais de cada parcela, dispensando-se 1,0 m em cada cabeceira (área útil = 6,0 m<sup>2</sup>). Os dados de rendimento de grãos foram transformados para 13% de umidade. Os teores de N nos grãos foram determinados pelo método espectrofotométrico do azul de indofenol (Feijer & Anger, 1972). Os resultados foram analisados estatisticamente e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste "t", ao nível de 5% de significância.

## 4

## Resultados

### 4.1 Solo LVa de Ponta Grossa, PR

Os resultados do efeito das diferentes misturas de fungicidas (sistêmico + contato) sobre a nodulação e o rendimento da soja estão na Tabela 3. Verifica-se que o tratamento testemunha sem inoculação apresentou apenas um nódulo por planta, demonstrando que esse solo era, efetivamente, desprovido de *Bradyrhizobium*. Essa nodulação, provavelmente, foi proveniente da semente, que não foi desinfestada antes da semeadura, para não causar problemas de emergência a campo. Por outro lado, a testemunha inoculada apresentou, em média, 11 nódulos por planta, comprovando a boa qualidade do inoculante usado. Dentre as misturas de fungicidas testadas, Carboxin + Thiram não afetou a nodulação e a mistura Benomyl + Captan reduziu a nodulação em 18%. As demais misturas recomendadas causaram reduções, na nodulação, superiores a 20% (Tabela 3). Com relação ao rendimento de grãos, devido aos altos teores de N, proveniente da decomposição da grande quantidade de material orgânico que esse solo de primeiro ano de cultivo possuía, não se obteve correlação entre a produtividade de grãos e a nodulação, ao contrário do que deveria ocorrer em um solo já cultivado e com baixos teores de N.

TABELA 3. Efeitos de fungicidas no número de nódulos, na redução de nodulação e no rendimento de grãos da soja cv. BR-37, aplicados juntos com o inoculante. Experimento conduzido em Ponta Grossa, PR, safra 97/98, em solo LVa, com população de *Bradyrhizobium*  $\leq 10^{-2}$  células/g de solo. Embrapa Soja. 1998.

Tratamentos Fungicidas <sup>1</sup>	Nodulação por planta		Rend. Grãos <sup>4</sup>
	Número	(%) de redução	kg.ha <sup>-1</sup>
Testemunha sem inoculação	1	–	2966
Inoculação padrão (IP) <sup>2</sup>	11	–	3131
Benomyl + Captan + IP	9	18	2944
Benomyl + Thiram + IP	4	64	2957
Benomyl + Tolyfluanid + IP	6	45	3005
Carbendazin + Captan + IP	6	45	3080
Carbendazin + Thiram + IP	7	36	2775
Carbendazin + Tolyfluanid + IP	6	45	3240
Carboxin + Thiram + IP	12	0	3174
Difenoconazole + Thiram + IP	6	45	2947
Thiabendazole + Captan + IP	8	27	3036
Thiabendazole + Thiram + IP	8	27	3107
Thiabendazole + Tolyfluanid + IP	8	27	3148
CV (%)	23,9	–	7,5
DMS <sup>3</sup> 5%	1,4	–	184,0

<sup>1</sup> Fungicidas e doses foram utilizadas conforme Tabela 2.

<sup>2</sup> 300 ml de água açucarada mais 500g (por 50 kg de semente) de inoculante turfoso, contendo as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080, com população de células de  $3,7 \times 10^9$  por grama de inoculante.

<sup>3</sup> DMS - Diferença entre médias de dois tratamentos, cada um com seis repetições, cujo valor é superior aos valores dessa linha, para cada coluna, indica que os tratamentos são diferentes entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste "t".

<sup>4</sup> Rendimento corrigido para 13% de umidade.

No outro experimento foram testados os efeitos de três dessas misturas de fungicidas na presença dos micronutrientes Co + Mo (Tabela 4). Novamente, nesse experimento, constatou-se que os tratamentos sem inoculação e com inoculação apresentaram, respectivamente, nodulações de um e 11 nódulos por planta (Tabela 4), similares ao experimento anterior. A aplicação apenas dos



TABELA 4. Efeito na nodulação, na redução de nodulação e no rendimento de grãos com a soja cv. BR-37, de micronutrientes e fungicidas aplicados juntos com o inoculante. Experimento conduzido em Ponta Grossa, PR, safra 97/98, em solo LVA, com população de *Bradyrhizobium*  $\leq 10^{-2}$  células/g de solo. Embrapa Soja. 1998.

Tratamentos Fungicidas <sup>1</sup>	Nodulação 10 plantas		Grãos
	Número	(%) de redução	Rend. <sup>5</sup> kg.ha <sup>-1</sup>
Sem inoculação	1	–	2902
Inoculação Padrão (IP) <sup>2</sup>	11	–	3261
(Co+Mo) <sup>3</sup> + IP	9	18	3088
(Co+Mo) + Benomyl + Thiram + IP	2	82	2960
(Co+Mo) + Benomyl + Captan + IP	4	64	2868
(Co+Mo) + Thiabendazole + Captan + IP	3	73	2988
CV (%)	21,6	–	9,2
DMS <sup>4</sup> 5%	0,9	–	232,0

<sup>1</sup> Os fungicidas e as doses utilizadas foram aplicados conforme Tabela 2.

<sup>2</sup> 300 ml de água açucarada mais 500g (por 50 kg de semente) de inoculante turfoso, contendo as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019, com população de células de  $3,7 \times 10^9$  por grama de inoculante.

<sup>3</sup> As fontes dos micronutrientes usadas foram  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , nas doses de 5 g de Co e 20 g de Mo por ha (75 kg de semente).

<sup>4</sup> DMS - Diferença entre médias de dois tratamentos, cada um com seis repetições, cujo valor é superior aos valores dessa linha, para cada coluna, indica que os tratamentos são diferentes entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste "t".

<sup>5</sup> Rendimento corrigido para 13% de umidade.

micronutrientes Mo + Co nas sementes reduziu a nodulação em 18%, em relação ao tratamento somente inoculado. Similarmente ao que o agricultor vem fazendo na prática, quando, além dos micronutrientes, aplicaram-se misturas de fungicidas, a redução da nodulação foi de 82 %, 64 % e 73 %, respectivamente, para as misturas (Co + Mo) + Benomyl + Thiram, (Co + Mo) + Benomyl + Captan e (Co + Mo) + Thiabendazole + Captan. Esses resultados confirmam que a mistura, nas sementes, de micronutrientes e certos fungicidas com o inoculante é extremamente tóxica para a bactéria e, como consequência, o processo de FBN é afetado. Es-

pecificamente nesse experimento, a redução na nodulação, causada por esses produtos, foi tão acentuada a ponto de reduzir, significativamente, o rendimento de grãos, para essas três misturas, em 9,2%, 12,1% e 8,4%, respectivamente.

#### ***4.2 Solo TReD de Vera Cruz do Oeste, PR***

Nesse solo, o tratamento testemunha, sem inoculação, apresentou cinco nódulos por planta, o tratamento com 120 000 células por semente apresentou 16 nódulos por planta e o tratamento com 500 g de inoculante por 50 kg de semente (inoculação padrão), apresentou uma nodulação de 34 nódulos por planta (Tabela 5). Isso comprova que, quando se utiliza maior número de células com maior quantidade de turfa para proteger essas células, a nodulação é incrementada. Para esse local, verifica-se, entre as misturas de fungicidas testadas, que somente os tratamentos de semente com as misturas Carbendazin + Captan, Thiabendazole + Tolyfluanid, Difenconazole + Thiram, Carboxin + Thiram e Carbendazin + Thiram apresentaram nodulação semelhante à testemunha inoculação padrão (IP), e com redução inferior a 20%. Todas as demais misturas de fungicidas apresentaram reduções de nodulação, em relação à IP, superiores a 20%. Novamente verifica-se, através desses resultados, que a aplicação de Mo + Co e, especialmente, a aplicação conjunta de certos fungicidas e micronutrientes, antes da inoculação, são prejudiciais à bactéria e reduzem a nodulação. A aplicação exclusiva de micronutrientes na semente, antes da inoculação, reduziu a nodulação em 32%, igual ao tratamento Thiabendazole + Thiram. A aplicação da mistura Thiabendazole + Thiram + (Co + Mo) reduziu a nodulação em 41%, confirmando os resultados obtidos em Ponta Grossa de que a aplicação conjunta de fungicidas e micronutrientes é ainda mais prejudicial à nodulação do que a aplicação dos fungicidas. Com relação ao rendimento de grãos, devido aos altos teores de N do solo de primeiro ano de cultivo, somente o tratamento Thiabendazole

TABELA 5. Efeito de fungicidas sobre o número de nódulos, redução de nodulação, massa de nódulos secos, rendimento de grãos e N nos grãos quando aplicados juntos com o inoculante em soja, cv. BR 37. Experimento conduzido em Vera Cruz do Oeste, PR, safra 98/99, em solo LRd, com população de *Bradyrhizobium*  $\leq 10^2$  células/g de solo. Embrapa Soja. 1999.

Tratamentos <sup>1</sup>	Nodulação			Grãos	
	(nº/pl)	Red. (%)	(mg/pl)	Prod. (kg/ha) <sup>5</sup>	N (kg/ha)
Sem Inoculação	5	–	22	3261	217
Inoculação padrão (IP) <sup>2</sup>	34	0	91	3482	235
IP + 200 kg/N	18	47	38	3395	225
IP c/ 120 000 células	16	53	40	3256	225
Benomyl + Captan + IP	26	24	60	3626	214
Benomyl + Thiram + IP	27	21	67	3540	213
Benomyl + Tolyfluanid + IP	25	27	73	3578	209
Carbendazin + Captan + IP	33	3	119	3388	208
Carbendazin + Thiram + IP	28	18	68	3495	201
Carbendazin + Tolyfluanid + IP	26	24	58	3327	196
Carboxin + Thiram + IP	29	15	90	3434	196
Difenoconazole + Thiram + IP	30	12	78	3545	210
Thiabendazole + Captan + IP	25	27	57	3163	182
Thiabendazole + Thiram + IP	23	32	52	3350	205
Thiabendazole + Tolyfluanid + IP	32	6	70	3400	212
Thiabendazole + Thiram + IP	23	32	52	3350	205
(Co + Mo) <sup>3</sup> + IP	23	32	69	3476	212
Thiaben. + Thiram + (Co+ Mo) + IP	20	41	54	3385	207
CV (%)	29,8	–	40,1	10,0	10,2
DMS <sup>4</sup> (5%)	6,0	–	21,3	277,7	17,4

<sup>1</sup> Os fungicidas e as doses utilizadas foram aplicados conforme Tabela 2.

<sup>2</sup> 300 ml de água açucarada mais 500g (por 50 kg de semente) de inoculante turfoso, contendo as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019, com população de células de  $1,7 \times 10^{10}$  por grama de inoculante.

<sup>3</sup> As fontes dos micronutrientes usadas foram  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , nas doses de 5 g de Co e 20 g de Mo por ha (75 kg de semente).

<sup>4</sup> DMS - Diferença entre médias de dois tratamentos, cada um com seis repetições, cujo valor é superior aos valores dessa linha, para cada coluna, indica que os tratamentos são diferentes entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste "t".

<sup>5</sup> Rendimento corrigido para 13% de umidade.

+ Captan apresentou rendimento de grãos inferior ao tratamento de inoculação padrão. Entretanto, todos os fungicidas afetaram o N total nos grãos, mostrando que a FBN foi reduzida, diminuindo a absorção de N pela soja. Somente o tratamento com adição de 200 kg de N apresentou N total nos grãos igual ao da testemunha IP.

### **4.3 Solo L<sub>E</sub>e de Terra Roxa, PR**

Nesse solo, verificou-se, mais uma vez, que o tratamento testemunha sem inoculação apresentou apenas um nódulo por planta, demonstrando ausência de *Bradyrhizobium* spp. no solo (Tabela 6). Por outro lado, a testemunha inoculação padrão apresentou, em média, 23 nódulos por planta, nodulação expressivamente superior aos oito nódulos do tratamento de inoculação com 120 000 células por semente, mostrando, mais uma vez, a importância da turfa no efeito protetor das células na quantidade adequada para a nodulação. Com relação às misturas de fungicidas testadas, verifica-se que, nesse solo arenoso, todas as misturas de fungicidas apresentaram alta redução do número de nódulos em relação à inoculação padrão. As duas misturas de fungicidas menos tóxicas foram Carboxin + Thiram e Difenconazole + Thiram, porém, elas causaram reduções da nodulação de 39% e 43%, respectivamente. A adição somente de Co + Mo reduziu a nodulação em 9%, a adição dos fungicidas Thiabendazole + Thiram reduziu a nodulação em 65% e a adição da mistura Thiabendazole + Thiram + Co + Mo reduziu a nodulação em 87%, quase eliminando o *Bradyrhizobium* spp. das sementes de soja.

No segundo experimento, os tratamentos com e sem inoculação apresentaram, respectivamente, nodulações de 53 e três nódulos por planta (Tabela 7). Nesse experimento, a aplicação apenas dos micronutrientes Co + Mo, tendo como fonte o cloreto de cobalto e o molibdato de sódio, reduziu a nodulação em 32%, enquanto que a aplicação do produto Cofermol, como fonte desses

**TABELA 6.** Efeito de fungicidas aplicados em conjunto com o inoculante nas sementes de soja, cv. BR 37, no número de nódulos, redução do número de nódulos e massa de nódulos secos obtidos em solo de primeiro ano de cultivo de Terra Roxa do Oeste, PR, safra 98/99, em solo L<sub>Ee</sub>, com população de *Bradyrhizobium*  $\leq 10^2$  células/g de solo. Embrapa Soja, 1999.

Tratamentos <sup>1</sup>	Nodulação por planta		
	Número	Redução (%)	Massa (mg)
Sem Inoculação	1	–	1
IP + 200 kg/N	10	56	11
Inoculação padrão IP <sup>2</sup>	23	0	25
IP c/ 120 000 células	8	65	10
Benomyl + Captan + IP	6	74	10
Benomyl + Thiram + IP	5	78	9
Benomyl + Tolyfluanid + IP	5	78	6
Carbendazin + Captan + IP	11	52	9
Carbendazin + Thiram + IP	5	78	5
Carbendazin + Tolyfluanid + IP	4	83	5
Carboxin + Thiram + IP	14	39	15
Difenoconazole + Thiram + IP	13	43	17
Thiabendazole + Captan + IP	3	87	4
Thiabendazole + Thiram + IP	8	65	7
Thiabendazole + Tolyfluanid + IP	5	78	4
Thiabendazole + Thiram + Co + Mo <sup>3</sup> + IP	3	87	3
(Co + Mo) <sup>3</sup> + IP	21	9	22
CV (%)	37,5	–	35,2
DMS (5%) <sup>4</sup>	2,6	–	2,7

<sup>1</sup> Os fungicidas e as doses utilizadas foram aplicados conforme Tabela 2.

<sup>2</sup> 300 ml de água açucarada mais 500g (por 50 kg de semente) de inoculante turfoso, contendo as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019, com população de células de  $1,7 \times 10^{10}$  por grama de inoculante.

<sup>3</sup> As fontes dos micronutrientes usadas foram  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , nas doses de 5 g de Co e 20 g de Mo por ha (75 kg de semente).

<sup>4</sup> DMS - Diferença entre médias de dois tratamentos, cada um com seis repetições, cujo valor é superior aos valores dessa linha, para cada coluna, indica que os tratamentos são diferentes entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste “t”.

**TABELA 7.** Efeito de micronutrientes, fungicidas e inoculante turfoso, aplicados em conjunto nas sementes de soja, cv. BR 37, no número e massa de nódulos secos obtidos em solo de primeiro ano de cultivo de Terra Roxa do Oeste, PR, safra 98/99, em solo LEE, com população de *Bradyrhizobium*  $\leq 10^2$  células/g de solo. Embrapa Soja, 1999.

Tratamentos <sup>1</sup>	Nodulação por planta		
	Número	(%) Redução	Massa (g)
Sem inoculação	3	–	2
Inoculação padrão (IP) <sup>2</sup>	53	0	20
(Co + Mo) <sup>3</sup> + IP	36	32	16
(Cofermol pó) <sup>4</sup> + IP	50	6	26
(Tegram) <sup>4</sup> + IP	7	87	3
Benomyl + Thiram + IP	5	91	2
(Co + Mo) + Tegram + IP	6	89	3
(Co + Mo) + Benomyl + Thiram + IP	5	91	2
Cofermol pó + Tegram + IP	4	92	2
Cofermol pó + Benomyl + Thiram + IP	6	89	3
CV (%)	47,3	–	55,5
DMS <sup>6</sup> 5%	6,8	–	3,6

<sup>1</sup> Os fungicidas e as doses utilizadas foram aplicados conforme Tabela 2.

<sup>2</sup> 300 ml de água açucarada mais 500g (por 50 kg de semente) de inoculante turfoso, contendo as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5019, com população de células de  $1,7 \times 10^{10}$  por grama de inoculante.

<sup>3</sup> As fontes dos micronutrientes usadas foram  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , nas doses de 5 g de Co e 20 g de Mo por ha (75 kg de semente).

<sup>4</sup> Micronutriente comercial aplicado na dose de 20 g de Mo.

<sup>5</sup> Fungicida comercial composto de Thiabendazole + Thiram nas doses conforme Tabela 2.

<sup>6</sup> DMS - Diferença entre médias de dois tratamentos, cada um com seis repetições, cujo valor é superior aos valores dessa linha, para cada coluna, indica que os tratamentos são diferentes entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste “t”.

nutrientes, reduziu a nodulação em 6%. Por outro lado, as misturas dos fungicidas Tegram (Thiabendazole + Thiram) e Benomyl + Thiram, sozinhos ou em conjunto com os micronutrientes anteriores, não diferiram entre si e apresentaram uma redução na nodulação, em relação ao tratamento inoculação padrão, de no mínimo 87%. Esses resultados mostram, portanto, que, em solos arenoso, os efeitos dos fungicidas são ainda maiores.

## 5

### Discussão

Trabalhos anteriores mostram que os fungicidas de contato reduzem a sobrevivência do *Bradyrhizobium* spp. (Curley & Burton, 1975; Gupta *et al.*, 1988; Sinclair, 1993; Singh & Lodha, 1997) e a nodulação (Kosslak *et al.*, 1987; Martensson, 1992; Andrés *et al.* 1998a), reduzindo a fixação simbiótica do  $N_2$ . Neste trabalho, os resultados revelam que o tratamento de sementes com fungicidas (contato + sistêmico) antes da aplicação do inoculante, reduzem a nodulação e afetam a eficiência do processo de FBN, podendo comprometer os rendimentos da cultura da soja, especialmente na presença de Co + Mo. Isso vem confirmar os resultados preliminares apresentados por Campo & Hungria (1999), sob condições de laboratório, casa de vegetação e campo, que mostram que alguns fungicidas são tóxicos ao *Bradyrhizobium* spp. e reduzem a nodulação e a FBN. Os sintomas de redução de nodulação e deficiência de N causados pelo tratamento de sementes com fungicidas podem, inclusive, ser facilmente visualizados em experimentos de casa de vegetação (Figura 1 e 2) e até mesmo a campo (Figura 3).



FIG. 1. Plantas de soja com coloração normal (esquerda), que receberam a inoculação, e plantas amarelecidas (direita), que foram tratadas com fungicida e inoculadas, e tiveram a nodulação reduzida pela aplicação de fungicida na semente.





FIG. 2. Sistemas radiculares de soja sem inoculação das sementes (esquerda), tratadas com fungicidas e inoculadas (centro) e somente inoculadas (direita).



FIG. 3. Plantas e sistema radicular de soja coletados a campo em solo de cerrado mostrando o efeito negativo do tratamento conjunto com fungicidas e inoculação, à esquerda, sementes tratadas com fungicidas e, à direita, somente inoculadas (foto cedida por Orlando Martins Júnior).

## 6

**Conclusões e Indicações Tecnológicas**

Pelos resultados apresentados, conclui-se que a maioria das combinações de fungicidas recomendadas para o tratamento de sementes reduz a nodulação e a FBN. Portanto, sugere-se que, se os agricultores quiserem solucionar, ou ao menos amenizar, os efeitos negativos da aplicação dos fungicidas e aumentar a probabilidade de obter produtividades de soja mais elevadas, eles adotem alguns procedimentos alternativos, conforme segue.

1. Procurar sempre utilizar sementes de soja de boas qualidades fisiológica e sanitária e efetuar o plantio em solo com umidade adequada.
2. Antes de efetuar a semeadura, fazer um teste de emergência a campo dos lotes de semente no mesmo solo onde a lavoura será implantada, da maneira descrita a seguir. Tomar duas amostras de cada lote de semente, efetuar o tratamento em uma delas e a semeadura de 100 sementes de cada amostra, em quatro repetições, em solo com boa umidade. Após a emergência, contar o número médio de plântulas para as duas situações, avaliar os resultados e tomar a decisão de tratar ou não os seus lotes de sementes com os fungicidas. Ter o cuidado de efetuar o plantio quando o solo estiver com as condições similares de umidade a que o teste foi efetuado.
3. A maior frequência de efeitos negativos do tratamento de sementes com fungicidas na FBN ocorre em solos de primeiro ano de cultivo com soja, com baixa população de *Bradyrhizobium* spp. Nesse caso, para garantir melhores resultados com a inoculação e o estabelecimento da população do *Bradyrhizobium* spp. ao solo o agricultor deve evitar o tratamento de sementes com fungicidas desde que:

- a) as sementes possuam altas qualidades fisiológica e sanitária, livre de fitopatógenos importantes (pragas quarentenárias A2 ou pragas não quarentenárias regulamentadas) que serão definidos e controlados através de Certificado Fitossanitário de Origem (CFO) ou Certificado Fitossanitário de Origem Consolidado (CFOC), conforme legislação a entrar em vigor a partir de 13 de março de 2001 (Instrução Normativa N° 6 de 13 de março de 2000, publicada no D.O.U. no dia 05 de Abril de 2000); e
- b) o solo apresente boa disponibilidade hídrica e temperatura adequada para rápida germinação e emergência.

Caso essas condições não sejam atingidas, o produtor deve tratar a semente com fungicidas dando preferência às misturas Carboxin + Thiram, Difenconazole + Thiram, Carbendazin + Captan, Thiabendazole + Tolyfluanid ou Carbendazin + Thiram, que causam menor impacto sobre a sobrevivência da bactéria na semente.

- 4. Em solos já cultivados com soja, em condições não adequadas de umidade ou quando os testes preliminares tenham mostrado a necessidade de tratamento de sementes com fungicida, o agricultor deve dar preferência ao uso das misturas de fungicidas menos prejudiciais à FBN: Carboxin + Thiran, Difenconazole + Thiran, Carbendazin + Captan, Thiabendazole + Tolyfluanid ou Carbendazin + Thiran. Alternativamente, caso haja conhecimento do principal patógeno que está ocorrendo na sua área ou na sua semente, a escolha dos fungicidas poderá ser também em função da eficiência de cada um desses produtos em relação aos patógenos existentes.
- 5. A aplicação dos micronutrientes Co e Mo nas sementes, juntamente com fungicidas, deve ser evitada. Quando for efetuar o tratamento de sementes com fungicidas, a aplicação dos

micronutrientes deve ser feita, em aplicação única, na mesma dose recomendada para aplicação nas sementes, por pulverização foliar antes do início da floração juntamente com herbicida pós-emergente, com o Baculovírus ou outro inseticida para lagarta. Caso não seja feito o tratamento de sementes com fungicidas, os micronutrientes podem ser aplicados nas sementes antes da inoculação.

### **Agradecimento**

Ao auxílio técnico na execução dos trabalhos prestados pelos funcionários Marisa S. Eumann, Nilza B. Goulart, Leny M. Miura, Rinaldo B. Conceição, Ligia Maria de O. Chueire, Rubson N.R. Sibaldelle, José Zucca Moraes, Jorge J. Azevedo, José S. Oliveira, Reginaldo B. dos Santos e João B. Conceição.

### **Referências Bibliográficas**

ANDRADE, D. de S. & HAMAKAWA, P.J. Estimativa do número de células de rizóbio no solo e inoculantes por infecção em planta In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S., eds. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p.63-94.

ANDRÉS, J.A.; CORREA, N.S. & ROSAS, S.B. Alfalfa and soyabean seed and root exudates treated with thiram inhibit the expression of rhizobia nodulation genes. *International Journal of Experimental Botany*, 62 (1/2): 47-53. 1998a.

ANDRÉS J.A.; CORREA N.S. & ROSAS, S.B. Survival and symbiotic properties of *Bradyrhizobium japonicum* in the presence of thiram:

isolation of fungicide resistant strains. *Biology and Fertility of Soils*, 26: 141-145. 1998b.

CAMPO, R.J. & HUNGRIA, M. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas na nodulação e fixação simbiótica N<sub>2</sub>. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 8p. (Embrapa Soja. Pesquisa em Andamento, 21).

CURLEY, R.L. & BURTON, J.C. Compatibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. *Agronomy Journal*, 67:807-808, 1975.

DE-POLLI, H.; SOUTO, S.M. & FRANCO, A.A. Compatibilidade de agrotóxicos com *Rhizobium* spp. e a simbiose das leguminosas. Seropédica: EMBRAPA-UAPNPBS, 1986. 75p. (EMBRAPA-UAPNPBS. Documentos, 3).

DIATLOFF, A. Compatibility of systemic and non-systemic fungicides with *Rhizobium japonicum* applied to soyabean seed. *Soil Biology and Biochemistry*, 18 (1): 121-122, 1986.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região Central do Brasil 1997/98**. Londrina: 1997. 171p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 106).

EMBRAPA SOJA (Londrina, PR). **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região Central do Brasil 2000/01**. Embrapa Soja - Londrina: Embrapa Soja/Fundação MT, 2000. 226p. (Embrapa Soja. Documentos, 146).

FAO - ORGANIZATION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Inoculantes para leguminosas y seu uso. Roma: FAO, 1985. 62p.

FEIJE, F.; ANGER, V. **Spot tests in inorganic analyses**. Analytical Chemistry Acta, v.149, p.363-367, 1972.

GUPTA, S.B.; RAWAT, A.K. & KHARE, A.K. Effect of pre and post-inoculation seed treatment with fungicides on nodulation and grain yield of soyabean. Legume Research, 11(4):167-172, 1988.

HENNING, A.A; CAMPO, R.J. & SFREDO, G.J. Tratamento com fungicidas, aplicação de micronutrientes e inoculação de sementes de soja. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, 1997. 7p. (EMBRAPA-CNPSo. Comunicado Técnico, 58).

KOSSLAK, R.M.; BOOKLAND, R.; BARKEI, J.; PAAREN, H.E. & APPELBAUM, E.R. Induction of *Bradyrhizobium japonicum* common *nod* genes by isoflavones isolated from *Glycine max*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United states of America, 84: 7428-7432, 1987.

MARTENSSON, A.M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes. Soil Biology and Biochemistry, 24 (5): 435-445, 1992.

PEOPLES, M.B. & CRASWELL, T. Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contributions to agriculture. Plant and Soil, 141:13-39, 1992.

SINCLAIR, J.B. Control of seedborne pathogens and diseases of soyabean seeds and seedlings. Pesticides Science, 37:15-19, 1993.

SINGH, J. & LODHA, P.C. Compatibility of chemical seed protectans with *Bradyrhizobium japonicum* and their effects on symbiotic

nodulation in soybean. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 27 (2):148-151, 1997.

WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. I - Greenhouse studies. *Agronomy Journal*, 66: 229-232, 1974.