

## INFLUÊNCIA DA PRÉ-INOCULAÇÃO DE SOJA EM DIFERENTES PERÍODOS ANTES DA SEMEADURA NOS PARÂMETROS RELACIONADOS A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

*Data de aceite: 02/05/2023*

### **Ivana Marino Bárbaro-Torneli**

APTA Regional – Unidade Regional de  
Pesquisa de Colina  
Colina-SP  
ORCID ID- 0000-0002-2954-2693

### **Everton Luis Finoto**

APTA Regional – Unidade Regional de  
Pesquisa de Pindorama  
Pindorama-SP  
<http://lattes.Cnpq.br/2248948833470312>

### **Matheus Queiroz de Souza França**

UNIFEB  
Barretos-SP  
<http://lattes.Cnpq.br/9369983120923882>

### **Elaine Cristine Piffer Gonçalves**

APTA Regional – Unidade Regional de  
Pesquisa de Colina  
Colina-SP  
ORCID ID- 0000-0001-5797-6264

### **Fernando Bergantini Miguel**

APTA Regional – Unidade Regional de  
Pesquisa de Colina  
Colina-SP  
ORCID ID- 0000-0002-4778-8961

### **Fabio Olivieri de Nóbile**

UNIFEB  
Barretos-SP  
ORCID ID- 0000-0001-9423-8420

### **José Antonio Alberto da Silva**

APTA Regional – Unidade Regional de  
Pesquisa de Colina  
Colina-SP  
<http://lattes.Cnpq.br/1398758607886303>

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar parâmetros relacionados a fixação biológica de nitrogênio em soja cultivada em campo em Pindorama-SP, safra 2021/22, submetida a diferentes tratamentos via sementes com uso de um inoculante comercial padrão (A) e outro mais aprimorado (B) ambos a base de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* em diferentes períodos antes da semeadura da soja. Os tratamentos testados foram: T1 =Controle (sem adição de nenhum inoculante comercial), T2 =. Adubação nitrogenada (200 kg de N/ha); T3= Inoculante A aplicado no momento do plantio e T4, T5, T6, T7 e T8 inoculante B aplicado via tratamento de sementes respectivamente aos 0, 15, 30, 45 e 60 dias antes do plantio da soja. No estádio R2, foram coletadas em campo 5 plantas por parcela experimental para mensuração do número e massa seca de nódulos na raiz principal (NNOP, MSNOP), secundárias

(NNOS, MSNOS) e total (NNOT, MSNOT); massa seca da raiz (MSR), parte **áerea** (MSPA) e total (MST). Também analisou-se o teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA). Verificou-se que para NNOS e NNOT os tratamentos T3, T4, T5, T6, T7 e T8 apresentaram igualdade estatística entre si e mostraram os maiores valores médios, com média dos seis tratamentos de respectivamente 11,86 e 15,25 nódulos secundários e total. Em relação a massa seca nodular (MSNOP, MSNOS e MSNOT) novamente os mesmos tratamentos se destacaram e não diferiram entre si apresentando respectivamente média dos seis tratamentos de 66,02, 126,02 e 192,06 mg.planta<sup>-1</sup>. Quanto a MST, nota-se que os tratamentos T3 e T4, ou seja, inoculantes aplicados no dia do semeio da soja proporcionaram os maiores incrementos em termos de massa seca total. Em relação ao TNPA, o T4 (inoculante B aplicado no dia da semeadura) promoveu o maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea (29,53 g/kg), sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos. Pode-se concluir que a prática da inoculação antecipada pode ser aplicada via inoculante comercial B no tratamento de sementes com até 60 dias de antecedência da data de semeadura da soja pois o número de bactérias viáveis foi suficiente para infectar a planta de maneira eficaz e consequentemente formar nódulos, porém, em termos de MST, MSPA e TNPA a inoculação no dia da semeadura foi mais eficiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Glycine max*, rhizobium, inoculação antecipada de sementes.

## INFLUENCE OF SOYBEAN PRE-INOCULATION IN DIFFERENT PERIODS BEFORE SOWING ON PARAMETERS RELATED TO BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION

**ABSTRACT:** The objective was to evaluate parameters related to biological nitrogen fixation in soybean grown in the field in Pindorama-SP, 2021/22 season, submitted to different treatments via seeds using a standard commercial inoculant (A) and a more improved one (B) both based on bacteria *Bradyrhizobium* in different periods before soybean sowing. The treatments tested were: T1 = Control (without addition of any commercial inoculant), T2 = Nitrogen fertilization (200 kg of N/ha); T3= inoculant A applied at planting and T4, T5, T6, T7 and T8 inoculant B applied via seed treatment respectively at 0, 15, 30, 45 and 60 days before soybean planting. At the R2 stage, 5 plants per experimental plot were collected in the field to measure the number and dry mass of nodules on the main (NNOP, NOPDM), secondary (NNOS, NOSDM) and total (NNOT, NOTDM) roots; root dry mass (RDM), leaf dry mass (LDM) and total (TDM). The nitrogen content in the leaf dry mass (NLDM) was also analyzed. It was found that for NNOS and NNOT treatments T3, T4, T5, T6, T7 and T8 were statistically equal to each other and showed the highest mean values, with mean of the six treatments respectively 11.86 and 15.25 secondary nodes and total. In relation to nodular dry mass (NOPDM, NOSDM and NOTDM) again, the same treatments stood out and did not differ from each other, presenting respectively mean of the six treatments of 66.02, 126.02 and 192.06 mg.plant<sup>-1</sup>. As for TDM, it is noted that treatments T3 and T4, that is, inoculants applied on the day of soybean sowing, provided the greatest increments in terms of total dry mass. Regarding NLDM, T4 (inoculant B applied on the day of sowing) promoted the highest accumulation of nitrogen in the shoot (29.53 g/kg), being statistically superior to the other treatments. It can be concluded that the practice of early inoculation can be applied via commercial inoculant B in the treatment of seeds up to 60 days before the soybean sowing date, since the number of viable bacteria was

sufficient to infect the plant effectively and consequently form nodules, however, in terms of TDM, LDM and NLDM, inoculation on the sowing day was more efficient.

**KEYWORDS:** *Glycine max*, rhizobium, early seed inoculation.

## 1 | INTRODUÇÃO

Inocular as sementes de soja com inoculantes a base de *Bradyrhizobium* antecipadamente a semeadura, denominada de pré-inoculação, é uma prática já realizada em outros países, para diversas culturas, além da soja (DEAKER et al., 2004; HERRIDGE, 2008). No Brasil, a tecnologia já vem se consolidando, sendo o seu uso cada vez mais frequente nas lavouras de soja do país (EMBRAPA, 2013). No entanto, algumas desvantagens são citadas, dentre as quais se destacam: a habilidade da bactéria sobreviver na semente principalmente quando em associação com fungicidas e inseticidas que já fazem parte do pacote tecnológico (tratamento industrial) a disposição do sojicultor para compra, condições de armazenamento das sementes e determinação do período ideal da pré-inoculação até a data de semeio sem prejudicar a sobrevivência das bactérias. Desse modo, esses fatores por sua vez, tem restringido seu uso no Brasil (DATE, 2001).

Por outro lado, o uso da prática de pré-inoculação tem vantagens como a de agilizar o processo operacional na semeadura. Contudo, quando fungicidas e inseticidas são adicionados ao tratamento de sementes, a viabilidade das bactérias fixadoras de nitrogênio pode ser comprometida a um ponto onde o número de bactérias viáveis não é suficiente para infectar a planta de maneira eficaz e conseqüentemente formar nódulos (HARTLEY et al., 2012; ARAÚJO et al., 2017). Assim, a compatibilidade de fungicidas e inseticidas mostra-se como um grande desafio para o tratamento industrial das sementes (CAMPO et al., 2009; PEREIRA et al., 2010; SILVA NETO et al., 2013; GOMES et al., 2017).

Muitas poucas pesquisas foram realizadas com o propósito de se avaliar a associação da pré-inoculação e tratamento de sementes industriais (ANGHINONI et al., 2017; MACHINESKI et al., 2018), e escassas informações se sabe a respeito do período máximo de tempo antes de se semear que a semente poderia ser tratada sem comprometimento da viabilidade das bactérias contidas nos inoculantes, nodulação de plantas e rendimento da soja (PEREIRA et al., 2010; ZILLI et al., 2010). Enquanto autores como Araújo et al. (2017) citam que o período da pré-inoculação poderia ser ampliado para 30 dias antes da semeadura, Machineski et al. (2018) relatam que se associado a um protetor pode ser ampliado para 60 dias.

Apesar do que foi explanado, de acordo com Hungria e Nogueira (2020) tem sido comum a comercialização de sementes de soja pré-inoculadas (inoculação antecipada) com *Bradyrhizobium*. Os mesmos autores afirmam que o período máximo entre a inoculação até a semeadura deve ser respeitado conforme recomendação do fabricante para garantir a quantidade mínima necessária de bactérias viáveis nas sementes. A pesquisa recomenda

que essa quantidade deva ser de, pelo menos, 80 mil a 100 mil células viáveis por semente no momento da semeadura. É importante se atentar se o inoculante tem registro no Mapa para pré-inoculação, para quantos dias de armazenamento e a compatibilidade com os produtos químicos utilizados no tratamento de sementes. Ainda assim, recomenda-se que as sementes sejam analisadas em laboratório antes da semeadura para avaliar a sobrevivência das bactérias inoculadas nessa condição, pois, consistentemente, tem sido observada redução drástica de células vivas de *Bradyrhizobium* em sementes pré-inoculadas.

Corroborando com os autores supracitados, Lopes (2016) observou em sua pesquisa que a pré-inoculação de soja combinada com o tratamento com produtos químicos fez com que o número de células bacterianas se reduzisse e ficasse inferior aquele considerado adequado no momento da semeadura, o que afetou negativamente os parâmetros da nodulação.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, em soja cultivada em Pindorama-SP, safra 2021/22, submetida a diferentes tratamentos via sementes com inoculante comercial a base de *Bradyrhizobium* aplicado em 0, 15, 30, 45 e 60 dias anteriores a semeadura, associada ao pacote tecnológico químico da Basf.

## 2 | MATERIAL E METODOS

O experimento foi instalado em condições de campo, em área com preparo convencional do solo no dia 29 de novembro de 2021 no Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Norte, vinculado a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios –APTA, localizado no município de Pindorama –SP. situado no município de Pindorama SP. Localiza-se a uma latitude 21°13'28,16" S e a uma longitude 48°54'20,86" O, estando a uma altitude de 554 metros.

Devido à sua localização, Köppen (1948) classificou o clima da região do município de Pindorama como um clima Quente com inverno seco (Cwa) com temperaturas máximas e mínimas entre 37° e 10 C, tendo como época normal de chuva os meses de setembro a março, com uma precipitação média anual de 1.255 mm.

Pindorama tem como solo predominante o Argissolo eutrófico, considerado profundo, com horizonte A arenoso e horizonte B textural com alta fertilidade e topografia plana.

Os tratamentos testados foram: T1 =Controle (sem adição de insumos biológicos), T2=. Adubação nitrogenada (200 kg de N/ha) <sup>1</sup> (sem inoculante); T3=Inoculante A - Masterfix L Soja® (2 mL/kg de semente) – 0 DAS<sup>2</sup> (dias antes da semeadura); T4=Inoculante B Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 0 DAS<sup>2</sup>;T5=B- Masterfix L Premier®( (2 mL/kg) – 15 DAS; T6= B- Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 30 DAS; T7= B Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 45 DAS; T8 = B- Masterfix L Premier®(2 mL/kg) – 60 DAS;

No tratamento 2, foi realizada a aplicação de 50% da adubação nitrogenada no momento da semeadura e 50% na floração ou 35 dias após a emergência.

A parcela experimental foi constituída de 4 linhas de 15 m de comprimento, e como área útil será considerada as duas linhas centrais de 15 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 0,5 m (15 m<sup>2</sup>). Desta forma, o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso composto pelos oito tratamentos acima citados com 5 repetições, num total de 40 parcelas experimentais.

A descrição dos inoculantes utilizados nesse experimento segue abaixo:

A) MASTERFIX® L SOJA® (inoculante padrão): inoculante líquido para soja registrado e produzido pela Stoller do Brasil Ltda, tendo como garantia uma concentração mínima de  $5 \times 10^9$  UFC ml<sup>-1</sup> de *Bradyrhizobium elkanii* (Cepa Semia 5019) e *Bradyrhizobium japonicum* (Cepa Semia 5079).

B) MASTERFIX L PREMIER®: é um inoculante que representa uma grande evolução na tecnologia de formulação, potencializando a sobrevivência das bactérias, mesmo diante de situações mais adversas, o que garante superioridade em relação aos inoculantes do mercado.

Antes da instalação foram coletadas amostras de solo da área experimental para posterior análise química e granulométrica, além da contagem de bactérias *Bradyrhizobium* e bactérias diazotróficas associativas do solo antes da semeadura. A contagem das bactérias foi realizada no Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP, câmpus de Jaboticabal/SP de acordo com as recomendações de Dobereiner et al. (1995).

Amostras de solo para caracterização química (RAIJ et al., 2001) e granulométrica (DAY, 1965) foram coletadas em outubro de 2021, na camada de 0-0,20 m de profundidade, e os resultados obtidos foram: pH (CaCl<sub>2</sub>) = 5,80; M.O. = 10,00 g dm<sup>-3</sup>; CO = 5,8 g dm<sup>-3</sup>; P = 36,00 mg dm<sup>-3</sup>; K = 3,1 mmolc dm<sup>-3</sup>; Ca = 26,00 mmolc dm<sup>-3</sup>; Mg = 11,00 mmolc dm<sup>-3</sup>; H + Al = 16,00 mmolc dm<sup>-3</sup>; V = 71%, Areia Total = 892 g kg<sup>-1</sup> de solo; Argila = 72 g kg<sup>-1</sup> de solo e Silte = 36 g kg<sup>-1</sup> de solo. A adubação de semeadura foi realizada com adubo formulado 0-20-20, na dose de (350 kg. ha<sup>-1</sup>).

Apenas no Tratamento T2 (200 kg ha<sup>-1</sup> de Nitrogênio) foram aplicados manualmente o restante da dose de N, sendo metade na base e metade em cobertura com o uso da fonte ureia, aos 35 dias após a emergência.

A cultivar de soja utilizada foi a RESULT I2X que apresenta grupo de maturação 6.3, crescimento indeterminado, cor da pubescência cinza, cor da flor roxa, cor do hilo preto imperfeito, trait: Intacta 2 X tend. Apresenta resistência ao cancro da haste, necrose da haste e mancha olho de rã e moderada resistência a podridão radicular de fitofora.

Foram semeadas 20 sementes m<sup>-1</sup>, com uso de semeadora de parcelas experimentais, com a finalidade de se obter 14 a 15 plantas por metro linear. Para isto, será realizado o desbaste visando obter a população média final de 320.000 plantas ha<sup>-1</sup>.

As sementes já vieram tratadas com o Standak® Top que oferece proteção do potencial

genético das sementes de soja. O produto tem funções múltiplas e complementares no seu efeito inseticida e fungicida, blindando as sementes contra o ataque de pragas e doenças de solo que interferem no processo de germinação e de plântulas em desenvolvimento na lavoura de soja. A solução possui três princípios ativos distintos, e conferem alta eficiência para o manejo de pragas como lagarta-elasma, coró e tamanduá-da-soja. Standak® Top também oferece maior tolerância ao estresse hídrico e a ocorrência de nematoides.

Posteriormente, para compor os diferentes tratamentos quando ao uso de insumos biológicos foram preparados no laboratório apenas os tratamentos T3, T4, T5, T6, T7 e T8 conforme procedimentos descritos na Tabela 1, sendo que os tratamentos T1 e T2 não possuíram a adição de inoculantes.

Foram adotados alguns cuidados para garantir uma maior eficiência dos inoculantes, como acondicionamento das sementes tratadas com inoculantes em períodos que antecedem a sementeira em local com ar condicionado a 16°C, até o momento do plantio, sendo no ato da sementeira a inoculação das sementes referente aos tratamentos T3 e T4 foram realizados à sombra. Para todos os tratamentos envolvendo aplicação de inoculantes nas sementes foi feita a distribuição uniforme dos mesmos.

Foi aplicado fertilizante contendo os micronutrientes cobalto e molibdênio, via pulverização foliar com o produto CoMo Platinum (150 mL/ha); no estágio fenológico V<sub>4</sub> (Fehr e Caviness, 1977), em todos os tratamentos incluindo a testemunha. Também foi efetuado o controle de doenças e pragas por meio de fungicidas e inseticidas quando necessário.

Todas as técnicas de cultivo da soja, como escolha de cultivar, época de sementeira, população de plantas, controle de plantas daninhas, insetos e doenças seguiram as recomendações técnicas para a cultura da soja da EMBRAPA (2013).

Em R2 foram coletadas amostras de plantas com sistema radicular o mais intacto possível, sendo composta por 5 plantas seguidas por parcela experimental. Deste modo, os parâmetros avaliados foram: número de nódulos sendo: número de nódulos na raiz principal (NNOP), nas raízes secundárias (NNOS) e total (NNOT), massa seca de nódulos na raiz principal (MSNOP), nas raízes secundárias (MSNOS) e total (MSNOT), massa seca radicular (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST) e TNPA teor de nitrogênio na parte aérea em g.kg<sup>-1</sup> (BATAGLIA, 1978).

Para os parâmetros foram realizadas as transformações Box-Cox estimadas e aplicadas como proposto por Hawkins e Weisberg (2017), sendo os valores das médias mantidos na escala original. Já as variâncias, desvios padrões, coeficientes de variação, DMS, análises de variância e comparações de médias foram calculados com os dados transformados. Posteriormente foram verificadas a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade (ROYSTON, 1995). E também a Homocedasticidade por meio da homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene a 5% de probabilidade (GASTWIRTH et al., 2009). Quando diferenças significativas foram detectadas na análise

de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram executadas com auxílio do Software AgroEstat versão online (MALDONADO JUNIOR, 2019).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontra-se os resultados médios obtidos nos parâmetros avaliados no estágio fenológico R2. Pelo teste F foram detectadas significâncias estatísticas altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) para todas as variáveis analisadas.

Quando se analisa o NNOP verifica-se que com o uso do inoculante comercial B aplicado no momento da semeadura (T4), obteve-se maior média de nódulos na raiz principal (4,04 unidades.planta<sup>-1</sup>), sendo esse tratamento equivalente estatisticamente aos tratamentos T5 e T8 que fizeram uso do mesmo inoculante respectivamente, quando aplicados aos 15 e 60 dias antes da semeadura, com respectivamente 3,64 e 3,40 nódulos.planta<sup>-1</sup> e também ao tratamento T3 que correspondeu a aplicação do inoculante A no dia da semeadura. Com valor médio intermediário posicionaram-se os tratamentos T6 e T7 que utilizaram também o inoculante B aos 30 e 45 dias antes da semeadura com valor médio de 2,88 nódulos.planta<sup>-1</sup>. Já, produzindo menor quantidade de NNOP ficaram os tratamentos T1 (controle não inoculado) e T2 (fertilização química nitrogenada) que detiveram respectivamente, e 2,04 e 2,16 nódulos.planta<sup>-1</sup>, sendo que os mesmos não diferiram estatisticamente entre si. Para NNOS e NNOT os tratamentos T3, T4, T5, T6, T7 e T8 apresentaram igualdade estatística entre si e mostraram os maiores valores médios quanto a esses parâmetros, com média dos seis tratamentos de respectivamente 11,86 e 15,25 nódulos secundários e total. Já, os tratamentos, controle não inoculado (T1) e fertilização química nitrogenada (T2) proporcionaram os piores incrementos nodulares. Em relação a massa seca nodular (MSNOP, MSNOS e MSNOT) semelhante ao ocorrido com o número de nódulos os tratamentos T3, T4, T5, T6, T7 e T8 se destacaram e não diferiram entre si apresentando média dos seis tratamentos de 66,02, 126,02 e 192,06 mg.planta<sup>-1</sup>, respectivamente, para MSNOP, MSNOS e MSNOT. Em pesquisa realizada por Anghinoni et al. (2016) considerando a MSNOT, o armazenamento das sementes tratadas industrialmente e inoculadas por 10 dias causou redução de biomassa seca nodular quando em comparação com as sementes pré-inoculadas por 5 dias. Outros estudos como de Alcântara Neto et al. (2014), Pereira et al. (2009) e Santos et al. (2013), que avaliaram o efeito do tempo, após a aplicação dos produtos fludioxonil + metalaxil-M e do inoculante, e observaram que o tratamento utilizado provocou redução na população de rizóbios e no número de nódulos, com o aumento do tempo. Por sua vez, os resultados apresentados corroboram com estudos, que mencionam que uma nodulação adequada está na faixa de 15 e 30 nódulos totais e massa entre 100 a 200 mg é suficiente para garantir o fornecimento de N requerido por uma planta de soja para seu desenvolvimento normal (HUNGRIA et al.,

2007; BRANDELERO et al., 2009, BARBARO et al., 2009). Por outro lado, fato importante de ser mencionado foi a presença de nódulos observada até mesmo no controle não inoculado (T1). Desta forma, ressalva-se a relevância de se proceder a reinoculação anual com insumos biológicos, por conta da competição com microorganismos presentes no solo e menos eficientes e que competem pelo sítio de ação dos nódulos.

Em relação a MSR, nota-se na Tabela 1, que os tratamentos que utilizaram inoculantes no momento da semeadura, ou até 15 dias antes do semeio da soja, bem como a testemunha não inoculada (T3, T4, T5 e T1) foram estatisticamente semelhantes com respectivamente 6,44, 6,21, 5,78 e 6,20 g.planta<sup>-1</sup> de biomassa seca radicular. Posicionados de maneira intermediária ficaram os tratamentos T6, T7 e T8 que utilizaram o inoculante B aos 30, 45 e 60 dias antes da semeadura da soja com média dos três tratamentos de 5,46 g.planta<sup>-1</sup>. E o tratamento T2 que constituiu na aplicação de fertilização química nitrogenada apresentou menor valor médio de MSR que foi de 2,49 g.planta<sup>-1</sup>, não diferindo estatisticamente apenas dos tratamentos T6, T7 e T8.

Para MSPA, verificou-se que T2, T3, T4 e T5 que consistiram respectivamente do uso de fertilização química nitrogenada e aplicação de inoculante quer seja o Masterfix L Soja® ou Masterfix L Premier® no momento da semeadura ou até 15 dias do plantio, produziram maior biomassa seca da parte aérea, não diferindo estatisticamente entre si. A média dos quatro tratamentos foi de 15,69 g.planta<sup>-1</sup>.

| Trat   | NNOP           | NNOS     | NNOT          | MSR           | MSPA          | MST           | MSNOP        | MSNOS         | MSNOT         | TNPA          |
|--------|----------------|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
|        | unidade/planta |          |               | g/planta      |               | mg/planta     |              |               | g/kg          |               |
| T1     | 2,0400 c       | 9,72 b   | 11,760 b      | 6,2080<br>a b | 11,160<br>c d | 17,368<br>cde | 54,77 c      | 114,77 c      | 169,54 c      | 27,370 b      |
| T2     | 2,1600 c       | 4,20 c   | 6,3600 c      | 2 4,9040<br>c | 14,720<br>a b | 19,624<br>b c | 59,12<br>b c | 119,12<br>b c | 178,25<br>b c | 26,718<br>b c |
| T3     | 3,5200<br>a b  | 13,00 a  | 16,520 a      | 6,4420 a      | 17,480 a      | 23,922 a      | 68,08 a      | 128,08 a      | 196,17 a      | 27,404 b      |
| T4     | 4,0400 a       | 12,20 ab | 16,240 a      | 6,2120<br>a b | 16,540 a      | 22,752<br>a b | 63,25<br>a b | 123,25<br>a b | 186,50<br>a b | 29,528 a      |
| T5     | 3,6400<br>a b  | 12,32 ab | 15,960 a      | 5,7800<br>a b | 14,000<br>a b | 19,780<br>b c | 67,82 a      | 127,82 a      | 195,65 a      | 26,896<br>b c |
| T6     | 2,8800<br>b c  | 10,44 ab | 13,320<br>a b | 5,4680<br>b c | 12,620<br>b c | 18,088<br>c d | 66,49 a      | 126,50 a      | 192,99 a      | 26,612<br>b c |
| T7     | 2,8800<br>b c  | 11,92 ab | 14,800 a      | 5,5340<br>b c | 10,000 d      | 15,534 d      | 63,21<br>a b | 123,21<br>a b | 186,42<br>a b | 26,122<br>b c |
| T8     | 3,4000<br>a b  | 11,28 ab | 14,680<br>a b | 5,3900<br>b c | 9,4400 e      | 14,830 e      | 67,31 a      | 127,31 a      | 194,62 a      | 25,522 c      |
| F      | 14,268**       | 47,864** | 35,202**      | 8,1046**      | 30,865**      | 22,145**      | 10,885**     | 10,914**      | 10,904**      | 8,6005**      |
| CV (%) | 15,045         | 4,0853   | 5,268         | 1,4898        | 0,6547        | 2,7175        | 4,5557       | 2,4390        | 3,1391        | 0,9447        |

<sup>1</sup>Média de cinco repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; T1 =Controle (sem adição de insumos biológicos), T2 =. Adubação nitrogenada (200 kg de N/ha) <sup>1</sup> (sem inoculante); T3=A - Masterfix L Soja® (2 mL/kg de semente) – 0 DAS<sup>2</sup> (momento do plantio); T4= B Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 0 DAS<sup>2</sup> (momento do plantio); T5=B- Masterfix L Premier®( 2 mL/kg) – 15 DAS; T6= B- Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 30 DAS; T7= B Masterfix L Premier® (2 mL/kg) – 45 DAS; T8 = B- Masterfix L Premier®(2 mL/kg) – 60 DAS; NNOP = número de nódulos na raiz principal; NNOS = número de nódulos nas raízes secundárias; NNOT = número de nódulos totais; MSNOP = massa seca de nódulos na raiz principal; MSNOS = massa seca de nódulos nas raízes secundárias; MSNOT = massa seca de nódulos total (MSNOP + MSNOS); MSR = massa seca da raiz; MSPA = massa seca da parte aérea e MST = massa seca total; TNPA= teor de nitrogênio na parte aérea;<sup>1</sup>Média de cinco plantas por repetição; <sup>2</sup>DAS = Dias Após Semeadura

Tabela 1. Parâmetros de fixação biológica de nitrogênio avaliados no estágio fenológico R2 em experimento de eficiência de inoculante comercial a base de *Bradyrhizobium*, aplicado via tratamento de semente, em diferentes momentos antes do plantio da soja. Ano Agrícola 2021/22. Polo Regional Centro Norte. Pindorama-SP.

O tratamento T6 com média de MSPA de 12,60 g. planta<sup>-1</sup> posicionou-se de maneira intermediária não diferindo dos tratamentos T5 e T2, bem como, do T1 que mostrou média de 11,16 g.planta<sup>-1</sup>. Os piores tratamentos quanto a incrementos na massa seca da parte aérea estiveram relacionados a aplicação de inoculante B aos 45 e 60 dias de antecedência a sementeira. Esse fato pode estar relacionado com a possibilidade de menor sobrevivência das bactérias contidas no insumo biológico que provavelmente contribuíram para uma menor fixação biológica de nitrogênio e posterior menor incremento da MSPA (Tabela 1).

Considerando a MST, nota-se que os tratamentos T3 e T4 que consistiram na aplicação de inoculante biológico no momento da sementeira foram responsáveis pelos maiores valores médios de massa seca total de planta. Assim, esses tratamentos obtiveram médias de respectivamente 23,92 e 22,75 g.planta<sup>-1</sup>. Em seguida, posicionaram-se os tratamentos que fizeram uso de fertilização química nitrogenada (T2) e aplicação de Masterfix L Premier® aos 15 dias de antecedência da sementeira (T5) com médias de respectivamente 19,62 e 19,78 g.planta<sup>-1</sup>, não diferindo entre si. O pior tratamento quanto ao incremento de MST foi o T8 que consistiu no uso do inoculante Masterfix L Premier® aos 60 dias antes da sementeira, ou seja, o tratamento com maior tempo entre inoculação e sementeira da cultura da soja.

Ainda na Tabela 1, quando se analisa o TNPA nota-se que o tratamento que fez uso da inoculação com inoculante B no dia da sementeira (T4) promoveu o maior acréscimo em termos de acúmulo de nitrogênio na parte aérea (29,53 g/kg), sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos testados. Por sua vez, T1 (controle) e T3 (inoculante A no dia da sementeira) foram equivalentes estatisticamente com valores médios de respectivamente 27,37 e 27,40 g/kg de TNPA apesar de não diferirem estatisticamente dos tratamentos T2 (fertilização química nitrogenada), T5, T6 e T7 (tratamentos com

uso do inoculante B aplicados respectivamente a 15, 30 e 45 dias antes da semeadura). Apresentando menor incremento em relação ao acúmulo de nitrogênio na parte aérea ficou o T8 com média de 25,52 g/kg haja visto que o mesmo representou o uso do inoculante B aplicado em relação aos demais tratamentos em período maior antecedendo a semeadura, ou seja, 60 dias antes do semeio do experimento.

## 4 | CONCLUSÕES

A prática da inoculação antecipada pode ser aplicada via inoculante comercial B no tratamento de sementes com até 60 dias de antecedência da data de semeadura da soja pois o número de bactérias viáveis foi suficiente para infectar a planta de maneira eficaz e conseqüentemente formar nódulos, porém, em termos de MST, MSPA e TNPA a inoculação no dia da semeadura foi mais eficiente.

## REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA NETO, F.; PACHECO, L. P.; ARAÚJO A. S. F.; PETTER, F. A.; ALMEIDA, F. A.; ALBUQUERQUE, J. A. A. Tempo de contato e de combinações de fungicidas, aditivo e inoculante sobre a sobrevivência de rizóbios e nodulação da soja. **Revista Agroambiente On-line**, v. 8, n. 1, p. 149-154, 2014.

ANGHINONI, F.B.G.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; ANGHINONI, I. G.; FERRI, G.C.; SUZUKAWA, A.K.; TELMO, A.T. Pre-inoculation with Bradyrhizobium spp. in industrially treated soybean seeds. **Agricultural Sciences** 08(7): 582-590. 2017.

ARAUJO, R.S.; DA CRUZ, S.P.; SOUCHIE, E.L.; MARTIN, T.N.; NAKATANI, A.S.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Preinoculation of soybean seeds treated with agrichemicals up to 30 days before sowing: technological innovation for large-scale agriculture. **International Journal of Microbiology** 2017:5914786. 2017.

BÁRBARO, I.M.; MACHADO, P.C.; BARBARO JUNIOR, L.S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n.1, Jan-Jun. 2009 b, p. 01-07. DOI: 10.5747/ca.2009.v05.n1.a0040. 2009.

BATAGLIA, O.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; FURLANI, A.M.C.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. IAC. **Instituto Agrônomo de Campinas**. (1978).

BRANDELERO, E. M.; PEREIRA PEIXOTO, C.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos **Semina: Ciências Agrárias**, vol. 30, núm. 3, julio-septiembre, 2009, p. 581-587 Universidade Estadual de Londrina Londrina, Brasil.

CAMPO, R.J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis** 48:154-163. 2009.

DATE, R.A. Advances in inoculant technology: a brief review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 41, p. 321-325, 2001.

DAY, P. R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLAKE, C. A. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. P. 545-567. (Part.1).

DEAKER, R. et al. Legume seed inoculation technology. A review. **Soil Biology & Biochemistry**, v.36, p.1275-1288, 2004.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Distrito Federal: Embrapa SPI. 1995. 60 p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Tecnologias de produção de soja. Região Central do Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p.

FEHR, W.R.; CAVINESS, J.A. Stages of soybean development. Ames: Iowa State University. 1977. 11p. (Special Report, 80).

GASTWIRTH, J.L. ; GEL, Y. R. AND MIAO, W. The Impact of Levene's Test of Equality of Variances on Statistical Theory and Practice. **Statistical Science** 2009, Vol. 24, No. 3, 343–360 DOI: 10.1214/09-STS301 © Institute of Mathematical Statistics, 2009.

GOMES, Y.C.B.; DALCHIAVON, F.C.; VALADÃO, F.C.A. Joint use of fungicides, insecticides and inoculants in the treatment of soybean seeds. **Revista Ceres** 64(3):258-265. 2017.

HARTLEY, E.J.; GEMELL, L.G.; DEAKER, (2012). Some factors that contribute to poor survival of rhizobia on preinoculated legume seed. **Crop and Pasture Science** 63(9):858. 2012.

HAWKINS, D.M. AND WEISBERG, S. Combining the box-cox power and generalised log transformations to accommodate nonpositive responses in linear and mixed-effects linear models. **South African Statistical Journal**, v. 51 n.2, p. 317-328. 2017.

HERRIDGE, D.F. Inoculation Technology For Legumes. In: Dilworth, M.J., James, E.K., Sprent, J.I., Newton, W.E. (eds) Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses. Nitrogen Fixation: Origins, **Applications, and Research Progress**, vol 7. Springer, 2008.Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7_4).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. – Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados, 2007. 80p. -- (Documentos/Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.283).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A. **Fixação Biológica de Nitrogênio**. *Embrapa Soja*. Capítulo 8. 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1128402/1/p.-185-196-de-SP-17-2020-online.pdf> (embrapa.br).

KOOPEN, W. Climatologia. Buenos Aires: Gráfica Panamericana. 1948.

LOPES, K.S. **Avaliação de eficiência agrônômica de inoculante para pré-inoculação de sementes de soja com tratamento químico até 20 dias antes do plantio**. Trabalho de conclusão de curso de Gestão do Agronegócio. Universidade de Brasília. Faculdade de Planaltina.38 p. 2016.

MALDONADO JUNIOR, W. Programa Estatístico AgroEstat. Disponível em <https://www.agroestat.com.br/>. Acesso em 20 de setembro de 2019.

MACHINESKI, G.S.; SCARAMAL, A.S.; MATOS, M.A.; MACHINESKI, O.; COLOZZI FILHO, A. Efficiency of pre- inoculation of soybeans with Bradyrhizobium up to 60 days before sowing. **African Journal of Agricultural Research** 13(24):1233-1242. 2018.

PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; OLIVEIRA, G. E.; ROSA, M. C. M; COSTA NETO, J. Tratamento fungicida via peliculização e inoculação de Bradyrhizobium em sementes de soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 3, p. 433-440, 2009.

PEREIRA, C.E. et al. Compatibility among fungicide treatments on soybean seeds through film coating and inoculation with Bradyrhizobium strains. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, p.585-589, 2010.

RAIJ, VAN et al. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade do solo**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001.

ROYSTON, P. Remark AS R94: A Remark on Algorithm AS 181: The W-test for Normality **Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics)** v. 44, n. 4 p. 547-551. 1995.

SANTOS, P. F.; ANDRADE SILVA, R.; COSTA, A. A.; CANTELLI, D. A. V.; MARTINS, M. C. Efeito do tratamento de sementes na nodulação e crescimento inicial da cultura da soja. **Cultivando o Saber**, v. 6, n. 4, p. 96-108, 2013.

SILVA NETO, M.L.; SMIDERLE, O.J.; SILVA, K.; FERNANDES JÚNIOR, P.I.; XAVIER, G.R.; ZILLI, J.É. Compatibilidade do tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de Bradyrhizobium. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 48(1):80-87. 2013.

ZILLI, J.E. et al. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.335-338, 2010.