

**CAMILLA ATSUMI ZANUNCIO SEDIYAMA**

**TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM  
FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

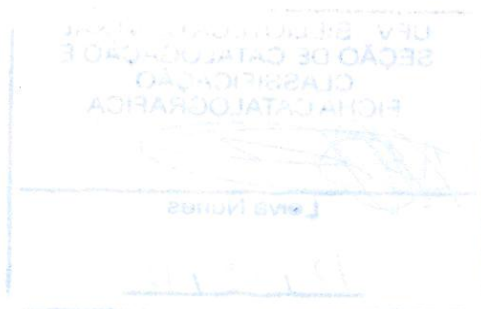
S448t  
2012

Sedyama, Camilla Atsumi Zanuncio, 1982-  
Tratamento antecipado de sementes de soja com fungicida,  
protetor celular e inoculante / Camilla Atsumi Zanuncio  
Sedyama. – Viçosa, MG, 2012.  
x, 80f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Múcio Silva Reis.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Glycine max*. 2. Soja – Semente. 3. Polímeros. 4.  
Rizóbio. 5. Nitrogênio – Fixação. 6. Fungicidas. 7.  
Germinação. 8. Sementes – Viabilidade. 9. Crescimento  
(Plantas) I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.3452




**CAMILLA ATSUMI ZANUNCIO SEDIYAMA**

**TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM  
FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2012.

  
\_\_\_\_\_  
**Carlos Sigueyuki Sedyama**  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Newton Deniz Piovesan**  
(Coorientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Francisco de Alcântara Neto**

  
\_\_\_\_\_  
**Messias Gonzaga Pereira**

  
\_\_\_\_\_  
**Múcio Silva Reis**  
(Orientador)

*Aos meus queridos pais,  
que me propiciaram uma vida digna em que eu pudesse crescer, acreditando que tudo é  
possível, desde que sejamos honestos, íntegros de caráter e tendo a convicção de que  
sonhar e concretizar os sonhos só dependerão de nossa vontade,*

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar meus caminhos.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de aperfeiçoamento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Múcio Silva Reis, pela dedicada orientação, sempre segura, pela amizade, pela confiança e pelos ensinamentos.

Ao professor Kent J. Bradford, pela orientação, pelos ensinamentos e pela oportunidade de participação do doutorado sanduíche em seu laboratório, na Universidade da Califórnia, Davis –UCDavis.

Ao doutor Ni Bing-Rui, pelo fornecimento do polímero protetor celular.

Ao doutor Newton Deniz Piovesan, pela coorientação, pelas sugestões e pela amizade.

À professora Maria Catarina Megumi Kasuya e ao mestrando Bruno Coutinho Moreira, do Departamento de Microbiologia, pelas sugestões.

À professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pelos conselhos e pela amizade.

Ao professor José Cola Zanuncio e à pesquisadora Teresinha Vinha Zanuncio, pelos conselhos desde a graduação.

Aos professores Tuneo Sedyama, Tocio Sedyama, Gilberto Chohaku Sedyama e, em especial, ao professor Carlos Sigueyuki Sedyama, pelo exemplo de vida, pelo estímulo intelectual, pela atenção, pelos valiosos aconselhamentos e pelo apoio constante.

Aos demais professores do Departamento de Fitotecnia, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do Laboratório de Melhoramento de Soja e Pesquisa de Sementes: José Bernardino Luiz Pires, José Custódio da Silva, José Cupertino Pinheiro, Paulo Afonso Paiva e Paulo Daniel Fontes, pela amizade, dedicação e eficiente ajuda na realização deste trabalho.

À Leidiane de Jesus Fortunato, Gleice Machado Ferreira e Philippe André Block dos Guimarães Peixoto, pela importante ajuda neste trabalho durante o período de estágio e pela amizade.

Aos amigos de Viçosa, do Grupo Escoteiro 30º GECON-Viçosa, do Rotary Youth Exchange Program – Viçosa/Japão, do Curso de Agronomia, da Coordenação de formatura “Os MAIORais, iguais a eles nunca mais - UFV/2006”, do Laboratório da UCDavis, do

Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, do Rotary Club de Viçosa Albert Sabin e do curso de Direito da ESUV, em especial Alessandra Morano Carneiro, Alfred Huo, Ana Estela Pessin, Ana Lídia Cardoso, Beatriz Brasileiro, Beatriz Leal, Candida Manfio, Carla Quinhones, Celestina Pedras, Christiane Lopes Martins, Christina Lopez, Deisy Amora, Elaine Herbele, Elizabeth Marques, famílias Nasu, Aseti, Baba, Takaki, Yonekura e Orishikise, Fei-Yian Yoong, Gisele Sales Batista, Hayna Adub, Heloisa Akemi Sedyama, Jackie Ha, Jacson Zuchi, Jiang Jing, Larissa Tannus Goulart, Lêda Verônica Benevides Dantas, Luís Eduardo Panozzo, Márcio Dias Pereira, Maria Carmem Bhering, Mariana Campana, Mariana Lopes Martins, Maristela Dias, Miguel Macias, Patrícia Conceição, Paulo César Hilst, Pedro Bello, Peetambar Dahal, Sebastian Reyes Chin-Wo, Shari-Lane Botche, pela agradável convivência e pela amizade.

A meus pais, Carlos Sigueyuki Sedyama e Elizabete Zanuncio Sedyama, por tudo que são, pelo amor incondicional, pelo carinho e exemplo de vida.

A meus irmãos, André Kiyomitsu e Ricardo Yukihiro, pela grande amizade e pelos constantes estímulos.

Às minhas cunhadas, Catarina e Bárbara, pelo incentivo e pela amizade.

Ao meu sobrinho e afilhado, Antônio Yuto Oliveira Sedyama, pela alegria, pela amizade e pelo carinho.

Ao meu sobrinho, Miguel Hiro Sartório Sedyama, pela alegria.

Ao meu afilhado, Klaus Zanuncio Protil, pela amizade e pelo carinho.

À vovó Marta, pelo amor e exemplo de trabalho; e aos avós Antônio, Yuto e Sumie, pelas lembranças de coragem, pela alegria e por suas histórias de sucesso na educação dos filhos, diante de todas as adversidades.

À Maria Benedita Caetano, pela ternura e dedicação.

Aos meus familiares, pela união e solidariedade.

Ao meu marido, Bruno Ferreira Bhering, pelo companheirismo, carinho, amor e, principalmente, por fazer parte da minha vida.

Enfim, o meu reconhecimento e a minha gratidão a todos aqueles que, de alguma forma, auxiliaram na realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

CAMILLA ATSUMI ZANUNCIO SEDIYAMA, filha de Carlos Sigueyuki Sedyama e Elizabete Zanuncio Sedyama, nasceu no dia 13 de maio de 1982, em Ponte Nova, no Estado de Minas Gerais.

Cursou o Primeiro Grau na Escola Normal Nossa Senhora do Carmo, em Viçosa, Minas Gerais. Participou do *Youth Exchange Program* do Rotary Internacional, por um ano na cidade de Kashima, no estado de Saga, Japão, e concluiu o Segundo Grau no Colégio Anglo de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, em 2000.

Em 2006, concluiu o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, recebendo o título de Engenheira Agrônoma.

Em maio de 2006, iniciou, na Universidade Federal de Viçosa, o Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia; defendeu a dissertação em 22 de fevereiro de 2008.

Ingressou no curso de Doutorado em março de 2008, no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia; em 2010, realizou parte de sua formação na Universidade da Califórnia, em Davis, nos Estados Unidos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	01
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	05
<b>I. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. I- EFEITOS NA SOBREVIVÊNCIA DE RIZÓBIO; NA GERMINAÇÃO E NO VIGOR DAS SEMENTES .....</b>	<b>09</b>
SUMMARY .....	11
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	17
4. CONCLUSÕES .....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
<b>II. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. II- INFLUÊNCIA NA NODULAÇÃO E NO CRESCIMENTO DA PLANTA .....</b>	<b>34</b>
SUMMARY .....	36
1. INTRODUÇÃO .....	38
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	43
4. CONCLUSÕES .....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
<b>III. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. III- RELAÇÕES CAUSA-EFEITO DA NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DA SOJA .....</b>	<b>57</b>
SUMMARY .....	59
1. INTRODUÇÃO .....	61
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	66
4. CONCLUSÕES .....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	76

## RESUMO

SEDIYAMA, Camilla Atsumi Zanuncio, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012. **Tratamento antecipado de sementes de soja com fungicida, protetor celular e inoculante.** Orientador: Múcio Silva Reis. Coorientadores: Carlos Sigueyuki Sedyama e Newton Deniz Piovesan.

A utilização de sementes de alto vigor na implantação de uma lavoura de soja é essencial para o estabelecimento de uma população adequada de plantas. Nessa cultura, a fixação biológica de nitrogênio, por meio da simbiose soja-*Bradyrhizobium spp*, foi uma das grandes propulsoras da sojicultura em larga escala, no Brasil, propiciando redução significativa do custo de produção, pela substituição da adubação nitrogenada. A inoculação das sementes é realizada imediatamente antes da semeadura, sendo, frequentemente, descrita como uma atividade que reduz a eficiência dos trabalhos de semeadura pelo tempo despendido na operação. Por vezes, essa dificuldade tem sido responsável pela não utilização da inoculação na cultura por parte dos agricultores, com prejuízos à produtividade das lavouras. No entanto, o uso de polímero protetor celular pode ser uma forma de proteção das sementes durante a inoculação e também responsável pela sobrevivência das células bacterianas no período entre o tratamento das sementes até o plantio, eliminando a necessidade do plantio imediato das sementes inoculadas. Portanto, objetivou-se, neste trabalho, avaliar o número de unidades formadoras de colônias bacterianas, a germinação e o vigor das sementes de soja, a nodulação e o crescimento das plantas, o relacionamento entre os componentes da produção de sementes por planta, o teor de nitrogênio nas folhas e o número e a massa de nódulos por planta, sob a influência dos vários tratamentos derivados da combinação em fatorial, constituído das presenças ou ausências da aplicação de fungicida, do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, da inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e dos diferentes períodos de antecipação da aplicação desses produtos à data da semeadura. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR foram tratadas com o fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim+thiram), o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, o inoculante turfoso Rizo-Plus, além de armazenadas em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero, uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio. Para o teste de unidades formadoras de colônias, foram utilizados 16 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado com três repetições, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x4 (fungicida x polímero x períodos (semanas) de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura). Para os demais testes, o delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 32 tratamentos, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x2x4 (fungicida

x polímero x inoculante x períodos). Após o tratamento das sementes, foram colhidas amostras para a avaliação do número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do inoculante aderido às sementes e, para a avaliação da qualidade fisiológica pelo teste de germinação (primeira contagem e final), envelhecimento acelerado, emergência em leito de areia e índice de velocidade de emergência. Em casa de vegetação, foram conduzidas duas plantas, em vasos de dois litros, contendo solo. No estágio R3, avaliaram-se o número e peso da matéria seca de nódulos por planta, peso da matéria seca por nódulo, teor de nitrogênio foliar, matéria seca da parte aérea e da raiz; no estágio R8, avaliaram-se o número de vagens por planta, número de sementes por vagem, peso de cem sementes e peso de sementes por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e de trilha, e os efeitos foram testados em  $\alpha=0,05$ . Concluiu-se que a aplicação de fungicida e/ou de polímero e/ou de inoculante melhorou a germinação das sementes e a emergência das plântulas de soja em leito de areia. O tratamento das sementes de soja com polímero, com ou sem fungicida, aumentou o número médio de unidades formadoras de colônias em todos os períodos estudados, mantendo a viabilidade do produto até a semeadura. Sementes tratadas com fungicida apresentaram maior número de unidades formadoras de colônias e maior germinação que aquelas não tratadas, entretanto, à medida que houve aumento da antecipação da aplicação do fungicida, essa melhoria tendeu a desaparecer. A combinação fungicida e inoculante foi o tratamento que promoveu melhor desempenho das sementes no teste de envelhecimento acelerado, pois a inoculação reduziu a matéria seca de raiz, aumentou o teor de nitrogênio foliar e aumentou a produtividade. A aplicação de fungicida aumentou a matéria seca de raiz, enquanto a de polímero aumentou o tamanho de nódulos. O tratamento fungicida + inoculante reduziu o número e o acúmulo de matéria seca de nódulos no período zero. Entretanto, nos períodos de duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com inoculação, seguido de fungicida + inoculação. O peso da matéria seca de nódulos por planta é bom indicador da eficiência da nodulação. A inoculação resultou em maior número de vagens por planta, que se constituiu no componente de maior influência sobre a produtividade da soja. O tratamento polímero + inoculante, seguido do tratamento apenas inoculante, proporcionou maior acúmulo de matéria seca de nódulos quando comparado com os demais tratamentos, no período zero semana do tratamento ao plantio. Também proporcionou produtividade superior ao controle em todos os períodos de antecipação.

## ABSTRACT

SEDIYAMA, Camilla Atsumi Zanuncio, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2012. **Anticipated treatment of soybean seeds with fungicide, cell protector polymer and inoculant.** Advisor: Múcio Silva Reis. Co-advisors: Carlos Sigueyuki Sedyama and Newton Deniz Piovesan.

The utilization of high vigor seeds in the establishment of a soybean crop is essential for obtaining adequate plant population. In this crop, the biological nitrogen fixation through soybean-*Bradyrhizobium* symbiosis was a major driving force for large-scale cultivation of this crop in Brazil by replacing the mineral N fertilization and providing a significant reduction of production cost. The inoculation procedure is performed just before the sowing. It is frequently described as an action that reduces the efficiency of sowing operation due to the time expended. In some instances, this difficulty has been responsible for no inoculation by the farmers, with losses in productivity. However, the use of cell protector polymer can be a form of protection during the inoculation of bacteria and also extends the period of survival of bacterial cells between seed treatment and sowing, eliminating the immediate sowing of seeds inoculated. Therefore, the objective of this work was to evaluate number of colony-forming units of bacteria, the germination and vigor of soybean seeds, the nodulation and growth plants, the interrelationship of the components of seed yield per plant, the nitrogen content in leaves and the number and weight of nodules per plant under the influence of the various treatments derived from the factorial combination consisting of the presence or absence of application of fungicides, EnVigor<sup>TM</sup> cell protector polymer, inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*, and four periods of application of these treatments before sowing. Soybean seeds from cultivar TMG 131 RR were treated with the Derosal Plus<sup>®</sup> fungicide (carbendazim + thiram), EnVigor<sup>TM</sup> cell protector polymer, RizoPlus peat inoculants, and stored at environmental conditions in paper bags for a period of zero, one, two and three weeks before sowing. To evaluate the number of colony-forming units, a completely randomized experimental design with three replications and 16 treatments in a 2x2x4 factorial (fungicide x polymer x periods in anticipation of the application of products to sowing) was used. For the evaluation of other traits, the experimental design was randomized blocks with four replications and 32 treatments in a factorial 2x2x2x4 (fungicide x polymer x inoculation x periods). After seed treatment, colony-forming units (CFU) per gram of inoculant on seeds and the seed physiological quality by the germination test (first and final counting), accelerated aging test, emergence and emergence speed rate of seedlings in the sand bed were evaluated. In a greenhouse two

plants were raised in a two-liter vessel each containing soil. At the R3 stage, the number and dry matter weight of nodules per plant, dry matter weight per nodule, nitrogen rate in the leaves, aerial part and root system dry matter weight were evaluated; at the R8 stage, number of pods per plant, number of seeds per pod, weight of hundred seeds and seed weight per plant were evaluated. The data were submitted to the analysis of variance, path analysis and the effects were tested at  $\alpha=0.05$ . It was concluded that there was improvement in germination and emergence of seedlings with the application of any product, either alone or combined. The use of polymer, with and without fungicide, increased the average number of colony-forming units in all studied period, maintaining the viability of the product until the sowing date. Seeds with fungicide had higher number of colony-forming units and germination than those without treatment; however, with increased anticipation of product application, the improvement in the germination tended to disappear. Seeds inoculated and treated with fungicide was the best treatment on the accelerated aging test. Inoculation decreased the root dry matter, increased nitrogen rate in the leaves and increased productivity. Fungicide application increased the root system dry matter weight, while the application of polymer increased the size of the nodules. The fungicide + inoculation treatment reduced the number and dry matter accumulation of nodules in the zero period. However, in periods of two and three weeks in anticipation of the application of the products of sowing, the best results were observed with inoculation, followed by fungicide + inoculation treatment. The dry matter weight of nodules per plant is a good indicator of the efficiency of nodulation. The inoculation resulted in higher number of pods per plant, which is the component of greatest influence on soybean productivity. Polymer + inoculation treatment, followed by inoculation alone treatment provided a higher dry matter accumulation of nodules when compared with other treatments in period zero. This treatment also provided higher productivity than the control in all periods of anticipation to sowing.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a semeadura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tem sido recomendada sem uso de fertilizantes nitrogenados. A adaptabilidade da cultura às mais diversas condições edafoclimáticas brasileiras deve-se, em grande parte, à fixação biológica de nitrogênio (FBN), que substitui a adubação nitrogenada mineral, propiciando redução significativa do custo de produção (HUNGRIA *et al.*, 2007).

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja. Estima-se que, para produzir 1000 kg de grãos, são necessários aproximadamente 80 kg de N. Basicamente, as fontes de N para a cultura da soja são os fertilizantes nitrogenados e o N atmosférico, que se torna disponível através da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (HUNGRIA *et al.*, 2001). Esta, por meio da simbiose da soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (rizóbio), foi uma das grandes propulsoras para o cultivo em larga escala dessa cultura no Brasil, em que bactérias, quando em contato com as raízes da soja, infectam-nas, via pelos radiculares, formando os nódulos. Esse processo resulta na transformação do N<sub>2</sub> em amônia (NH<sub>3</sub>), intermediado pela enzima nitrogenase, presente em determinados grupos de bactérias.

Alves *et al.* (2003) mencionam que a inoculação das sementes de soja com *Bradyrhizobium* spp é rotineiramente utilizada no Brasil, uma vez que a eficiência desses microrganismos fixadores de nitrogênio tem possibilitado a obtenção de altos rendimentos de grãos, sem necessidade de aplicação de nitrogênio mineral.

Segundo Coelho (2001), para que a fixação biológica seja explorada em seu máximo potencial, é necessário que estirpes eficientes estabeleçam-se nas raízes das plantas. Quando a população microbiana no solo não é grande ou as estirpes não são eficientes, como ocorre em solo de cerrado recém-desmatado, torna-se necessário recorrer a métodos artificiais de introdução de estirpes selecionadas. Campo & Hungria (2000) nominam alguns fatores que podem interferir no estabelecimento da simbiose planta-rizóbio, como estirpe utilizada, adesivos, dose do inoculante, tratamento de sementes com fungicidas e micronutrientes, adubação da cultura e condições ambientais.

O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por microrganismos chamados diazotróficos (bactérias e cianobactérias fixadoras de nitrogênio). Algumas estirpes de *Bradyrhizobium* são mais eficientes na fixação de nitrogênio. No Brasil, são recomendadas quatro estirpes para a cultura da soja, sendo duas de *B. elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) e duas de *B. japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080) (EMBRAPA, 2010).

O tratamento fitossanitário de sementes de soja, principalmente com fungicidas, também é prática amplamente difundida, uma vez que evita a disseminação de fitopatógenos e a infecção prematura das plantas, reduzindo os índices de perdas (BUENO *et al.*, 2003). Atualmente, cerca de 90 % das sementes de soja comercializadas no Brasil recebem tratamento com produtos químicos protetores (PESKE & LEVIEN, 2005). O uso de fungicidas em sementes de soja visa a melhorar o desempenho germinativo, originando plantas mais vigorosas e sadias. Têm sido observados resultados positivos, tais como aumento na percentagem de germinação pelo tratamento com captan + carbendazim, captan + thiabendazole, captan + tiofanato metílico, quintozene + tiofanato metílico (GIANASI *et al.*, 2000); e elevação da emergência no campo, utilizando-se o tratamento com thiram, benomil, thiabendazole, carboxim + thiram, carbendazim + thiram e iprodione + thiram (LASCA *et al.*, 1987).

A aplicação de fungicidas via tratamento de sementes pode reduzir significativamente a população de *Bradyrhizobium* nas sementes (ANNAPURNA, 2005), devido ao seu princípio ativo, pH e solventes utilizados nas formulações (CAMPO *et al.*, 2009), e também pode reduzir o número e a matéria seca de nódulos (ANDRÉS *et al.*, 1998; BIKROL *et al.*, 2005). Entretanto, dependendo dos fungicidas aplicados nas sementes, não são observados efeitos significativos sobre a nodulação (BIGATON, 2005).

A eficiência da produção de nódulos em leguminosas depende, entre outros fatores, da manutenção do número mínimo de células viáveis da bactéria no inoculante, desde a sua fabricação até o uso pelo agricultor (FERREIRA *et al.*, 2003). Na maioria das lavouras de soja do país, o processo de inoculação das sementes ocorre no momento da semeadura, sendo, frequentemente, descrito como uma atividade que reduz a eficiência da semeadura, em razão do tempo despendido para sua operação. Por vezes, essa dificuldade tem sido responsável pela não utilização da inoculação na cultura por parte dos agricultores (CAMPO & HUNGRIA, 2007).

Juntamente com o tratamento fungicida das sementes de soja, tem sido realizada a aplicação de polímeros, os quais formam uma película ao redor das sementes para uniformizar o tamanho e o formato destas, assegurando a precisão na semeadura e na aplicação dos produtos químicos, causando, ainda, uma significativa redução nos custos da lavoura, denominado peliculização ou “film coating” (TAYLOR *et al.*, 1997). Os polímeros utilizados no tratamento de sementes podem aumentar a retenção e a uniformidade de distribuição de fungicidas na superfície das sementes (REICHENBACH, 2004). Em outras culturas, tem-se observado que a aplicação de polímeros não afeta a germinação e o vigor das sementes, como mostram os trabalhos de lima *et al.* (2006), com

algodão, e rivás *et al.*, 1998, com milho. Pereira *et al.* (2007) concluíram que a peliculização não interfere na ação de fungicidas utilizadas no tratamento de sementes de soja.

O uso de polímero protetor celular no tratamento de sementes pode ser uma forma de proteção, durante a inoculação das bactérias, e também no prolongamento do período de sobrevivência das células bacterianas, entre o tratamento das sementes até o plantio. A operação de inoculação é simples, mas exige que seja executada pouco antes do plantio e, quando há atraso no plantio, recomenda-se a re-inoculação, o que representa dificuldade, pelo acúmulo de serviços na época dos plantios, principalmente quando se pretende plantar em grandes áreas. Diversos experimentos no Brasil, durante três anos consecutivos, indicaram ser possível a inoculação antecipada das sementes de soja em até cinco dias antes da semeadura (CAMPO & HUNGRIA, 2007). No entanto, a aplicação dessa estratégia de inoculação depende de vários fatores, especialmente da habilidade da bactéria sobreviver na semente, o que tem restringido o uso dessa prática (DATE, 2001).

Nesse sentido, o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, de base orgânica, biodegradável, multifuncional, foi desenvolvido para o recobrimento de sementes com o objetivo de aumentar a vida útil das bactérias, bem como manter o inoculante aderido às sementes.

O nitrogênio (N) é o elemento mais abundante na atmosfera terrestre (em torno de 70%). Nas plantas, é componente responsável por várias reações, além de fazer parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. Por ser elemento essencial, sua deficiência afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e translocação de fotoassimilados e a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar primeiramente afetado (RYLE *et al.*, 1979; TAIZ & ZIEGER, 2004). A consequência disso é a diminuição do crescimento das plantas e da produtividade.

A produtividade de sementes ou grãos é determinada pelo número de sementes por unidade de área e a massa da semente. Entretanto, muitas, porém não todas, diferenças em produtividade induzidas pelo ambiente são devidas à diferença no número de sementes. A massa da semente é geralmente inversamente correlacionada ao número de sementes por unidade de área (HANSON, 1986). A massa da semente é determinada pela taxa de crescimento da semente, a duração do período de enchimento da semente, ambos geneticamente controlados (EGLI *et al.*, 1981, 1984; GULDAN & BRUN, 1985), embora também ocorram influências ambientais (EGLI & WARDLAW, 1980; MECKEL *et al.*, 1984; EGLI *et al.*, 1985). Tentativas de aumentar a produtividade pelo aumento do número de sementes ou da sua massa têm resultado em insucesso, em razão da compensação que ocorre entre esses dois

componentes (SWANK *et al.*, 1987). A compensação existente entre o número e a massa da semente fez Hanson (1986) concluir que as sementes são receptáculos de assimilados, e os fatores limitantes da produtividade ocorrem em algum lugar fora da semente.

Alguns estudos (JOHNSTON *et al.*, 1969; SCHOU *et al.*, 1978; EGLI & YU, 1991) têm indicado que o número de sementes por unidade de área também dependem das condições ambientes durante as fases críticas da floração e do estabelecimento das vagens. Os efeitos negativos do *stress* nesses períodos são particularmente importantes e podem reduzir a produtividade pela redução do número de vagens, número de sementes e a massa da semente (DOSS & THURLOW, 1974; SIONIT & KRAMER, 1977; ASHLEY & ETHRIDGE, 1978).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o número de unidades formadoras de colônias bacterianas, a germinação e o vigor das sementes de soja, a nodulação e o crescimento das plantas, o relacionamento entre os componentes da produção de sementes por planta, o teor de nitrogênio nas folhas e o número e a massa de nódulos por planta, sob a influência dos vários tratamentos derivados da combinação em fatorial, constituído das presenças ou ausências da aplicação de fungicida, do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, da inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e dos diferentes períodos de antecipação da aplicação desses produtos à data da semeadura.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v.252, p.1-9, 2003.
- 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**, v.26, n.2, p.141-145, 1998.
- ANNAPURNA, K. *Bradyrhizobium japonicum*: Survival and nodulation of soybean as influenced by fungicide treatment. **Indian Journal of Microbiology**, v.45, n.4, p.305-307, 2005.
- ASHLEY, D. A.; ETHRIDGE, W. J. Irrigation effect on vegetative and reproductive development of three soybean cultivars. **Agronomy Journal**, v.70, p.467-471, 1978.
- BIGATON, D. **Fungicidas e micronutrientes aplicados em tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio**. 2005. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Dourados, MS.
- BIKROL, A.; SAXENA, N.; SINGH, K. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v.4, n.7, p.667-671, 2005.
- BUENO, C. J.; MEYER, M. C.; SOUZA, N. L. Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5019 e SEMIA 5079) e na nodulação da soja. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.25, n.1, p.231-235, 2003.
- CAMPO, J. R.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 32p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 26).
- 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**, v.48, p.154-163, 2009.
- CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA, 13., Londrina,

2006. **Anais**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. P.89-123 (Embrapa Soja. Documentos, 290).

COELHO, M. A. O. **Atividade da nitrato redutase, composição mineral e caracteres da planta de trigo associados à aplicação de molibdênio, à peletização e à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense***. 2001. 149p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

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

DOSS, B. D.; THURLOW, D. L. Irrigation, row width, and plant population in relation to growth characteristics of two soybean cultivars. **Agronomy Journal**, v.66, p.620-623, 1974.

EGLI, D. B., FRASER, J.; LEGGETT, J. E.; PONELEIT, C. G. Control of seed growth in soya beans. **Annals of Botany**, London, v.48, p.171-176, 1981.

EGLI, D. B.; GUFFY, R. D.; MECKEL, L. W.; LEGGETT, J. E. The effect of source sink alterations on soybean seed growth. **Annals of Botany**, London, v.5, p.395-402, 1985.

EGLI, D. B.; ORF, J. H.; PFEIFFER, T. W. Genotypic variation for duration of seed fill in soybean. **Crop Science**, v.24, p.587-592, 1984.

EGLI, D. B.; WARDLAW, I. F. Temperature response of seed growth characteristics of soybeans. **Agronomy Journal**, v.72, p.560-564, 1980.

EGLI, D. B.; YU, Z. Crop growth rate and seeds per unit area in soybean. **Crop Science**, v.31, p.439-442, 1991.

EMBRAPA - **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. - Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255p.

FERREIRA, J.S.; SABINO, D.C.C.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Seleção de veículos para o preparo de inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.2, p.6-12, 2003.

GIANASI, L.; FILHO, A. B.; FERNANDES, N.; LOURENÇO, S. A.; SILVA, C. L. Eficiência do fungicida captan associado a outros fungicidas no tratamento químico de sementes de soja. **Summa Phytopatologica**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.241-245, 2000.

- GULDAN, S. J.; BRUN, W. A. Relationship of cotyledon cell number and seed respiration to soybean seed growth. **Crop Science**, v.25, p.815–819, 1985.
- HANSON, W. D. Control of dry matter accumulation in soybean than the two new cultivars CX232 and Spansoy 250, seeds. **Crop Science**. v.26, p.1195–1200, 1986.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48p.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina, Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- JOHNSTON, T. J.; PENDLETON, J. W.; PETERS, D. B.; HICKS, D. R. Influence of supplemental light on apparent photosynthesis, yield, and yield components of soybean. **Crop Science**, v.9, p.577–581, 1969.
- LASCA, C. C.; VALARINI, P.; SCHIMIDT, J. R.; VECHIATO, M. H. Tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com fungicidas no controle de Phomopsis phaseoli (Desm.) Sacc. **Summa Phytopathologica**, v.13, n.3-4, p.222-233, 1987.
- LIMA, L. B.; SILVA, P. A.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A. Peliculização e tratamento químico de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1091-1098, 2006.
- MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v.76, p.647–650, 1984.
- PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E.; BOTELHO, F. J. E.; OLIVEIRA, G. E.; TRENTINI, P. Desempenho de sementes de soja tratadas com fungicidas e peliculizadas durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.656-665, 2007.
- PESKE, S.; LEVIEN, A. Demanda de Sementes. In: ABRASEM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2005**. Tudo começa pelas sementes. Pelotas, p.10-13, 2005.
- REICHENBACH, J. Film-coating para agregar qualidade e segurança. **Seed News**, n.1, 2004.

- RIVAS, B. A.; McGEE, D. C.; BURRIS, J. S. Tratamiento de semillas de maiz con polimeros para el control de *Pythium* spp. **Fitopatologia Venezuelana**, v.1, n.1, p.10-15, 1998.
- RYLE, G. J. A.; POWELL, C.E.; GORDON, A. J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.145-153, 1979.
- SCHOU, J. B.; JEFFERS, D. L.; STREETER, J. G. Effect of reflectors, black boards, or shades applied at different stages of plant development on yield of soybeans. **Crop Science**, v.18, p.29-34, 1978.
- SIONIT, N.; KRAMER, P. J. Effect of water stress during different stages of growth of soybean. **Agronomy Journal**, v.69, p.274-278, 1977.
- SWANK, J. C., EGLI, D. B.; PFEIFFER, T. W. Seed growth characteristics of soybean genotypes differing in duration of seed fill. **Crop Science**. v.27, p.85-89, 1987.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R. et al., 3° ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.
- TAYLOR, A. G.; GRABE, D. F.; PAINE, D. H. Moisture content and water activity determination of pelleted and film-coated seeds. **Seed Science Technology**, v.19, n.1, p.24-32, 1997.

## **I. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. I – EFEITOS NA SOBREVIVÊNCIA DE RIZÓBIO; NA GERMINAÇÃO E NO VIGOR DAS SEMENTES.**

RESUMO – A utilização de sementes de alto vigor na implantação de uma lavoura de soja é essencial para o estabelecimento de uma população adequada de plantas. Nessa cultura, *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* são responsáveis pela nutrição nitrogenada e constituem fator importante para a produção econômica dessa leguminosa. A inoculação é realizada após o tratamento com fungicida nas sementes, imediatamente antes do plantio, e, quando há atraso no plantio, recomendam-se a re-inoculação. No entanto, o uso de polímero protetor celular pode ser uma forma de proteção durante a inoculação das bactérias e também no prolongamento do período de sobrevivência das células bacterianas entre o tratamento das sementes até o plantio. Portanto, objetivou-se avaliar o número de unidades formadoras de colônias bacterianas, a germinação e o vigor das sementes de soja tratadas ou não com fungicida, polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup> e inoculante, com diferentes períodos de antecipação da aplicação dos produtos à data da semeadura. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR foram tratadas com o fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim+thiram), o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, o inoculante turfoso Rizo-Plus e armazenadas em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero, uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio. Para o teste de unidades formadoras de colônias, foram utilizados 16 tratamentos em delineamento inteiramente casualizado com três repetições, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x4 (fungicida x polímero x períodos (semanas) de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura). Para os demais testes, o delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 32 tratamentos, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x2x4 (fungicida x polímero x inoculante x períodos). Após o tratamento das sementes, avaliaram-se a unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do inoculante aderido às sementes, primeira contagem e final pelo teste de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em leito de areia e índice de velocidade de emergência. Foram realizadas as análises de variância e os gráficos de acordo com a sua significância ( $P \leq 0,05$ ). A aplicação de fungicida e/ou de polímero e/ou de inoculante melhorou a germinação das sementes e a emergência das plântulas de soja em leito de areia. O tratamento das sementes de soja com polímero, com ou sem fungicida, aumentou o número médio de unidades formadoras de colônias em todos os períodos estudados, mantendo a viabilidade do produto até a semeadura. Sementes tratadas com fungicida

apresentaram maior número de unidades formadoras de colônias e maior germinação que aquelas não tratadas, entretanto, à medida que houve aumento da antecipação da aplicação do fungicida, essa melhoria tendeu a desaparecer. A combinação fungicida e inoculante foi o tratamento que promoveu melhor desempenho das sementes no teste de envelhecimento acelerado.

Palavras-Chave: *Glycine max*; germinação; vigor; unidades formadoras de colônias; inoculante; fungicida; polímero.

## **I. ANTICIPATED TREATMENT OF SOYBEAN SEEDS WITH FUNGICIDE, CELL PROTECTOR AND INOCULATE. I – EFFECTS ON SURVIVAL OF RHIZOBIA; GERMINATION AND SEED VIGOR.**

SUMMARY – The use of high vigor seeds in the establishment of a soybean crop is essential for obtaining adequate plant population. In this crop, *Bradyrhizobium japonicum* and *B. elkanii* are responsible for nitrogen nutrition and provide important factor for the economic production of this legume. Inoculation is carried out after the treatment with fungicide of the seeds immediately before sowing, and when the sowing is delayed, re-inoculation is recommended. However, the use of cell protector polymer can be a form of protection during the inoculation of bacteria and also extends the period of survival of bacterial cells between seed treatment and sowing. The objective of this work was to evaluate number of colony-forming units of bacteria, the germination and vigor of soybean seeds with fungicide application, EnVigor<sup>TM</sup> cell protector polymer and inoculation, with different periods of anticipated application of these treatments for sowing. Soybean seed from cultivar TMG 131 RR were treated with the Derosal Plus<sup>®</sup> fungicide (carbendazim + thiram), EnVigor<sup>TM</sup> cell protector polymer, RizoPlus peat inoculants, and stored at environmental conditions in paper bags for a period of zero, one, two and three weeks before sowing. To evaluate the number of colony-forming units, a completely randomized experimental design with three replications and 16 treatments in a 2x2x4 factorial (fungicide x polymer x periods in anticipation of the application of products to sowing) was used. For the evaluation of other traits, the experimental design was randomized blocks with four replications and 32 treatments in a factorial 2x2x2x4 (fungicide x polymer x inoculation x periods). After seed treatment, colony-forming units (CFU) per gram of inoculant on seeds, the first and final counts by the germination test, accelerated aging test, emergency and emergency rate of seedlings in the sand bed were evaluated. Analyses of variance were performed by ANOVA and the graphics were drawn according to the statistical significance ( $P \leq 0.05$ ). There was improvement in germination and emergence of seedlings with the application of any product, either alone or combined. The use of polymer, with and without fungicide, increased the average number of CFU in all studied period, maintaining the viability of the product until the sowing date. Seeds with fungicide had higher number of CFU and germination than those without treatment; however, with increased anticipation of product application, the improvement in the germination tended to disappear. Seeds inoculated and treated with fungicide was the best treatment on the accelerated aging test.

Key-words: *Glycine max*; germination; vigor; colony-forming unit; inoculants; fungicide; polymer.

## 1. INTRODUÇÃO

O tratamento fitossanitário de sementes de soja, principalmente com fungicidas, é prática amplamente difundida, uma vez que evita a disseminação de fitopatógenos e a infecção prematura das plantas, reduzindo os índices de perdas (BUENO *et al.*, 2003). Atualmente, cerca de 90 % das sementes de soja comercializadas no Brasil recebem tratamento com produtos químicos protetores (PESKE & LEVIEN, 2005).

O uso de fungicidas em sementes de soja visa a melhorar o desempenho germinativo, originando plantas mais vigorosas e sadias. Resultados positivos têm sido observados a partir dessa técnica, tais como: aumento na percentagem de germinação pelo tratamento com captan + carbendazim, captan + thiabendazole, captan + tiofanato metílico, quintozene + tiofanato metílico (GIANASI *et al.*, 2000) e elevação da emergência no campo utilizando-se o tratamento com thiram, benomil, thiabendazole, carboxim + thiram, carbendazim + thiram e iprodione + thiram (LASCA *et al.*, 1987).

O vigor das sementes é um dos principais atributos da qualidade fisiológica a ser considerado na implantação de uma lavoura (ROCHA *et al.*, 1996). O uso de sementes com essa característica, em qualquer cultura, assegura o estabelecimento de população adequada de plantas, sob ampla variação ambiental de campo durante a emergência, mesmo que não haja resposta consistente na produtividade final da cultura (MARCOS FILHO & KIKUTI, 2006). Sementes de alto vigor podem, entretanto, possibilitar aumento na produtividade, quando a densidade de plantas for menor que a requerida (TEKRONY & EGLI, 1991).

Juntamente com o tratamento fungicida das sementes de soja, tem sido realizada a aplicação de polímeros, os quais formam uma película ao redor das sementes para uniformizar o tamanho e o formato das mesmas, assegurando a precisão na sementeira e na aplicação dos produtos químicos, causando ainda uma significativa redução nos custos da lavoura, denominado peliculização ou “film coating” (TAYLOR *et al.*, 1997). Os polímeros utilizados no tratamento de sementes podem aumentar a retenção e a uniformidade de distribuição de fungicidas na superfície das sementes (REICHENBACH, 2004). Em outras culturas, tem-se observado que a aplicação desses polímeros não afeta a germinação e o vigor das sementes, como mostram os trabalhos de Lima *et al.* (2006), com algodão, e Rivas *et al.* (1998), com milho. Pereira *et al.* (2007) concluíram que a peliculização não interfere na ação de fungicidas utilizados no tratamento de sementes de soja.

O aumento do custo dos adubos nitrogenados e a preocupação cada vez maior com possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser considerados para o incentivo ao estudo do processo de fixação biológica do nitrogênio (FBN) (CANTARELLA & DUARTE, 2004). Esse processo é realizado por microrganismos, chamados diazotróficos (bactérias e cianobactérias fixadoras de nitrogênio).

Assim como o tratamento fungicida, a inoculação das sementes de soja com *Bradyrhizobium* é rotineiramente utilizada, pois o cultivo da soja depende, dentre vários fatores, da simbiose planta-rizóbio, já que essas bactérias fixadoras de nitrogênio, em condições propícias, podem suprir todo o nitrogênio requerido pelas plantas (HUNGRIA *et al.*, 1994). Algumas estirpes de *Bradyrhizobium* são mais eficientes na fixação de nitrogênio; no Brasil, são recomendadas quatro estirpes de rizóbios para a cultura da soja, sendo duas de *B. elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) e duas de *B. japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080) (EMBRAPA, 2010).

Os benefícios da associação das bactérias diazotróficas com a soja são bem conhecidos quanto à produtividade das lavouras. Para que a fixação biológica seja explorada em seu máximo potencial, é necessário que estirpes eficientes estabeleçam-se nas raízes das plantas. Quando a população microbiana no solo não é grande ou as estirpes não são eficientes, torna-se necessário recorrer a métodos artificiais de introdução de estirpes selecionadas. A prática de inoculação das sementes de soja é muito difundida (COELHO, 2001). Resta, no entanto, avaliar os possíveis efeitos da inoculação sobre a germinação e o vigor das sementes.

Alguns fatores, como: estirpe utilizada, adesivos, dose do inoculante, tratamento de sementes com fungicidas, adubação da cultura e condições ambientais podem interferir no estabelecimento da simbiose planta-rizóbio (CAMPO & HUNGRIA, 2000). Nesse sentido, a aplicação de fungicidas via tratamento de sementes pode reduzir significativamente a população de *Bradyrhizobium* nas mesmas (ANNAPURNA, 2005) e reduzir o número e a matéria seca de nódulos (ANDRÉS *et al.*, 1998; BIKROL *et al.*, 2005). Entretanto, dependendo dos fungicidas aplicados nas sementes, não são observados efeitos significativos sobre a nodulação (BIGATON, 2005).

Na soja, observou-se que a presença de *Methylobacterium* spp. estimulou a emissão de raiz primária das plântulas após cinco dias da instalação, devido a estímulo hormonal e quebra de dormência (KOENIG *et al.*, 2002). Diversos estudos têm indicado que a maioria das bactérias isoladas da rizosfera de plantas são produtoras de fito-hormônio (BARAZANI & FRIEDMAN, 1999). Para Raven *et al.* (2001), fito-hormônios são

essenciais na coordenação de diferentes aspectos da fisiologia de plantas, incluindo a germinação das sementes e formação de raízes.

A eficiência da produção de nódulos em leguminosas depende, entre outros fatores, da manutenção do número mínimo de células viáveis da bactéria no inoculante, desde a sua fabricação até o uso pelo agricultor (FERREIRA *et al.*, 2003).

O uso de polímero protetor celular no tratamento de sementes pode ser uma forma de proteção durante a inoculação das bactérias e também no prolongamento do período de sobrevivência das células bacterianas, entre o tratamento das sementes até o plantio. A operação de inoculação é simples, mas exige que seja executada pouco antes do plantio (EMBRAPA, 2010) e, quando há atraso no plantio, recomenda-se a re-inoculação, o que representa dificuldade, pelo acúmulo de serviços na época dos plantios, principalmente quando se pretende plantar em grandes áreas. O polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, de base orgânica, biodegradável e multifuncional foi desenvolvido para o recobrimento de sementes com o objetivo de aumentar a vida útil das bactérias bem como manter o inoculante aderido às sementes.

Portanto, objetivou-se avaliar o número de unidades formadoras de colônias bacterianas, a germinação e o vigor das sementes de soja tratadas ou não com fungicida, polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup> e inoculante, com diferentes períodos de antecipação da aplicação dos produtos à data da semeadura.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em Casa de Vegetação, no Laboratório de Melhoramento de Soja e Pesquisa de Sementes do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária - BIOAGRO, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR, de ciclo precoce, com resistência a nematóide de cisto e crescimento vegetativo adaptado para a produção na safrinha, obtidas junto a Sementes Adriana – Rondonópolis – MT, foram tratadas na seguinte sequência, quando os produtos foram aplicados: fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim + thiram), na dose de 200 mL por 100 kg de sementes; polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, na dose de 29 mL por 50 kg; e inoculante turfoso Rizo-Plus, na dose de 3,0 milhões de colônias de células da bactéria *Bradyrhizabium japonicum*, estipes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, por semente. Em seguida, as sementes foram armazenadas, em condição ambiente, em sacos de papel, por

um período de zero (semeio imediato), uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio. Após o armazenamento das sementes, foram realizados os seguintes testes:

**Unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do inoculante aderido às sementes** – a eficiência da inoculação das sementes de soja foi determinada pelo método de diluição seriada quantificando-se o número de células viáveis de bactérias formadoras de colônia recuperadas das sementes inoculadas. Duas sementes, retiradas aleatoriamente de amostras com 100 sementes (13 g), de cada tratamento, foram colocadas em erlenmeyers contendo 10 mL de solução salina 0,85% estéril e agitadas por 20 minutos, sendo considerada, então, a diluição  $10^0$ . A partir dessa diluição, foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-4}$ . Alíquotas de 0,1 mL de cada uma das quatro diluições foram inoculadas em placas de Petri, em três repetições. A solução foi espalhada utilizando alça de Drigalski no meio de cultura YEM (Yeast extract – Manitol) (UNTERGASSER, 2012), contendo vermelho congo. Após breve período de absorção das alíquotas inoculadas (10 min.), as placas foram armazenadas em incubadora bacteriológica a 28 °C, por 10 dias. A avaliação da manifestação do crescimento dos bradimirizóbios foi realizada no décimo dia, contando-se as unidades formadoras de colônias (UFC) nas placas de Petri para o cálculo do número de UFC por grama do inoculante aderido às sementes.

**Germinação (G)** – esse processo foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. Utilizou-se como substrato o rolo de papel *germitest*, umedecido com volume de água deionizada equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Após a instalação do teste, os rolos foram mantidos a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . As avaliações foram feitas no 5º e 8º dia após a semeadura, com o registro da percentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

**Primeira contagem da germinação (PC)** – corresponde à percentagem de plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste de germinação (MARCOS FILHO *et al.*, 1990).

**Envelhecimento acelerado (EA)** – as sementes foram colocadas em camada única, de modo a preencher totalmente a tela acoplada ao interior da caixa *gerbox*, a qual continha, ao fundo, 40 mL de água destilada. As caixas *gerbox* com as sementes foram tampadas e mantidas a 41 °C por 48 horas (MARCOS FILHO, 1994). Decorrido o período de envelhecimento, quatro repetições de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação (BRASIL, 2009). As amostras não apresentaram variação no teor de água superior a 2,0%. No quinto dia, foi realizada a avaliação do teste e registrada a percentagem de plântulas normais.

**Emergência das plântulas em leito de areia (E)** – quatro subamostras de 50 sementes por tratamento foram semeadas, em bandejas plásticas contendo areia como substrato, na profundidade de três centímetros. A contagem das plântulas emergidas foi realizada aos doze dias após a semeadura. O resultado foi expresso em percentagem de plântulas normais (NAKAGAWA, 1994).

**Índice de velocidade de emergência (IVE)** – foi realizado junto ao teste de emergência. Diariamente, as plântulas emergidas foram contadas até o décimo segundo dia após a instalação do teste, quando se observou o estabelecimento dos estandes. A temperatura média mínima e máxima foi de 13,3 e 34,8 °C, respectivamente, durante a realização do teste. O índice de velocidade de emergência das plântulas foi calculado segundo Maguire (1962),

$$IVE = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

em que:

*IVE* = índice de velocidade de emergência;

*N1* = número de plântulas emergidas na primeira contagem;

*D1* = número de dias para a primeira contagem;

*Nn* = número de plântulas emergidas na última contagem;

*Dn* = número de dias para a última contagem.

O teste de UFC foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos constituíram-se de um fatorial 2x2x4, correspondendo à presença ou ausência de fungicida, de polímero e de períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura. Totalizaram-se, portanto, 16 tratamentos. Os outros testes foram montados em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos constituíram-se de um fatorial 2x2x2x4, correspondendo à presença ou ausência de fungicida, de polímero, de inoculante e de períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura. Totalizaram-se, portanto, 32 tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância, e os gráficos, de acordo com a sua significância ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o software SAS (SCHABENBERGER & PIERCE, 2001; DELWICHE & SLAUGHTER, 2003).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância referente a unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do inoculante aderido às sementes, tratadas ou não com fungicida e/ou polímero, em

diferentes períodos de antecedência da semeadura (Tabela 1), mostrou efeitos significativos de polímero e semanas isoladamente e, ainda, efeito da interação fungicida x semana.

**Tabela 1-** Análise de variância dos dados obtidos pela unidades formadoras de colônias (UFC) das bactérias *Bradyrhizobium japonicum*, em sementes de soja inoculadas após o tratamento antecipado com e sem fungicida e/ou polímero protetor celular. Viçosa, Minas Gerais, 2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		UFC	
Fungicida (Fung)	1	17.60E+15	
Polímero (Pol)	1	386.0E+15	**
Fung x Pol	1	3.80E+15	
Período (Semanas)	3	25.4E+15	*
Fung x Semanas	3	28.1E+15	*
Pol x Semanas	3	6.69E+15	
Fung x Pol x Semanas	3	7.77E+15	
Erro	32	8.41E+15	
Média geral		1.97E+07	
Coeficiente de variação (%)		46.62	

\*, \*\* Significativo pelo teste F, a 5 e 1 % de probabilidade, respectivamente. Os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{\%/100}$  para análise estatística.

A análise de variância referente à germinação e ao vigor das sementes de soja tratadas ou não com fungicida, polímero e/ou inoculante, em diferentes períodos de antecedência da semeadura (Tabela 2), mostrou efeitos significativos de polímero na primeira contagem e na final de germinação; de fungicida, na primeira contagem e na final de germinação, no envelhecimento acelerado e na emergência em leito de areia; de inoculante, na primeira contagem e na final de germinação; do período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura no envelhecimento acelerado. Observaram-se, ainda, presença da interação fungicida x polímero, exceto no índice de velocidade de emergência; da interação polímero x inoculante, na primeira contagem e na final de germinação e na emergência em leito de areia; das interações fungicida x inoculante e fungicida x polímero x inoculante, na primeira contagem e na final de germinação; da interação polímero x semana, no envelhecimento acelerado e na emergência em leito de areia; da interação fungicida x semana, na primeira contagem e na final de germinação e no envelhecimento acelerado; da interação fungicida x polímero x semana, no índice de velocidade de emergência; e das interações polímero x inoculante x semana, fungicida x inoculante x semana e fungicida x polímero x inoculante x semana, no envelhecimento acelerado.

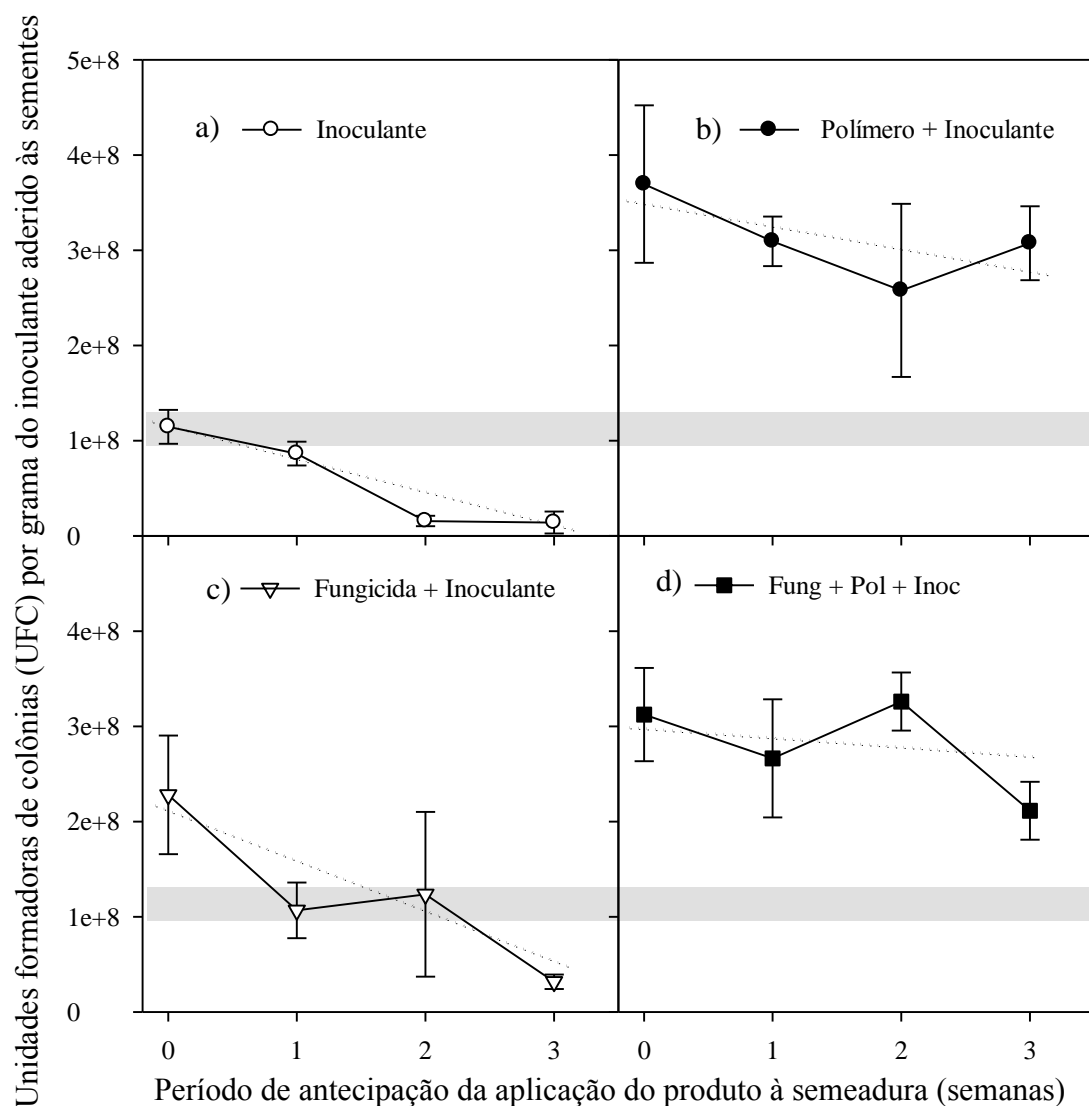
**Tabela 2-** Análise de variância dos dados obtidos pelos testes de germinação (primeira contagem – PC e contagem final – G), envelhecimento acelerado – EA e leito de areia (emergência em leito de areia – E e índice de velocidade de emergência – IVE), das sementes de soja após o tratamento antecipado com fungicida, polímero protetor celular e *Bradyrhizobium japonicum*. Viçosa, Minas Gerais, 2011.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio								
		PC		G		EA		E	IVE	
Bloco	3	39.7827		38.8953		4.7451		19.0797		0.1835
Polímero (Pol)	1	87.4700	*	83.7878	*	3.0681		43.2652		0.0962
Fungicida (Fung)	1	156.5688	**	161.5878	**	147.6786	**	323.4845	**	0.0417
Fung x Pol	1	93.8919	*	97.7875	*	64.9196	*	143.7635	*	0.0205
Inoculante (Inoc)	1	107.0184	*	111.1748	*	4.1788		1.4186		0.0145
Pol x Inoc	1	112.2836	*	116.5400	*	10.9481		117.7615	*	0.0041
Fung x Inoc	1	101.1248	*	97.1626	*	38.3985		0.7716		0.0416
Fung x Pol x Inoc	1	126.1598	*	121.7297	*	0.1772		46.8820		0.0040
Período (Semanas)	3	31.1219		30.4894		35.2065	*	7.1534		0.0167
Pol x Semanas	3	11.3098		11.6769		46.9687	**	64.7198	*	0.1069
Fung x Semanas	3	81.6976	*	79.4552	*	40.5550	**	10.2514		0.0657
Fung x Pol x Semanas	3	3.8709		4.6645		4.5777		28.5008		0.1340 *
Inoc x Semanas	3	4.6851		5.3443		0.4582		46.3888		0.0452
Pol x Inoc x Semanas	3	6.6617		6.0019		31.7020	*	48.6297		0.0588
Fung x Inoc x Semanas	3	26.8889		27.7975		32.7649	*	24.4173		0.0285
Fung x Pol x Inoc x Semanas	3	42.6900		40.5974		45.5550	**	15.7954		0.0811
Erro	93	20.7692		20.7352		10.1017		21.9622		0.0443
Média geral		76.74	%	76.76	%	72.04	%	82.91	%	6.2876
Coefficiente de variação (%)		5.94		5.93		4.41		5.65		3.35

\*, \*\* Significativo pelo teste F, a 5 e 1 % de probabilidade, respectivamente. Os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{\%/100}$  para análise estatística.

Para melhor visualização da interação fungicida x polímero x período de antecipação da aplicação dos produtos à semente, foram, adicionalmente, traçadas as linhas de tendência do efeito dessa antecipação (Figura 1). Verificou-se que as sementes tratadas com fungicida (Figura 1c) obtiveram maior número médio de unidades formadoras de colônias por grama do inoculante aderido às sementes se comparadas àquelas somente inoculadas (Figuras 1a), quando as sementes foram testadas imediatamente após o tratamento (Figura 1c); nos períodos de uma e duas semanas, o tratamento fungicida manteve o número médio de UFC quando comparado ao controle (Figura 1a).

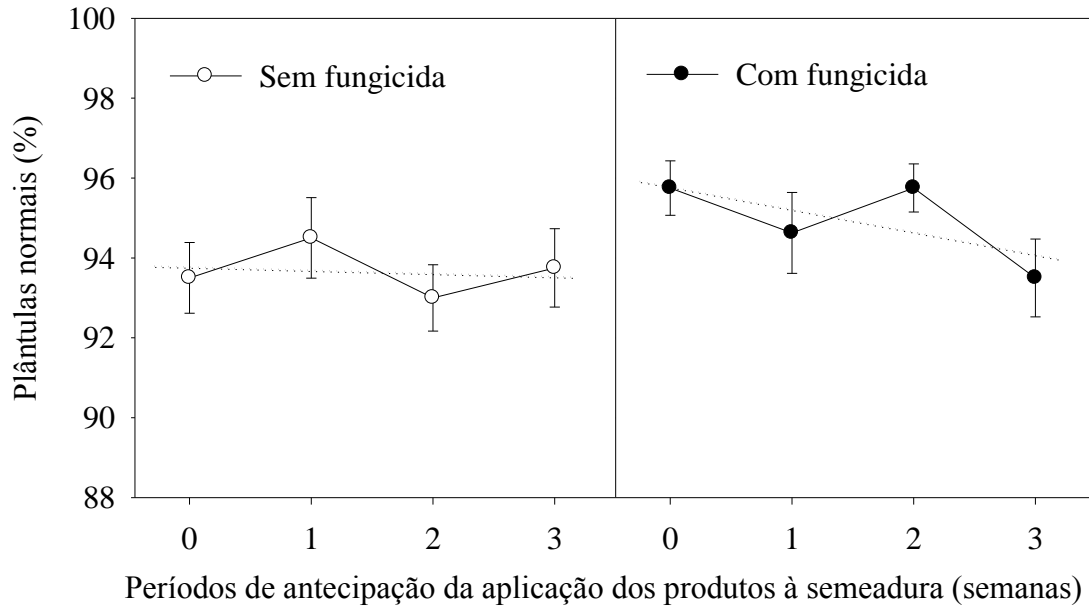
O tratamento com polímero sem (Figura 1b) ou com fungicida (Figura 1d) aumentou o número médio de UFC em todos os períodos estudados, mantendo a viabilidade do produto até a sementeira da soja.



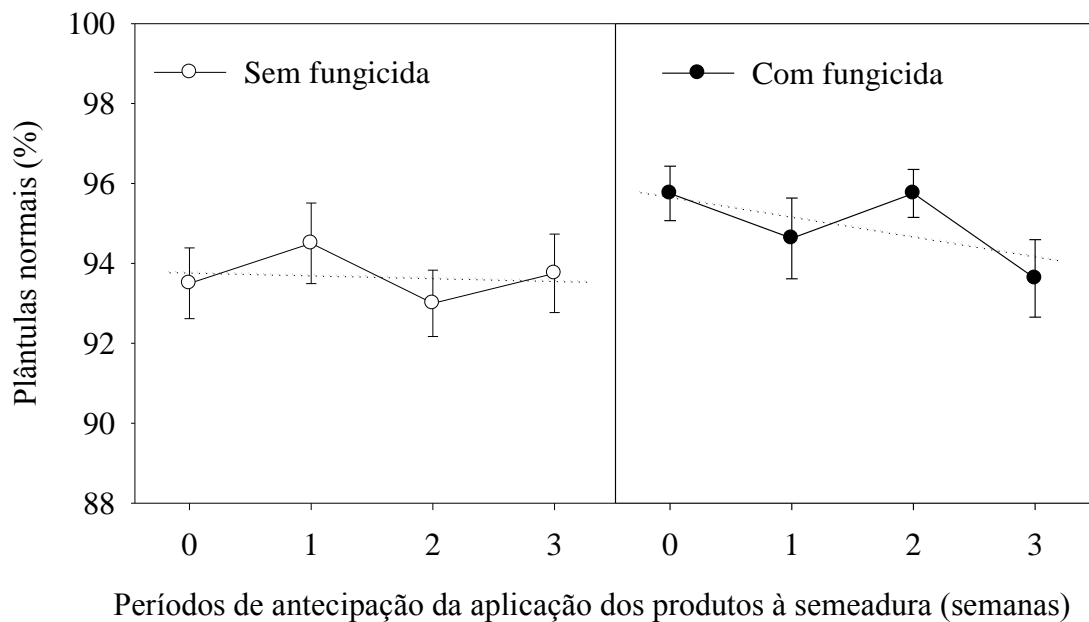
**Figura 1** – Unidades formadoras de colônias por grama do inoculante aderido às sementes após o tratamento, com e sem aplicação de fungicida e de polímero, durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à sementeira.

Os resultados médios de primeira contagem e final de germinação são apresentados com base na significância das análises de variância (Figuras 2 a 5). Para melhor visualização da interação fungicida x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, foram, adicionalmente, traçadas as linhas de tendência do efeito dessa antecipação (Figuras 2 e 3). Verificou-se que as sementes tratadas com fungicida germinaram melhor que aquelas não tratadas, quando as sementes foram testadas imediatamente após o tratamento; à medida que houve o retardamento do teste, ou seja, aumento da antecipação da aplicação do fungicida, a melhoria da germinação com a aplicação de fungicida tendeu a desaparecer.

O tratamento fungicida de sementes de soja tem sido recomendado para o controle de fungos associados às sementes, visando a melhorar seu desempenho germinativo (MACHADO, 2000), bem como controlar a disseminação de alguns patógenos indesejáveis (CARDOSO *et al.*, 2004). Pereira *et al.* (2011) observaram que os tratamentos com thiabendazole+thiram ou carbendazim+thiram proporcionaram percentagem de germinação significativamente superior às sementes não tratadas. Gianasi *et al.* (2000) também observaram aumentos na percentagem de germinação de sementes de soja e emergência em campo, em resposta à aplicação de fungicidas, e atribuíram esse efeito à provável inibição do crescimento e desenvolvimento dos patógenos associados a essas sementes. Por outro lado, determinados produtos com ação fungicida podem exercer efeito tóxico sobre as sementes de soja (GIANASI *et al.*, 2000) ou mesmo não interferir na germinação e no vigor das mesmas (PEREIRA *et al.*, 2009).



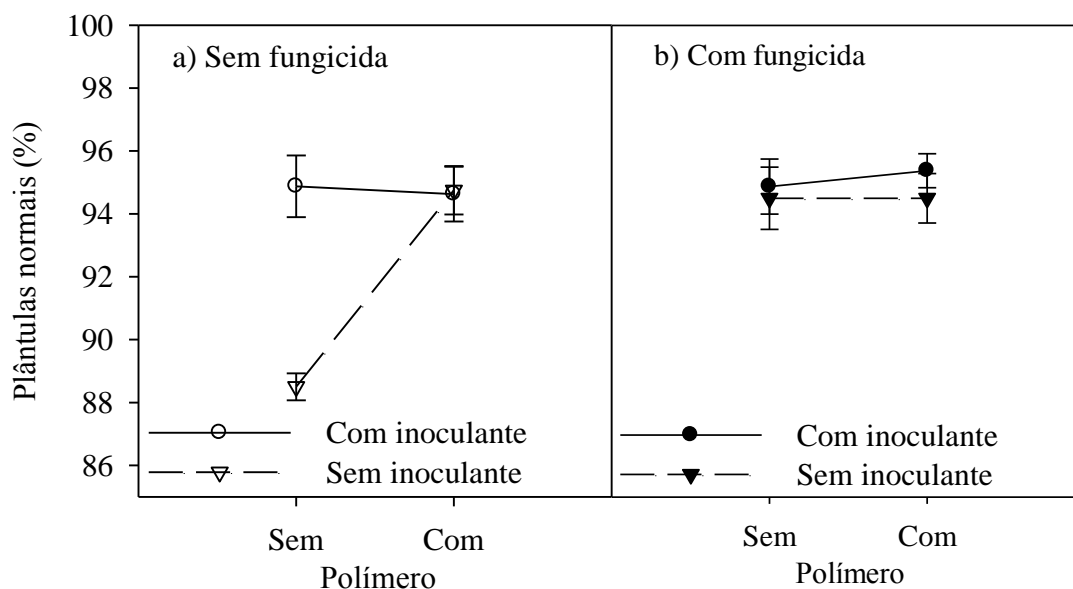
**Figura 2** – Percentagem média de plântulas normais, obtidas na primeira contagem do teste de germinação de sementes de soja, após o tratamento com e sem fungicida, durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à semeadura.



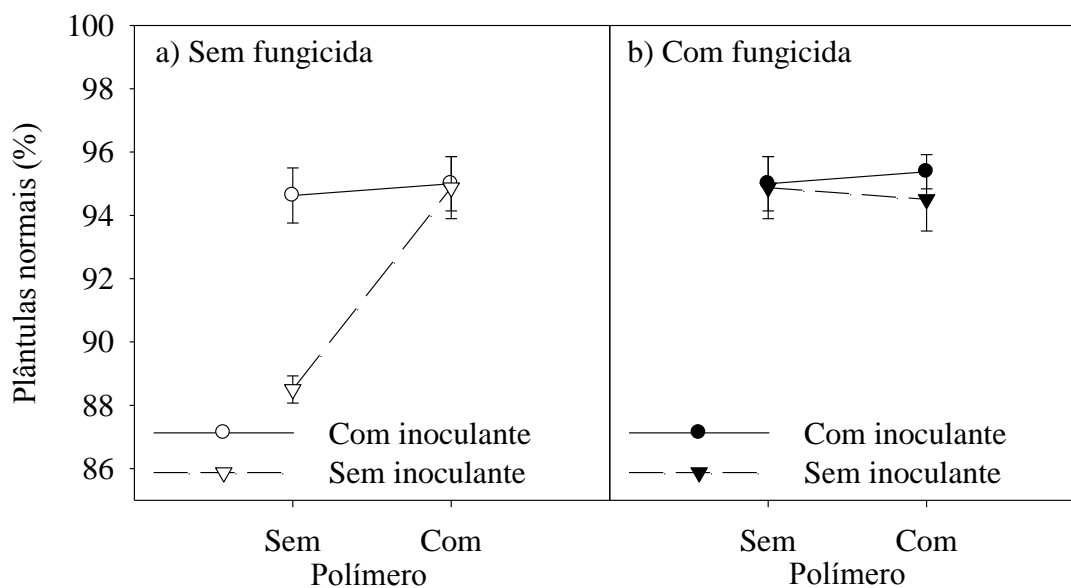
**Figura 3** – Percentagem média de plântulas normais, obtidas na contagem final do teste de germinação de sementes de soja, após o tratamento com e sem fungicida, durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à semeadura.

Os efeitos de fungicida, polímero e inoculante aplicados isoladamente ou em conjunto sobre a percentagem de germinação, na primeira contagem e na final, estão representados nas figuras 4 e 5, respectivamente. Observou-se que houve melhoria significativa da percentagem de plântulas normais com aplicação de qualquer produto, isoladamente ou em conjunto. Além disso, a aplicação de um segundo produto, quando já fora aplicado um primeiro, não produziu melhoria adicional nos índices de germinação. Esses resultados, aparentemente, decorreram do efeito de condicionamento fisiológico das sementes, uma vez que há pequeno umedecimento com a aplicação dos produtos, enquanto o controle se constituiu de sementes que não receberam qualquer tratamento, isto é, sementes secas.

O condicionamento fisiológico da semente consiste na hidratação da semente, com preparo do metabolismo para o processo de germinação sem que ocorra a emissão da raiz primária (BRADFORD, 1986; ARMSTRONG & McDONALD, 1992). Pode ser realizado pela imersão direta das sementes em água, hidrocondicionamento ou em soluções aquosas com baixo potencial osmótico, isto é, osmocondicionamento, o qual melhora a germinação e vigor das sementes de soja (SEDIYAMA, 2008; SEDIYAMA *et al.*, 2012), bem como o hidrocondicionamento (GIURIZZATTO *et al.*, 2008).



**Figura 4** – Percentagem média de plântulas normais obtidas na primeira contagem do teste de germinação de sementes de soja, após o tratamento com e sem fungicida, polímero ou inoculante.



**Figura 5** – Percentagem média de plântulas normais obtidas na contagem final do teste de germinação de sementes de soja, após o tratamento com e sem fungicida, polímero ou inoculante.

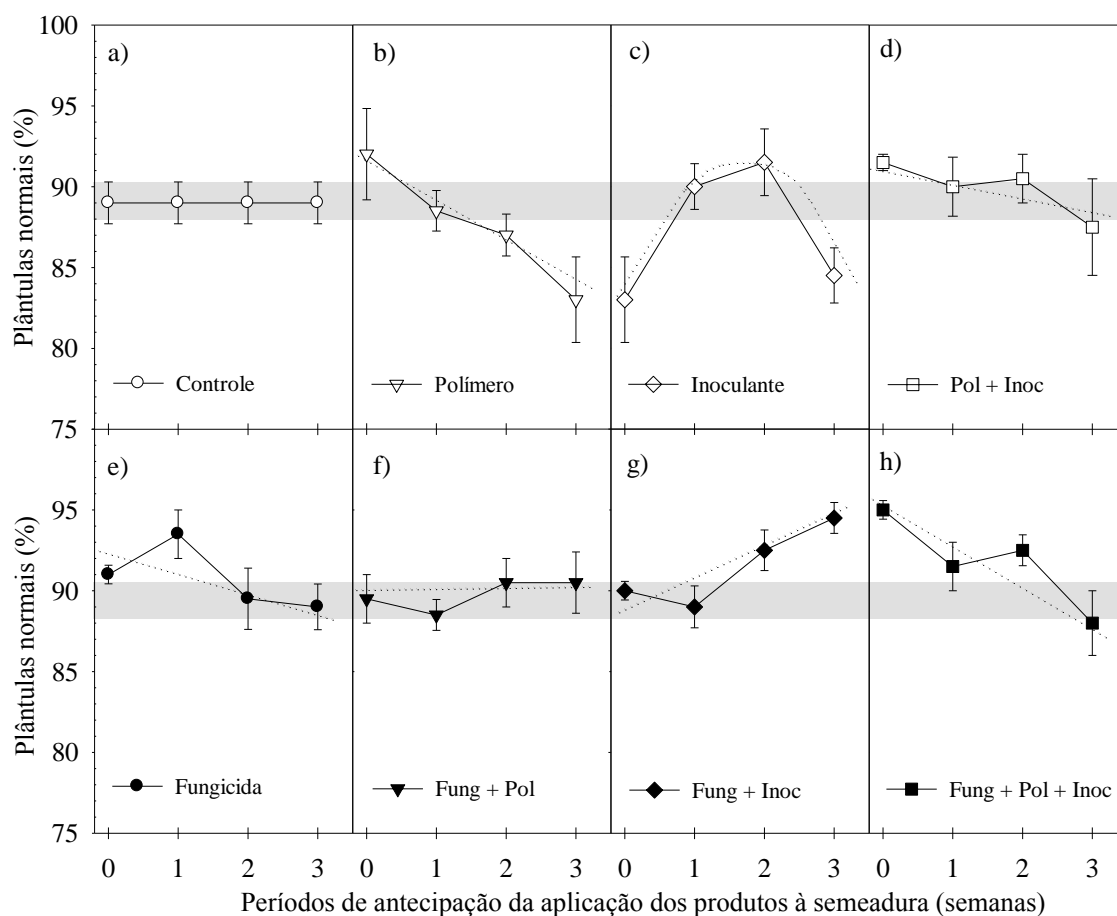
Na avaliação do teste de envelhecimento acelerado, foi observada diferença significativa entre as sementes com e sem os tratamentos de fungicida, de polímero, de inoculante e dos períodos de antecipação da aplicação desses produtos (Figura 6).

A germinação das sementes no tratamento controle, sementes secas, é apresentada na Figura 6a. Nos tratamentos em que foi aplicado polímero (Figura 6b), polímero e inoculante (Figura 6d) e fungicida, polímero e inoculante (Figura 6h), houve redução na porcentagem de germinação à medida que aumentou o período de antecipação da aplicação desses produtos. No procedimento de adição dos três produtos (Figura 6h), observou-se que houve aumento na germinação das sementes imediatamente após aplicação dos produtos.

No caso do tratamento com aplicação apenas de inoculante (Figura 6c), houve melhoria na porcentagem de germinação até duas semanas de antecipação da aplicação do inoculante, ocorrendo decréscimo da germinação na terceira semana. A aplicação de inoculante associado a fungicida (Figura 6g) aumentou a porcentagem de germinação com duas e três semanas de antecipação do tratamento.

Conforme observado no teste de envelhecimento acelerado, a combinação fungicida e inoculante foi o tratamento que produziu melhor resultado em relação aos demais tratamentos e ao controle (Figura 6g), uma vez que a partir da primeira semana houve aumento no processo de germinação das sementes, atingindo, em média, 95% de germinação na terceira semana.

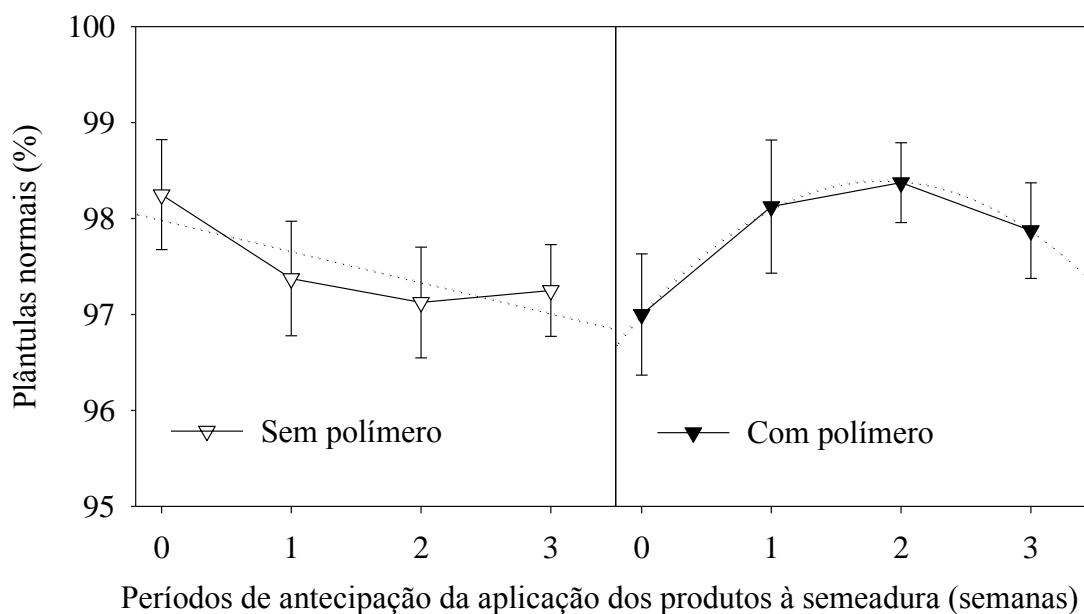
Trabalho realizado por Bays *et al.* (2007) mostrou que sementes tratadas com fungicida carbendazim+thiram apresentaram percentagens mais altas de germinação após o envelhecimento acelerado, enquanto Marcos Filho & Shioga (1981) não encontraram modificações significativas no potencial fisiológico das amostras avaliadas. Esses resultados devem ser analisados com cautela, uma vez que o efeito dos fungicidas depende da presença de certos patógenos nas sementes. Além disso, tanto a temperatura como a umidade elevada inibem a manifestação de certos microrganismos.



**Figura 6** – Percentagem média de plântulas normais obtidas pelo teste de envelhecimento acelerado de sementes de soja após os períodos de antecipação da aplicação de fungicida, polímero e inoculante à semente.

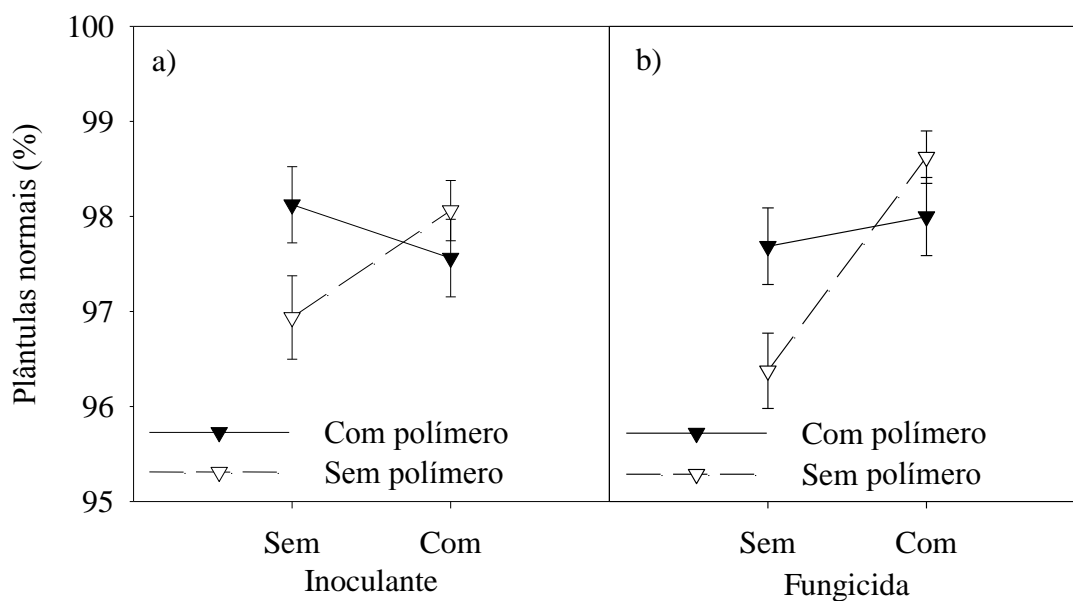
Na Figura 7, pode ser observado que a aplicação de polímero nas sementes de soja proporcionou melhoria na emergência em leito de areia nos períodos de uma a três semanas de antecipação, quando comparado com o tratamento sem polímero; entretanto, quando a semente foi realizada imediatamente após o tratamento das sementes, ou seja, zero semana, a utilização de polímero foi prejudicial à emergência das plântulas. Ludwig *et al.* (2001) observaram que a utilização do polímero Polyseed CF<sup>®</sup> + Colorseed<sup>®</sup>, no

tratamento de sementes de soja, não afetou a germinação até 60 dias após a aplicação do tratamento.



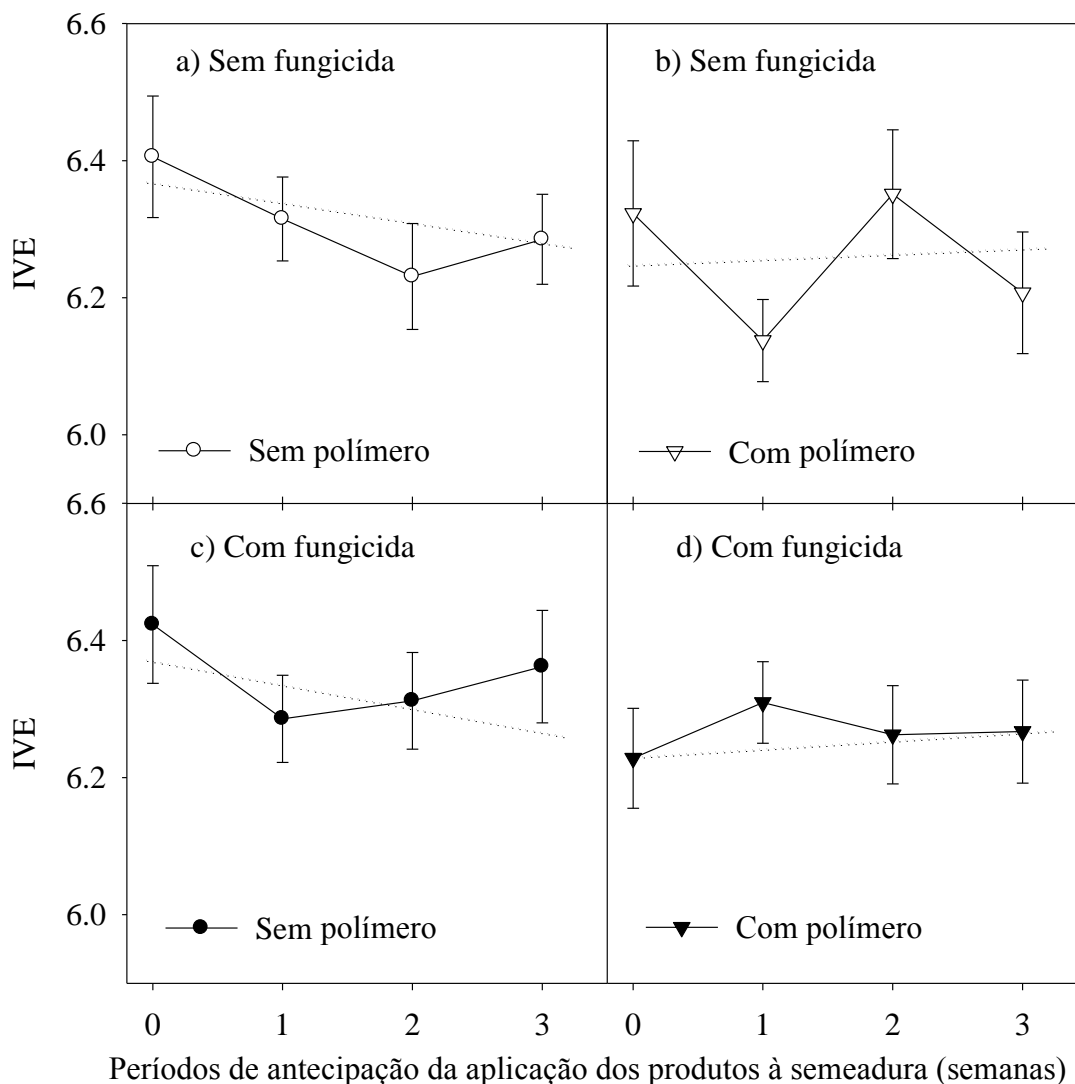
**Figura 7** – Percentagem média de plântulas normais obtidas pelo teste de emergência em leito de areia de sementes de soja após o tratamento com e sem polímero durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à sementeira.

A emergência de plântulas em leito de areia, sob os efeitos da aplicação de polímero e/ou inoculante (Figura 8a) e fungicida e/ou polímero (Figura 8b) nas sementes foi menor nos tratamentos controle, quando comparados com os demais tratamentos que receberam polímero, inoculante ou fungicida, isoladamente ou em conjunto. A utilização do polímero + corante (Laborsan Red Solid Pam Bril®) no recobrimento das sementes com fungicida e micronutriente também não casou efeito prejudicial à qualidade fisiológica das sementes de soja (BAYS *et al.*, 2007).



**Figura 8** – Percentagem média de plântulas normais obtidas pelo teste de emergência em leito de areia após o tratamento das sementes de soja a) com e sem aplicação de polímero e de inoculante e b) com e sem aplicação de polímero e de fungicida.

Houve tendência de redução do índice de velocidade de emergência (IVG) até a terceira semana de antecipação do tratamento, quando não foi aplicado fungicida, enquanto, com a sua aplicação, a redução ocorreu até a primeira semana (Figura 9). Deve-se lembrar de que esses valores são médias dos tratamentos com e sem a aplicação do inoculante. A aplicação de polímero aparentemente não reduziu o IVE no período avaliado.



**Figura 9** – Índice de velocidade de emergência após o tratamento das sementes de soja, com e sem aplicação de fungicida e de polímero, durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à semeadura, na média dos tratamentos com e sem inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*.

#### 4. CONCLUSÕES

A aplicação de fungicida e/ou de polímero e/ou de inoculante melhorou a germinação das sementes e a emergência das plântulas de soja em leito de areia.

O tratamento das sementes de soja com polímero, com ou sem fungicida, aumentou o número médio de unidades formadoras de colônias em todos os períodos estudados, mantendo a viabilidade do produto até a semeadura.

Sementes tratadas com fungicida apresentaram maior número de unidades formadoras de colônias e maior germinação que aquelas não tratadas, entretanto, à medida que houve aumento da antecipação da aplicação do fungicida, essa melhoria tendeu a desaparecer.

A combinação fungicida e inoculante foi o tratamento que promoveu melhor desempenho das sementes no teste de envelhecimento acelerado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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**, v.26, n.2, p.141-145, 1998.
- ANNAPURNA, K. *Bradyrhizobium japonicum*: Survival and nodulation of soybean as influenced by fungicide treatment. **Indian Journal of Microbiology**, v.45, n.4, p.305-307, 2005.
- ARMSTRONG, H.; McDONALD, M. B. Effects of osmoconditioning on water uptake and electrical conductivity in soybean seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich. v.20, n.3, p.391-400. 1992.
- BARAZANI, O.; FRIEDMAN, J. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria?. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.25, p.2397-2406, 1999.
- BUENO, C. J.; MEYER, M. C.; SOUZA, N. L. Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5019 e SEMIA 5079) e na nodulação da soja. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.25, n.1, p.231-235, 2003.
- BAYS, R.; BAUDET, L.; HENNING, A. A.; LUCCA FILHO, O. Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímero. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina. v.29, n.2, p.60-67. 2007.
- BIGATON, D. **Fungicidas e micronutrientes aplicados em tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio**. 2005. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Dourados, MS.
- BIKROL, A.; SAXENA, N.; SINGH, K. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v.4, n.7, p.667-671, 2005.
- BRADFORD, K. J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.5, p.1105-12,

1986.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CAMPO, J. R.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 32p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 26).

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Eds.). **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa, MG: UFV, 2004. p.139-182.

CARDOSO, P. C.; BAUDET, L.; PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A. Armazenamento em sistema a frio de sementes de soja tratadas com fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.15-23, 2004.

COELHO, M. A. O. **Atividade da nitrato redutase, composição mineral e caracteres da planta de trigo associados à aplicação de molibdênio, à peletização e à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense***. 2001. 149p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

DELWICHE, L. D.; SLAUGHTER, S. J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.

EMBRAPA - **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. - Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255p.

FERREIRA, J. S.; SABINO, D. C. C.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Seleção de veículos para o preparo de inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.2, p.6-12, 2003.

GIANASI, L.; FILHO, A. B.; FERNANDES, N.; LOURENÇO, S. A.; SILVA, C. L. Eficiência do fungicida captan associado a outros fungicidas no tratamento químico de sementes de soja. **Summa Phytopatologica**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.241-245, 2000.

GIURIZZATTO, M. I. K.; ROBAINA, A. D.; GONÇALVES, M. C.; MARCHETTI, M. E. Qualidade fisiológica de sementes de soja submetidas ao hidrocondicionamento. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, suplement., p.711-717, 2008.

- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAÚJO, R. S. & HUNGRIA, M. (Ed.) **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.9-89.
- KOENIG, R. L.; MORRIS, R. O.; POLACCO, J. C. tRNA is the source of low-level transzeatin production in *Methylobacterium* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.184, p.1832-1842, 2002.
- LASCA, C. C.; VALARINI, P.; SCHIMIDT, J. R.; VECHIATO, M. H. Tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) com fungicidas no controle de *Phomopsis phaseoli* (Desm.) Sacc. **Summa Phytopathologica**, v.13, n.3-4, p.222-233, 1987.
- LIMA, L. B.; SILVA, P. A.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A. Peliculização e tratamento químico de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1091-1098, 2006.
- LUDWIG, M. P.; LUCCA FILHO, O. A.; BAUDET, L.; DUTRA, L. M. C.; AVELAR, S. A. G.; CRIZEL, R. L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.3, p.395-406, 2001.
- MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination – AID in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Lacombe, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. **FUNEP**, Jaboticabal, 1994. p.133-149.
- MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P. Vigor de sementes de rabanete e desempenho de plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.44-51, 2006.
- MARCOS FILHO, J.; SHIOGA, P. S. Tratamento fungicida de sementes de soja no teste de envelhecimento rápido. **Revista de Agricultura**, São Paulo, v.56, n.3, p.163-172, 1981.
- MARCOS FLHO, J.; SILVA, W. R.; NOVEMBRE, A. C.; CHAMA, H. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.25, n.12, p.1805-15, 1990.

- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado na avaliação das plântulas. **Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão** (FUNEP), Jaboticabal, 1994. p.48-85.
- PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, A. R.; EVANGELISTA, J. R. E.; OLIVEIRA, G. E. PEREIRA, C. E. Tratamento fungicida e peliculização de sementes de soja submetidas ao armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.1, p.158-164, jan./fev., 2011.
- 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 Agrônômica**, Fortaleza, v.40, n.3, p.433-440, jul./set. 2009.
- PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E.; BOTELHO, F. J. E.; OLIVEIRA, G. E.; TRENTINI, P. Desempenho de sementes de soja tratadas com fungicidas e peliculizadas durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.3, p.656-665, 2007.
- PESKE, S.; LEVIEN, A. Demanda de Sementes. In: ABRASEM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2005**. Tudo começa pelas sementes. Pelotas, p.10-13, 2005.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais. In: RAVEN, P. H. **Biologia Vegetal**. Tradução de Jane Elizabeth Kraus. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.649-675.
- REICHENBACH, J. Film-coating para agregar qualidade e segurança. **Seed News**, n.1, 2004.
- RIVAS, B. A; MCGEE, D. C.; BURRIS, J. S. Tratamiento de semillas de maiz con polimeros para el control de *Pythium* spp. **Fitopatologia Venezolana**, v.1, n.1, p.10-15, 1998.
- ROCHA, V. S.; OLIVEIRA, A. B.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J. L. L.; SEDIYAMA, C. S.; PEREIRA, M. G. **A qualidade da semente de soja**. Viçosa: UFV, 1996. 76p. (Boletim, 188).
- SCHABENBERGER, O. & PIERCE, F. J. **Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences**, New York: CRC Press, 2001. 738p.

- SEDIYAMA, C. A. Z. **Qualidade fisiológica e pré-condicionamento de sementes de cultivares de soja de diferentes grupos de maturidade em três épocas de colheita.** Viçosa: UFV, 2008, 57p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- SEDIYAMA, C. A. Z.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, C. S.; DIAS, M. A.; SEDIYAMA, T.; DIAS, D. C. F. S. Physiological quality improvement of seeds of six soybean cultivars by osmoconditioning. **Comunicata Scientiae**, Teresina, PI, Aceito para publicação, 2012.
- TAYLOR, A. G.; GRABE, D. F.; PAINE, D. H. Moisture content and water activity determination of pelleted and film-coated seeds. **Seed Science Technology**, v.19, n.1, p.24-32, 1997.
- TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: A review. **Crop Science**, v.31, p.816-822, 1991.
- UNTERGASSER, A. “Media - YEM (YEast extract - Manitol)” **Untergasser's Lab. SUMMER** 2008. Disponível em: <[http://www.untergasser.de/lab/media/media\\_yem\\_v1\\_0.htm](http://www.untergasser.de/lab/media/media_yem_v1_0.htm)>. Acesso em: 31 janeiro 2012.

## **II. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. II- INFLUÊNCIA NA NODULAÇÃO E NO CRESCIMENTO DA PLANTA.**

RESUMO – A inoculação de sementes de soja com *Bradyrhizobium japonicum* é rotineiramente utilizada no Brasil, uma vez que esses microrganismos fixadores de nitrogênio têm possibilitado a obtenção de altos rendimentos de grãos, sem a necessidade de aplicação de nitrogênio mineral. Essa inoculação é realizada imediatamente antes da semeadura, sendo, frequentemente, descrita como uma atividade que reduz a eficiência dos trabalhos dessa semeadura, por danos que podem ser causados às sementes e pelo tempo e mão de obra despendida para a operação. Por vezes, essa dificuldade tem sido responsável pela não utilização da inoculação na cultura por parte dos agricultores. No entanto, o uso de polímero protetor celular pode ser uma proteção das sementes durante a inoculação e também responsável pela sobrevivência das células bacterianas no período entre o tratamento dessas sementes e o plantio. Portanto, objetivou-se, neste trabalho, avaliar a nodulação e o crescimento das plantas de soja oriundas de sementes tratadas com ou sem aplicação de fungicida, uso do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup> e inoculação com *B. japonicum*, com diferentes períodos de antecipação da aplicação dos produtos à data da semeadura. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR foram tratadas com o fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim+thiram), o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, o inoculante turfoso Rizo-Plus e armazenadas em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero, uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 32 tratamentos, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x2x4 (fungicida x polímero x inoculante x períodos (semanas) de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura). Avaliaram-se número e peso da matéria seca de nódulos por planta, peso da matéria seca por nódulo, teor de nitrogênio foliar, matéria seca da parte aérea e raiz, além do peso de sementes por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância, e os efeitos testados de acordo com sua significância ( $P < 0,05$ ). A inoculação reduziu a matéria seca de raiz, aumentou o teor de nitrogênio foliar e a produtividade. A aplicação de fungicida aumentou a matéria seca de raiz, enquanto a de polímero aumentou o tamanho de nódulos. O tratamento polímero + inoculante, seguido do tratamento com inoculante, proporcionou maior número e acúmulo de matéria seca de nódulos, quando comparado aos demais tratamentos, no período zero, isto é, quando a semeadura foi realizada imediatamente após o tratamento das sementes. Também proporcionou produtividade superior ao controle, em todos os períodos de antecipação da

aplicação dos produtos à semeadura, exceto para o período de três semanas. O tratamento fungicida + inoculante reduziu o número e o acúmulo de matéria seca de nódulos no período zero. Entretanto, nos períodos de duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com inoculação, seguido de fungicida + inoculação.

Palavras-Chave: *Glycine Max*; semente de soja; fungicida; polímero; inoculante; fixação de nitrogênio; nodulação.

## II. ANTICIPATED TREATMENT OF SOYBEAN SEEDS WITH FUNGICIDE, CELL PROTECTOR AND INOCULAT. II – EFFECT ON NODULATION AND PLANT GROWTH.

SUMMARY - The inoculation of soybean seeds with *Bradyrhizobium japonicum* is routinely utilized in Brazil, since this nitrogen fixing microorganism has allowed obtaining high grain yield, without the need of mineral nitrogen application. The inoculation procedure is performed just before the sowing and frequently is described as an action that reduces the efficiency of sowing operation due to the time expended. In some instances, this difficulty has been responsible for no inoculation by the farmers. On the other hand, the use of cell protector polymers can be a way to protect the seeds during the inoculation process and also a protector for the bacterial cells while waiting the sowing in the field. Therefore the objective of this work was to evaluate the nodulation and growth of soybean plants originated from seeds treated with the presence or absence of application of fungicide, EnVigor™ cell protector polymer and inoculation with *B. japonicum*, with different periods of application of these treatments before sowing. Seeds of TMG 131 RR soybean cultivar were treated with the Derosal Plus® fungicide (carbendazin + thiram), EnVigor™ cell protector polymer, RizoPlus peat inoculant and stored at laboratory conditions in paper bags for a period of zero, one, two and three weeks before sowing. The experimental design was a randomized complete block, with 32 treatments, constituted by the 2x2x2x4 factorial (combination of presence or absence of fungicide, polymer, inoculation and periods of anticipation to sowing). The following characteristics were evaluated: number and dry matter weight of nodules per plant, dry matter weight per nodule, nitrogen rate in the leaves, aerial part and of root system dry matter weight, and seed weight per plant. The data were submitted to the analysis of variance and the effects were tested at P=0.05 level of significance. Inoculation decreased the root dry matter, increased nitrogen rate in the leaves and increased productivity. Fungicide increased the root system dry matter weight. Polymer increased the size of the nodules. Polymer + inoculation treatment, followed by inoculation alone treatment provided a higher number and dry matter accumulation of nodules when compared with other treatments in period zero. Also, this treatment provided higher productivity than the control in all periods of anticipation to sowing, except for the period of three weeks. The fungicide + inoculation reduced the number and dry matter accumulation of nodules in the period zero. However, in periods of two to three weeks in

anticipation of the application of the products of sowing, the best results were observed with inoculation, followed by fungicide + inoculation.

Key-words: *Glycine max*; soybean seeds; fungicide; polymer; inoculants; nitrogen fixation; nodulation.

## 1. INTRODUÇÃO

A inoculação de sementes de soja com *Bradyrhizobium japonicum* é rotineiramente utilizada no Brasil, uma vez que a eficiência desses microrganismos fixadores de nitrogênio tem possibilitado a obtenção de altos rendimentos de grãos, sem necessidade de aplicação de nitrogênio mineral (ALVES *et al.*, 2003).

Para que a fixação biológica seja explorada em seu máximo potencial, é necessário que estirpes eficientes estabeleçam-se nas raízes das plantas. Quando a população microbiana no solo não é grande ou as estirpes não são eficientes, torna-se necessário recorrer a métodos artificiais de introdução de estirpes selecionadas. Assim, a prática de inoculação das sementes de soja é muito difundida (COELHO, 2001).

Alguns fatores como estirpe utilizada, adesivos, dose do inoculante, tratamento de sementes com fungicidas, adubação da cultura, tipo de solos, época de plantio e condições ambientais podem interferir no estabelecimento da simbiose planta-rizóbio (CAMPO & HUNGRIA, 2000).

O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por microrganismos chamados diazotróficos (bactérias e cianobactérias fixadoras de nitrogênio). Algumas estirpes de *Bradyrhizobium* são mais eficientes na fixação de nitrogênio. No Brasil, são recomendadas quatro estirpes para a cultura da soja, sendo duas de *B. elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) e duas de *B. japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080) (EMBRAPA, 2010).

O tratamento químico de sementes de soja, principalmente com fungicidas, também é prática amplamente difundida. Atualmente, cerca de 90 % das sementes de soja comercializadas no Brasil recebem tratamento com produtos químicos protetores (PESKE & LEVIEN, 2005). A aplicação de fungicidas, via tratamento de sementes, pode reduzir significativamente a população de *Bradyrhizobium* nas mesmas (ANNAPURNA, 2005) e reduzir o número e a matéria seca de nódulos (ANDRÉS *et al.*, 1998; BIKROL *et al.*, 2005). Entretanto, dependendo dos fungicidas aplicados nas sementes, não são observados efeitos significativos sobre a nodulação (BIGATON, 2005).

A eficiência da produção de nódulos em leguminosas depende, entre outros fatores, da manutenção do número mínimo de células viáveis da bactéria no inoculante, desde a sua fabricação até o uso pelo agricultor (FERREIRA *et al.*, 2003). Na maioria das lavouras de soja do país, o processo de inoculação das sementes ocorre no momento da semeadura, sendo, frequentemente, descrito como uma atividade que reduz a eficiência da semeadura, em razão do tempo despendido para sua operação. Por vezes, essa dificuldade tem sido

responsável pela não utilização da inoculação na cultura por parte dos agricultores (CAMPO & HUNGRIA, 2007).

Juntamente com o tratamento fungicida das sementes de soja, tem sido realizada a aplicação de polímeros, os quais formam uma película ao redor das sementes para uniformizar o tamanho e o formato destas, assegurando a precisão na semeadura e na aplicação dos produtos químicos, causando ainda uma significativa redução nos custos da lavoura, denominado peliculização ou “film coating” (TAYLOR *et al.*, 1997). Esses polímeros, utilizados no tratamento de sementes, podem aumentar a retenção e a uniformidade de distribuição de fungicidas na superfície das sementes (REICHENBACH, 2004).

O uso de polímero protetor celular no tratamento de sementes pode ser uma forma de proteção, durante a inoculação das bactérias e também no prolongamento do período de sobrevivência das células bacterianas, entre o tratamento das sementes até o plantio. A operação de inoculação é simples, mas exige que seja executada pouco antes do plantio e, quando há atraso no plantio, recomenda-se a re-inoculação, o que representa dificuldade, pelo acúmulo de serviços na época dos plantios, principalmente quando se pretende plantar em grandes áreas. Diversos experimentos no Brasil, durante três anos consecutivos, indicaram ser possível a inoculação antecipada das sementes de soja em até cinco dias antes da semeadura (CAMPO & HUNGRIA, 2007). No entanto, a aplicação dessa estratégia de inoculação depende de vários fatores, especialmente da habilidade da bactéria sobreviver na semente, o que tem restringido o uso dessa prática (DATE, 2001).

Nesse sentido, o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, de base orgânica, biodegradável e multifuncional foi desenvolvido para o recobrimento de sementes com o objetivo de aumentar a vida útil das bactérias, bem como manter o inoculante aderido às sementes.

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a nodulação e o crescimento das plantas de soja oriundas de sementes tratadas com ou sem aplicação de fungicida, uso do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup> e inoculação com *B. japonicum*, com diferentes períodos de antecipação da aplicação dos produtos à data da semeadura.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em Casa de Vegetação e no Laboratório de Melhoramento de Soja e Pesquisa de Sementes do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Sementes de soja da cultivar

TMG 131 RR, de ciclo precoce, com resistência a nematóide de cisto e crescimento vegetativo adaptado para a produção na safrinha, obtidas junto a Sementes Adriana - Rondonópolis – MT, foram tratadas na seguinte sequência, quando os produtos foram aplicados: fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim + thiram), na dose de 200 mL por 100 kg de sementes; polímero protetor celular EnVigor<sup>™</sup>, na dose de 29 mL por 50 kg; e inoculante turfoso Rizo-Plus, na dose de 3,0 milhões de colônias de células da bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 por semente. Em seguida, as sementes foram armazenadas, em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero (semeio imediato), uma, duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos ao plantio. Após o tratamento, as sementes foram semeadas em vasos plásticos, contendo 2,5 dm<sup>3</sup> de amostra de um Latossolo Vermelho Amarelo, inoculado há mais de seis anos.

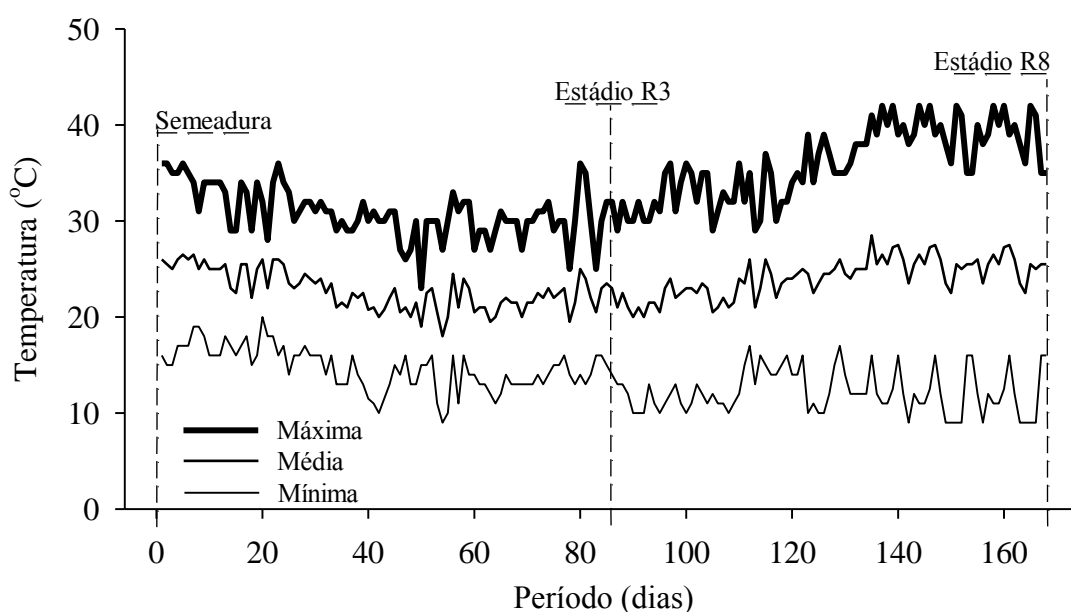
Antes da semeadura nos vasos, foi realizada análise química (Tabela 1) do solo 40 dias antes da instalação do experimento, no Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. Foi realizada a calagem com calcário dolomítico, na dose de 2,0 t ha<sup>-1</sup>, pois a saturação de bases (V) e os teores de Ca<sup>+2</sup> e Mg<sup>+2</sup> encontravam-se abaixo do mínimo recomendado para a cultura da soja, segundo Raij *et al.* (1996). A adubação com fósforo, potássio e micronutrientes foi realizada, segundo NOVAIS *et al.*, 1991, nas seguintes doses: K = 150,00; S= 40,00; Mn = 3,66; Mo = 0,15 e Zn = 4,00, todos em mg kg<sup>-1</sup> de solo, sendo utilizadas como fonte cloreto de potássio, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, molibdato de sódio e sulfato de zinco. Quanto ao fósforo, utilizou-se a dose de 400 mg kg<sup>-1</sup> de solo, servindo como fonte o superfosfato simples. A adubação com enxofre e micronutrientes foi realizada em cobertura, aos 15 dias após a emergência das plântulas. Os testes para avaliar o efeito do tratamento antecipado de sementes com polímero, fungicida e *Bradyrhizobium japonicum* na nodulação e no crescimento das plantas de soja foram realizados em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa.

**Tabela 1** – Características químicas do solo Latossolo Vermelho-Amarelo, utilizado no experimento antes da correção com calagem e adubação. Viçosa, MG, 2011.

pH	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	T	V	m	MO	P-rem
H <sub>2</sub> O	-- mg dm <sup>-3</sup> --		----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					----- %-----		dag kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>
5,00	3,2	54	2,2	0,7	0,5	9,41	12,45	24	14	5,1	22,2

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Químicas de Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. pH em água, KCl e CaCl<sub>2</sub> – Relação 1:2,5. P – K – Extrator Mehlich 1. Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol L<sup>-1</sup>. H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> – pH 7,0. CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0. V = Índice de Saturação de Bases. m = Índice de Saturação de alumínio. Matéria Orgânica (MO) = C. Org. x 1,724 – Walkley-Black. P-rem = Fósforo Remanescente.

A semeadura foi realizada no dia 28 de abril de 2011. Foram colocadas quatro sementes em cada vaso, para cada tratamento, na profundidade de três centímetros. Após a emergência, deixaram-se as duas plântulas mais vigorosas por vaso. O efeito do fotoperíodo foi controlado com iluminação artificial durante o crescimento vegetativo à indução do florescimento, enquanto a irrigação foi realizada de modo a manter o teor de água no solo com 2/3 da capacidade de campo. Os dados climáticos diários de temperaturas máxima, média e mínima foram registrados durante o período de desenvolvimento e produção das sementes (Figura 1).



**Figura 1** – Temperaturas máxima, média e mínima do ar (°C) durante o período de desenvolvimento e produção das sementes de soja em casa de vegetação. Viçosa, Minas Gerais, 2011.

No estágio R3, que corresponde ao estágio de início da formação da vagem, segundo Fehr & Caviness (1977), as plantas de soja foram cortadas na região do coleto, sendo a parte aérea embalada em sacos de papel, e o sistema radicular foi cuidadosamente retirado do vaso com o substrato, lavado em água corrente sobre peneira, evitando-se perda de nódulos. Posteriormente, as seguintes avaliações foram realizadas:

**Matéria seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSRAIZ)** – as repetições de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa, com circulação forçada de ar, mantida à temperatura de 65 °C, por 72 horas. Após esfriar em dessecador, cada repetição foi pesada em balança com precisão de 0,001 g, e os resultados, expressos em gramas por plantas (NAKAGAWA, 1999).

**Viabilidade dos nódulos** - os nódulos foram destacados das raízes e cortados ao meio para observação da cor interna, os quais, apresentando coloração rósea ou vermelha, indicam eficiência simbiótica (HUNGRIA *et al.*, 1997).

**Número de nódulos viáveis (NNOD)** – quando a planta atingiu o estágio de avaliação, retirou-se o sistema radicular com os nódulos; em seguida, estes foram destacados e contados (HUNGRIA *et al.*, 1997). A partir disso, os resultados foram expressos em número de nódulos por planta.

**Matéria seca de nódulos viáveis (MSNOD)** – após a retirada dos nódulos do sistema radicular, os mesmos foram acondicionados em sacos de papel e levados à estufa, com circulação forçada de ar, mantida à temperatura de 65 °C, por 72 horas. Após esfriar em dessecador, cada repetição foi pesada em balança com precisão de 0,001 g (HUNGRIA *et al.*, 1997), sendo os resultados expressos em mg por planta.

**Relação do peso da matéria seca por número de nódulos viáveis (MSPNOD)** - obtido dividindo-se o peso da matéria seca pelo total de nódulos e transformando-se em peso da matéria seca por cem nódulos.

**Avaliação do teor de nitrogênio no terceiro trifólio da planta (NITRO)** – retirou-se o terceiro trifólio da planta de soja, as amostras foram lavadas em água deionizada, secas em estufa com circulação forçada em ar à temperatura de 60 °C até atingirem massa constante. Em seguida, as amostras foram moídas. O nitrogênio foi determinado por método semimicro Kjeldahl (MALAVOLTA *et al.*, 1997). Nesse caso, os resultados foram expressos dag kg<sup>-1</sup>.

No estágio R8, quando 95 % das vagens apresentavam coloração típica de vagem madura, segundo FEHR & CAVINESS, 1977, foram avaliados o **peso de sementes por planta (PSP)** com massa corrigida para 13 % de umidade.

O experimento foi montado em delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos constituíram-se de um fatorial 2x2x2x4, correspondendo à presença ou ausência de fungicida, de polímero, de inoculante e de períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura. Totalizaram-se, portanto, 32 tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância, e os gráficos foram produzidos de acordo com a sua significância ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o software SAS (SCHABENBERGER & PIERCE, 2001; DELWICHE & SLAUGHTER, 2003).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Conforme os resultados da análise de variância (Tabela 2), houve efeito significativo de polímero no peso de matéria seca por cem nódulos; de fungicida no número de nódulos e na matéria seca de nódulos; de inoculante na matéria seca de raiz, no número de nódulos, no peso da matéria seca por cem nódulos e no teor de nitrogênio foliar; período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura no número de nódulos e no peso da matéria seca por cem nódulos. Observou-se, ainda, presença da interação fungicida x polímero no número de nódulos e na matéria seca de nódulos; da interação polímero x inoculante no número de nódulos, na matéria seca de nódulos e no peso da matéria seca por cem nódulos; da interação fungicida x inoculante na matéria seca de nódulos; da interação fungicida x polímero x inoculante na matéria seca de nódulos; da interação polímero x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura no número de nódulos, matéria seca de nódulos e peso de matéria seca por cem nódulos; da interação fungicida x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura na matéria seca de raiz, no número de nódulos e na matéria seca de nódulos; da interação inoculante x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura na matéria seca de nódulos e no peso da matéria seca por cem nódulos; da interação polímero x inoculante x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura no número de nódulos, na matéria seca de nódulos e no peso da matéria seca por cem nódulos; da interação fungicida x inoculante x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura no número de nódulos e na matéria seca de nódulos; da interação fungicida x polímero x inoculante x período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura na matéria seca de nódulos.

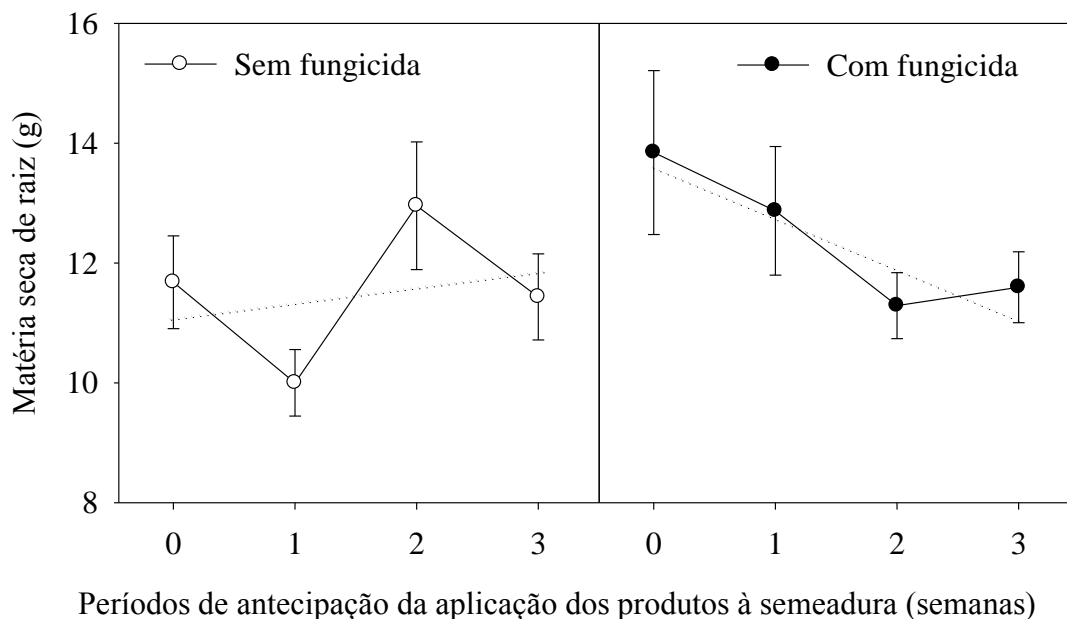
**Tabela 2-** Análise de variância dos dados obtidos nas avaliações de matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSRAIZ), número de nódulos por planta (NNOD), matéria seca de nódulos por planta (MSNOD), peso da matéria seca por cem nódulos (MSPNOD), teor de nitrogênio foliar (NITRO) e peso de sementes por planta (PSP), das sementes de soja após tratamento com presença ou ausência de fungicida, de polímero protetor celular, de inoculante e de períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura. Viçosa, Minas Gerais, 2011.

Fonte de variação	gl	Quadrado médio											
		MSPA	MSRAIZ	NNOD	MSNOD	MSPNOD	NITRO	PSP					
Bloco	3	285.73	56.48	13848.01	0.49	4.70		0.07	14.39				
Polímero (Pol)	1	37.83	12.37	4488.78	0.55	9.72	*	0.00	1.75				
Fungicida (Fung)	1	1.07	27.31	20150.28	**	2.51	**	0.04	0.03	128.59	**		
Fung x Pol	1	3.05	16.21	33475.78	**	1.73	**	0.02	0.03	18.74			
Inoculante (Inoc)	1	6.46	62.39	22631.28	**	0.57		12.48	**	0.17	*	190.39	**
Pol x Inoc	1	1.17	11.63	36247.78	**	1.57	**	12.24	**	0.01		6.38	
Fung x Inoc	1	1.04	2.39	4632.03		0.86	*	0.04		0.00		200.55	**
Fung x Pol x Inoc	1	23.47	3.96	8160.03		1.55	**	0.23		0.01		14.20	
Período (Semanas)	3	4.02	13.17	8555.53	*	0.26		10.56	**	0.02		21.47	
Pol x Semanas	3	0.74	4.85	20236.86	**	1.72	**	13.32	**	0.04		7.88	
Fung x Semanas	3	3.62	35.41	20915.20	**	1.35	**	0.37		0.01		8.96	
Fung x Pol x Semanas	3	4.53	3.21	5395.53		0.40		0.10		0.01		7.45	
Inoc x Semanas	3	20.61	8.77	3032.86		0.50	*	8.58	**	0.00		13.14	
Pol x Inoc x Semanas	3	13.40	4.66	8991.86	*	0.88	**	13.21	**	0.00		33.05	**
Fung x Inoc x Semanas	3	8.25	18.91	7235.61	*	0.53	*	0.12		0.02		9.82	
Fung x Pol x Inoc x Semanas	3	6.89	18.68	5259.11		0.56	*	0.05		0.04		13.05	
Erro	93	10.70	11.20	2284.29		0.16		1.46		0.02		8.09	
Média geral		38.15	11.94	71.20		0.71		1.33		1.17		1.17	
Coefficiente de variação (%)		8.58	28.04	67.12		55.84		91.14		12.39		12.39	

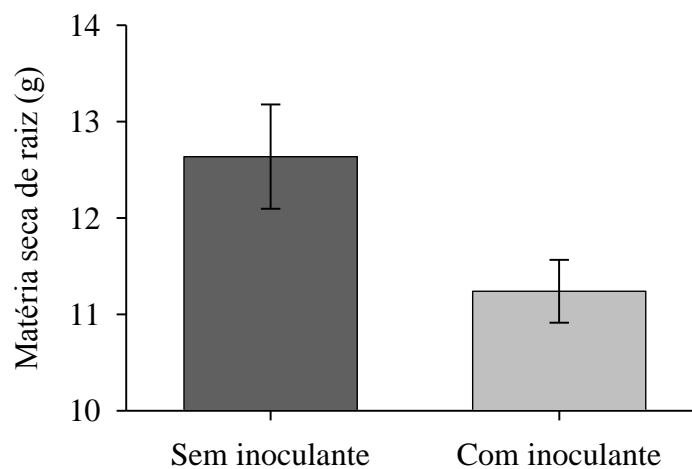
\*, \*\* Significativo pelo teste F, a 5 e 1 % de probabilidade, respectivamente. Os dados foram transformados em arco-seno  $\sqrt{\%/100}$  para análise estatística.

Na Tabela 2, pode-se observar que não houve efeito da aplicação de fungicida, de polímero ou de inoculante em qualquer período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura sobre a matéria seca da parte aérea. Esse resultado pode ter sido causado pela melhor fertilidade do solo utilizado no presente experimento, em especial ao elevado teor de matéria orgânica, quando comparado a resultados de estudos em que houve maior produção de matéria seca da parte aérea, como nos estudos realizados por Zilli *et al.* (2010<sup>a</sup>), em solo sob cerrado, em Roraima. Naqueles experimentos, o maior acúmulo de matéria seca de parte aérea ocorreu com a adubação nitrogenada, seguida da inoculação das sementes, com os dois tipos de inoculante, líquido e turfoso. Segundo os autores, essas respostas ocorreram em razão da baixa concentração de matéria orgânica naquele solo, 9,8 g.dm<sup>-3</sup>, o que corresponderia a, aproximadamente, 0,81 dag.kg<sup>-1</sup>, considerando-se a densidade aparente do solo de 1,2, conforme levantamento de Souza *et al.*, 2010, em solo semelhante daquela região. O solo do presente estudo apresentava teor de matéria orgânica de 5,1 dag.kg<sup>-1</sup> (Tabela 1).

A matéria seca de raiz foi afetada positivamente com a aplicação de fungicida no período zero, ou seja, semeadura imediatamente após a aplicação do fungicida, com a tendência desse efeito benéfico se reduzir com a antecipação da sua aplicação ao plantio (Figura 2). Por seu turno, a utilização de inoculante afetou negativamente o acúmulo de matéria seca de raiz (Figura 3), resultado contrário ao relatado por Javaid & Mahmood (2010), em que a inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* afetou positivamente o acúmulo de matéria seca de raiz de plantas cultivadas em solos em que se utilizou adubação verde e esterco.



**Figura 2** – Matéria seca de raiz (g) de plantas de soja oriundas de sementes tratadas com e sem fungicida durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à sementeira.



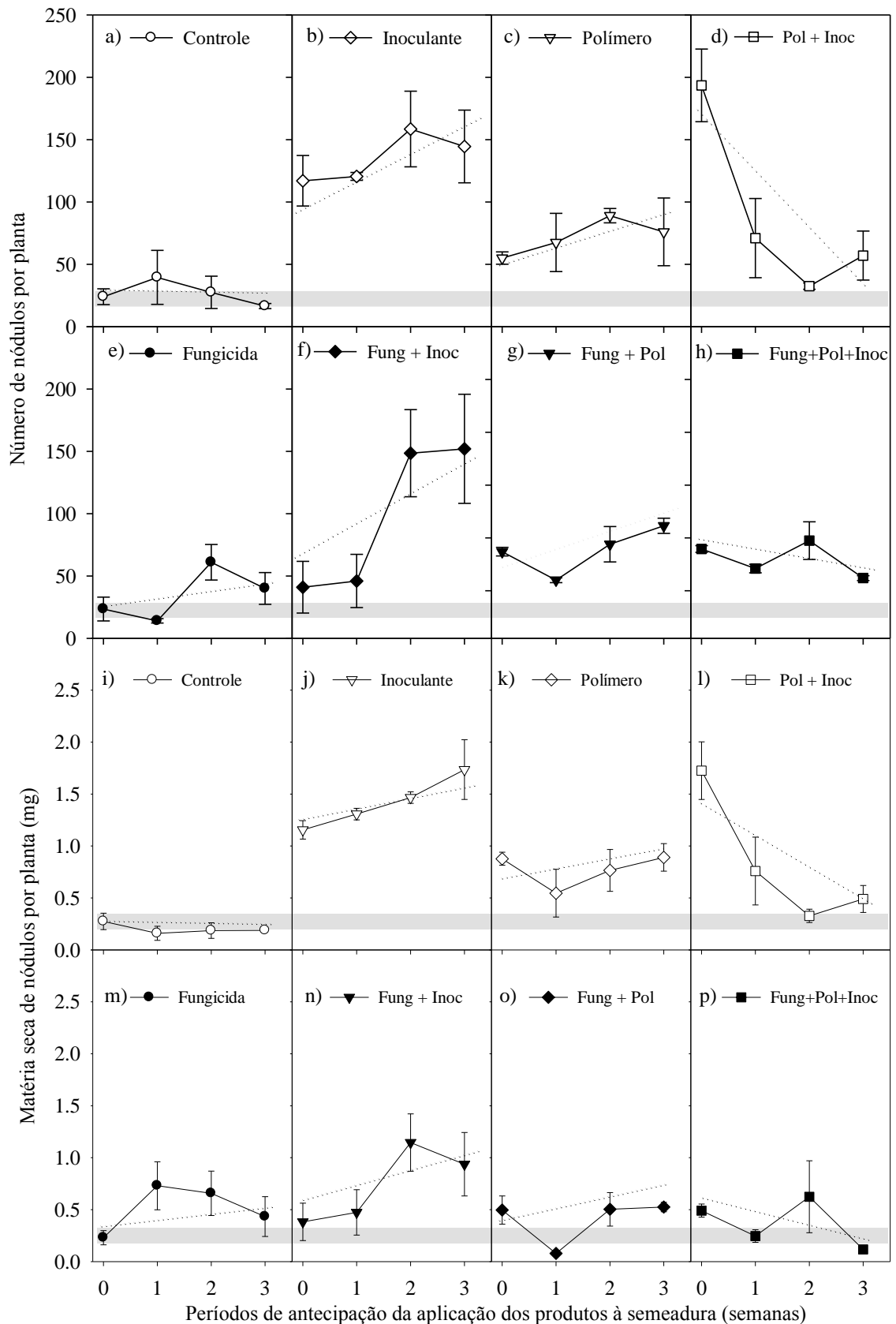
**Figura 3** – Matéria seca de raiz (g) de plantas de soja oriundas de sementes tratadas com e sem inoculante.

Em relação ao número de nódulos e matéria seca de nódulos, verificou-se que os tratamentos com inoculante (Figuras 4b e 4j), polímero (Figuras 4c e 4k), fungicida (Figuras 4e e 4m), fungicida + inoculante (Figuras 4f e 4n) e fungicida + polímero (Figuras 4g e 4o) apresentaram aumento no número e acúmulo de matéria seca de nódulos no decorrer dos períodos de antecipação da aplicação desses produtos à sementeira. Entretanto, nos tratamentos com polímero + inoculante (Figuras 4d e 4l) e fungicida + polímero + inoculante (Figuras 4h e 4p), verificou comportamento inverso, ou seja, ocorreu

decréscimo do número de nódulos à medida que se aumentou o período de antecipação da aplicação dos produtos à sementeira.

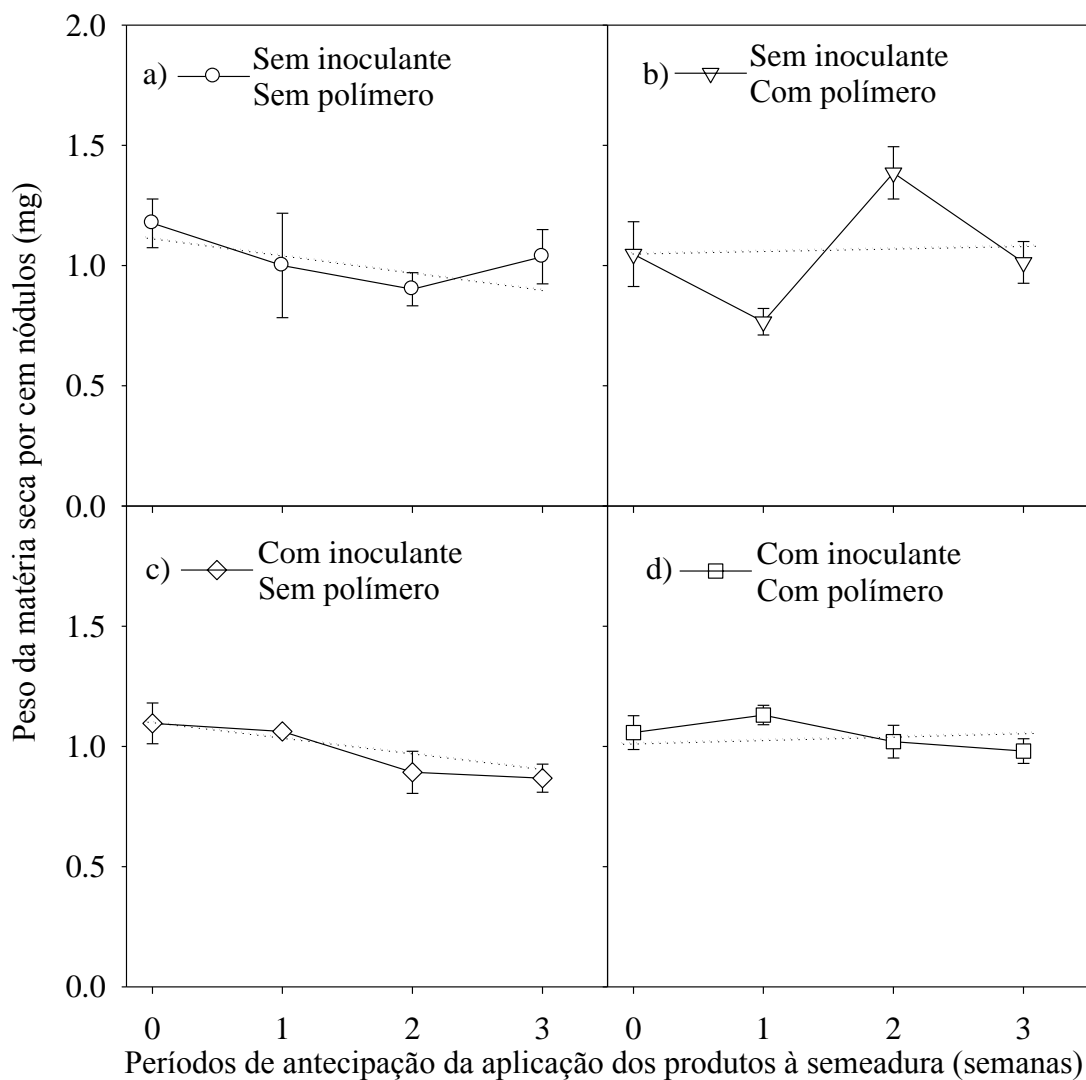
No período zero, ou seja, quando a sementeira foi realizada imediatamente após o tratamento das sementes, a utilização do tratamento polímero + inoculante (Figuras 4d e 4l), seguido do tratamento com inoculante, proporcionaram maior número e acúmulo de matéria seca de nódulos, quando comparado aos demais tratamentos. Em estudos com associação de inoculante e do polímero Disco Agroblye L204<sup>®</sup>, no tratamento de sementes de soja, Pereira *et al.* (2009<sup>a</sup>, 2010<sup>a</sup>) constataram que a peliculização não interfere na nodulação das plantas. Trabalhos de Döbereiner (1966), Bohrer & Hungria (1998) e Campos *et al.* (2001) demonstraram que a massa, e não o número de nódulos, é o indicador mais adequado para avaliar o estabelecimento de uma simbiose eficaz.

Nos períodos de duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos à sementeira, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com inoculante (Figuras 4b e 4j), seguido do tratamento com fungicida (carbendazim + thiram) em adição ao inoculante (Figuras 4f e 4n). A utilização desse último tratamento citado, no período zero, reduziu o número e o acúmulo de matéria seca de nódulos. Essa ação negativa da aplicação de fungicidas na nodulação foi observada por Pereira *et al.* (2009b) quando empregou, no tratamento das sementes de soja, os fungicidas thiabendazol+thiram, captan, carboxin+thiram, tolylfluanid e fludioxonil+metalaxil-M. Zilli *et al.* (2010b) observaram que a inoculação, com antecedência de cinco dias da sementeira, em associação com fungicida à base de carbendazim+thiram ou carboxin+thiram afetou negativamente o número e a massa de nódulos. Campo & Hungria (2000) comentam que a ação negativa, na sobrevivência do *Bradyrhizobium* na superfície das sementes, da aplicação de fungicidas, pode ocorrer em razão do ingrediente ativo, do pH e/ou dos solventes utilizados nas formulações.



**Figura 4** – Número e matéria seca de nódulos por planta de soja oriunda de sementes tratadas com e sem aplicação de fungicida, de polímero e de inoculante durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à semeadura.

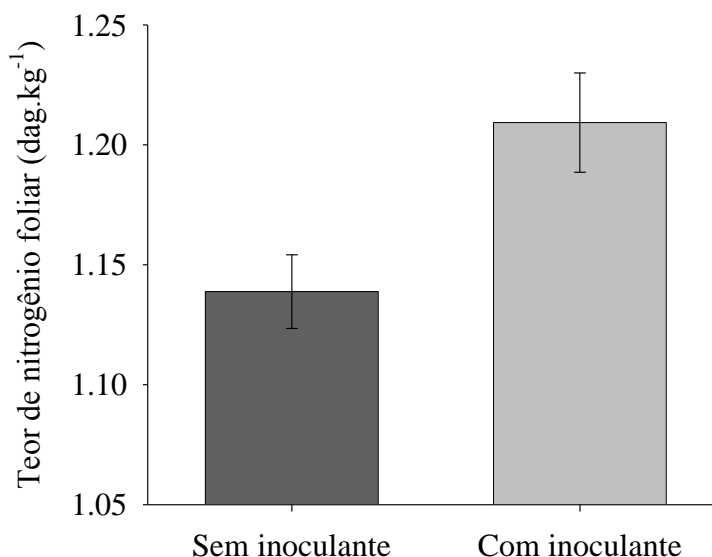
O peso da matéria seca por cem nódulos, ou seja, o tamanho de nódulos, no período zero, não diferiu significativamente entre os tratamentos (Figura 5). Observou-se, ainda, que os tratamentos com presença de polímero, independentemente da ausência (Figura 5b) ou presença (Figura 5d) de inoculante, não apresentou diferença significativa no tamanho de nódulos após os períodos de antecipação da aplicação do polímero à semeadura. Entretanto, há redução no tamanho de nódulos nas plantas oriundas de tratamentos de sementes que não receberam aplicação de polímero, independente da presença ou ausência de inoculação (Figuras 5a e 5c).



**Figura 5** – Peso da matéria seca por cem nódulos (mg) de plantas de soja oriundas de sementes tratadas com e sem aplicação de polímero e de inoculante.

A inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* aumentou o teor de nitrogênio foliar nas plantas de soja, demonstrando a eficiência do microrganismo

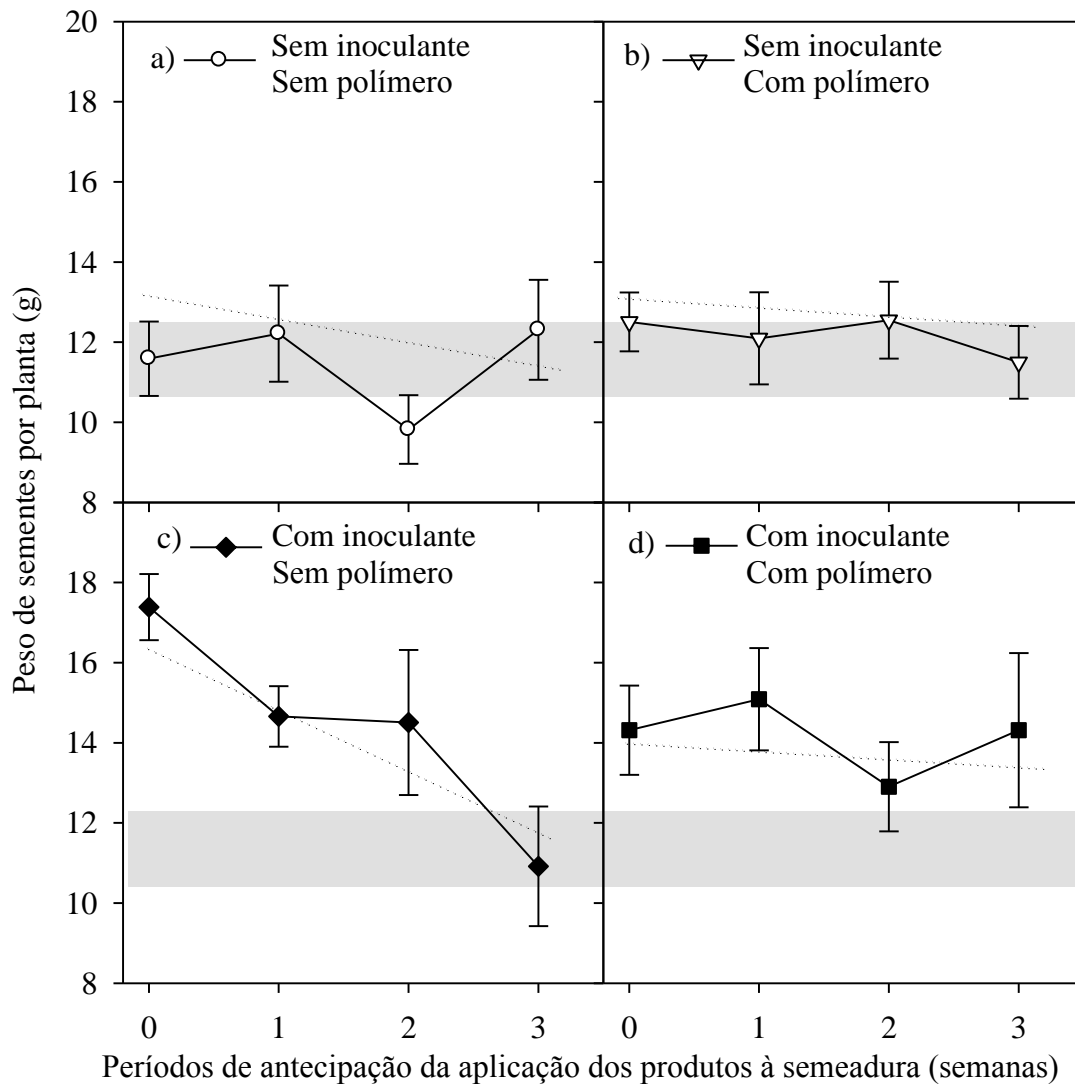
empregado no experimento e do inoculante comercial colocado à disposição dos agricultores (Figura 6). O aumento no teor de nitrogênio das plantas de soja oriundas de sementes inoculadas tem sido relatados no Brasil (ZILLI *et al.*, 2010b) e em outros países, como Canadá (MABOOD *et al.*, 2005), África do Sul (BOTHÁ *et al.*, 2004) e Paquistão (JAVAID & MAHMOOD, 2010).



**Figura 6** – Teor de nitrogênio foliar (dag.kg<sup>-1</sup>) de plantas de soja oriundas de sementes tratadas com e sem aplicação de inoculante.

Na Figura 7, pode-se observar o efeito da inoculação das sementes em combinação com o emprego de polímero na produção de sementes por planta. Verifica-se que a inoculação, isoladamente ou em conjunto com a aplicação de polímero, proporcionou produtividade de sementes superior ao tratamento sem inoculante, em todos os períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura (Figura 7), exceto para o período de três semanas (Figura 7c). Em solos de primeiro plantio, em Roraima, sementes inoculadas promoveram maior produtividade de grãos em relação às sementes sem tratamento (ZILLI *et al.*, 2008). Por outro lado, em área em que as populações de *Bradyrhizobium* já se encontravam estabelecidas de inoculações anteriores, sob sistema de plantio direto, as plantas de soja não responderam à prática de inoculação e, segundo os autores do trabalho (CAMPOS & GNATTA, 2006), esse fato, provavelmente, decorreu porque as populações de rizóbio existentes no solo apresentavam estirpes eficientes e em número adequado. O solo empregado no presente experimento não havia sido inoculado há pelo menos seis anos. Esse fato pode ter ocasionado a melhoria da produtividade pela introdução de estirpes mais eficientes, enquanto os tratamentos sem inoculação apresentaram

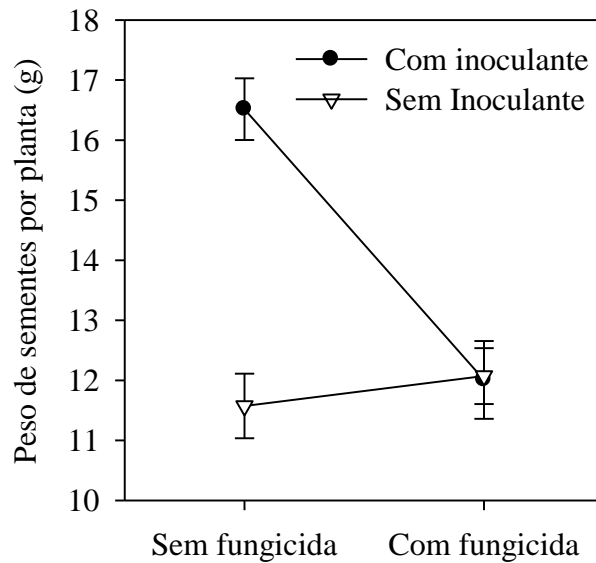
produtividade razoável, em razão da presença de inóculo e bom nível de matéria orgânica, como mencionado anteriormente.



**Figura 7** – Peso (g) de sementes por planta de soja oriunda de sementes inoculadas ou não, com ou sem polímero, em quatro períodos de antecipação à semeadura.

Plantas oriundas de sementes tratadas com fungicida tenderam a produzir menos que aquelas sem fungicida (Figura 8). Zilli *et al.* (2009), comparando a resposta diferencial das espécies *B. elkanii* e *B. japonicum*, verificaram redução no número de nódulos e na produtividade de grãos de soja quando as sementes foram inoculadas com *B. elkanii* e foram tratadas com os fungicidas carbendazim+thiram e carboxin + thiram; por outro lado, quando as sementes foram inoculadas com *B. japonicum*, o efeito desses fungicidas foi não significativo. Pereira *et al.* (2010), trabalhando com sementes de soja tratadas com os fungicidas carbendazim + thiram e thiabendazole + thiram, também não observaram

redução significativa no número de vagens por planta, quando a espécie utilizada para inoculação foi o *B. japonicum*.



**Figura 8** – Peso de sementes por planta (g) de soja oriunda de sementes tratadas com e sem aplicação de fungicida e de inoculante durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à semeadura.

#### 4. CONCLUSÕES

A inoculação reduziu a matéria seca de raiz, aumentou o teor de nitrogênio foliar e a produtividade. A aplicação de fungicida aumentou a matéria seca de raiz, enquanto a de polímero aumentou o tamanho de nódulos.

O tratamento polímero + inoculante, seguido do tratamento com inoculante, proporcionou maior número e acúmulo de matéria seca de nódulos, quando comparado com os demais tratamentos, no período zero, isto é, quando a semeadura foi realizada imediatamente após o tratamento das sementes. Também proporcionou produtividade superior ao controle, em todos os períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, exceto para o período de três semanas.

O tratamento fungicida + inoculante reduziu o número e acúmulo de matéria seca de nódulos no período zero. Entretanto, nos períodos de duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com inoculação, seguido de fungicida + inoculação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v.252, p.1-9, 2003.
- 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**, v. 26, n. 2, p. 141-145, 1998.
- ANNAPURNA, K. *Bradyrhizobium japonicum*: Survival and nodulation of soybean as influenced by fungicide treatment. **Indian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 305-307, 2005.
- BIGATON, D. **Fungicidas e micronutrientes aplicados em tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio**. 2005. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Dourados, MS.
- BIKROL, A.; SAXENA, N.; SINGH, K. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 667-671, 2005.
- BOHRER, T.R.J. & HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.
- BOTHA, W.J.; JAFTHA, J.B.; BLOEM, J.F.; HABIG, J.H.; LAW, I.J. Effect of soil bradyrhizobia on the success of soybean inoculants strain CB 1809. **Microbiology Research**, v.159, p.219-231, 2004.
- CAMPO, J. R.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 32 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 26).
- CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA, 13., Londrina, 2006. **Anais**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. P.89-123 (Embrapa Soja. Documentos, 290).

- CAMPOS, B.C. & GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.69-76, 2006.
- CAMPOS, B.C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N<sub>2</sub> por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p.583-592, 2001.
- COELHO, M.A.O. **Atividade da nitrato redutase, composição mineral e caracteres da planta de trigo associados à aplicação de molibdênio, à peletização e à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense***. 2001. 149p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- DATE, R.A. Advances in inoculant technology: a brief review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.321-325, 2001.
- DELWICHE, L.D.; SLAUGHTER, S.J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.
- DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, 210:850-852, 1966.
- EMBRAPA - **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. - Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255p.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages en soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, 1977. 11p. (Special Report, 80).
- FERREIRA, J.S.; SABINO, D.C.C.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Seleção de veículos para o preparo de inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.2, p.6-12, 2003.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J. **A inoculação da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1997. 28p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular Técnica, 17).
- JAVOID, A.; MAHMOOD, N. Growth, nodulation and yield response of soybean to biofertilizers and organic manures. **Pakistan Journal Botany**, v.42, n.2, p.863-871, 2010.

- MABOOD, F.; ZHOU, X.; LEE, K.D.; SMITH, D.L. Methyl jasmonate, alone or in combination with genistein, and Bradyrhizobium japonicum increases soybean (Glycine max L.) plant dry matter production and grain yield under short season conditions. **Field Crops Research**, v.95, p.412-419, 2005.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Avaliação do estado nutricional das plantas; princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato**, 1997. p.82-117.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. Londrina: ABRATES, **Comitê de Vigor de Sementes**, 1999. p. 2.1-2.24.
- NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. **Ensaio em ambiente protegido**. Métodos de pesquisa em fertilidade do solo (EMBRAPA), Brasília, DF, 1991. p. 189-253.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.M.; BOTELHO, F.J.E. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com Bradyrhizobium. **Revista Agroambiente**, v.4, n.2, p.62-66, jul-dez, 201b.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.E.; ROSA, M.C.M.; COSTA NETO, J. Desempenho de sementes de soja tratadas com fungicidas e peliculizadas durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.40, n.3, p.433-440, 2009a.
- 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**, Fortaleza, v.40, n.3, p.433-440, jul./set. 2009b.
- PESKE, S.; LEVIEN, A. Demanda de Sementes. In: ABRASEM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2005**. Tudo começa pelas sementes. Pelotas, p.10-13, 2005.
- RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo**, 2 ed. Campinas: Instituto Agrônomico & Fundação IAC, 1996. 285p.
- REICHENBACH, J. Film-coating para agregar qualidade e segurança. **Seed News**, n.1, 2004.
- SCHABENBERGER, O. & PIERCE, F.J. **Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences**. New York: CRC Press, 2001. 738p.

- SOUZA, M.I.L.; VALE JUNIOR, J.F; UCHÔA, S.C.P; MELO, V.F. Características físicas, químicas e conteúdo de água em solos convertidos de savana para plantio de *Acacia mangium*. **Revista Agroambiente**, v. 4, n. 1, p. 20-26, jan, 2010.
- TAYLOR, A. G.; GRABE, D. F.; PAINE, D. H. Moisture content and water activity determination of pelleted and film-coated seeds. **Seed Science Technology**, v. 19, n. 1, p. 24-32, 1997.
- ZILLI, J.E.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.3, p.335-338, mar, 2010b.
- ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.43, n.4, p.541-544, abr., 2008.
- ZILLI, J.E.; RIBEIRO, K.G.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.917-923, 2009.
- ZILLI, J.E.; SMIDERLE, O.J.; FERNANDES JÚNIOR, O.I. Eficiência agronômica de diferentes formulações de inoculantes contendo *Bradyrhizobium* na cultura da soja em Roraima. **Revista Agroambiente**, Boa Vista, v.4, n.2, p.56-61, jul-dez, 2010a.

### III. TRATAMENTO ANTECIPADO DE SEMENTES DE SOJA COM FUNGICIDA, PROTETOR CELULAR E INOCULANTE. III- RELAÇÕES CAUSA-EFEITO DA NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DA SOJA.

RESUMO - A fixação biológica de nitrogênio, por meio da simbiose soja-*Bradyrhizobium* spp, foi uma das grandes propulsoras da sojicultura em larga escala, no Brasil, propiciando redução significativa do custo de produção pela substituição da adubação nitrogenada. A eficiência desse processo simbiótico é garantida pela inoculação das sementes imediatamente antes da semeadura, que, por vezes, torna a operação de plantio mais complexa, fato que tem levado parcela dos agricultores a dispensar a inoculação, com prejuízos à produtividade das lavouras. O uso de polímero protetor celular pode ser uma forma de proteção das sementes durante a inoculação e também pode ser responsável pela sobrevivência das células bacterianas no período entre o tratamento das sementes até o plantio, eliminando a necessidade do plantio imediato das sementes inoculadas. Portanto, objetivou-se avaliar o relacionamento entre os componentes da produção de sementes por planta, o teor de nitrogênio nas folhas da soja e o número e a massa de nódulos por planta, sob a influência dos vários tratamentos derivados da combinação em fatorial das presenças ou ausências do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, da inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, da aplicação de fungicida e dos diferentes períodos de antecipação da aplicação desses produtos à data da semeadura. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR foram tratadas com o fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim+thiram), polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, inoculante turfoso Rizo-Plus e armazenadas em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero, uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e 32 tratamentos, constituídos pelo esquema fatorial 2x2x2x4 (fungicida x polímero x inoculante x períodos (semanas) de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura). Avaliaram-se o número e a matéria seca de nódulos por planta, o teor de nitrogênio foliar, o número de vagens por planta, o número de sementes por vagem, o peso de cem sementes e o peso de sementes por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e à modelagem de um sistema de equações estruturais, relacionando número e peso dos nódulos com a produtividade da soja e seus componentes. Concluiu-se que o peso da matéria seca de nódulos por planta é bom indicador da eficiência da nodulação. A inoculação resultou em maior número de vagens por planta, que se constituiu no componente de maior influência sobre a produtividade da soja. O tratamento polímero + inoculante, seguido do tratamento apenas inoculante, proporcionou maior acúmulo de matéria seca de nódulos, quando

comparado aos demais tratamentos, no período zero semana do tratamento ao plantio. Também proporcionou produtividade superior ao controle em todos os períodos de antecipação.

Palavras-Chave: *Glycine Max*; sementes; polímero protetor celular; análise de trilha; produtividade.

### **III. ANTICIPATED TREATMENT OF SOYBEAN SEEDS WITH FUNGICIDE, CELL PROTECTOR AND INOCULAT. III – CAUSE-EFFECT RELATIONSHIPS ON NODULATION AND SOYBEAN PRODUCTIVITY.**

SUMMARY - The biological nitrogen fixation by soybean symbiosis with bacteria of the genus *Bradyrhizobium* was a major propellant for large-scale cultivation of this crop in Brazil replacing the mineral N fertilization, providing significant reduction of production cost. The inoculation procedure is performed just before the sowing and frequently is described as an action that reduces the efficiency of sowing operation due to the time expended. In some instances, this difficulty has been responsible for no inoculation by the farmers. The use of cell protector polymers can be a way to protect the seeds during the inoculation process and also a protector for the bacterial cells while waiting the sowing in the field, eliminating the immediate sowing of seeds inoculated. Therefore the objective of this work was to evaluate the interrelationship of the components of seed yield per plant, the nitrogen rate in leaves of soybean and the number and weight of nodules per plant under the influence of various treatments derived from the factorial combination consisting of the presence or absence of application of fungicides, EnVigor™ cell protector polymer, inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*, and different periods of application of these treatments before sowing. Seeds of TMG 131 RR soybean cultivar were treated with the Derosal Plus® fungicide (carbendazim + thiram), EnVigor™ cell protector polymer, RizoPlus peat inoculant and stored at laboratory conditions in paper bags for a period of zero, one, two and three weeks before sowing. The experimental design was a randomized complete block, with 32 treatments, constituted by the 2x2x2x4 factorial (combination of presence or absence of fungicide, polymer, inoculation and periods of anticipation to sowing). The following characteristics were evaluated: number and dry matter of nodules per plant, nitrogen rate in the leaves, number of pods per plant, number of seeds per pod, weight of hundred seeds and seed weight per plant. The data were submitted to the analysis of variance and the modeling of a system of structural equations, relating the number and weight of nodules of soybean yield and its components. The dry matter of nodules per plant is a good indicator of the efficiency of nodulation. The inoculation results in higher number of pods per plant, which is the component of greatest influence on soybean productivity. Polymer + inoculation treatment, followed by inoculation alone treatment provided a higher dry matter accumulation of nodules when compared with other treatments in period zero. Also, this treatment provided higher productivity than the control in all periods of anticipation to sowing.

Key-words: *Glycine max*; seeds; cell protector polymer; path analysis; productivity.

## 1. INTRODUÇÃO

A adaptabilidade da cultura da soja às mais diversas condições edafoclimáticas brasileiras deve-se, em grande parte, à fixação biológica de nitrogênio, que substitui a adubação nitrogenada mineral, propiciando redução significativa de custo de produção (HUNGRIA *et al.*, 2007).

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja. Estima-se que, para produzir 1000 kg de grãos, são necessários aproximadamente 80 kg de N. Basicamente, as fontes de N para a cultura da soja são os fertilizantes nitrogenados e o N atmosférico, que se torna disponível através da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (HUNGRIA *et al.*, 2001). A FBN, através da simbiose da soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (rizóbio), foi uma das grandes propulsoras para o cultivo em larga escala dessa cultura no Brasil, em que bactérias, quando em contato com as raízes da soja, infectam-nas via pelos radiculares, formando os nódulos. Esse processo resulta na transformação do N<sub>2</sub> em amônia (NH<sub>3</sub>), intermediado pela enzima dinitrogenase, presente em determinados grupos de bactérias.

Alguns fatores, como: estirpe utilizada, adesivos, dose do inoculante, tratamento de sementes com fungicidas, adubação da cultura, tipo de solos, época de plantio e condições ambientais podem interferir no estabelecimento da simbiose planta-rizóbio (CAMPO & HUNGRIA, 2000).

O processo de fixação biológica de nitrogênio é realizado por microrganismos chamados diazotróficos (bactérias e cianobactérias fixadoras de nitrogênio). Algumas estirpes de *Bradyrhizobium* são mais eficientes na fixação de nitrogênio. No Brasil, são recomendadas quatro estirpes para a cultura da soja, sendo duas de *B. elkanii* (SEMIA 587 e SEMIA 5019) e duas de *B. japonicum* (SEMIA 5079 e SEMIA 5080) (EMBRAPA, 2010).

O tratamento químico de sementes de soja, principalmente com fungicidas, também é prática amplamente difundida. Atualmente, cerca de 90 % das sementes de soja comercializadas no Brasil recebem tratamento com produtos químicos protetores (PESKE & LEVIEN, 2005). A aplicação de fungicidas via tratamento de sementes pode reduzir significativamente a população de *Bradyrhizobium* nas mesmas (ANNAPURNA, 2005) e reduzir o número e a matéria seca de nódulos (ANDRÉS *et al.*, 1998; BIKROL *et al.*, 2005). Entretanto, dependendo dos fungicidas aplicados nas sementes, não são observados efeitos significativos sobre a nodulação (BIGATON, 2005).

A eficiência da produção de nódulos em leguminosas depende, entre outros fatores, da manutenção do número mínimo de células viáveis da bactéria no inoculante, desde a sua fabricação até o uso pelo agricultor (FERREIRA *et al.*, 2003). Na maioria das lavouras de soja do país, o processo de inoculação das sementes ocorre no momento da semeadura, sendo, frequentemente, descrito como uma atividade que reduz sua eficiência, em razão do tempo despendido para sua operação. Por vezes, essa dificuldade tem sido responsável pela não utilização da inoculação na cultura por parte dos agricultores (CAMPO & HUNGRIA, 2007).

Juntamente com o tratamento fungicida das sementes de soja, tem sido realizada a aplicação de polímeros, os quais formam uma película ao redor das sementes para uniformizar o tamanho e o formato das sementes, assegurando a precisão na semeadura e na aplicação dos produtos químicos, causando ainda uma significativa redução nos custos da lavoura, denominado peliculização ou “film coating” (TAYLOR *et al.*, 1997). Os polímeros utilizados no tratamento de sementes podem aumentar a retenção e a uniformidade de distribuição de fungicidas na superfície das sementes (REICHENBACH, 2004).

O uso de polímero protetor celular no tratamento de sementes pode ser uma forma de proteção, durante a inoculação das bactérias, e também no prolongamento do período de sobrevivência das células bacterianas entre o tratamento das sementes e o plantio. A operação de inoculação é simples, mas exige que seja executada pouco antes do plantio e, quando há atraso nesse processo, recomenda-se a re-inoculação, o que representa dificuldade pelo acúmulo de serviços na época dos plantios, principalmente quando se pretende plantar em grandes áreas. Diversos experimentos no Brasil, durante três anos consecutivos, indicaram ser possível a inoculação antecipada das sementes de soja em até cinco dias antes da semeadura (CAMPO & HUNGRIA, 2007). No entanto, a aplicação dessa estratégia de inoculação depende de vários fatores, especialmente da habilidade da bactéria sobreviver na semente, o que tem restringido o uso dessa prática (DATE, 2001).

Nesse sentido, o polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, de base orgânica, biodegradável e multifuncional foi desenvolvido para o recobrimento de sementes com o objetivo de aumentar a vida útil das bactérias, bem como manter o inoculante aderido às sementes.

O nitrogênio (N) é o elemento mais abundante na atmosfera terrestre (em torno de 70%). Nas plantas, é componente responsável por várias reações, além de fazer parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. Por ser elemento essencial, sua deficiência afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e a translocação de fotoassimilados e

a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar afetado primeiramente (RYLE *et al.*, 1979; TAIZ & ZIEGER, 2004). A consequência disso é a diminuição do crescimento das plantas e da produtividade.

Essa produtividade de sementes ou grãos é determinada pelo número de sementes por unidade de área e pela massa da semente. Entretanto, muitas diferenças em produtividade induzidas pelo ambiente, porém não todas, são devido à diferença no número de sementes. A massa destas é geralmente inversamente correlacionada ao número de sementes por unidade de área (HANSON, 1986), sendo determinada por sua taxa de crescimento e duração do período de seu enchimento, ambos geneticamente controlados (EGLI *et al.*, 1981, 1984; GULDAN & BRUN, 1985), embora também ocorram influências ambientais (EGLI & WARDLAW, 1980; MECKEL *et al.*, 1984; EGLI *et al.*, 1985). Tentativas de aumentar a produtividade pelo aumento do número de sementes ou da sua massa tem resultado em insucesso, em razão da compensação que ocorre entre esses dois componentes (SWANK *et al.*, 1987). Essa compensação existente entre número e massa fez Hanson (1986) concluir que as sementes são receptáculos de assimilados, e os fatores limitantes da produtividade ocorrem em algum lugar fora da semente.

Alguns estudos (JOHNSTON *et al.*, 1969; SCHOU *et al.*, 1978; EGLI & YU, 1991) têm indicado que o número de sementes por unidade de área depende das condições ambientais durante a floração e o estabelecimento das vagens. Os efeitos negativos do stress nesses períodos são particularmente importantes e podem reduzir a produtividade pela redução de número de vagens, número de sementes e massa da semente (DOSS & THURLOW, 1974; SIONIT & KRAMER, 1977; ASHLEY & ETHRIDGE, 1978).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o relacionamento entre os componentes da produção de sementes por planta, o teor de nitrogênio nas folhas da soja e o número e a massa de nódulos por planta, sob a influência dos vários tratamentos derivados da combinação em fatorial das presenças ou ausências do polímero protetor celular EnVigor<sup>TM</sup>, da inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, da aplicação de fungicida e dos diferentes períodos de antecipação da aplicação desses produtos à data da semeadura.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em Casa de Vegetação e no Laboratório de Melhoramento de Soja e Pesquisa de Sementes do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Sementes de soja da cultivar TMG 131 RR, de ciclo precoce, com resistência a nematóide de cisto e crescimento

vegetativo adaptado para a produção na safrinha, obtidas junto a Sementes Adriana – Rondonópolis – MT, foram tratadas na seguinte sequência, quando os produtos foram aplicados: fungicida Derosal Plus<sup>®</sup> (carbendazim + thiram), na dose de 200 mL por 100 kg de sementes; polímero protetor celular EnVigor<sup>™</sup>, na dose de 29 mL por 50 kg; e inoculante turfoso Rizo-Plus, na dose de 3,0 milhões de células da bactéria *Bradyrhizabium japonicum*, estipes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 por semente. Depois de tratadas, essas sementes foram armazenadas, em condição ambiente, em sacos de papel, por um período de zero (semeio imediato), uma, duas e três semanas de antecipação ao plantio.

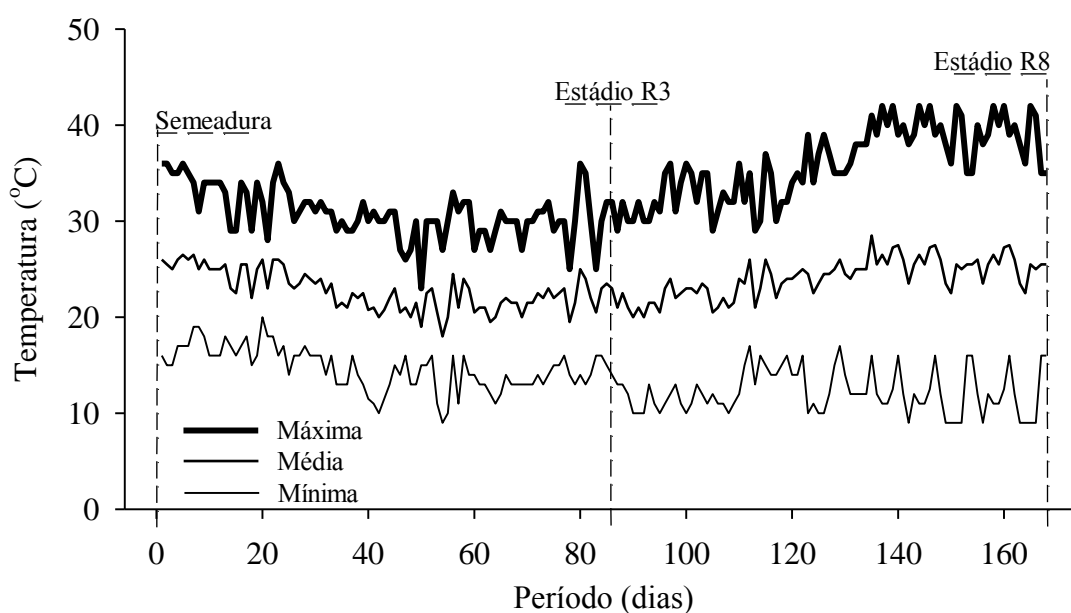
Em casa de vegetação, as sementes foram colocadas em vasos plásticos contendo 2,5 dm<sup>3</sup> de amostra de um Latossolo Vermelho Amarelo, inoculado há mais de seis anos. Antes da semeadura nos vasos foi realizada análise química (Tabela 1) do solo 40 dias antes da instalação do experimento, no Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. Foi realizada a calagem com calcário dolomítico, na dose de 2,0 t.ha<sup>-1</sup>, pois a saturação de bases (V) e os teores de Ca<sup>+2</sup> e Mg<sup>+2</sup> encontravam-se abaixo do mínimo recomendado para a cultura da soja, segundo Raij *et al.*, 1996. A adubação com fósforo, potássio e micronutrientes foi realizada, segundo Novais *et al.* (1991), nas seguintes doses: K = 150,00; S= 40,00; Mn = 3,66; Mo = 0,15 e Zn = 4,00, todos em mg.kg<sup>-1</sup> de solo, sendo utilizadas como fonte cloreto de potássio, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, molibdato de sódio e sulfato de zinco. Quanto ao fósforo, utilizou-se a dose de 400 mg.kg<sup>-1</sup> de solo, servindo como fonte o superfosfato simples. A adubação com enxofre e micronutrientes foi realizada em cobertura, aos 15 dias após a emergência das plântulas.

**Tabela 1** – Características químicas do solo Latossolo Vermelho-Amarelo, utilizado no experimento, antes da correção com calagem e adubação. Viçosa, MG, 2011.

pH	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	T	V	m	MO	P-rem
H <sub>2</sub> O	-- mg dm <sup>-3</sup> --		-----	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			-----	----- % -----	-----	dag kg <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>
5,00	3,2	54	2,2	0,7	0,5	9,41	12,45	24	14	5,1	22,2

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Químicas de Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa. pH em água, KCl e CaCl<sub>2</sub> – Relação 1:2,5. P – K – Extrator Mehlich 1. Ca – Mg – Al – Extrator: KCl – 1 mol L<sup>-1</sup>. H + Al – Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> – pH 7,0. CTC (T) – Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0. V = Índice de Saturação de Bases. m = Índice de Saturação de alumínio. Matéria Orgânica (MO) = C. Org. x 1,724 – Walkley-Black. P-rem = Fósforo Remanescente.

A semeadura foi realizada no dia 28 de abril de 2011. Foram semeadas quatro sementes em cada vaso, para cada tratamento, na profundidade de três centímetros. Após a emergência, deixaram-se as duas plântulas mais vigorosas por vaso. O efeito do fotoperíodo foi controlado com iluminação artificial do crescimento vegetativo à indução do florescimento, enquanto a irrigação foi realizada de modo a manter o teor de água no solo com 2/3 da capacidade de campo. Os dados climáticos diários de temperaturas máxima, média e mínima foram registrados durante o período de desenvolvimento e produção das sementes (Figura 1).



**Figura 1** – Temperaturas máxima, média e mínima do ar (°C) durante o período de desenvolvimento e produção das sementes de soja em casa de vegetação. Viçosa, Minas Gerais, 2011.

No estágio R3, que corresponde ao estágio de início da formação da vagem, segundo Fehr & Caviness (1977), realizou-se as seguintes avaliações:

**Número de nódulos viáveis por planta (NNod)** – quando a planta atingiu o estágio de avaliação, retirou-se o sistema radicular com os nódulos; em seguida, eles foram destacados e contados, sendo os resultados expressos em número de nódulos por planta, de acordo com metodologia proposta por Hungria *et al.* (1997).

**Matéria seca de nódulos viáveis por planta (MSNod)** – após retirada dos nódulos do sistema radicular, os mesmos foram acondicionados em sacos de papel e levados a estufa, com circulação forçada de ar, mantida à temperatura de 65 °C, por 72 horas. Após esfriar em dessecador, cada repetição foi pesada em balança com precisão de 0,001 g, sendo os resultados foram expressos em mg por planta de acordo com metodologia proposta por HUNGRIA *et al.* (1997).

**Teor de nitrogênio no terceiro trifólio da planta (Nitro)** – retirou-se o terceiro trifólio da planta de soja, as amostras foram lavadas em água deionizada, secas em estufa com circulação forçada em ar à temperatura de 60 °C até atingirem massa constante. Em seguida, as amostras foram moídas. O nitrogênio foi determinado por método semimicro Kjeldahl (MALAVOLTA *et al.*, 1997). Nesse caso, os resultados foram expressos  $\text{dag.kg}^{-1}$ .

No estádio R8, quando 95 % das vagens apresentavam coloração típica de vagem madura, segundo Fehr & Caviness (1977), foram avaliados **número de vagens por planta (NVP)**, **número de sementes por vagem (NSV)**, **peso de cem sementes (PCS)** e **peso de sementes por planta (PSP)** com massa corrigida para 13 % de umidade.

O delineamento estatístico empregado foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos pelo fatorial  $2 \times 2 \times 2 \times 4$ , correspondendo à presença ou ausência de fungicida, de polímero e de inoculante, e dos quatro períodos de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura. Totalizaram-se, portanto, 32 tratamentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e à modelagem de um sistema de equações estruturais, conforme Wright (1921), utilizando-se o software SAS (SCHABENBERGER & PIERCE, 2001; DELWICHE & SLAUGHTER, 2003), relacionando número e peso dos nódulos com a produtividade da soja e os componentes primários da produção.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Conforme os resultados da análise de variância (Tabela 2), houve efeito significativo de tratamentos nas variáveis estudadas, exceto na variável teor de nitrogênio foliar. Esses resultados, conforme discutido no Artigo II, representam as respostas à aplicação dos tratamentos, constituídos pelo fatorial  $2 \times 2 \times 2 \times 4$  (fungicida, polímero, inoculação, períodos (semanas) de antecipação da aplicação dos produtos). No caso do nitrogênio, conforme relatado no Artigo II, observou-se efeito positivo e significativo da inoculação das sementes. Entretanto, neste Artigo, na análise considerando os 31 graus de liberdade para tratamentos, esse efeito é diluído pelos demais efeitos não significativos, concordando com os resultados obtidos por HSU (1996).

**Tabela 2** – Análise de variância, média geral e coeficiente de variação das variáveis relacionadas à produtividade por planta e eficiência da nodulação<sup>1/</sup>.

Variável	QM_BL	QM_TR	QM_Erro	Pr>F (TR)	Média	C.V.%
PSP	14.3899	29.1955	8.0938	<0.0001	13.04	21.82
NVP	133.6129	152.0917	56.493	0.0001	38.39	19.58
NSV	0.0125	0.095	0.0518	0.0139	2.40	9.46
PCS	0.2643	7.0445	2.439	<0.0001	14.13	11.06
Nitro	0.0725	0.0218	0.0212	0.4407	1.17	12.39
NNod	13848	11892	2284	<0.0001	71.20	67.12
MSNod	0.4859	0.9012	0.1558	<0.0001	0.71	55.84

<sup>1/</sup>PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes, Nitro – teor de nitrogênio na folha, NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca de nódulos por planta. QM – quadrado médio para blocos (BL), tratamentos (TR) e Erro.

As estimativas dos coeficientes de correlação linear, ou de Pearson, entre as características analisadas nas equações de causa-efeito são apresentadas na Tabela 3. Observa-se, de maneira geral, que plantas que produzem mais sementes, em peso, apresentam maior número de vagem por planta e sementes de maior tamanho. Há uma relação inversa entre número de vagens por planta e número de sementes por vagem, provavelmente em razão de o maior número de flores vingadas, maior número de vagens, competir com o estabelecimento de mais sementes em cada vagem (JOHNSTON *et al.*, 1969; SCHOU *et al.*, 1978; EGLI & YU, 1991).

A correlação positiva entre número de vagens por planta e peso de cem sementes é consequência lógica da correlação positiva entre número de vagens por planta e peso de sementes por planta e do peso de cem sementes com o peso de sementes por planta (Tabela 3). O mesmo raciocínio é válido para a correlação peso de cem sementes e número de sementes por vagem, porém de forma negativa.

O número de nódulos por planta correlacionou-se positivamente com o peso da matéria seca de nódulos por planta ( $P < 0,01$ ). Observou-se que o número de sementes por vagem correlacionou-se negativamente, tanto com o número quanto com o peso da matéria seca de nódulos por planta, enquanto o número de vagem por planta esteve positivamente correlacionado ao peso da matéria seca de nódulos. Segundo FERREIRA, 2000, o peso da matéria seca dos nódulos é melhor indicador da eficiência da nodulação em relação ao número de nódulos.

A correlação positiva entre o teor de nitrogênio foliar e o peso de cem sementes é indicador do efeito favorável do bom suprimento de nitrogênio ao acúmulo de matéria seca nas sementes (PEDERSEN & LAUER, 2004).

**Tabela 3** – Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre variáveis incluídas nas equações de causa-efeito estudadas<sup>1/</sup>.

	NVP	NSV	PCS	Nitro	NNod	MSNod
PSP	0.8569**	-0.1076	0.7318**	0.1469	0.0351	0.0598
NVP		-0.4464**	0.4437**	0.1005	0.1677	0.1878*
NSV			-0.2085*	-0.0582	-0.2826**	-0.2553**
PCS				0.1956*	0.0188	0.0138
Nitro					0.0795	0.0925
NNod						0.9197**

\*,\*\* Significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

<sup>1/</sup>PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes, Nitro – teor de nitrogênio na folha, NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca de nódulos por planta.

Em consequência desses resultados, foram analisados os inter-relacionamentos das variáveis, estabelecendo-se um sistema estruturado de causa-efeito, por meio da análise dos coeficientes de trilha (*Path Analysis*), proposto por Wright (1921<sup>a</sup>, 1921b), também conhecido por *Structural Equation Model – SEM*, conforme Kline (2005, 2011). Imaginou-se um modelo em que a produção de grãos por planta fosse função do número de vagens por planta, número de sementes por vagem e peso de cem sementes (tamanho da semente). Esses fatores seriam influenciados pelo teor de nitrogênio nas folhas, o qual dependeria da fixação biológica do nitrogênio e do suprimento de nitrogênio mineral presente no solo (MANRAL & SAXENA, 2003; MEHMET, 2008).

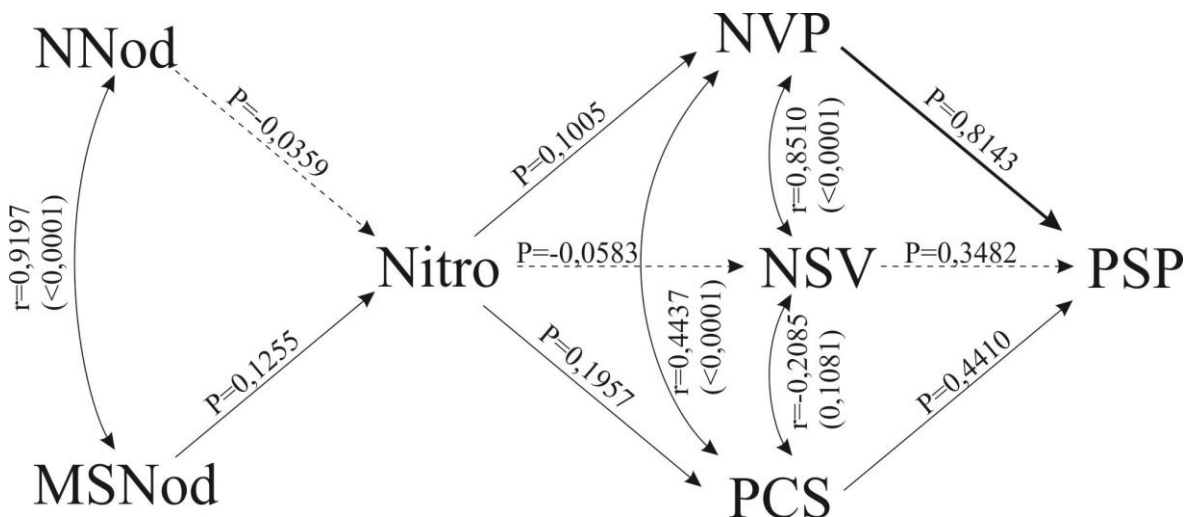
Com base nos resultados apresentados na Tabela 4, foi confeccionada a Figura 2, em que se observam as correlações entre as variáveis estritamente exógenas, número de nódulos por planta e matéria seca de nódulos por planta, bem como os efeitos diretos desses dois fatores sobre o nitrogênio e deste sobre os componentes primários da produção de sementes por planta, que são o número de vagens por planta, o número de semente por vagem e o peso de cem sementes. Essas três variáveis são, ao mesmo tempo, endógenas e exógenas. Endógenas porque resultam da ação da nodulação e exógenas se considerada a produção de sementes por planta, estando representadas as correlações lineares pelas setas bidirecionais. As setas unidirecionais de maior espessura indicam maior efeito direto de uma variável sobre outra. Os números indicam, coerentemente com a literatura (DÖBEREINER, 1966; BOHRER & HUNGRIA, 1998; CAMPOS *et al.*, 2001), que a maior influência na produção de sementes por planta é exercida pelo número de vagens por planta (P=0,8143), seguido do peso de cem sementes (P=0,4410) e, finalmente, pelo número de sementes por vagem (P=0,3482), sendo todas positivas.

**Tabela 4** – Equações manifestas, estimativas dos coeficientes de trilha, efeitos totais e indiretos das variáveis relacionadas à produtividade por planta e eficiência da nodulação<sup>1/</sup>.

Equações das variáveis manifestas e estimativas dos coeficientes de trilha:  
 $PSP = 0.8143 \times NVP + 0.3482 \times NSV + 0.4410 \times PCS + 0.1182 e_1$   
 $NVP = 0.1005 \times Nitro + 0.9949 e_2$   
 $NSV = -0.0583 \times Nitro + 0.9983 e_3$   
 $PCS = 0.1957 \times Nitro + 0.9807 e_4$   
 $Nitro = -0.0359 \times NNod + 0.1255 \times MSNod + 0.9956 e_5$

	NNod	MSNod	NVP	NSV	PCS	Nitro
----- Efeitos Totais -----						
PSP	-0.0003	0.1159	0.3308	5.1580	0.8638	3.6134
NVP	-0.0005	0.1940	0.0000	0.0000	0.0000	6.0483
NSV	0.0000	-0.0031	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0961
PCS	-0.0002	0.0783	0.0000	0.0000	0.0000	2.4413
Nitro	-0.0001	0.0321	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
----- Efeitos Indiretos -----						
PSP	-0.0003	0.1159	0.0000	0.0000	0.0000	3.6134
NVP	-0.0005	0.1940	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
NSV	0.0000	-0.0031	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
PCS	-0.0002	0.0783	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Nitro	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

<sup>1/</sup> PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes, Nitro – teor de nitrogênio na folha, NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca de nódulos por planta e=Erro.



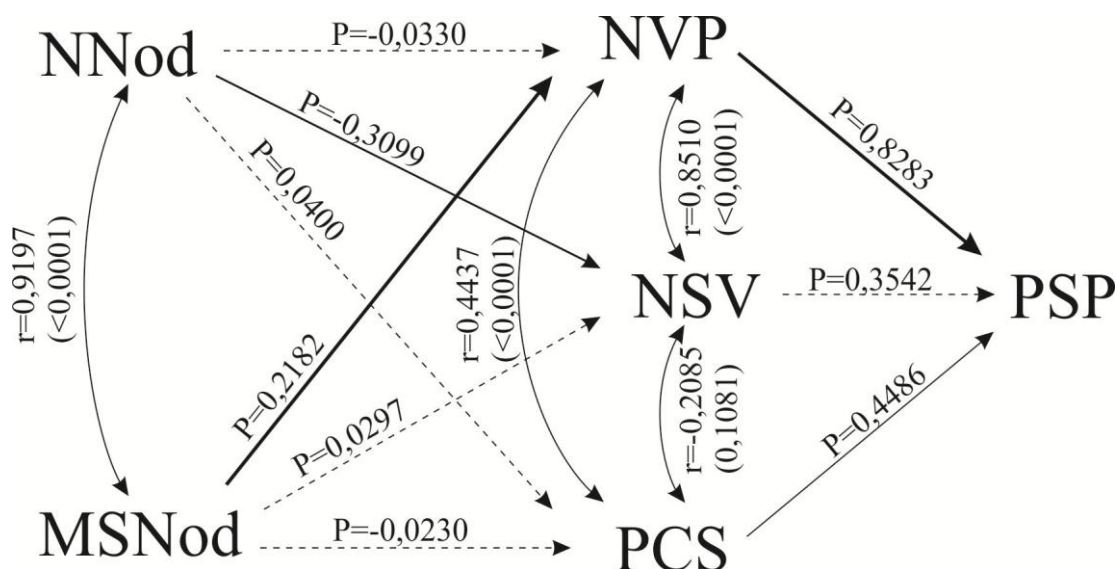
**Figura 2** – Esquema das estimativas dos coeficientes de trilha das variáveis relacionadas à produtividade por planta (PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes) e eficiência da nodulação (Nitro – teor de nitrogênio na folha, NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca dos nódulos por planta).

Em razão da não significância dos tratamentos sobre o teor de nitrogênio foliar, realizou-se a avaliação de um segundo modelo eliminando-se essa variável (Tabela 5 e Figura 3). Verificou-se que, independentemente da presença ou ausência dessa variável, as estimativas dos coeficientes de trilha não se alteraram de modo expressivo dos componentes de produção sobre a produção de sementes por planta. Portanto, pequenas falhas nas equações do modelo estrutural não causam maiores variações nas estimativas de interesse, quando apenas indiretamente relacionado. Por outro lado, a retirada da variável nitrogênio foliar do modelo mostrou de maneira mais clara a maior influência do peso da matéria seca de nódulos por planta sobre o número de vagens por planta e deste sobre o peso de sementes por planta (Figura 3). Assim, obteve-se o resultado já mencionado por alguns autores (DÖBEREINER, 1966; BOHRER & HUNGRIA, 1998; CAMPOS *et al.*, 2001) de que o peso da matéria seca dos nódulos é bom indicador da eficiência da nodulação.

**Tabela 5** – Equações manifestas, estimativas dos coeficientes de trilha, efeitos totais e indiretos das variáveis relacionadas à produtividade por planta e eficiência da nodulação<sup>1/</sup>.

Equações das variáveis manifestas e estimativas dos coeficientes de trilha:					
PSP = 0.8283 * NVP + 0.3542 * NSV + 0.4486 * PCS + 0.1202 e_1					
NVP = -0.0330 * NNod + 0.2182 * MSNod + 0.9821 e_2					
NSV = -0.3099 * NNod + 0.0297 * MSNod + 0.9592 e_3					
PCS = 0.0400 * NNod -0.0230 * MSNod + 0.9998 e_4					
	NNod	MSNod	NVP	NSV	PCS
----- Efeitos Totais -----					
PSP	-0.0061	1.1106	0.3308	5.1580	0.8638
NVP	-0.0043	3.3537	0.0000	0.0000	0.0000
NSV	-0.0011	0.0125	0.0000	0.0000	0.0000
PCS	0.0011	-0.0732	0.0000	0.0000	0.0000
----- Efeitos Indiretos -----					
PSP	-0.0061	1.1106	0.0000	0.0000	0.0000
NVP	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
NSV	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
PCS	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

<sup>1/</sup> PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes, NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca de nódulos por planta e=Erro.



**Figura 3** – Esquema das estimativas dos coeficientes de trilha das variáveis relacionadas à produtividade por planta (PSP – peso de sementes por planta, NVP – número de vagens por planta, NSV – número de sementes por vagem, PCS – peso de cem sementes) e eficiência da nodulação (NNod – número de nódulos por planta e MSNod – peso da matéria seca de nódulos por planta).

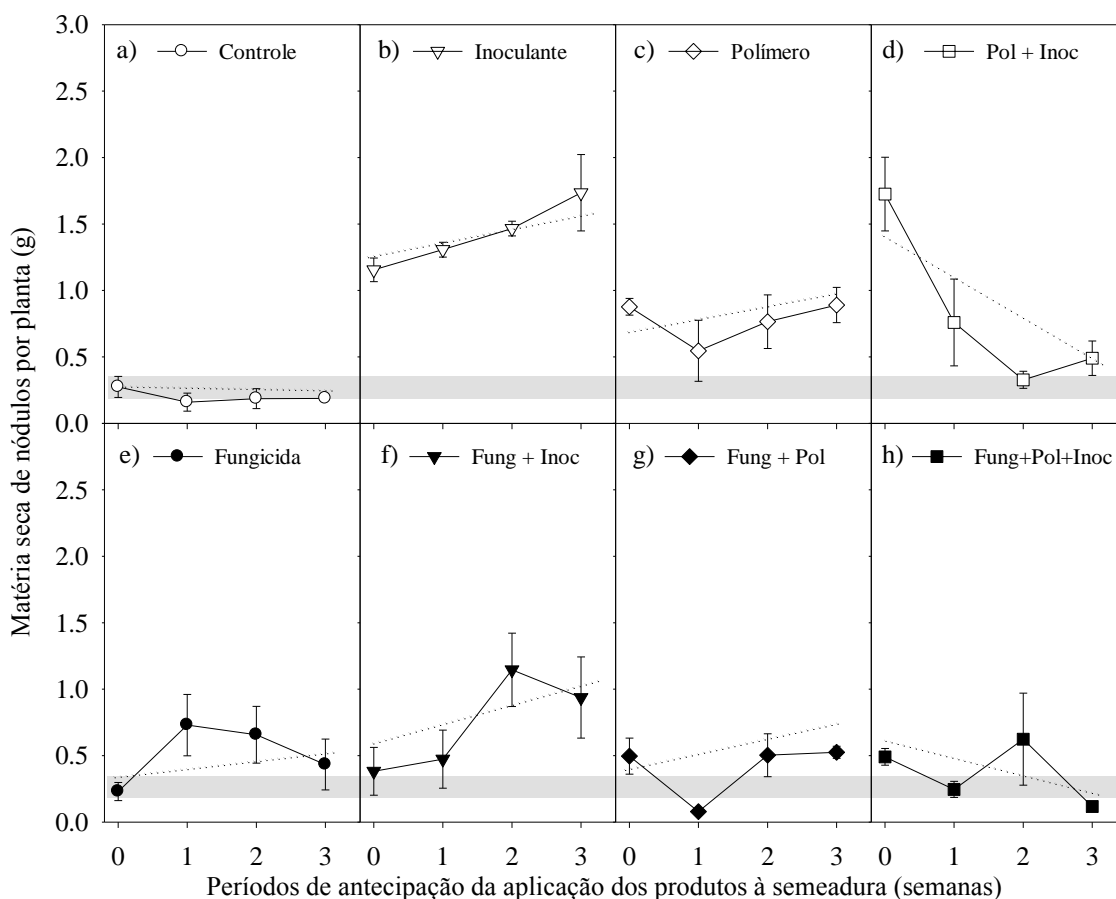
Portanto, de acordo com os resultados obtidos através da análise de trilha (Figura 3), foram produzidos os gráficos das variáveis peso da matéria seca de nódulos por planta, número de vagens por planta e peso de sementes por planta (Figuras 4 e 5).

Em relação ao peso da matéria seca de nódulos, verificou-se que o controle, ou seja, sementes secas que não receberam nenhum tipo de produto, não apresentaram diferença significativa nos períodos de antecipação do tratamento à semeadura (Figura 4a). Os tratamentos com inoculante (Figura 4b), polímero (Figura 4c), fungicida (Figura 4e), fungicida + inoculante (Figura 4f) e fungicida + polímero (Figura 4g) apresentaram aumento no acúmulo de matéria seca de nódulos no decorrer dos períodos de antecipação da aplicação desses produtos à semeadura. Entretanto, nos tratamentos com polímero + inoculante (Figura 4d) e fungicida + polímero + inoculante (Figura 4h), verificou-se comportamento inverso, ou seja, ocorreu decréscimo do acúmulo de matéria seca de nódulos à medida que se aumentou o período de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura.

No período zero, ou seja, quando a semeadura foi realizada imediatamente após o tratamento das sementes, a utilização do tratamento polímero + inoculante (Figuras 4d), seguido do tratamento com inoculante, proporcionou maior acúmulo de matéria seca de nódulos quando comparado aos demais tratamentos. Em estudos com associação de inoculante e de polímero Disco Agroblyue L204<sup>®</sup>, no tratamento de sementes de soja, Pereira *et al.* (2009<sup>a</sup>, 2010<sup>a</sup>) constataram que a peliculização não interfere na nodulação das

plantas. Trabalhos de Döbereiner (1966), Bohrer & Hungria (1998) e Campos *et al.* (2001) também demonstraram que a massa, e não o número de nódulos, é o indicador mais adequado para avaliar o estabelecimento de uma simbiose eficaz.

Nos períodos de duas e três semanas de antecipação da aplicação dos produtos à semeadura, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com inoculante (Figura 4b), seguido do tratamento com fungicida (carbendazim + thiram) em adição ao inoculante (Figura 4f), que reduziu o acúmulo de matéria seca de nódulos. Essa ação negativa da aplicação de fungicidas na nodulação foi observada por Pereira *et al.* (2009b) quando empregou, no tratamento das sementes de soja, os fungicidas thiabendazol + thiram, captan, carboxin + thiram, tolylfluanid e fludioxonil + metalaxil-M. Zilli *et al.* (2010) observaram que a inoculação, com antecedência de cinco dias da semeadura, em associação com fungicida à base de carbendazim + thiram ou carboxin + thiram afetou negativamente o número e a massa de nódulos. Campo & Hungria (2000) comentam que a ação negativa, na sobrevivência do *Bradyrhizobium* na superfície das sementes, da aplicação de fungicidas, pode ocorrer em razão do ingrediente ativo, do pH e/ou dos solventes utilizados nas formulações.

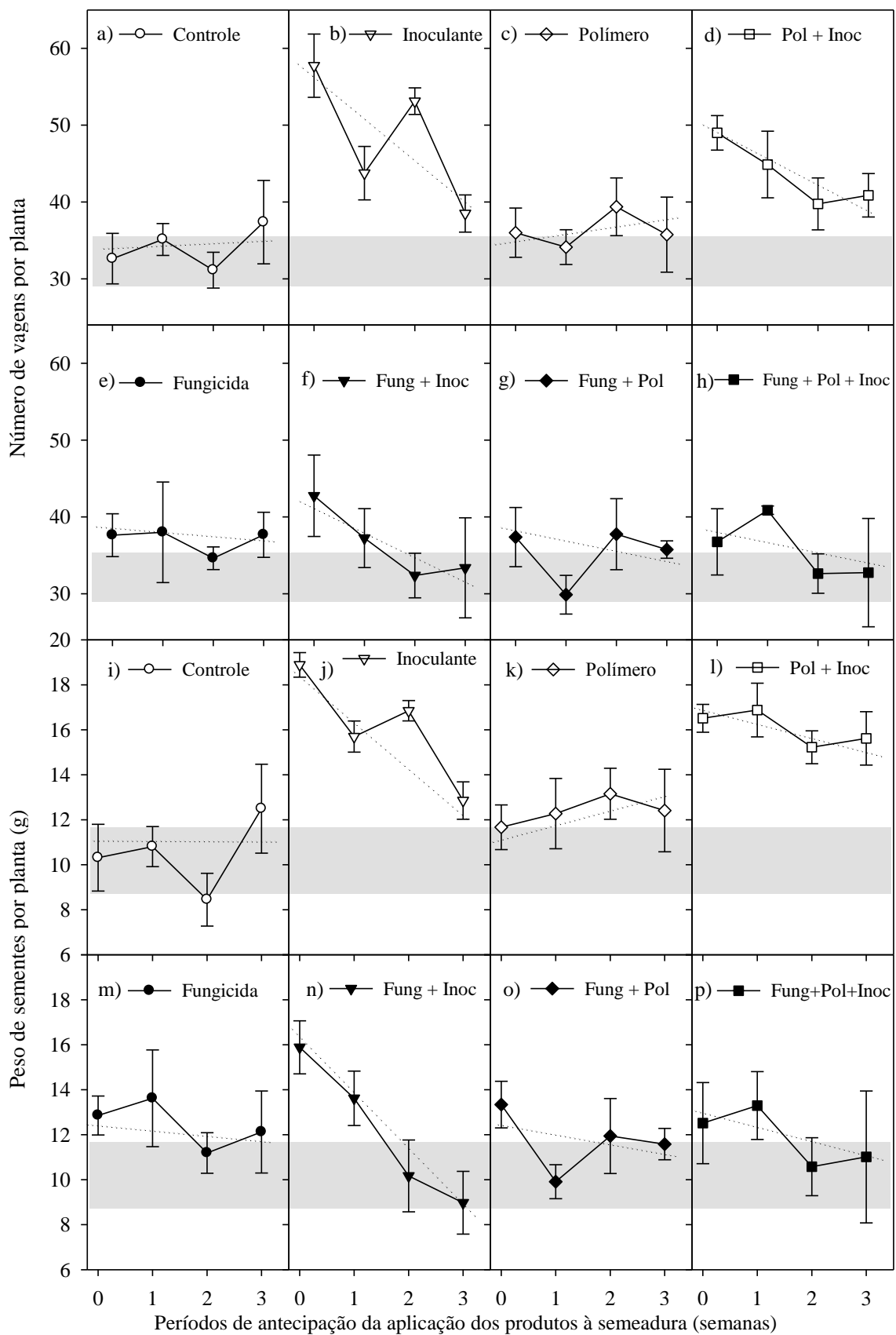


**Figura 4** – Matéria seca de nódulos por planta de soja oriunda de sementes tratadas com e sem aplicação de fungicida, de polímero e de inoculante durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à sementeira.

Na Figura 5, verifica-se que a inoculação isoladamente (Figuras 5b e 5j) ou em conjunto com a aplicação de polímero (Figuras 5d e 5l) proporcionou produtividade de sementes superior ao tratamento sem inoculante (Figuras 5a e 5i), em todos os períodos de antecipação da aplicação dos produtos à sementeira, com a tendência desse efeito benéfico se reduzir com a antecipação da sua aplicação ao plantio. No entanto, esse decréscimo foi mais tênue quando a inoculação foi realizada em conjunto com polímero. Em solos de primeiro plantio, em Roraima, sementes inoculadas promoveram maior produtividade de grãos em relação às sementes sem tratamento (ZILLI *et al.*, 2008). Por outro lado, em área em que as populações de *Bradyrhizobium* já se encontravam estabelecidas de inoculações anteriores, sob sistema de plantio direto, as plantas de soja não responderam à prática de inoculação e, segundo os autores do trabalho (CAMPOS & GNATTA, 2006), esse fato, provavelmente, decorreu porque as populações de rizóbio existentes no solo apresentavam estirpes eficientes e em número adequado. O solo empregado no presente experimento não havia sido inoculado há pelo menos seis anos. Esse fato pode ter ocasionado a melhoria da

produtividade pela introdução de estirpes mais eficientes, enquanto os tratamentos sem inoculação apresentaram produtividade razoável, em razão da presença de inóculo e bom nível de matéria orgânica, como mencionado anteriormente.

Plantas oriundas de sementes inoculadas e tratadas com fungicida tenderam a produzir menor número de vagens por planta (Figuras 5e, 5f, 5g e 5h) e menor peso de sementes por planta (Figuras 5m, 5n, 5o e 5p) que aquelas sem fungicida. Zilli *et al.* (2009), comparando a resposta diferencial das espécies *B. elkanii* e *B. japonicum*, verificaram redução no número de nódulos e na produtividade de grãos de soja quando as sementes foram inoculadas com *B. elkanii* e foram tratadas com os fungicidas carbendazim + thiram e carboxin + thiram. Por outro lado, quando as sementes foram inoculadas com *B. japonicum*, o efeito desses fungicidas foi não significativo. Pereira *et al.* (2010b), trabalhando com sementes de soja tratadas com os fungicidas carbendazim + thiram e thiabendazole + thiram, também não observaram redução significativa no número de vagens por planta, quando a espécie utilizada para inoculação foi o *B. japonicum*, que deve apresentar maior tolerância à presença do fungicida utilizado e, conforme mencionado por Mehmet (2008), deve ter evitado o abortamento das vagens pelo bom suprimento das necessidades de nitrogênio da planta.



**Figura 5** – Número de vagens por planta e peso de sementes por planta de soja oriunda de sementes tratadas com e sem aplicação de fungicida, de polímero e de inoculante durante os períodos de antecipação da aplicação do produto à sementeira.

#### 4. CONCLUSÕES

O peso da matéria seca de nódulos por planta é bom indicador da eficiência da nodulação. Quanto à inoculação, observou-se que resultou em maior número de vagens por planta, constituindo-se no componente de maior influência sobre a produtividade da soja.

O tratamento polímero + inoculante, seguido do tratamento apenas inoculante, proporcionou maior acúmulo de matéria seca de nódulos quando comparado aos demais tratamentos no período zero semana do tratamento ao plantio. Comprovou-se, também, produtividade superior ao controle em todos os períodos de antecipação.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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**, v. 26, n. 2, p. 141-145, 1998.
- ANNAPURNA, K. *Bradyrhizobium japonicum*: Survival and nodulation of soybean as influenced by fungicide treatment. **Indian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 305-307, 2005.
- ASHLEY, D. A.; ETHRIDGE, W. J. Irrigation effect on vegetative and reproductive development of three soybean cultivars. **Agronomy Journal**, v.70, p.467-471, 1978.
- BIGATON, D. **Fungicidas e micronutrientes aplicados em tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica do nitrogênio**. 2005. 43 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Produção Vegetal) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Dourados, MS.
- BIKROL, A.; SAXENA, N.; SINGH, K. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 667-671, 2005.
- BOHRER, T.R.J. & HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33:937-952, 1998.
- CAMPO, J. R.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 32 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 26).
- CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA, 13., Londrina,

2006. **Anais**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. P.89-123 (Embrapa Soja. Documentos, 290).
- CAMPOS, B. C.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.69-76, 2006.
- CAMPOS, B.C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N<sub>2</sub> por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p.583-592, 2001.
- DATE, R.A. Advances in inoculant technology: a brief review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.321-325, 2001.
- DELWICHE, L.D.; SLAUGHTER, S.J. **The Little SAS Book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.
- DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. **Nature**, 210:850-852, 1966.
- DOSS, B. D.; THURLOW, D. L. Irrigation, row width, and plant population in relation to growth characteristics of two soybean cultivars. **Agronomy Journal**, v.66, p.620–623, 1974.
- EGLI, D. B., FRASER, J.; LEGGETT, J. E.; PONELEIT, C. G. Control of seed growth in soya beans. **Annals of Botany**, London, v.48, p.171–176, 1981.
- EGLI, D. B.; GUFFY, R. D.; MECKEL, L. W.; LEGGETT, J. E. The effect of source sink alterations on soybean seed growth. **Annals of Botany**, London, v.5, p.395–402, 1985.
- EGLI, D. B.; ORF, J. H.; PFEIFFER, T. W. Genotypic variation for duration of seed fill in soybean. **Crop Science**, v.24, p.587–592, 1984.
- EGLI, D. B.; WARDLAW, I. F. Temperature response of seed growth characteristics of soybeans. **Agronomy Journal**, v.72, p.560–564, 1980.
- EGLI, D. B.; YU, Z. Crop growth rate and seeds per unit area in soybean. **Crop Science**, v.31, p.439–442, 1991.
- EMBRAPA - **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2011**. - Londrina: Embrapa Soja; Embrapa Cerrados; Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255p.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages en soybean development**. Ames: Iowa State University/Cooperative Extension Service, 1977. 11p. (Special Report, 80).

- FERREIRA, J.S.; SABINO, D.C.C.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. Seleção de veículos para o preparo de inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.2, p.6-12, 2003.
- FERREIRA, M. C.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; TAKEMURA, S.M.; HUNGRIA, M. Effects of tillage method and crop rotation on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. *Soil Biology & Biochemistry*, v.2, p.627-637, 2000.
- GULDAN, S. J.; BRUN; W. A. Relationship of cotyledon cell number and seed respiration to soybean seed growth. **Crop Science**, v.25, p.815–819, 1985.
- HANSON, W. D. Control of dry matter accumulation in soybean than the two new cultivars CX232 and Spansoy 250, seeds. **Crop Science**. v.26, p.1195–1200, 1986.
- HSU, J.C. Multiple comparisons – Theory and methods. New York: Chapman and Hall/CRC, 1996, 296p.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. 48p.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina, Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- JOHNSTON, T. J.; PENDLETON, J. W.; PETERS, D. B.; HICKS, D. R. Influence of supplemental light on apparent photosynthesis, yield, and yield components of soybean. **Crop Science**, v.9, p.577–581, 1969.
- KLIN, R. B. Principles and Practice of Structural Equation Modeling. 2nd ed. The **Guilford Press**, New York. 2005)
- KLIN, R. B. Assumptions in structural equation modeling. In Handbook of Structural Equation Modeling (R. Hoyle, ed.). **Guilford Press**, New York, This volume. 2011.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Avaliação do estado nutricional das plantas; princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo**, 1997. p.82-117.
- MANRAL, H.S.; SAXENA, S.C. Plant growth, yield attributes and grain yield of soybean as affected by the application of inorganic and organic sources of nutrients. **Bioresource Technology**. v. 92, p.110-118, 2003.
- MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v.76, p.647–650, 1984.

- MEHMET, O.Z. Nitrogen rate and plant population effects on yield and yield components in soybean. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p.4464-4470, 2008.
- NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. Ensaio em ambiente protegido. **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo** (EMBRAPA), Brasília, DF, 1991. p. 189-253.
- PEDERSEN, P.; LAUER, J. G. Response of soybean yield components to management system and planting date. **Agronomy Journal**, v.96, p.1372-1381, 2004.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; CALDEIRA, C.M.; BOTELHO, F.J.E. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com Bradyrhizobium. **Revista Agroambiente**, v.4, n.2, p.62-66, jul-dez, 2010b.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; COSTA NETO, J.; MOREIRA, F.M.S.; VIEIRA, A.R. Tratamentos inseticida, peliculização e inoculação de sementes de soja com rizóbio. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.5, p.653-658, 2010a.
- PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.E.; ROSA, M.C.M.; COSTA NETO, J. Desempenho de sementes de soja tratadas com fungicidas e peliculizadas durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.40, n.3, p.433-440, 2009a.
- 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 Agrônômica**, Fortaleza, v.40, n.3, p.433-440, jul./set. 2009b.
- PESKE, S.; LEVIEN, A. Demanda de Sementes. In: ABRASEM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário 2005**. Tudo começa pelas sementes. Pelotas, p.10-13, 2005.
- RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo**, 2 ed. Campinas: Instituto Agrônômico & Fundação IAC, 1996. 285p.
- REICHENBACH, J. Film-coating para agregar qualidade e segurança. **Seed News**, n.1, 2004.
- RYLE, G. J. A.; POWELL, C.E.; GORDON, A. J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.145-153, 1979.
- SCHABENBERGER, O. & PIERCE, F.J. **Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences**. New York: CRC Press, 2001. 738p.
- SCHOU, J. B.; JEFFERS, D. L.; STREETER, J. G. Effect of reflectors, black boards, or shades applied at different stages of plant development on yield of soybeans. **Crop Science**, v.18, p.29-34, 1978.

- SIONIT, N.; KRAMER, P. J. Effect of water stress during different stages of growth of soybean. **Agronomy Journal**, v.69, p.274–278, 1977.
- SWANK, J. C., EGLI, D. B.; PFEIFFER, T. W. Seed growth characteristics of soybean genotypes differing in duration of seed fill. **Crop Science**. v.27, p.85–89, 1987.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E. R. et al., 3° ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.
- TAYLOR, A. G.; GRABE, D. F.; PAINE, D. H. Moisture content and water activity determination of pelleted and film-coated seeds. **Seed Science Technology**, v. 19, n. 1, p. 24-32, 1997.
- WRIGHT, S. Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, v.20, p.557-585, 1921a.
- WRIGHT, S. Systems of mating, The biometric relations between parent and offspring. *Genetics*, v.6, p.111-123, 1921b.
- ZILLI, J.E.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.3, p.335-338, mar, 2010.
- ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R.J.; Hungria, m. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.4, p.541-544, abr., 2008.
- ZILLI, J.E.; RIBEIRO, K.G.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.917-923, 2009.