UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CO-INOCULAÇÃO E PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES EM SOJA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Glauber Monçon Fipke

Santa Maria, RS, Brasil

2015

CO-INOCULAÇÃO E PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES EM SOJA

Glauber Monçon Fipke

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS, Brasil.

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

```
Fipke, Glauber Monçon
Co-inoculação e pré-inoculação de sementes em soja /
Glauber Monçon Fipke.-2015.
67 p.; 30cm

Orientador: Thomas Newton Martin
Coorientadores: Ubirajara Russi Nunes, Antônio Luis
Santi, Leandro Galon
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, RS, 2015

1. Azospirillum brasilense 2. Bradyrhizobium spp. 3.
bactérias diazotróficas 4. Glicine max (L) Merr. 5.
nitrogênio I. Martin, Thomas Newton II. Nunes, Ubirajara
Russi III. Santi, Antônio Luis IV. Galon, Leandro V.
Título.
```

© 2015 Todos os direitos autorais reservados a Glauber Monçon Fipke. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor. Endereço: Rua Sepé Tiarajú, nº 806, Bairro Doutor Ayub, Itaqui, RS, 97650-000.

Fone: +55 55 9163-4266; E-mail: gm.fipke@hotmail.com.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

CO-INOCULAÇÃO E PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES EM SOJA

Elaborado por

Glauber Monçon Fipke

como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA

Thomas Newton Martin, Dr. (Presidente/orientador, UFSM)

Antônio Luis Santi, Dr. (UFSM, Campus de Frederico Westphalen)

Leandro Galon, Dr. (UFFS, Campus de Erechim)

Santa Maria, 17 de Julho de 2015.



AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, pela oportunidade de ampliação da minha titulação profissional;

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo;

Ao Prof. Dr. Thomas Newton Martin, pelas orientações e trocas de experiências profissionais e pessoais;

Aos demais membros da comissão, Prof. Dr. Antônio Luis Santi e Prof. D.Sc. Leandro Galon, pela disponibilidade de tempo e dedicação;

A todos meus familiares, pois foram essenciais para que tudo ocorresse como planejado, incentivando em todos os momentos;

À minha amada mãe, fundamental não só pela figura materna, mas também pelo exemplo de pessoa correta, digna de sinceros elogios;

À minha namorada Micheli, por ser parceira nessa jornada de estudos, superando a momentânea distância; agradeço mais uma vez por estar presente em minha vida;

Aos amigos e futuros colegas de profissão, meus queridos alunos de iniciação científica, que foram fundamentais no desenvolvimento do trabalho, tanto nos momentos de transpiração quanto nos momentos de inspiração;

Aos amigos da pós-graduação, "só-nós-da-pós": Marcos, Vinícius, Rodrigo, Gerusa, Tânia e Janete, que foram mais do que colegas de grupo e de aulas, fomos (somos) uma família;

Aos amigos "unipampeanos" da UFSM, em especial o Guilherme, Robson e Anderson, pela convivência diária e trocas de experiências, risadas, chimarrão, churrasco, etc;

A todos os professores do PPGAgro, em especial ao Prof. Dr. Ubirajara Russi Nunes, pela amizade de longa data e demais méritos profissionais atuando como coordenador do curso;

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia da UFSM, em especial o Sr. Ilton pela enorme ajuda na implantação e tratos culturais empregados na área experimental e principalmente, pela paciência e compreensão quanto à horários da jornada de trabalho e detalhismo na execução das atividades;

À UNIPAMPA, Câmpus de Itaqui, e seus queridos professores, em especial a Prof. Dr^a. Luciana Zago Ethur, por estarem trabalhando duro na formação de jovens da fronteira oeste do Rio Grande do Sul.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Universidade Federal de Santa Maria

CO-INOCULAÇÃO E PRÉ-INOCULAÇÃO DE SEMENTES EM SOJA

Autor: Glauber Monçon Fipke
Orientador: Thomas Newton Martin
Data: Santa Maria, 17 de julho de 2015.

Novas tecnologias têm surgido para auxiliar o agricultor no processo de inoculação, como é o caso da pré-incoulação (inoculação antecipada) possibilitada pelo uso de osmoprotetores. Na busca por produtividades superiores, o tipo de inoculação e o manejo com fertilizante nitrogenado também precisam ser melhor esclarecidos. No presente trabalho, foram conduzidos dois experimentos para avaliar o desempenho agronômico de duas estratégias de inoculação com bactérias do gênero Bradyrhizobium isoladamente (inoculação convencional) ou combinadas com Azospirillum brasilense (co-inoculação). O primeiro experimento, testou a pré-inoculação (0, 7 e 10 dias anteriores à semeadura). O segundo experimento, testou à resposta ao fornecimento de ureia (0, 75 e 150 kg de N ha⁻¹) fracionado em dois momentos do estádio de desenvolvimento de três cultivares de soja (BMX Ativa RR, TEC 6029 IPRO e BMX Potência RR). Avaliou-se os componentes da nodulação, morfofisiológicos e da produtividade de grãos nas condições edafoclimáticas de Santa Maria. A co-inoculação e a inoculação convencional, ambas acrescidas do osmoprotetor, apresentaram acréscimos na produção de grãos em relação ao tratamento não inoculado de 31 e 25%, respectivamente. Com sete dias anteriores à semeadura, o uso do osmoprotetor para os dois tipos de inoculação, não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos inoculados no mesmo dia da semeadura. A co-inoculação proporcionou incremento na produtividade de grãos de 240 kg ha⁻¹ quando comparado à inoculação convencional. Os cultivares BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência quando co-inoculadas apresentaram incrementos na produtividade de 6, 4 e 12% respectivamente. Com a adição de 150 kg de N ha⁻¹, os dois cultivares indeterminados apresentaram incremento na produtividade de 300 kg ha⁻¹, porém, sem retorno econômico. Os cultivares testados quando inoculados convencionalmente não respondem positivamente à aplicação de ureia. Portanto, esses resultados confirmam a eficácia do uso de osmoprotetores e co-inoculação de sementes e o baixo retorno econômico proporcionado pelo uso de fertilizante nitrogenado. Enfatiza-se o uso de substâncias de ativação e proteção para os rizóbios na formulação de inoculantes, assim como, mais estudos quanto a eficiência da co-inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas para obtenção de maiores produtividades.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense. Bradyrhizobium* spp.. Bactérias diazotróficas. *Glicine max* (L) Merr.. Nitrogênio.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Gratuate Program in Agronomy
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

CO-INOCULATION AND PRE-INOCULATION OF SOYBEAN SEED

Author: Glauber Monçon Fipke Adviser: Thomas Newton Martin Date: Santa Maria, July 17th, 2015

New technologies are intended to assist the farmer in the inoculation process, as is the case of antecipated inoculation (pre-inoculation) provided by using osmoprotectors. In search of higher yields, the kind of inoculation and management with nitrogen fertilizer also need to be clarified. In this study, two experiments were conducted to evaluate the agronomic performance of two inoculation strategies with Bradyrhizobium alone (conventional inoculation) or combined with Azsopirillum brasilense (co-inoculation). The first experiment, we evaluated the pre-inoculation (0, 7 and 10 days before seeding). The second experiment evaluated the response to supply urea (0, 75 and 150 kg N ha⁻¹) split into two periods of three soybeans cultivars development stage (BMX Ativa RR, TEC 6029 IPRO and BMX Potência RR). We evaluated the interaction of nodulation, of morphophysiological components and grain yield at conditions of Santa Maria. Co-inoculation and conventional inoculation, both plus an osmoprotectors, showed increases in grain yield relative to treatment not inoculated 31 and 25%, respectively. With seven days before to sowing, use of osmoprotectors for both types of inoculation, did not differ statistically from the other treatments inoculated the same day of sowing. Co-inoculation provided increment in grain yield of 240 kg ha⁻¹ compared to conventional inoculation. BMX Ativa, TEC 6029 IPRO and BMX Potência when coinoculated showed increases in grain yield 6, 4 e 12%, respectively. The addition of 150 kg N ha⁻¹ for the two indeterminate cultivars had an increases, but without economic return. The cultivars tested when inoculated conventionally not respond positively to the application of urea. Therefore, these results confirm the effectiveness of the use osmoprotectores and coinoculation ond the seeds and low economic returns provided by the use of nitrogen fertilizer. It emphasizes the use of activation and protection substances on rhizobial inoculants for the formulation, as well as more studies concerning the efficiency of co-inoculation with rhizobacteria promote plant growth to obtain higher yields.

Key-words: *Azospirillum brasilense. Bradyrhizobium* spp.. Diazotrophs. *Glicine max* (L) Merr.. Nitrogen.

LISTA DE TABELAS

	1 - O uso de osmoprotetor de sementes amplia a viabilidade do tempo de em pré-semeadura
Tabela 1 –	Número de nódulos (NNP, planta ⁻¹), massa seca de plantas (MSP, g planta ⁻¹) observados em V5 e R3 em função dos tipos de inoculação na cultura da soja23
Tabela 2 –	Altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m), altura total de plantas (ATP, m), número de vagens (NVP, planta ⁻¹), número de grãos (NGV, vagem ⁻¹), massa de mil grãos (MMG, g), produtividade de grãos (PG, Mg ha ⁻¹) observados em R8 em função dos tipos de inoculação na cultura da soja24
Tabela 3 –	Correlação simples entre as variáveis explicativas na cultura da soja para as safras 2013/14 e 2014/15
ARTIGO	2 - Co-inoculação de sementes e aplicação de ureia em cobertura na cultura da
soja	
Tabela 1 -	Resumo das interações fatoriais da análise de variância para cada variável explicativa nos quatro ensaios
Tabela 2 -	Número de nódulos (NNP, planta ⁻¹) observados em V5 e R3 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados
Tabela 3 -	1 5
Tabela 4 -	Altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados42
Tabela 5 -	Altura total de plantas (ATP, m) observados em R8 em função do tipo de inoculação e manejos nitrogenados
Tabela 6 -	Número de vagens (NVP, planta ⁻¹) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados
Tabela 7 -	Número de grãos (NGV, vagem ⁻¹) observados em R8 em função dos cultivares .44
Tabela 8 -	Massa de mil grãos (MMG, g) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados
Tabela 9 -	Produtividade de grãos (PG, Mg ha ⁻¹) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e maneios nitrogenados

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1 - O uso de osmoprotetor de sementes amplia a viabilidade do tempo de inoculação em pré-semeadura							
Figura 1 -	Gráfico de distribuição e equação linear relacionando à produtividade de grãos e o número de nódulos						
Figura 2 -	Temperaturas médias (°C) e precipitações acumuladas (mm) durante o período						
	de experimentos nas safras 2013/14 e 2014/15. Santa Maria/RS						
ARTIGO 2 soja	2 - Co-inoculação de sementes e aplicação de ureia em cobertura na cultura da						
Figura 1 -	Efeito do tipo de inoculação sobre a produtividade de gãos (Mg ha ⁻¹) e porcentagem de incremento						
Figura 2 -	Ponto de viabilidade do uso de ureia em cobertura em soja co-incoulada48						

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Análise de solo da área experimental, 2013/14	59
ANEXO B - Imagem da área experimental	
ANEXO C - Croqui dos experimentos	
ANEXO D - Extrato do balanço hídrico climatológico	
ANEXO E - Análise de variância do experimento 1	63
ANEXO F - Análise de variância do experimento 2, semeadura 15/10/2013	64
ANEXO G - Análise de variância do experimento 2, semeadura 18/11/2013	65
ANEXO H - Análise de variância do experimento 2, semeadura 12/11/2014	66
ANEXO I - Análise de variância do experimento 2, semeadura 15/12/2014	67

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
ARTIGO 1 – O uso de osmoprotetor de sementes amplia a	a viabilidade do tempo
de inoculação em pré-semeadura	-
Resumo	16
Abstract	
Introdução	17
Material e métodos	
Resultados e discussão	21
Conclusões	
Referências bibliográficas	29
ARTIGO 2 - Co-inoculação de sementes e aplicação de un cultura da soja	
Resumo	32
Abstract	
Introdução	
Material e métodos	34
Resultados e discussão	37
Conclusões	
Referências bibliográficas	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	58

INTRODUÇÃO

Na safra 2014/15, o Brasil destinou 31,5 milhões de hectares do seu território para o cultivo da soja. O estado do Rio Grande do Sul foi o segundo maior produtor (5,2 milhões de hectares) no país, alcançando seu recorde de produção de soja (14,7 milhões Mg de grãos). Apesar dos números parecerem impressionantes, é importante destacar que a produtividade média do estado é de apenas 2,8 Mg de grãos ha⁻¹. Diante disso, observa-se que as médias de produtividade do RS estão abaixo do potencial produtivo uma vez que, se considera que "a lavoura gaúcha é bastante tecnificada, devido ao acesso do produtor ao maquinário moderno e também às tecnologias difundiadas para o sistema de plantio" (CONAB, 2015). A média brasileira por exemplo, está próxima aos 3,1 Mg de grãos ha⁻¹. Números teóricos, mas que não devem ser desprezados, apontam que a cultura da soja teria uma produtividade potencial de 18,0 Mg de grãos ha⁻¹ (VENTIMIGLIA, 1999). Vários são os fatores bióticos e abióticos que impedem alcançar esses patamares. Dessa forma, deve-se pesquisar estes fatores, mesmo que isoladamente, para o correto entendimento da dinâmica da interação dos organismos envolvidos e a resposta aos estímulos do meio. Uma destas lacunas, diz respeito ao rápido estabelecimento da cultura e nutrição mineral.

Para proporcionar uma boa nutrição ás plantas, é necessário que o solo de cultivo proporcione esta extração, do contrário, a maneira mais rápida para disponibilizar nutrientes é por meio do uso de fertilizantes minerais. Dentre os macronutrientes essenciais, o nitrogênio (N) é o de maior demanda pelas plantas. Especificamente para a cultura da soja, a necessidade de N pode ser suprida pelo processo conhecido como fixação biológica de nitrogênio (FBN). Para que este processo ocorra, é necessário a simbiose entre a soja e a bactéria do gênero *Bradyrhizobium*. Quando em simbiose, a bactéria é capaz de romper a ligação tripla do dinitrogênio (N₂), presente em abundância na atmosfera, e tranformá-lo em uma forma assimilável pelas plantas, nitrato (NO₃⁻) e amônio (NH₄⁺).

O Brasil é considerado um país modelo em se tratando de FBN, pois está em atividade há mais de cinco décadas um programa de seleção de estirpes infectivas e eficientes. O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, desenvolveu um protocolo para que as inúmeras empresas nacionais que trabalham na formulação de inoculantes atestem seus produtos antes de serem comercializado (MAPA, 2011). Assim, a pesquisa tem avançado, em função de posicionar certas estirpes em diferentes combinações e cargas microbianas, para um determinado cultivo e ocasião. No Brasil, mais de 80% dos inoculantes comerciais para soja

(inoculação convencional), são compostos pela mistura de *Bradyrhizobium japonicum* estirpe CPAC 15 (SEMIA 5079) e *B. diazoefficiens* (DELAMUTA et al., 2013) estirpe CPAC 7 (SEMIA 5080) com garantias de no mínimo 1x10⁹ unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹ ou grama de produto comercial) (HUNGRIA et al., 2013).

Para proporcionar germinação e crescimento inicial de plântulas mais rápido e uniforme, e consequentemente, maior adaptabilidade perante adversidades climáticas faz-se necessário o uso de substâncias de ativação e promoção. Dentre estas, destacam-se as Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP) que são microssimbiontes capazes de promover o crescimento e desenvolvimento de plantas. Seus mecanismos de promoção são variados, podendo beneficiar o vegetal diretamente, por induzir a síntese de hormônios vegetais; ou indiretamente, pela proteção proporcionada pelo antagonismo à patógenos. Desde 1970 no Brasil tem-se estudado o potencial das RPCP, pela equipe da pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000). Uma de suas principais descobertas da pesquisa, evidenciou o potencial de bactérias do gênero *Azospirillum* como RPCP. É um gênero bacteriano de vida livre, endofítico facultativo e com certa especificidade por poáceas, dependendo da estirpe selecionada. Atualmente são comercializados inoculantes à base de *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6 com garantias mínimas de 1x10⁸ UFC mL⁻¹.

Visando contemplar a cultura da soja com os benefícios supracitados, pode-se destacar que a co-inoculação (inoculação mista com ambos organismos, *Bradyrhizobium* spp. + *Azospirillum brasilense*) pode ser uma alternativa para melhorar o desempenho produtivo da cultura. Assim, foram conduzidos ensaios desde 2009 com a colaboração da EMBRAPA e iniciativa privada. Os resultados foram apresentados e aprovados em assembleia geral da Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola – RELARE, e junto ao MAPA. Na atulidade, o inoculante encontra-se disponível para venda em todo o território nacional.

A inoculação é uma prática que envolve a utilização de produtos à base de organismos vivos. Dessa forma, se exposto a condições desfavoráveis o inóculo pode perder sua viabilidade, como é o caso do armazenamento de sementes já inoculadas e/ou com tratamento fitossanitário. Portanto, recomenda-se que a inoculação seja feita após o tratamento com agrotóxicos e no mesmo dia da semeadura. Isto pode ser um obstáculo pois a atividade precisa ser realizada cuidadosamente, demandando de tempo e mão de obra. Buscando otimizar a sobrevivência da bactéria e viabilizar a prática da pré-inoculação (inoculação antecipadamente ao dia da semeadura), podem ser utilizados produtos como os

osmoprotetores. Tais substâncias proporcionam a formação de uma película impedindo o contato direto com o inoculante e fornecendo substrato para a sobrevivência do inóculo durante o período de tempo que antecede a simbiose. Complementando á função dos osmoprotetores, são disponibilizadas substâncias de "comunicação" entre plântula e bactéria com o intuito de potencializar a rápida formação do nódulo. Esta estrutura vai abrigar os bacteroides que são a chave para a FBN, pois ali se encontra o complexo nitrogenase.

Avaliando o microssimbionte (os gêneros bacterianos), supõe-se que se dispõe de poderosos aliados para beneficiar o vegetal. Porém, a abordagem vai além, pois o macrossimbionte (a cultura da soja), é bastante complexo. Devido a rotatividade constante de cultivares obtidos pelo melhoramento genético, estima-se que no Brasil estejam sendo comercializados mais de 300 cultivares de soja. Bases genéticas completamente distintas, no que se refere ao nível de sensibilidade ao fotoperiodismo, introdução do gene da juvenibilidiade, tipo de crescimento, tolerância à herbicidas, resistência á pragas, entre outros. Em função dessas diferenças em suas características varietais, reforça-se a ideia de que cada material pode responder de uma maneira distinta ao processo de inoculação.

Com a utilização de cultivares distintos e novas tecnologias de inoculação, o manejo da cultura precisa ser estudado. Quando comparado com a inoculação convencional, de carga bacteriana menor e estirpes selecionadas no passado, a resposta à adubação nitrogenada não tem apresentado resultados promissores. No entanto, deve ser considerado que na atualidade os "pilares" desta interação planta-bactéria, são diferentes, podendo assim, obter-se respostas positivas. Com o crescimento da população global surge também a necessidade de uma maior eficiência na utilização de áreas cultivadas, que se traduz entre outros, em altos tetos de produtividade. Dentre as alternativas para alcançar uma maior produção está o fornecimento de N mineral, uma vez que existem fases durante o ciclo da cultura que a FBN pode não ser suficiente para suprir a demanda da planta por este nutriente.

Diante disso, objetivou-se com este estudo testar a viabilidade de dois tipos de inoculação (convencional e co-inoculação) em pré-inoculação, bem como os efeitos do fornecimento de ureia em dois estágios de desenvolvimento de três cultivares de soja sobre os componentes da nodulação, morfofisiológicos e da produtividade de grãos.

ARTIGO 1 – O uso de osmoprotetor de sementes amplia a viabilidade do tempo de inoculação em pré-semeadura

The use of seed osmoprotector increase the inoculation time in pre-sowing

Resumo

O estabelecimento inicial da lavoura e consequente produtividade da cultura da soja, depende que a semeadura ocorra em condições edafoclimáticas apropriadas. Na maioria das vezes, o melhor período é limitado necessitando que práticas relacionadas ao tratamento de sementes sejam realizadas antecipadamente. Contudo, a interação entre as bactérias do inoculante e os agrotóxicos do tratamento de sementes, reduz o número de colônias formadoras de nódulos se o momento de inoculação superar 24 horas em relação a semeadura. Dessa forma, foram avaliados dois manejos de inoculação com bactérias do gênero Bradyrhizobium, isoladamente (inoculação convencional) ou combinadas com Azospirillum brasilense (co-inoculação), associadas ao uso de osmoprotetores. Objetivou-se viabilizar o processo de inoculação alguns dias anteriores a semeadura (pré-inoculação) sem afetar os componentes de produtividade na cultura da soja. A co-inoculação e a inoculação convencional, ambas acrescidas do osmoprotetor, apresentaram acréscimos na produtividade de grãos em relação ao tratamento não inoculado de 31 e 25%, respectivamente. Com sete dias anteriores à semeadura, o uso do osmoprotetor para os dois tipos de inoculação, não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos inoculados no mesmo dia da semeadura. Portanto, esses resultados confirmam a eficácia destas novas tecnologias de inoculação quando realizada em até sete dias antes da semeadura. Enfatiza-se o uso de substâncias de ativação e proteção para os rizóbios na formulação de inoculantes, assim como, mais estudos quanto a eficiência da co-inoculação com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas para obtenção de maiores produtividades.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium* spp., co-inoculação, *Glicine max* (L) Merr., pré-inoculação.

Abstract

The establishment of the crop and consequent soybean yield, which depends on sowing takes in appropriate soil and climate conditions. Most of the time, the best time is limited, which means that practices such as seed treatment and inoculation have to be

performed a prior. However, the interaction between bacteria and pesticides inoculum for seed treatment, reduces the number of nodules colonies if the inoculation moment up to 24 hours in relation to sowing. Thus, we evaluated two strategies inoculation with bacteria of the genus *Bradyrhizobium* alone (conventional inoculation) or combined with *Azospirillum brasilense* (co-inoculation) associated with the use of osmoprotectors, in order to facilitate the inoculation process a few days prior to sowing without affecting grain yield components in the soybean. Co-inoculation and conventional inoculation, both plus a osmoprotectors, showed increases in grain yield relative to treatment not inoculated 31 and 25%, respectively. With seven days before to sowing, use of osmoprotectors for both types of inoculation, did not differ statistically from the other treatments inoculated the same day of sowing. Therefore, these results confirm the effectiveness of these new technologies inoculation when made up to seven days before sowing. It emphasizes the use of activation and protection substances on rhizobial inoculants for the formulation, as well as more studies concerning the efficiency of co-inoculation with rhizobacteria promote plant growth to obtain higher yields.

Key words: *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium* spp., co-inoculation, *Glicine max* (L) Merr., pré-inoculation.

Introdução

A inoculação com produtos à base de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* em sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merr.] promove a interação simbiótica entre ambos organismos. Esta prática de inoculação convencional é considerada indispensável, constando nas guias de recomendações para a cultura nas diferentes regiões do Brasil (EMBAPA, 2014). Estima-se que as taxas de fixação biológica de nitrogênio (FBN) excedam à 300 kg de N ha⁻¹, representando 94% do N total requerido pela planta (CAMPO et al., 2009). Assim, obtem-se altas produtividades sem a adição de adubação nitrogenada (ALVES et al., 2006). Considerando uma produção de soja de 5,6 Mg ha⁻¹, o total exportado para os grãos é de 152 kg de N ha⁻¹, permanecendo nos restos culturais 29 kg de N ha⁻¹. Indicando assim, que a quantidade de N total é de 181 kg ha⁻¹, ou seja, 32,32 kg de N já sintetizado por tonelada de massa seca (PRADO, 2008).

O gênero *Azospirillum* pertence a um grupo de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP), caracterizando-se por serem de vida livre no solo e rizosfera, podendo ser benéficas às plantas. Os mecanismos de promoção podem ser a FBN, a produção de hormônios de plantas, aumento da permeabilidade da raiz, melhora da absorção de

minerais, e aumento da resistência a condições adversas como seca, salinidade e compostos tóxicos (BASHAN; BASHAN, 2005). Inoculantes à base de *Azospirillum brasilense* são comumente utilizados em poáceas, como o milho, contribuindo com incrementos nos componentes de produtividade (REIS JUNIOR et al., 2008). Recentemente foi liberado o registro nacional para ser incorporado à inoculantes para soja e feijão. A inoculação mista entre estes dois gêneros bacterianos é chamada de co-inoculação. Esta prática tem contribuído no aumento de produtividades na cultura da soja (HUNGRIA et al., 2013) contudo a eficácia da co-inoculação merece mais estudos.

Algumas práticas de manejo referentes a implantação da lavoura podem interferir no desempenho das bactérias. Dentre estas, está o tratamento fitossanitário de sementes com agrotóxicos. Segundo Campo et al. (2009), o mesmo deve ser feito somente se o solo e/ou sementes estiverem contaminadas, uma vez que, ocorre diminuição da viabilidade das células bacterianas quando estas, estiverem em contato com agentes químicos (BIKROL et al., 2005). No entanto, essa recomendação não tem sido adotada pelos produtores, e atualmente, no Brasil praticamente 100% das sementes de soja são tratadas com fungicidas e outros aditivos químicos (BAUDET; PESKE, 2006). Isso faz com que a inoculação seja realizada no máximo 24 horas antes da semeadura. A inoculação repercute negativamente na logística do processo, visto que, há maior necessidade de mão de obra e tempo para realização desta prática (CAMPO; HUNGRIA, 2007).

A pré-inoculação (inoculação antecipada) tem sido estudada, apresentando resultados satisfatórios, como a viabilização do processo em poucos dias anteriores a semeadura sem afetar a produtividade da soja (ZILLI et al., 2010). O uso de osmoprotetores juntamente com o inoculante, após o tratamento fitossanitário, proporciona a formação de uma película impedindo o contato direto do produto químico com as bactérias. Para isto, são utilizados polímeros, os quais não afetam a qualidade fisiológica das sementes e o processo de nodulação (PEREIRA et al., 2010). O osmoprotetor também atua no fornecimento de substrato (solução açucarada) para a sobrevivência do inóculo durante o período de tempo que antecede a simbiose. Esta, é facilitada pela disponibilização de substâncias que atuam na expressão gênica em prol da formação do nódulo (SUGAWARA et al., 2006). Estas funções, poderiam permitir que a prática de inoculação possa ser realizada em antecedência a semeadura, concomitantemente ao tratamento químico.

O objetivo do presente estudo foi avaliar manejos de inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* isoladamente ou combinadas com *A. brasilense*, associadas à utilização de osmoprotetores em diferentes períodos anteriores à semeadura.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos na área experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, localizado na Região Central do estado do Rio Grande do Sul, situado a 29°42' de latitude sul, 53°42' de longitude oeste e 116 metros de altitude, em dois anos agrícolas. O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico, pertencente à Unidade de Mapeamento São Pedro (EMBRAPA, 2013). A análise química (ANEXO A), indica que o solo possui como características: pH (água, 1:1) = 5,1; matéria orgânica (%, m/v) = 2,2; argila (%, m/v) = 23; fósforo, P-Mehlich (mg dm⁻³) = 17,3; potássio (mg dm⁻³) = 84,0; H + Al (cmol_cdm⁻³) = 7,9; CTC (pH 7, cmol_cdm⁻³) = 14,7; saturação de bases (%) = 47,8. O clima da região, conforme a classificação de Köppen, é do tipo Cfa (PEEL et al., 2007), subtropical úmido com verões quentes, sem estação seca definida, a temperatura média do mês mais quente é 24,8°C e a temperatura média do mês mais frio é 14,1°C (HELDWEIN et al., 2009).

As populações de microorganismos naturalmente presentes no local do experimento, foram determinadas por amostragem de solo e tecido radicular de plantas. As amostras foram coletadas, armazenadas em "Swab estéril em tubo" e encaminhadas ao laboratório da Neoprospecta Microbiome Technologies (Florianópolis, SC). Procedeu-se a análise de diversidade bacteriana, estimada pelo número de sequências genéticas encontradas. Foi utilizado um equipamento sequenciador de DNA, Illumina Misec[®] System. Foram determinados 1382 traços de diversidade bacteriana, sendo que foi estimado 1,69x10⁻² traços de *Bradyrhizobium* spp., não houve presença de *Azospirillum brasilense*.

Aproximadamente 90 dias anteriores a semeadura, foram aplicados 3 Mg ha⁻¹ de calcário para correção do pH do solo, sendo incorporado superficialmente com grade niveladora, posteriormente semeou-se trigo. Aos 40 dias anteriores a semeadura da soja ocorreu a dessecação da vegetação com 1,5 L ha⁻¹ glifosato, o que proporcionou uma camada de palhada de 4 Mg ha⁻¹. A semeadura foi realizada sobre a palhada, com semeadora adubadora, no dia 15 de novembro de 2013 e 15 de dezembro de 2014. O cultivar utilizado foi o TEC 6029 IPRO [Cooperativa Central Gaúcha Ltda. (CCGL)], tipo de crescimento indeterminado, grupo de maturação relativa igual à 5.7, flores roxas, pubescência cinza escura e sementes com hilo preto imperfeito. A densidade de semeadura foi de 13 sementes viáveis por metro linear com espaçamento entre fileiras de 0,45 m, o que proporcionou uma população de aproximadamente 289.000 plantas ha⁻¹. O tratamento fitossanitário de sementes foi realizado 12 dias antes da semeadura, utilizado 0,1 kg piraclostrobina + tiofanato metílico

e fipronil (g⁻¹ 100 kg sementes). Utilizou-se 300 kg ha⁻¹ de adubo formulado disposto no sulco de semeadura, sem nitrogênio, 23% de fósforo e 30% de potássio (00-23-30).

No estágio vegetativo V4 [quatro nós e terceira folha trifoliolada completamente desenvolvida, em torno de 35 dias após a emergência (FEHR et al., 1971)], as plantas receberam uma aplicação foliar de 0,1 L ha⁻¹ Cobalto e Molibdênio (1,7% e 17%, respectivamente, do produto comercial). Optou-se pela aplicação foliar, devido à salinidade e ação bactericida para o *Bradyrhizobium* de alguns produtos à base dos micronutrientes referidos, reduzir a sobrevivência da bactéria (SILVA et al., 2011). Os manejos fitossanitários foram feitos conforme as recomendações para a cultura (EMBRAPA, 2014).

Dois tipos de inoculantes líquidos e um osmoprotetor de sementes foram usados no experimento. Os inoculantes utilizados atendem as exigências da legislação brasileira, conforme normativa vigente. O primeiro inoculante contém bactérias do gênero *Bradyrhizobium*; *B. japonicum* estirpe CPAC 15 (SEMIA 5079) e *B. diazoefficiens* (DELAMUTA et al., 2013) estirpe CPAC 7 (SEMIA 5080) com garantias de 7x10⁹ unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹ de produto comercial) na dose de 0,002 L kg⁻¹ de sementes. O segundo inoculante contém bactérias do gênero *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6 com garantias de 2x10⁸ UFC mL⁻¹ na dose de 0,002 L kg⁻¹ de sementes. O osmoprotetor de sementes, contêm moléculas sinalizadoras de bactérias denominadas fator NOD, complexo de açúcares e biopolímeros, na dose de 0,001 L kg⁻¹ de sementes.

Foram compostos nove tratamentos distintos quanto à inoculação de sementes: sem adubação nitrogenada e sem inoculação (NI); fornecimento de 100 kg N ha⁻¹ após a semeadura mais 100 kg N ha⁻¹ em R1, na forma de ureia aplicada em cobertura, sem nenhum tipo de inoculação (NI+N); inoculação no momento da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor (BROS₀); inoculação sete dias antes da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor (BROS₇); inoculação 10 dias antes da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor (BROS₁₀); inoculação no momento da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor + *A. brasilense* (BROSAZO₀); inoculação sete dias antes da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor + *A. brasilense* (BROSAZO₁); inoculação 10 dias antes da semeadura com *Bradyrhizobium* + Osmoprotetor + *A. brasilense* (BROSAZO₁₀). Os tratamentos inoculados antecipadamente à semeadura, foram alocadas em sacos de papel e armazenadas em local seco com temperatura e umidade constante de 25° C e 60%, respectivamente.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições. A unidade experimental foi composta por cinco fileiras de sete metros de comprimento e largura de 2,25 m, totalizando 15,75 m². As variáveis explicativas foram avaliadas no estádio vegetativo V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida), reprodutivo R3 (início da formação de vagem) e na ocasião da maturação fisiológica R8 (maturação plena de 95% das vagens).

Foram marcadas quatro plantas para avaliação da nodulação e massa de plantas em V5, e outras quatro plantas para as mesmas avaliações em R3. As plantas foram coletadas, a parte aérea foi retirada e levada a estufa à 60°C até atingir massa constante para que fosse determinada a massa seca de plantas (MSP, g planta⁻¹) e as raízes foram lavadas e procedeu-se a contagem do número de nódulos (NNP, planta⁻¹). Para estimar os teores de clorofila (A, B e total), foram realizadas 10 aferições aleatórias na parcela, sempre no trifólio central da penúltima folha trifoliolada completamente desenvolvida do ápice para a base. O método não destrutivo faz uso do aparelho clorofiLOG[®] (CFL 1030, Falker) que fornece um índice adimensional, índice de clorofila Falker (ICF planta⁻¹). Foram marcadas cinco plantas para avaliação do crescimento de plantas e dos componentes da produtividade em R8. Foram aferidas as alturas de inserção da primeira vagem (AIPV, m) e a altura total de plantas (ATP, m). O número de vagens por planta (NVP, planta ⁻¹) foi obtido pela contagem, selecionando vagens de um, dois e três grãos para estimação do número de grãos por vagem (NGV, vagem ¹). Foram colhidos com uma moto segadeira, cinco metros das três fileiras centrais da parcela (6,75 m²), trilhados e limpos para a aferição e correção da umidade dos grãos (base 13%) para estimação da produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹) e avaliação da massa de mil grãos (MMG, g).

Os dados foram verificados e atenderam às pressuposições do modelo matemático (STEEL et al., 1997). Posteriormente, realizou-se a análise da variância (teste F), quando confirmada a diferença estatística, foi aplicado o teste de comparação de médias [Skott-Knott ($\alpha \le 0.05$)] com auxílio do software estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

A produtividade da soja é dada pelo produto da quantidade de vagens por unidade de área, número de sementes por vagem e massa de sementes, sendo que estes componentes produtivos são influenciados pelas condições ambientais, práticas de manejo e cultivares utilizados (MANDAL et al., 2009). O número de vagens por planta e a massa de grãos por

planta são os principais, demonstrando serem os melhores componentes para estimá-la (DALCHIAVON; CARVALHO, 2012). Os componentes da nodulação, como o número e massa de nódulos, também apresentam correlação com a produtividade (BRANDALERO et al., 2009). Portanto, a alteração destes componentes está diretamente relacionada com algum tipo de variação na produtividade.

Quanto ao número de nódulos, afirma-se que os tratamentos inoculados foram eficientes nos dois anos de experimento, pelo fato de apresentarem uma quantidade grande de nódulos viáveis, atingindo uma média de 58,8 nódulos e 69,5 nódulos, respectivamente em cada ano, quando observado em V5 (Tabela 1). Todos os tratamentos que utilizaram o osmoprotetor foram significativamente superiores, apresentando média de 60,6 nódulos, enquanto a média de 45,1 nódulos foi observada para aqueles onde não foi utilizado o produto. Comportamento semelhante foi observado para o segundo ano.

Além da proteção física exercida pelo biopolímero contido no osmoprotetor utilizado no experimento, há a presença de moléculas sinalizadoras, denominadas fatores *Nod*, as quais são substâncias que normalmente são produzidas pelo estímulo dos sinais moleculares excretados pelas raízes das plantas futuras hospedeiras do bacteroide (SUGAWARA et al., 2006), atuando na síntese de nodulinas, proteínas importantes na formação e manutenção do nódulo (ALMARAZ et al., 2007). O uso do produto contendo tais substâncias pode explicar o maior número de nódulos em estágios iniciais da cultura.

A importância da nodulação das plantas é enfatizada por Vollmann et al. (2011), que evidenciou relação com aumento no teor de clorofila das folhas. Devido à alta correlação entre teor de clorofila e o teor de nitrogênio nas plantas (ARGENTA et al., 2001), esta avaliação é válida para atestar a eficiência de bactérias diazotróficas (PEREIRA et al., 2010). Contudo, não foram observadas diferenças estatísticas nos teores de clorofila A, B e total. Possivelmente a metodologia empregada na aferição não foi eficiente, pois foi adaptada da cultura do o feijão comum (OLIVERIA et al., 2012).

Tabela 1 - Número de nódulos (NNP, planta⁻¹), massa seca de plantas (MSP, g planta⁻¹) observados em V5 e R3 em função dos tipos de inoculação na cultura da soja.

	2013-14					
Tratam*	NNP	V5 MSP	NNP	R3 MSP		
NI	45,6 b**	25,0a	110,0 b	61,1a		
NI+N	44,7 b	19,2 b	100,0 b	56,0 b		
I (Brady)	47,8 b	26,0a	121,0 b	64,4a		
$BROS_0$	67,7a	24,8a	141,6a	63,9a		
$BROS_7$	56,6a	23,9a	141,2a	55,1 b		
$BROS_{10}$	59,1a	24,4a	118,4 b	51,6b		
$BROSAZO_0$	61,5a	25,0a	149,9a	68,9a		
BROSAZO ₇	61,2a	23,6a	112,0 b	61,1a		
BROSAZO ₁₀	57,7a	23,9a	114,8 b	57,4 b		
Média	57,5	24,0	123,2	59,9		
CV%	11,2	6,7	8,7	7,6		
			2014-15			
NI	62,6 b	3,9 b	112,7 ^{ns}	18,4 b		
NI+N	60,7 b	5,3a	91,6	24,4a		
I (Brady)	62,7 b	5,1a	135,3	21,7 b		
$BROS_0$	73,7a	4,8a	134,2	18,5 b		
$BROS_7$	71,2a	4,4 b	133,4	23,4a		
$BROS_{10}$	73,0a	5,2a	120,4	19,4 b		
$BROSAZO_0$	77,8a	4,8a	133,5	25,4a		
BROSAZO ₇	70,0a	4,6a	122,1	21,0 b		
BROSAZO ₁₀	58,2 b	4,1 b	129,5	21,2 b		
Média	67,8	4,7	123,6	22,2		
CV%	6,7	8,1	17,2	10,7		

^{*}Tratamentos: NI não inoculado; NI+N não inoculado com 200 kg N ha⁻¹; I (Brady) inoculação das sementes com Bradyrhizobium no momento da semeadura; BROS uso do Bradyrhizobium e osmoprotetor inoculados em dias anteriores a semeadura (0, 7 e 10 dias); BROSAZO associação do Bradyrhizobium, osmoprotetor e $Azospirillum\ brasilense$ inoculados em dias anteriores a semeadura (0, 7 e 10 dias); **médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott (α ≤0,05); **não significativo.

A adubação nitrogenada promoveu redução do número de nódulos, massa seca de plantas, número de vagens e, inclusive, a produtividade de grãos (Tabela 2). Para o segundo ano de observações, o comportamento foi o mesmo para número de nódulos, vagens e produtividade. Dentre as variáveis analisadas, apenas a altura de inserção de primeira vagem e a altura total não apresentaram os menores valores para a variável em questão. Houve um crescimento no porte da planta pelo distanciamento dos nós. O uso de fertilizante nitrogenado mostrou-se desnecessário, corroborando com resultados obtidos no cerrado brasileiro (MENDES et al., 2008, PETTER et al., 2012). Mesmo quando adicionado em pequenas

doses, o fornecimento de fertilizante nitrogenado absorvido na forma de amônio, torna-se prejudicial a FBN, pois ocorre inativação parcial da enzima nitrogenase, podendo ou não, ser reversível (RUDNICK et al., 1997). Neste experimento, foi utilizado logo após a semeadura 222 kg ha⁻¹ de ureia (100 kg de N) o que influenciou diretamente na atividade das bactérias diazotróficas.

Tabela 2 - Altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m), altura total de plantas (ATP, m), número de vagens (NVP, planta⁻¹), número de grãos (NGV, vagem⁻¹), massa de mil grãos (MMG, g), produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹) observados em R8 em função dos tipos de inoculação na cultura da soja.

	2013-14					
Tratam*	AIPV	ATP	NVP	NGV	MMG	PG
NI	0,26 b**	1,18 b	41,6 c	2,3 ^{ns}	185,7 ^{ns}	2,98 b
NI+N	0,29a	1,26a	40,6 c	2,3	193,0	2,99 b
I (Brady)	0,26 b	1,24a	53,0a	2,3	183,2	3,70a
$BROS_0$	0,32a	1,25a	56,4a	2,3	185,7	3,74a
$BROS_7$	0,24 b	1,22 b	53,2a	2,4	185,7	3,55a
$BROS_{10}$	0,23 b	1,21 b	48,8 b	2,3	180,0	3,08 b
$BROSAZO_0$	0,25 b	1,21 b	58,8a	2,3	178,0	3,91a
BROSAZO ₇	0,25 b	1,23a	52,9a	2,3	185,0	3,58a
BROSAZO ₁₀	0,24 b	1,21 b	46,7 b	2,3	184,0	3,44 b
Média	0,25	1,22	50,2	2,3	184,5	3,44
CV%	9,3	1,7	7,9	3,0	2,2	5,95
			201	4-15		
NI	0,18 b	1,13 c	30,9 b	2,2 ^{ns}	159,4 ^{ns}	3,09 c
NI+N	0,24a	1,18a	31,7 b	2,1	161,3	3,02 c
I (Brady)	0,22a	1,13 c	44,9a	2,1	164,2	3,48a
$BROS_0$	0,23a	1,15 b	43,8a	2,1	164,1	3,61a
$BROS_7$	0,23a	1,12 c	39,8a	2,1	161,6	3,49a
$BROS_{10}$	0,22a	1,13 c	41,2a	2,1	166,9	3,25 c
$BROSAZO_0$	0,23a	1,15 b	46,4a	2,1	170,4	3,61a
BROSAZO ₇	0,23a	1,09 c	43,8a	2,0	165,8	3,34 b
$BROSAZO_{10}$	0,22a	1,11 c	40,5a	2,1	166,6	3,37 b
Média	0,22	1,13	40,3	2,1	164,5	3,36
CV%	7,9	1,96	17,2	2,9	2,8	4,08

^{*}Tratamentos: NI não inoculado; NI+N não inoculado com 200 kg N ha⁻¹; I (Brady) inoculação das sementes com Bradyrhizobium no momento da semeadura; BROS uso do Bradyrhizobium e osmoprotetor inoculados em dias anteriores a semeadura (0, 7 e 10 dias); BROSAZO associação do Bradyrhizobium, osmoprotetor e Azospirillum brasilense inoculados em dias anteriores a semeadura (0, 7 e 10 dias); **médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05); ns não significativo.

Quanto a altura de plantas, foi constatada média geral de 1,22 m na altura total do primeiro ano, valores superiores aos obtidos por Rezende e Carvalho (2007), que avaliaram o desempenho agronômico de 45 cultivares de soja, afirmando que alturas de planta adequadas à mecanização da colheita encontram-se entre 0,6 e 1,20 m. A menor quantidade de nós na haste principal proporcionam menores valores de altura de inserção de primeira vagem e total, ocasionando redução no ciclo, demonstrando a relação entre o período vegetativo da cultura e as características morfológicas. Esse período inicial é responsável pelo crescimento e pela estruturação dos órgãos produtivos das plantas que posteriormente serão responsáveis pela produção (LUDWIG et al., 2010).

O número de vagens por planta foi estatisticamente superior para os tratamentos inoculados no dia da semeadura e também, sete dias anteriores à semeadura, BROSAZO₀, BROS₀, BROS₇, I (*Brady*), BROSAZO₇, respectivamente. Por serem características próprias do melhoramento genético empregado em cada cultivar e que não apresentam muitas variações, não foram observadas diferenças estatísticas para o número de grãos por vagem e também para a massa de mil grãos.

Para a produtividade de grãos, o número de vagens foi a característica que mais influenciou no aumento daquela variável, pelo fato de coincidirem os tratamentos que foram destaque. A correlação para estas variáveis foi significativa de 0,50 e 0,55 para o primeiro e segundo ano de experimentos, respectivamente (Tabela 3). Com isso, a inoculação em présemeadura com *Bradyrhizobium* isoladamente (BROS₇) ou combinado com *Azospirillum brasilense* (BROSAZO₇), com sete dias anteriores à semeadura se mostrou eficiente, proporcionando produtividades na cultura da soja, semelhantes à inoculação no momento da semeadura. Zilli et al. (2010) obtiveram resultado semelhante com a inoculação sendo antecipada para cinco dias anteriores a semeadura, em condições ambientais normais, desde que as sementes não tenham recebido o tratamento com fungicidas. Atualmente a legislação brasileira indica que os inoculantes com bactérias simbiontes precisam garantir 1x10⁹ por grama ou mililitro de produto formulado (MAPA, 2011). Possivelmente, no presente trabalho aumentou-se em dois dias o tempo de armazenamento das sementes inoculadas pelo fato do inoculante utilizado ter maior carga bacteriana e ter sido usado conjuntamente a um osmoprotetor, diminuindo o efeito do tratamento de sementes com fungicidas e inseticida.

Tabela 3 – Correlação simples entre as variáveis explicativas na cultura da soja para as safras 2013/14 e 2014/15.

VE^1	NNP (V5)	MSP (V5)	NNP (R3)	MSP (R3)	AIPV (R8)	ATP (R8)	NVP (R8)	NGV (R8)	MMG (R8)	PG (R8)
NNP (V5 ²)	1	0,22 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,37*	-0,14 ^{ns}	0,23 ^{ns}	0,42**
MSP (V5)	$0,19^{ns}$	1	-0.08^{ns}	0.17^{ns}	0.32^{ns}	$0,32^{*}$	$0,26^{ns}$	-0.16^{ns}	0.06^{ns}	$0,16^{ns}$
NNP (R3)	$0,32^{*}$	0.33^{ns}	1	0.15^{ns}	0.10^{ns}	-0.13^{ns}	0.16^{ns}	$0,15^{ns}$	0,58**	0,54**
MSP (R3)	0.15^{ns}	0,34*	0.26^{ns}	1	0.16^{ns}	$0,22^{ns}$	0.09^{ns}	-0.10^{ns}	0,36*	0,41*
AIPV (R8)	-0,40*	-0.18^{ns}	-0.15^{ns}	0.09^{ns}	1	0.17^{ns}	$0,28^{ns}$	-0,38*	0.12^{ns}	$0,11^{\text{ns}}$
ATP (R8)	0.14^{ns}	-0.28^{ns}	-0.03^{ns}	-0.08^{ns}	$0,23^{ns}$	1	-0.30^{ns}	0.01^{ns}	-0.06^{ns}	-0.05^{ns}
NVP (R8)	0,63**	$0,23^{ns}$	$0,60^{**}$	$0,24^{ns}$	-0,42**	-0.06^{ns}	1	-0,34*	0.17^{ns}	0,55**
NGV (R8)	-0,04 ^{ns}	0.12^{ns}	0.07^{ns}	-0.10^{ns}	0.04^{ns}	0.06^{ns}	-0.06^{ns}	1	0.01^{ns}	-0.23^{ns}
MMG (R8)	-0.25^{ns}	-0,48**	-0,40*	-0.12^{ns}	$0,39^{*}$	$0,20^{ns}$	-0,45**	0.07^{ns}	1	0,37**
PG (R8)	0,36*	0,34*	0,53**	0,41*	-0.04^{ns}	0.10^{ns}	0,50**	0.07^{ns}	-0.24^{ns}	1

^{*}e ** significativo pelo teste de t á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente; ns não significativo; dados apresentados a esquerda inferior referem-se à safra 2013/14, dados apresentados à direita superior referem-se à safra 2014/15; variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta-1); massa seca (MSP, g planta-1), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (AIPV, m); número de vagens (NVP, planta-1); número de grãos (NGV, vagem-1), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha-1); estádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens).

Fazendo-se uma relação entre a média dos tratamentos para a variável número de nódulos sobre número de vagens, pode-se afirmar que cada vagem necessita em média 1,11 nódulos quando a planta estiver em V5 e 2,05 nódulos em R3. A correlação para estas mesmas variáveis é significativa para os dois anos de experimentos (0,63 e 0,37, respectivamente). Assim, justifica-se ainda mais a importância dos componentes da nodulação e sua influência sobre a produtividade de grãos. Pode-se estimar a produtividade de grãos pelo número de nódulos coletados em V5, sendo que, a equação linear desta relação, indica que cada nódulo (planta⁻¹ ha⁻¹) é responsável pelo incremento de 14,37 kg de grãos ha⁻¹ (Figura 1).

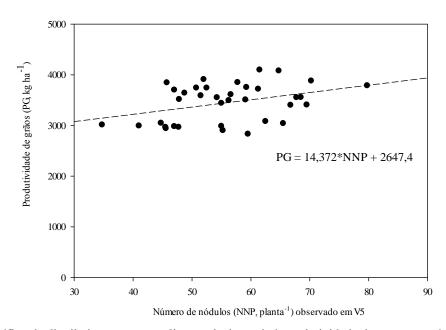


Figura 1 – Gráfico de distribuição e equação linear relacionando à produtividade de grãos e o número de nódulos

Já a inoculação mista tem apresentado respostas contraditórias quanto à produtividade, ou seja, promovendo acréscimos (HUNGRIA et al., 2013) como incrementos não significativos na produtividade (BÁRBARO et al., 2009). Este, corrobora com os resultados do presente trabalho, onde constatou-se 31% de acréscimo sobre o tratamento não inoculado e apenas 5% de acréscimo sobre o tratamento inoculado apenas com *Bradyrhizobium*, no primeiro ano de experimentos. Em condição de déficit hídrico, Benintende et al. (2010) atestou que a co-inoculação aumentou de forma significativa o peso dos nódulos e sem diferença estatística, a produtividade de grãos, em relação a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, porém na condição sem déficit hídrico não houveram diferenças. No presente estudo, o segundo ano de experimentos apresentou várias ocasiões de excesso hídrico e média

de temperaturas diárias abaixo dos 25°C (Figura 1), podendo assim, explicar a divergência do resultado comparado ao ano anterior.

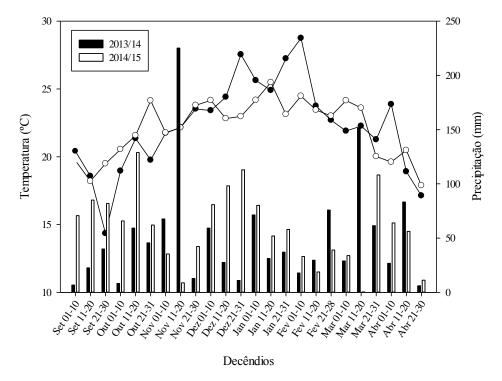


Figura 2 – Temperaturas médias (°C) e precipitações acumuladas (mm) durante o período de experimentos nas safras 2013/14 e 2014/15. Santa Maria/RS. Dados das estações automáticas do Instituto Nacional de Metereologia (INMET). Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep%2Fbdmep

Em uma revisão elaborada na Austrália (DEAKER et al., 2004), indicou uma crescente demanda por sementes pré-inoculadas. Para isto, o revestimento sobre as sementes com adesivos poliméricos pode proporcionar aumento na sobrevivência dos rizóbios. Outra abordagem envolve o uso de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), que precisa ser melhor esclarecida quanto aos exsudatos radiculares e a interação com moléculas sinalizadoras (RYAN et al., 2009), assim, podendo ser manipulados e inseridos à inoculantes para agricultura, importantes ferramentas da biotecnologia para o alcance da sustentabilidade nos sistemas agrícolas.

Conclusões

O uso do osmoprotetor para a inoculação com *Bradyrhizobium* isoladamente (inoculação convencional) ou combinado com *Azospirillum brasilense* (co-inoculação) com sete dias anteriores a semeadura proporciona produtividades na cultura da soja, semelhantes à inoculação no momento da semeadura. A co-inoculação proporcionou 31 e 16% de

incremento de produtividade em relação ao tratamento não inoculado para o primeiro e segundo ano de experimentos, respectivamente.

Referências bibliográficas

ALMARAZ, J. J. et al. Gas exchange characteristics and dry matter accumulation of soybean treated with Nod factors. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.1391-1393, 2007.

ALVES, B. J. R. et al. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.449-456, 2006.

ARGENTA, G. et al. Relação entre teor de clorofila extraível e leitura do clorofilômetro na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.1, p.158-167, 2001.

BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. *Colloquium Agrariae*, v.5, p.1-7, 2009.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. de. Bacteria/Plant Growth-Promoting. **Encyclopedia of soils** in the environment, v.1, p.103-115, 2005.

BAUDET, L.; PESKE, S. T. A logística do tratamento de sementes. **Seed News**, v.10, p.20-23, 2006.

BENINTENDE, S. et al. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, v.27, p.71-77, 2010.

BIKROL, A. et al. Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicides seed treatment. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p.667-671, 2005.

BRANDALERO, E. M. et al. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, p.581-588, 2009.

CAMPO, R. J. et al. 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 agronômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas. Londrina: Embrapa Soja, 2007. p.89-123 (Embrapa Soja. Documentos, 290).

DALCHIAVON, F. C.; CARVALHO, M. P. Correlação linear e espacial dos componentes de produção e produtividade da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, p.541-552, 2012.

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

DELAMUTA, J. R. M. et al. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v.63, p.3342-3351, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 3ª ed. Brasília, DF. Embrapa, 353p, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA. Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 124p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 382).

FEHR, W. R. C. et al. Stage of development descriptions for soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v.11, p.929-931, 1971.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. Ciência & Ambiente, v.38, p.43-58, 2009.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v.49, p.791-801, 2013.

LUDWIG, M. P. et al. Características morfológicas de cultivares de soja convencionais e Roundup ReadyTM em função da época e densidade de semeadura. **Ciência Rural**, v.40, p.759-767, 2010.

MANDAL, K. G. et al. Biomass yield and energy analysis of soybean production in relation to fertilizer-NPK and organic manure. **Biomass and Bioenergy**, v.33, p.1670-1679, 2009.

MENDES, I. C. et al. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1053-1060, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, MAPA. **Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011.** Brasília, 2011. Disponível em http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF

&tipo=INM&numeroAto=00000013&seqAto=000&valorAno=2011&orgao=SDA/MAPA&c odTipo=&desItem=&desItemFim>. Online. Acessado dia 13 de março de 2015.

OLIVEIRA, T. C. et al. Yield potential of common bean cultivars in function of phosphorus stress in State of Tocantins. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, p.24-30, 2012.

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

PEELL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v.11, p.1633-1644, 2007.

PETTER, F. A. et al. Respostas de cultivares de soja à adubação nitrogenada tardia em solos de cerrado. **Revista Caatinga**, v.25, p.67-72, 2012.

PRADO, R. M. Nutrição de Plantas. São Paulo: Editora da UNESP, 407 p. 2008.

REIS JUNIOR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum* spp. em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v.32, p.1139-1146, 2008.

RYAN, P. R. et al. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. **Plant Soil**, v.321, p.363-383, 2009.

RUDNICK, P. et al. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.831-841, 1997.

SILVA, A. F. et al. Inoculação com Bradyrhizobium e formas de aplicação de cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Revista** *Agrarian*, v.4, p.98-104, 2011.

SUGAWARA, M. et al. Rhizobitoxine modulates plant–microbe interactions by ethylene inhibition. **Biotechnology Advances**, v.24, p.382-388, 2006.

STEEL, R. G. D. et al. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3.ed. New York: McGraw Hill Book, 1997. 666p.

VOLLMANN, J. et al. Digital image analysis and chlorophyll metering for phenotyping the effects of nodulation in soybean. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.75, p.190-195, 2011.

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

ARTIGO 2 - Co-inoculação de sementes e aplicação de ureia em cobertura na cultura da soja

Co-inoculation seeds and urea topdressing of soybean

Resumo

Visando a busca por incremento na produtividade de grãos, tem sido estudado a interação entre plantas e microorganismos que promovam o crescimento vegetal. A prática de inoculação na cultura da soja é um exemplo de sucesso no fornecimento do nitrogênio necessário para a cultura. O objetivo do presente trabalho, foi avaliar duas estratégias de inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* isoladamente (inoculação convencional) ou combinadas com Azospirillum brasilense (co-inoculação), associadas à suplementação com ureia aplicada em cobertura (0, 75 e 150 kg de N ha⁻¹). Foi avaliada a nodulação, os componentes morfofisiológicos e da produtividade de grãos de três cultivares de soja (BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência) nas condições edafoclimáticas de Santa Maria, em dois anos agrícolas. A co-inoculação proporcionou incremento na produtividade de grãos de 240 kg ha⁻¹ quando comparado à inoculação convencional. Os cultivares BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência quando co-inoculadas apresentaram incrementos na produtividade 6, 4 e 12% respectivamente. Com a adição de 150 kg de N ha⁻¹, os dois cultivares indeterminados apresentaram incremento na produtividade de 300 kg ha⁻¹, porém, sem retorno econômico. Os cultivares testados quando inoculados somente com Bradyrhizobium não respondem positivamente à aplicação de ureia. Portanto, não é recomendado o uso da ureia e a coinoculação é eficiente. Enfatiza-se o estudo da microbiologia na busca pelo entendimento das interações entre os organismos, assim, reduzindo custos de uma forma sustentável.

Palavras-chave: *Azospirillum* spp., *Bradyrhizobium* spp., bactérias diazotróficas, *Glicine max* (L) Merr., nitrogênio.

Abstract

The search for increase in grain yield has been studied the interaction between plants and microorganisms that promote plant growth. The practice of inoculation in soybeans is an example of success in providing the nitrogen needed for culture. The objective in the present study was evaluated two strategies inoculation with bacteria of the genus *Bradyrhizobium* alone (conventional inoculation) or combined with *Azospirillum brasilense* (co-inoculation)

associated with the supplemental urea fertilizer applied in coverage (0, 75 and 150 kg N ha⁻¹). The nodulation and morphophysiological components on yield of three soybean cultivars was evaluated (BMX Ativa RR, TEC 6029 IPRO and BMX Potência RR) at conditions of Santa Maria, at two years. Co-inoculation provided increment in grain yield of 240 kg ha⁻¹ compared to conventional inoculation. BMX Ativa, TEC 6029 IPRO and BMX Potência when co-inoculated showed increases in grain yield 6, 4 e 12%, respectively. The addition of 150 kg N ha⁻¹ for the two indeterminate cultivars had an increases up to 300 kg ha⁻¹, but without economic return. The cultivars tested when inoculated conventionally not respond positively to the application of urea. Therefore, it is not recommended the use of urea and co-inoculation is effective. The study of microbiology is emphasized in the search for understanding of the interactions between organisms, thus reducing costs in a sustainable way.

Key-works: Azospirillum spp., Bradyrhizobium spp., diazotrophs, Glicine max (L) Merr., nitrogen.

Introdução

A inoculação de sementes com bactérias diazotróficas do gênero *Bradyrhizobium* (inoculação convencional) na cultura da soja é um dos fatores determinantes para o alcance de altas produtividades. Isto se dá pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), que por sua vez é uma fonte sustentável do nutriente. Normalmente, as populações de rizóbios naturalmente presentes no solo são baixas ou ineficientes para que ocorra FBN de forma satisfatória, justificando assim, a prática da inoculação (SANTOS et al., 2013, ATIENO et al., 2012, DEAKER et al., 2004). No Brasil, é uma prática difundida, constando nas guias de recomendações nas diversas regiões do país, como é o caso da região sul (EMBRAPA, 2014), responsável pela produção de 33,7 milhões Mg de grãos de soja na última safra (CONAB, 2015).

A interação da planta com microorganismos tem sido objeto de muitos estudos. Com isso, as pesquisas avançam em favor da utilização de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) na formulação de inoculantes comerciais, contribuindo para o melhor desempenho produtivo de grandes culturas (HAYAT et al., 2010). Tal grupo de microorganismos, pode desempenhar vários mecanismos para beneficiar o vegetal, dividindose em estímulo direto e indireto. Os mecanismos de estímulo direto são a FBN em fabáceas e poáceas; síntese de hormônios vegetais, como auxinas e giberelinas; solubilização de

minerais, como fosfatos. Os mecanismos de estímulo indireto são o antagonismo à pragas e produção de antibióticos; produção de sideróforos; indução à resistência sistêmica (BASHAN; BASHAN 2010, VERMA et al., 2010).

Dentre as RPCP, o gênero associativo *Azospirillum* tem demonstrado capacidade de FBN e síntese de hormônios vegetais em poáceas (HUNGRIA et al., 2011). A associação da bactéria *Azospirillum brasilense* com rizóbios apresentou resultados promissores em fabáceas, como feijão e soja (DARDANELLI et al., 2008, BENINTENDE et al., 2010). Geralmente, a inoculação mista, ou co-inoculação, tem a capacidade de promover a germinação das sementes, crescimento das plantas, ramificação radicular e nodulação (JUGE et al., 2012).

Apesar dos resultados positivos obtidos somente com sementes inoculadas, ainda são especuladas algumas estratégias para suprir as necessidades nutricionais da planta, como por exemplo, a aplicação de fertilizante nitrogenado em cobertura (PETTER et al., 2012). Durante o crescimento e desenvolvimento da cultura da soja, existem alguns períodos críticos relacionados ao N provindo da FBN. Por exemplo, no estágio reprodutivo R3 [início da formação das vagens (FEHR et al., 1971)] e R5 (início do enchimento de grãos) os quais necessitam de altos índices de fotossintatos, podendo resultar na senescência dos nódulos. Supondo que o fornecimento de N pelo solo seja baixo, sua demanda poderia ser suprida com a aplicação de fertilizantes nitrogenados (GAN et al., 2003).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar duas estratégias de inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* isoladamente ou combinadas com *A. brasilense*, associadas à suplementação com ureia aplicada em cobertura na cultura da soja.

Material e métodos

Foram conduzidos quatro experimentos na área experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, localizado na Região Central do estado do Rio Grande do Sul, situado a 29°42' de latitude sul, 53°42' de longitude oeste e 116 metros de altitude, em dois anos agrícolas consecutivos. O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico, pertencente à Unidade de Mapeamento São Pedro (EMBRAPA, 2013). Conforme o laudo da análise química do solo: pH (água, 1:1) = 5,1; matéria orgânica (%, m/v) = 2,2; argila (%, m/v) = 23; fósforo, P-Mehlich (mg dm⁻³) = 17,2; potássio (mg dm⁻³) = 84,0; H + Al (cmol_cdm⁻³) = 7,9; CTC (pH 7, cmol_cdm⁻³) = 14,7; saturação de bases (%) = 47,8 (ANEXO A). O clima da região, conforme

a classificação de Köppen, é do tipo Cfa (PEEL et al., 2007), subtropical de clima temperado chuvoso, cuja temperatura média do mês mais quente é 24,8°C e a temperatura média do mês mais frio é 14,1°C (HELDWEIN et al., 2009).

As populações de microorganismos naturalmente presentes no local do experimento, foram determinadas por amostragem de solo e tecido radicular de plantas. As amostras foram coletadas, armazenadas em "Swab estéril em tubo" e encaminhadas ao laboratório da Neoprospecta Microbiome Technologies (Florianópolis, SC). Procedeu-se a análise de diversidade bacteriana, estimada pelo número de sequências genéticas encontradas. Foi utilizado um equipamento sequenciador de DNA, Illumina Misec[®] System. Foram determinados 1382 traços de diversidade bacteriana, sendo que foi estimado 1,69x10⁻² traços de *Bradyrhizobium* spp., não houve presença de *Azospirillum brasilense*.

Visando a correção do pH do solo, foi aplicado e incorporado calcário (3 Mg ha⁻¹). Para os dois anos de ensaio, foi semeado trigo durante o inverno, sendo dessecado com 1,5 L de glifosato ha⁻¹, quarenta dias antecedentes à data de semeadura, proporcionando uma camada de 4 Mg de palhada ha⁻¹, essencial para o sistema de semeadura direta. Dois dias anteriores à semeadura foi realizado o tratamento fitossanitário de sementes com 0,1 kg piraclostrobina + tiofanato metílico e fipronil (g⁻¹ 100 kg sementes), sendo as sementes alocadas em pacotes de papel e armazenadas em local seco com umidade constante à 25°C, logo após o tratamento com os fungicidas e inseticida. A semeadura foi realizada sobre a palhada, com semeadora adubadora, no dia 15 de outubro e 18 de novembro no ano agrícola 2013/14 e 28 de outubro e 15 de dezembro no ano agrícola 2014/15. A densidade de semeadura foi de 13 sementes viáveis por metro linear com espaçamento entre fileiras de 0,45 m, o que proporcionou uma população de aproximadamente 289.000 plantas ha⁻¹. Fertilizantes minerais foram misturados e dispostos no sulco de semeadura na dose de 150 kg ha⁻¹ de superfosfato triplo (TSP, 46% de P₂O₅) + 150 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio (KCl, 60% de K₂O).

Micronutrientes como cobalto e molibdênio que normalmente são fornecidos via tratamento de sementes não foram aplicados desta forma, pois a salinidade poderia interferir na sobrevivência da célula bacteriana do inoculante (SILVA et al., 2011). Para favorecer a simbiose entre plantas e bactérias, foi realizada uma aplicação foliar de 0,1 L ha⁻¹ de produto comercial contendo Co (1,7%) e Mo (17%) no estágio vegetativo V4 (quatro nós e terceira folha trifoliolada completamente desenvolvida). Os manejos fitossanitários foram realizados sempre que houvesse incidência de pragas (plantas daninhas, insetos e doenças), utilizando produtos registrados e recomendados para a cultura da soja (EMBRAPA, 2014).

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, arranjado em esquema fatorial (3x2x3), com quatro repetições. No primeiro fator, alocou-se os cultivares de soja, no segundo fator, dois tipos de inoculação e no terceiro fator, três manejos com fertilizante. A unidade experimental foi composta por 7 m x 2,25 m, totalizando 15,75 m². Quanto aos cultivares: BMX Ativa RR (Brasmax), tipo de crescimento determinado e grupo de maturação relativa (GMR) igual à 5.6, flores roxas, pubescência cinza e sementes com hilo preto imperfeito; TEC 6029 IPRO [Cooperativa Central Gaúcha Ltda. (CCGL)], tipo de crescimento indeterminado, GMR = 5.7, flores roxas, pubescência cinza escura e sementes com hilo preto imperfeito; BMX Potência RR (Brasmax), tipo de crescimento indeterminado, GMR = 6.7, flores brancas, pubescência cinza e sementes com hilo marrom claro. Quanto aos tipos de inoculação, ambos foram realizados duas horas anteriores ao momento da semeadura, assim descritos: Inoculação Convencional = inoculante contendo bactérias do gênero Bradyrhizobium; B. japonicum estirpe CPAC 15 (SEMIA 5079) e B. diazoefficiens (DELAMUTA et al., 2013) estirpe CPAC 7 (SEMIA 5080) com garantias de 7x109 unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹ de produto comercial) na dose de 0,002 L kg⁻¹ de sementes; Co-inoculação = inoculação mista, com o mesmo inoculante descrito para o tratamento anterior, acrescido de inoculante contendo bactérias do gênero Azospirillum brasilense, estirpes Ab-V5 e Ab-V6 com garantias de 2x10⁸ UFC mL⁻¹ na dose de 0,002 L kg⁻¹ de sementes. Quanto aos manejos de fertilizante nitrogenado, foi utilizado ureia (45% de N), aplicada manualmente em cobertura, assim descritos: 0 kg N (sem suplementação); 75 kg N ha^{-1} (37,5 kg em V4 + 37,5 kg em R2); 150 kg N (75 kg em V4 + 75 kg em R2).

Foram marcadas quatro plantas para avaliação do número de nódulos (NNP, planta⁻¹) e massa seca (MSP, g planta⁻¹) em V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida), e outras quatro plantas para as mesmas avaliações em R3. Foram marcadas cinco plantas para avaliação do crescimento de plantas e dos componentes da produtividade em R8 (maturação plena de 95% das vagens). Foram aferidas as alturas de inserção da primeira vagem (AIPV, m) e a altura total de plantas (ATP, m). Foi contado o número de vagens por planta (NVP, planta ⁻¹), selecionando vagens de um, dois e três grãos para estimação do número de grãos por vagem (NGV, vagem⁻¹). Foram colhidos com uma moto segadeira, cinco metros das três fileiras centrais da parcela (6,75 m²), trilhados e limpos para a aferição e correção da umidade dos grãos (base 13%), estimando-se a produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹) e quantificado a massa de mil grãos (MMG, g).

Os dados foram verificados e atenderam às pressuposições do modelo matemático (STEEL et al., 1997). Posteriormente, realizou-se a análise da variância (teste F), quando

confirmada a diferença estatística, foi aplicado o teste de comparação de médias [Skott-Knott (α≤0,05)] com auxílio do software estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

Foram analisados os dados referentes à dez variáveis explicativas, onde a análise de variância (teste F) discriminou interações triplas, duplas e de efeito principal dentro de cada fator estudado. Um resumo da ocorrência de interações para os quatro ensaios é mostrado na Tabela 1. Para a semeadura do dia 15/10/2013 não são apresentados dados referentes ao cultivar TEC 6029 por motivo de problemas na germinação do lote de sementes optando-se por descartar esse cultivar.

Tabela 1 - Resumo das interações fatoriais da análise de variância para cada variável explicativa nos quatro ensaios

40000					
Ano agríc	ola	,	2013/14	20	14/15
Data seme	eadura	15/10/2013	18/11/2013	28/10/2014	15/12/2014
VE^1	EF^2		Tipo de in	teração e fatores ³	
NNP	V5	AxDxC***	$D^*; AxC^{**}$	$DxC^{**}; AxD^{**}$	AxDxC***
MSP	V5	$AxC^{**}; DxC^{**}$	A^*xDxC^{***}	AxDxC***	$AxC^{**}; DxC^{**}$
NNP	R3	$AxC^{**}; DxC^{**}$	AxDxC***	AxDxC***	$AxD^{**}; AxC^{**}$
MSP	R3	AxDxC***	$AxC^{**}; DxC^{**}$	AxDxC***	$AxC^{**}; DxC^{**}$
AIPV	R8	$AxC^{**}; DxC^{**}$	$AxDxC^{***}$	AxDxC***	$AxD^{**}; AxC^{**}$
ATP	R8	$AxD^{**}; DxC^{**}$	$A^*; DxC^{**}$	$AxC^{**}; DxC^{**}$	AxDxC***
NVP	R8	AxDxC***	$AxDxC^{***}$	AxDxC***	AxDxC***
NGV	R8	A^*	$AxDxC^{***}$	$\operatorname{\textbf{A}}^*$	A^*
MMG	R8	AxDxC***	AxDxC***	AxDxC***	AxDxC***
PG	R8	AxDxC***	$DxC^{**}; AxD^{**}$	AxDxC***	AxDxC***

¹variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta⁻¹); massa seca (MSP, g planta⁻¹), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (AIPV, m); número de vagens (NVP, planta⁻¹); número de grãos (NGV, vagem⁻¹), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹); ²estádio fenológico (FEHR et al., 1971): V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); ³Fatores: cultivares (A); tipo de inoculação (D); manejo nitrogenado (C); *sem interação fatorial, apenas efeito principal; ***interação bifatorial; ***interação trifatorial.

O sistema de semeadura direta contribui para a fixação biológica do nitrogênio (FBN) em leguminosas (ALVES et al., 2003), uma vez que o mínimo revolvimento do solo e a manutenção de resíduos vegetais na superfície diminuem a oscilação de temperatura e umidade do solo, o que favorece a sobrevivência das bactérias diazotróficas (HUNGRIA

et al., 2013). A persistência no solo de rizóbios capazes de nodular a soja é variável, dependendo da estirpe do microssimbionte e do tipo e manejo do solo (ALBAREDA et al., 2009). Utilizam-se inoculantes para manter um nível elevado de rizóbios eficientes na semente e no solo, proporcionando uma rápida colonização na rizosfera, garantindo uma nodulação satisfatória que se traduz em altas produtividades (DEAKER et al., 2004). Utilizando diferentes cultivares e diversos sistemas de manejo, Mercante et al. (2011), indicaram incrementos na produtividade da cultura, em média, de 8%, quando se realiza a reinoculação de rizóbios. Estirpes presentes nos inoculantes são selecionadas para garantir uma rápida infecção e altas taxas de FBN (HUNGRIA et al., 2003), evitando a simbiose com outras estirpes de rizóbios pouco eficientes presentes no solo (ATIENO et al., 2012).

O número de nódulos por planta foi significativamente influenciado pelo tipo de inoculação nos dois estádios de coleta testados. Quanto a nodulação amostrada em V5, os dois tipos de inoculação não obtiveram diferenças estatísticas na maioria das combinações entre os tratamentos estudados, com a co-inoculação proporcionando alguns acréscimos significativos pontuais, como o melhor desempenho quando não fornecido nitrogênio (Tabela 2).

Para garantir uma nodulação satisfatória, precisam ser fornecidas no mínimo 1x10⁴ unidades formadoras de colônia (UFC) de rizóbios semente⁻¹, sendo que há um acréscimo proporcional no número e massa de nódulos, produtividade e conteúdo de N nos grãos quando aumenta-se esta dose para 1x10⁷ (ALBAREDA et al., 2009). Para que seja atingida essa quantidade, é necessário à utilização de inoculantes com concentrações em torno de 10⁸–10⁹ UFC por grama ou mL (turfoso ou líquido) de produto (HARTLEY et al., 2005). De acordo com a legislação vigente no Brasil a carga bacteriana dos inoculantes deve ser de 1x10⁹ UFC por grama ou mL de produto à base de *Bradyrhizobium* e 1x10⁸ UFC por grama ou mL de produto à base de *Azospirillum brasilense* (MAPA, 2011). Ambos inoculantes usados no experimento estão acima dos padrões exigidos, sendo que são fornecidos sete vezes mais para o primeiro inoculante e duas vezes mais para o segundo inoculante. Portanto, esta maior carga bacteriana disposta na semente pode ter influenciado no elevado número de nódulos por planta evidenciado em V5.

Um dos benefícios da inoculação mista tem sido atribuído a ocorrência de uma nodulação mais precoce e um aumento no sistema radicular (BENINTENDE et al., 2010). No presente trabalho, foi evidenciada rápida formação de nódulos em estádios vegetativos da cultura da soja (V5), alcançando média de 5 a 10 nódulos à mais planta⁻¹ em relação ao tratamento somente com *Bradyrhizobium*. Cassán et al. (2009) observaram estas mesmas características na plantas co-inoculadas, comprovando então através de experimento em meio

de cultura, que os dois gêneros bacterianos são capazes de excretar ácido indol acético, ácido giberélico e zeatina em concentrações suficientes para provocar alterações morfológicas e fisiológicas em tecidos jovens.

Tabela 2 - Número de nódulos (NNP, planta⁻¹) observados em V5 e R3 em função do tipo de

inoculação, cultivares e manejos nitrogenados.

Tipo de inoculação Convencional Co-inoculação Convencional Co-inoculação Convencional Co-inoculação Convencional Co-inoculação	inoculação, cu		<u> </u>								
Semeadura Sem		Inoc	culação Conven	cional		Co-inoculação					
Semeadura kg de N ha ^{-1 3} 15/10/2013 kg de N ha ⁻¹ Cultivar ¹ 0 75 150 0 75 150 Ativa β 64,0 bB* β 55,7 aB α 74,5 aA α 83,5 bA α 77,4 aA α 72,2 aA Potência β 75,1 aA α 63,8 aB α 80,6 aA α 112,6 aA α 67,4 aB β 59,3 bB Média=78,33 CV%=9,81 78,7	inoculação ²										
Cultivar¹ 0 75 150 0 75 150 Ativa β 64,0 bB* β 55,7 aB α 74,5 aA α 83,5 bA α 77,4 aA α 72,2 aA Potência β 75,1 aA α 63,8 aB α 80,6 aA α 112,6 aA α 67,4 aB β 59,3 bB Média=78,33 CV%=9,81 68,9 78,7 78,7 Semeadura 15/12/2014 78,7 78,7 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 CV%=16,62 58,4 58,4 63,4 63,4 63,4 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 131,8 aB					V5						
Cultivar¹ 0 75 150 0 75 150 Ativa β 64,0 bB* β 55,7 aB α 74,5 aA α 83,5 bA α 77,4 aA α 72,2 aA Potência β 75,1 aA α 63,8 aB α 80,6 aA α 112,6 aA α 67,4 aB β 59,3 bB Média=78,33 CV%=9,81 68,9 78,7 78,7 Semeadura 15/12/2014 78,7 78,7 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Kev=16,62 18/11/2013 <	Semeadura			15/1	10/2013						
Cultivar¹ 0 75 150 0 75 150 Ativa β 64,0 bB* β 55,7 aB α 74,5 aA α 83,5 bA α 77,4 aA α 72,2 aA Potência β 75,1 aA α 63,8 aB α 80,6 aA α 112,6 aA α 67,4 aB β 59,3 bB Média=78,33 CV%=9,81 68,9 78,7 78,7 Semeadura 15/12/2014 78,7 78,7 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Kev=16,62 18/11/2013 <			kg de N ha ^{-1 3}			kg de N ha ⁻¹					
Potência β 75,1 aA α 63,8 aB α 80,6 aA α 112,6 aA α 67,4 aB β 59,3 bB Média=78,33 CV%=9,81 68,9 15/12/2014 Semeadura 15/12/2014 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 CV%=16,62 58,4 18/11/2013 63,4 63,4 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 119,1 Semeadura α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA	Cultivar ¹	0			0		150				
Média=78,33 68,9 78,7 CV%=9,81 15/12/2014 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 58,4 63,4 63,4 63,4 63,4 CV%=16,62	Ativa	β 64,0 bB*	β 55,7 aB	α 74,5 aA	α 83,5 bA	α 77,4 aA	α 72,2 aA				
CV%=9,81 Semeadura 15/12/2014 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 58,4 63,4 63,4 63,4 63,4 63,4 CV%=16,62 18/11/2013 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 117,37 119,1 119,1 CV%=11,85 Semeadura Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA	Potência	β 75,1 aA	α 63,8 aB	α 80,6 aA	α 112,6 aA	α 67,4 aB	β 59,3 bB				
Semeadura 15/12/2014 Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 58,4 63,4 CV%=16,62 8 18/11/2013 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 117,37 119,1 119,1 CV%=11,85 28/10/2014 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB	Média=78,33		68,9			78,7					
Ativa α 57,4 aA α 44,8 bA α 53,2 aA α 57,7 bA α 54,6 aA α 42,6 bA TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 TS CV%=16,62 R3 R3 TB/11/2013 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA <td col<="" td=""><td>CV%=9,81</td><td></td><td></td><td></td><td colspan="6"></td></td>	<td>CV%=9,81</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td colspan="6"></td>	CV%=9,81									
TEC 6029 β 66,2 aA α 65,5 aA β 52,8 aA α 80,9 aA α 65,4 aA α 70,3 aA Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 CV%=16,62 R3 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Semeadura			15/1	12/2014						
Potência α 66,7 aA α 63,4 aA β 55,3 aA α 65,8 bA α 62,9 aA α 70,8 aA Média=60,93 CV%=16,62 R3 18/11/2013 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 119,1 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Ativa	α 57,4 aA	α 44,8 bA	α 53,2 aA	α 57,7 bA	α 54,6 aA	α 42,6 bA				
Média=60,93 58,4 63,4 CV%=16,62	TEC 6029	β 66,2 aA	α 65,5 aA	β 52,8 aA	α 80,9 aA	α 65,4 aA	α 70,3 aA				
CV%=16,62	Potência	α 66,7 aA	α 63,4 aA	β 55,3 aA	α 65,8 bA	α 62,9 aA	α 70,8 aA				
R3-	Média=60,93		58,4	63,4							
18/11/2013 Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	CV%=16,62										
Ativa α 165,1 aA α 131,4 aB α 131,5 aB α 118,0 aA β 96,9 bB β 99,1 bB TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB					R3						
TEC 6029 α 120,7 aA α 104,3 bA β 107,8 bA α 117,3 aA α 131,7 aA α 137,8 aA Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 Semeadura				18/1	11/2013						
Potência α 113,3 aA α 91,7 bA α 105,7 bA α 132,5 aA α 104,6 bB α 118,5 aB Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Ativa	α 165,1 aA	α 131,4 aB	α 131,5 aB	α 118,0 aA	β 96,9 bB	β 99,1 bB				
Média=118,87 CV%=11,85 117,37 119,1 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	TEC 6029	α 120,7 aA	α 104,3 bA	β 107,8 bA	α 117,3 aA	α 131,7 aA	α 137,8 aA				
CV%=11,85 Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Potência	α 113,3 aA	α 91,7 bA	α 105,7 bA	α 132,5 aA	α 104,6 bB	α 118,5 aB				
Semeadura 28/10/2014 Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Média=118,87		117,37			119,1					
Ativa α 95,7 aA α 69,3 bB α 83,7 aA β 70,8 cA α 70,6 bA β 65,3 bA TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	CV%=11,85										
TEC 6029 α 111,6 aA β 85,0 aB α 92,2 aB α 125,7 aA α 99,2 aB α 103,3 aB	Semeadura			28/1	10/2014						
	Ativa	α 95,7 aA	α 69,3 bB	α 83,7 aA	β 70,8 cA	α 70,6 bA	β 65,3 bA				
	TEC 6029	α 111,6 aA	β 85,0 aB	α 92,2 aB	α 125,7 aA	α 99,2 aB	α 103,3 aB				
Potência α 132,0 aA α 110,6 aB β 78,4 aC β 101,1 bA α 99,8 aA α 101,2 aA	Potência	α 132,0 aA	α 110,6 aB	β 78,4 aC	β 101,1 bA	α 99,8 aA	α 101,2 aA				
Média=94,21 93,0 95,38	Média=94,21		93,0			95,38					
CV%=12,06	CV%=12,06										

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; ^{*}médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

O fornecimento de fertilizante nitrogenado não interferiu na nodulação sugerindo que o amônio não é prejudicial em estádios mais avançados do período vegetativo. Em experimentos com bactérias diazotróficas, é de praxe que um dos tratamentos controle seja com adição de nitrogênio, geralmente na forma de ureia aplicada em altas doses, logo após a semeadura e no florescimento. Fato que acarreta em um menor número e massa de nódulos (CAMPOS; GNATTA, 2006; HUNGRIA et al., 2013). De acordo com Bottomley e Myrold (2007), algumas formas minerais de N no solo como nitrato (NO₃-) e amônio (NH₄+) podem

inibir a formação e deteriorar nódulos já formados, afetando a FBN. No presente trabalho, a aplicação de nitrogênio foi feita no estágio vegetativo V4, portanto, não sendo nocivo à simbiose quando observado em V5. Aratani et al. (2008) evidenciaram que a adubação nitrogenada não prejudicou a nodulação nem interferiu na massa seca dos nódulos.

Quando observada a nodulação amostrada em R3, observou-se um comportamento bastante diferenciado, dificultando a interpretação deste resultado (Tabela 2). Há uma tendência pela diminuição no número de nódulos pela adição de ureia (75 e 150 kg de N ha⁻¹). Este resultado contrapõe a discussão anterior, para o estádio vegetativo. Ficando evidente as maiores médias no número de nódulos para os tratamentos sem o fornecimento de ureia. Portanto, as doses testadas quando acumuladas no estádio reprodutivo, são nocivos à nodulação. É importante a análise mais afundo dos componentes da nodulação, pois há uma tendência do melhoramento genético por cultivares que tem maior acúmulo de proteínas nos grãos. Para isto, deverão ser selecionadas plantas que tenham a habilidade de proporcionar máxima FBN (SANTOS et al., 2013), ou seja, coincidindo com o maior número de nódulos. Mais de 40% do rendimento de grão se correlacionaram com os componentes da nodulação dos cultivares de soja (BRANDALERO et al., 2009), enfatizando ainda mais a importância de uma inoculação eficiente com estirpes selecionadas.

A importância da avaliação da massa seca da parte aérea é relatada por Souza et al. (2008), que observaram correlações significativas entre a massa seca e o N total acumulado na parte aérea bem como, o N de ureídos. Estes mesmos autores validaram um conjunto mínimo de parâmetros que devem ser avaliados quando se estuda organismos diazotróficos. Quanto a massa seca de plantas amostrada em V5, observou-se pouca, ou nenhuma influência exercida pela aplicação de ureia (Tabela 3). Para a semeadura do dia 28/10/2014, resultou em médias de massa de plantas abaixo daquelas observados na semeadura anterior, possivelmente pelo melhor estabelecimento do estande de plantas, o que fez com que as plantas tivessem um menor engalhamento, consequentemente, menor massa. A mesma variável quando observada em R3, também apresentou menores médias, reforçando os resultados expressos anteriormente (Tabela 3).

Para a semeadura do dia 28/10/2014, quando amostrado em V5, plantas co-inoculadas apresentaram maiores média de massa seca. Resultado obtido por Groppa et al. (1998) corroboram com esse aumento, destacando uma maior produção de massa seca total quando comparado ao tratamento de inoculação simples. Este aumento de massa seca total de plantas pode ter uma grande contribuição provinda da massa seca de raiz. Juge et al. (2012) obtiveram resultado com diferença estatística na massa total de plantas, porém, quando avaliada a massa

seca de parte aérea os resultados não diferiram. Altos valores de massa seca de raízes coincidem com elevadas taxas de FBN pela maior exploração de raízes e consequente aproveitamento de água e nutrientes, portanto, não limitando a produção de açúcares.

Tabela 3 - Massa seca (MSP, g planta⁻¹) observados em V5 e R3 em função do tipo de inoculação,

cultivares e manejos nitrogenados.

Tipo de inoculação ²	Inoc	culação Conver	cioanl		Co-inoculação)
,				V5		
Semeadura			18/1	1/2013		
		kg de N ha ⁻¹³	3		kg de N ha ⁻¹	
Cultivar ¹	0	75	150	0	75	150
Ativa	α 17,8 bB*	α 17,5 aB	α 20,4 aA	α 15,6 bB	α 18,6 bA	α 19,1 aA
TEC 6029	β 15,7 bB	α 19,2 aA	α 17,9 aA	α 20,4 aA	α 20,7 aA	α 16,4 bB
Potência	α 21,9 aA	α 18,4 aB	α 20,0 aB	β 19,2 aA	α 16,6 bA	α 18,8 aA
Média=18,56		18,8			18,4	
CV%=9,71						
Semeadura			28/1	0/2014		
Ativa	α 4,2 bA	β 4,4 bA	β 4,7 aA	α 4,7 bA	α 5,2 bA	α 5,7 aA
TEC 6029	tiva $\alpha 4,2 \text{ bA}$ $\beta 4,4 \text{ bA}$ $\beta 4,7 \text{ aA}$ EC 6029 $\beta 4,6 \text{ bA}$ $\beta 5,4 \text{ aA}$ $\alpha 4,7 \text{ aA}$ otência $\alpha 5,6 \text{ aA}$ $\alpha 5,3 \text{ aA}$ $\beta 5,1 \text{ aA}$		α 4,7 aA	α 6,2 aA	α 6,2 aA	α 5,1 aB
Potência	α 5,6 aA	α 5,3 aA	β 5,1 aA	α 5,2 bA	α 5,5 bA	α 5,9 aA
Média=5,23		4,9			5,5	
CV%=10,61						
				R3		
				.0/2013		
Ativa	α 39,7 bA	α 43,1 aA	α 39,0 bA	α 44,0 aA	α 41,6 aA	α 43,3 bA
Potência	α 62,1 aA	α 45,7 aB	α 62,4 aA	β 41,1 aB	α 48,2 aB	α 68,0 aA
Média=48,19		48,7			47,7	
CV%=11,61						
Semeadura			28/1	0/2014		
Ativa	α 24,6 aA	α 24,7 aA	α 20,2 bB	β 19,6 bA	β 20,6 bA	α 20,9 aA
TEC 6029	β 22,0 aA	α 23,3 aA	α 24,8 aA	α 26,8 aA	α 19,4 bB	α 23,5 aA
Potência	α 26,1 aA	α 25,2 aA	α 25,2 aA	α 24,1 aA	α 25,6 aA	α 22,3 aA
Média=23,20		24,0			22,5	
CV%=12,28						

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; *médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

Para o cultivar BMX Potência na semeadura do dia 28/10/2014, a altura de inserção da primeira vagem foi aumentada com o uso da co-inoculação, independentemente do manejo nitrogenado (Tabela 4). Já na semeadura do dia 18/11/2013 sobre as mesmas condições, o cultivar apresentou decréscimo da inserção da primeira vagem proporcional a dose maior de fertilizante. Ou seja, o nitrogênio não provocou a elongação do primeiro nó produtivo, aquele localizado acima do nó das folhas unifolioladas. O cultivar TEC 6029, obteve maior altura de inserção da primeira vagem quando as sementes foram inoculadas convencionalmente e sem o uso de ureia.

Tabela 4 - Altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m) observados em R8 em função do tipo de

inoculação, cultivares e manejos nitrogenados.

Semeadura				18/11/2013	3	•	•
Tipo de inoculação ²	Inoci	ulação Conven	cional			Co-inoculação)
,		kg de N ha ^{-1 3}				kg de N ha ⁻¹	
Cultivar ¹	0	75	150	<u> </u>	0	75	150
Ativa	α 0,23 bA*	α 0,21 cA	α 0,22 bA		β 0,18 cA	α 0,19 cA	β 0,19 bA
TEC 6029	α 0,32 aA	α 0,25 bB	α 0,32 aA		β 0,27 bA	α 0,26 bA	β 0,26 aA
Potência	β 0,33 aB	α 0,38 aA	α 0,30 aB		α 0,36 aA	β 0,33 aB	α 0,28 aC
Média=0,27		0,28				0,26	
CV%=7,24							
Semeadura				28/10/2014	1		
Ativa	α 0,16 bA	α 0,16 aA	α 0,18 aA		α 0,13 bA	α 0,13 bA	α 0,16 aA
TEC 6029	α 0,24 aA	α 0,18 aB	α 0,19 aB		β 0,15 bA	α 0,19 aA	α 0,18 aA
Potência	β 0,10 cA	β 0,12 bA	β 0,09 bA		α 0,19 aA	α 0,18 aA	α 0,19 aA
Média=0,16		0,16				0,17	
CV%=15,93							

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; ^{*}médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

Em geral, plantas inoculadas convencionalmente apresentaram maior altura total, ou seja, altura de inserção da última vagem (Tabela 5). Este resultado confronta o que foi evidenciado por Clua et al. (2012), que obteve médias significativas favoráveis à coinoculação, porém, o microssimbionte naquela ocasião foi associado à micorrizas, diferentemente, do exposto aqui. O fertilizante adicionado obteve uma resposta pouco consistente, nem sempre sendo proporcional a dose fornecida. Em média, o fornecimento de 75 kg N ha⁻¹ proporcionou as menores alturas. Aratani et al. (2008) concluíram que as épocas de aplicação de nitrogênio não influenciam a altura de planta, independente da época de avaliação.

Existem dois contrapontos quando se avalia à altura de plantas. O primeiro, diz respeito que maior altura de planta pode proporcionar maior quantidade de nós produtivos que formarão vagens, consequentemente, aumento de produção por planta. O segundo, diz respeito que maior altura de planta pode aumentar a chance de acamamento, consequentemente, perda total da produção por planta. A média geral de altura total de plantas observada na semeadura do dia 15/10/2013 foi menor em relação às outras datas de semeadura, pois utilizou-se apenas dois níveis para compor a média, conforme explicado no início da discussão.

Tabela 5 - Altura total de plantas (ATP, m) observados em R8 em função do tipo de inoculação, e

manejos nitrogenados.

Semeadura		1	15/10/2013	
		kg de N ha ⁻¹	. 2	
Tipo de inoculação ¹	0	75	150	Média
Convencional	0,90 aA*	0,87 aB	0,87 bB	0,88
Co-inoculação	0,86 bB	0,86 aB	0,90 aA	0,87
Média=0,88				
CV%=2,64				
Semeadura		1	18/11/2013	
Convencional	1,17 aA	1,14 aB	1,16 aA	1,15
Co-inoculação	1,09 bA	1,12 aA	1,11 bA	1,11
Média=1,13				
CV%=2,65				
Semeadura		2	28/10/2014	
Convencional	1,25 aA	1,25 aA	1,23 bA	1,24
Co-inoculação	1,23 aB	1,25 aB	1,28 aA	1,25
Média=1,25				
CV%=3,03				

¹Fator D: Tipos de inoculação; ²Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; ^{*}médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator D dentro de cada nível do fator C), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível do fator D).

O número de vagens apresentou variabilidade nos resultados, destacando-se a semeadura do dia 15/12/2014, com um número médio de 72 vagens por planta (Tabela 6). A maior disponibilidade hídrica durante a floração pode ter sido crucial para este resultado expressivo se comparados aos demais ensaios (ANEXO C). O número de vagens tem uma forte correlação com a produtividade (DALCHIAVON; CARVALHO, 2012), quando são fornecidas condições favoráveis ao enchimento de grãos. Um detalhe que pode ter sido decisivo para estes resultados serem contraditórios, diz respeito à avaliação levar em conta o número total de vagens por planta, mesmo aquelas com apenas um grão e também as vazias. Talvez por isso, os tratamentos que se destacaram nesta avaliação não coincidiram com os que obtiveram maior produtividade.

Tabela 6 - Número de vagens (NVP, planta⁻¹) observados em R8 em função do tipo de inoculação,

cultivares e manejos nitrogenados.

Cultivales e II	iaicjos inuo	genados.		15/10/2012	<u> </u>		
Semeadura				15/10/2013	3	a	
Tipo de	Inoc	ulação Conven	cional			Co-inoculação)
inoculação ²		1.2				1	
		kg de N ha ^{-1 3}				kg de N ha ⁻¹	
Cultivar ¹	0	75	150		0	75	150
Ativa	α 80,9 aA*	α 90,9 aB	α 72,7 aA		α 78,4 aA	β 71,3 aA	α 70,1 aA
Potência	α 54,5 bB	α 64,2 bA	α 69,0 aA		α 59,8 bA	α 63,4 aA	β 51,5 bA
Média=68,90		72,0				67,8	
CV%=10,94							
Semeadura				18/11/2013	3		
Ativa	β 56,3 aB	α 69,2 aA	α 66,0 aA		α 66,7 aA	α 66,8 aA	α 63,9 aA
TEC 6029	α 50,2 bB	α 56,4 bA	β 51,1 bB		β 61,3 aA	α 62,0 aA	α 59,0 aA
Potência	α 46,4 bB	α 40,1 cC	α 52,3 bA		β 37,9 bA	α 40,3 bA	β 42,8 bA
Média=54,88		54,2	-		•	55,6	
CV%=7,25							
Semeadura				28/10/2014	1		
Ativa	α 45,0 aA	α 40,6 aA	α 48,3 aA		β 36,4 bA	α 40,8 bA	β 39,9 aA
TEC 6029	α 42,2 aB	β 32,8 bC	α 49,2 aA		α 48,0 aA	α 49,5 aA	β 41,8 aB
Potência	α 39,0 aA	α 42,8 aA	α 42,3 aA		α 41,9 bA	α 41,4 bA	α 47,0 aA
Média=42,73		42,5	-		•	43,0	
CV%=10,87							
Semeadura				15/12/2014	1		
Ativa	α 50,7 bA	α 49,4 bA	α 48,5 cA		α 53,2 cA	α 41,7 bA	α 42,8 cA
TEC 6029	β 61,2 bB	β 57,3 bB	α 81,2 bA		α 75,3 bB	α 90,3 aA	α 77,2 bB
Potência	β 77,4 aB	α 101,7 aA	α 105,4 aA		α 107,1 aA	β 83,4 aB	β 92,4 aB
Média=72,04		70,3				73,7	
CV%=12,00		•				•	
1			. 2				*

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; *médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

Quanto ao número de grãos por vagem, o cultivar BMX Potência apresentou as maiores médias (Tabela 7). Dentre os componentes de produtividade, é o que apresenta menor variabilidade mesmo em diferentes situações de manejo. Isto pode ser atribuído ao melhoramento genético que avançou na busca por plantas com produção média de dois grãos por legume (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005). Para os experimentos avaliados, obteve-se média geral variando de 2,15 a 2,36 grãos por vagem, onde possivelmente o manejo que mais influenciou foi a época de semeadura.

Tabela 7 - Número de grãos (NGV, vagem⁻¹) observados em R8 em função dos cultivares.

Semeadura	15/10/2013	28/10/2014	15/12/2014	Média cultivar
Cultivares ¹				
Ativa	2,05b*	2,11b	2,33b	2,16
TEC 6029		2,06b	2,28c	2,17
Potência	2,39a	2,28a	2,48a	2,38
Média geral	2,22	2,15	2,36	
CV%	2,51	4,25	2,60	

¹Fator A: Cultivares; médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α ≤0,05).

Assim como no número de grãos por vagem, a massa de grãos também é um valor característico de cada cultivar, porém, isso não impede que esse valor se altere em função das condições ambientais e de manejo as quais a cultura é submetida (SILVA et al., 2011b). Comparando os tipos de inoculação, a co-inoculação obteve as melhores médias, para os cultivares testados, sendo o que possui os grãos mais pesados é o TEC 6029. A massa de mil grãos foi menor para a semeadura do dia 15/12/2014, onde os cultivares apresentaram em média 142,2 g, enquanto a média dos outros três experimentos foi de 167 g. (Tabela 8). Como mencionado anteriormente, à semeadura nesta mesma data apresentava as maiores médias de vagens por planta, o que demonstra que o excesso de vagens prejudicou o enchimento de grãos à ponto de reduzir sua massa.

Tabela 8 - Massa de mil grãos (MMG, g) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados.

Carrandon a	ogenados.			15/10/2012	2		
Semeadura Tipo de	Inoc	culação Conve	ncional	15/10/2013	,	Co-inoculação	
inoculação ²	HIOC	turação Conve	ncionai			Co-mocuração	
mocuração		kg de N ha ⁻¹	3			kg de N ha ⁻¹	
Cultivar ¹	0	75	150		0	75	150
Ativa	α 172 aC*	α 190 aA	α 178 aB		α 176 aB	α 189 aA	β 150 bC
Potência	α 157 bA	α 157 bA	α 153 bA		α 152 bA	α 154 bA	α 155 aA
Média=165,72		167,8				162,7	
CV%=2,04							
Semeadura				18/11/2013	3		
Ativa	β 148 сВ	α 158 cA	β 156 cA		α 161 bB	α 153 cC	α 175 aA
TEC 6029	α 180 aA	α 183 aA	α 180 aA		β 171 aA	β 168 bA	β 168 bA
Potência	β 168 bA	α 171 bA	α 170 bA		α 175 aA	α 176 aA	α 166 bB
Média=168,76	•	168,2				168,1	
CV%=2,62							
Semeadura				28/10/2014	4		
Ativa	β 153 bB	α 176 bA	α 171 bA		α 179 bA	α 167 bB	α 163 bB
TEC 6029	α 188 aA	α 195 aA	β 184 aA		α 190 aA	α 196 aA	α 199 aA
Potência	α 136 cA	α 130 cA	α 140 cA		α 139 cA	α 137 cA	α 140 cA
Média=166,29		163,7				167,8	
CV%=4,04							
Semeadura				15/12/2014	4		
Ativa	α 136 bA	α 133 bA	α 133 bA		α 135 bA	α 135 bA	α 135 bA
TEC 6029	α 169 aA	β 170 aA	α 166 aA		α 170 aA	α 176 aA	α 171 aA
Potência	β 113 сВ	α 123 cA	β 113 сВ		α 128 cA	α 122 cB	α 121 cB
Média=142,20		139,6				143,7	
CV%=2,85							

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; ^{*}médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

A capacidade de FBN tem interferência na massa de grãos que foi demonstrado pela aplição foliar de cobalto e molibdênio em relação a plantas não inoculadas e não suplementadas com o micronutriente (SILVA et al., 2011a). Isso ocorre pela participação do molibdênio como cofator da enzima nitrato redutase, que por sua vez tem sua atividade aumentada, possibilitando a incorporação do nitrogênio pelas plantas (TOLEDO et al., 2010).

A co-inoculação apresentou produtividades superiores ou iguais à inoculação convencional na maior parte das observações, independentemente do manejo com nitrogênio. O incremento médio na produtividade de grãos foi de 240 kg ha⁻¹ em relação a inoculação convencional (Figura 1). Os cultivares BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência quando co-inoculadas apresentaram incrementos na produtividade 6, 4 e 12% respectivamente. A prática da co-inoculação com rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) tem correspondido em aumento de produtividade, como evidenciado por Atieno et al. (2012) usando o gênero *Bacillus*, Hungria et al. (2013) usando o gênero *Azospirillum*, porém, nem sempre com diferenças estatísticas ante o tratamento inoculado convencionalmente (BARBARO et al., 2011).

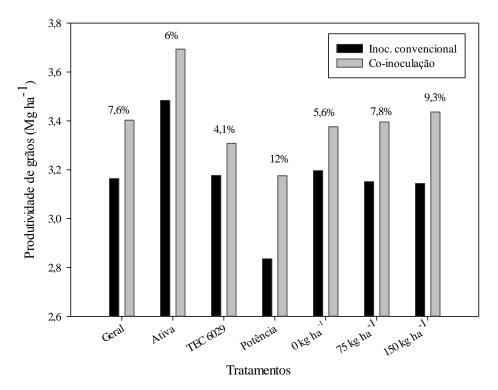


Figura 1 - Efeito do tipo de inoculação sobre a Produtividade de gãos (Mg ha⁻¹) e porcentagem de incremento.

A resposta aos manejos nitrogenados co-inoculados foi bastante variável, tendo o predomínio de dois padrões de resposta, ora favorável à dose mais elevada de fertilizante, ora sem significância (Tabela 9). O fornecimento de 150 kg de N ha⁻¹ destacou-se principalmente nos experimentos da safra mais chuvosa para os cultivares de tipo de crescimento indeterminado. A resposta não significativa à aplicação de ureia predominou na estação mais seca, onde obtiveram-se decréscimos de produtividade. Em contrapartida, a inoculação convencional não apresentou resposta à aplicação de fertilizante nitrogenado, mesmo na condição de maior disponibilidade hídrica. Isto sugere que a co-inoculação proporcionou uma interação entre os microorganismos onde se maximiza o aproveitamento do nitrogênio na forma mineral, disponível para absorção.

Na maior dose de N fornecida, a inoculação convencional, somente com *Bradyrhizobium* foi estatisticamente inferior, mostrando que o N em excesso pode ter prejudicado este gênero bacteriano por sua perda de efetividade, possivelmente pela redução do número de nódulos em R3. Assim, neste cenário, podemos admitir que o *A. brasilense* presente na co-inoculação proporcionou maiores médias devido esta bactéria também ter a capacidade de ser diazotrófico, fornecendo parte do N requerido pela planta.

Tabela 9 - Produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹) observados em R8 em função do tipo de inoculação, cultivares e manejos nitrogenados.

	manejos mu	ogenados.		15/10/2012			
Semeadura	_			15/10/2013		~	
Tipo de	Inoc	ulação Conver	cional			Co-inoculaçã	0
inoculação ²							
		kg de N ha ⁻¹³	3			kg de N ha ⁻¹	
Cultivar ¹	0	75	150		0	75	150
Ativa	β 2,92 aB*	α 3,88 aA	α 3,24 aB		α 3,66 aA	β 3,15 aB	α 3,36 aB
Potência	α 3,00 aA	β 2,70 bA	β 2,32 bB		α 3,14 bA	α 3,15 aA	α 2,80 bA
Média=3,11		3,01				3,21	_
CV%=8,29							
Semeadura				28/10/2014			_
Ativa	α 3,73 aA	α 3,70 aA	α 3,78 aA		α 3,97 aA	α 3,86 aA	α 3,62 aA
TEC 6029	α 2,88 bA	α 2,68 cA	β 2,45 cA		α 2,77 cB	α 2,97 cB	α 3,21 bA
Potência	β 2,75 bA	β 3,03 bA	β 2,98 bA		α 3,18 bA	α 3,47 bA	α 3,35 bA
Média=3,24		3,11				3,38	_
CV%=7,20							
Semeadura				15/12/2014			_
Ativa	α 3,65 aA	β 3,68 aA	α 3,77 aA		α 3,67 aB	α 4,01 aA	α 3,94 aA
TEC 6029	α 3,70 aA	α 3,71 aA	β 3,64 aA		α 3,57 aB	β 3,43 bB	α 3,90 aA
Potência	α 2,94 bA	β 2,83 bA	β 2,97 bA		α 3,05 bB	α 3,13 cB	α 3,31 bA
Média=3,49		3,43				3,56	_
CV%=4,12							

¹Fator A: Cultivares; ²Fator D: Tipos de inoculação; ³Fator C: Manejo com fertilizante nitrogenado; *médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Skott-Knott (α≤0,05). Letras minúsculas são observadas na coluna (fator A dentro de cada nível da interação DxC), letras maiúsculas são observadas na linha (fator C dentro de cada nível da interação AxD), letras gregas são observadas entre células de mesma combinação (Fator D dentro de cada nível da interação AxC).

Fazendo um enfoque econômico da viabilidade do uso de 150 kg de N ha⁻¹ em sementes co-inoculadas, isto equivale a aproximadamente de 333,33 kg de ureia ha⁻¹. O incremento médio proporcionado foi de 300 kg de grãos ha⁻¹ para os cultivares indeterminados, ou seja, uma relação de 1,11 vezes o valor do produto. Atualmente, a saca de soja tem sido comercializada à R\$ 66,00 (CEPEA, 2015). Desta forma, para a realidade atual, para que a aplicação de ureia seja economicamente viável, o insumo deveria custar R\$ 900,00 Mg⁻¹. Do contrário, R\$ 93,00 saca⁻¹ deveria ser o preço de comercialização do grão, 40% acima do valor atual (Figura 2). Duas situações contribuem para a tomada de decisão quanto ao uso da ureia sob estas condições. A primeira diz respeito aos custos com transporte, armazenamento e aplicação do insumo. A segunda diz respeito ao cenário do mercado de compra e vendas de insumos, que dificilmente tem uma alteração de preços tão acentuada.

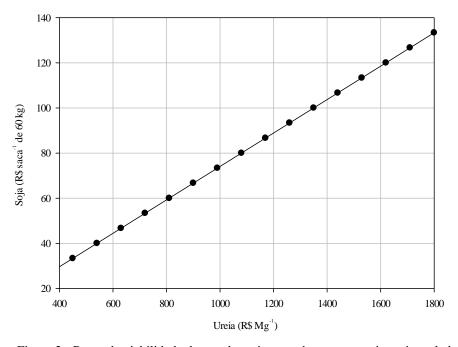


Figura 2 - Ponto de viabilidade do uso de ureia em cobertura em soja co-incoulada.

Analisando os resultados obtidos para as outras variáveis explicativas relacionando-os com a produtividade de grãos, pode-se inferir que a aplicação de fertilizante nitrogenado é desnecessária. Em média, para os cultivares testados, o estágio vegetativo V4-V5 precede um estádio de grande "dreno" da cultura, a floração (R1). Da mesma maneira, o estágio R2-R3 dá início à formação de vagens e logo em seguida, o enchimento de grãos (R5). Portanto, o manejo fracionado do nitrogênio durante períodos ditos "críticos" para a cultura não

correspondeu com incrementos de produtividade. Este resultado vai ao encontro de Aratani et al. (2008) e também Mendes et al. (2008), testaram a adubação nitrogenada em cobertura na cultura da soja, independente da época de aplicação tanto no estádio vegetativo quanto no reprodutivo, não proporciona aumento de produtividade em relação ao tratamento sem aplicação de nitrogênio. Para aplicações de ureia em R1, o resultado de Petter et al. (2012) diverge dos autores anteriormente citados, pois concluíram que doses superiores à 60 kg N ha⁻¹ diminuem a produtividade, porém, indicam incremento de até 300 kg ha⁻¹ na produção de grãos para doses até 30 kg N ha⁻¹.

O cultivar BMX Ativa RR apresentou as maiores médias de produtividades dentre os cultivares testados. Seu comportamento foi pouco influenciado pelo tipo de inoculação e também ao manejo nitrogenado, indicando que cultivares de tipo de crescimento determinado possuem maior estabilidade produtiva.

Conclusões

A co-inoculação (*Bradyrhizobium* spp + *Azospirillum* spp.) proporcionou incremento na produtividade de grãos de 240 kg ha⁻¹ quando comparado à inoculação convencional (somente com *Bradyrhizobium* spp.). Os cultivares BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência quando co-inoculadas apresentaram incrementos na produtividade 6, 4 e 12% respectivamente. Com a adição de 150 kg de N ha⁻¹, os dois cultivares indeterminados apresentaram incremento na produtividade de 300 kg ha⁻¹, porém, sem retorno econômico. Os cultivares testados quando inoculados convencionalmente não respondem positivamente à aplicação de ureia. Na maioria das variáveis observadas não houve incremento pelo fornecimento de ureia, sendo, portanto, um manejo desnecessário.

Referências bibliográficas

ALBAREDA, M. et al. Soybean inoculation: Dose, N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil. **Field Crop Research**, v.113, p.353-356, 2009.

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.

ARATANI, R. G. et al. Adubação nitrogenada em soja na implantação do sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, v.24, p.31-38, 2008.

ATIENO, M. et al. Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two differente strains of *Bradyrhizobium japonicum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, v.28, p.2541–2550, 2012.

BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. *Colloquium Agrariae*, v.5, p.1-7, 2009.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E de. How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, v.108, p.77–136, 2010.

BENINTENDE, S. W. et al. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, v.27, p.71-77, 2010.

BOTTOMLEY, P. J.; MYROLD, D. D. Biological N inputs. In: PAUL, E. A. (Ed.). **Soil microbiology, ecology and biochemistry**. 3. ed. Oxford: Academic Press, 2007. p.365-388.

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.

CASSÁN, F. et al. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, v.45, p.28-35, 2009.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA, CEPEA. **Indicadores de preços**. ESALQ/USP, São Paulo, 2015. Disponível em http://cepea.esalq.usp.br/soja/>. Online. Acesso dia 21 de junho de 2015.

CLUA, A.; OLGIATI, J.; BELTRANO, J. Evaluación de la doble inoculación *Bradyrhizobium*-micorrizas y el uso de fitoterápicos de semilla en el crecimiento, eficiencia de inoculación y el rendimiento de un cultivo de soja. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, v.39, p.250-251, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.2 – Safra 2014/15, n.8, maio 2015**. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf>. Online. Acesso dia 04 de junho de 2015.

DALCHIAVON, F. C.; CARVALHO, M. P. Correlação linear e espacial dos componentes de produção e produtividade da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, p.541-552, 2012.

DARDANELLI, M. S. et al. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology & Biochemistry**, v.40, p.2713-2721, 2008.

DELAMUTA, J. R. M. et al. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v.63, p.3342-3351, 2013.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 3ª ed. Brasília, DF. Embrapa, 353p, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA. Indicações Técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 124p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 382).

FEHR, W. R. C. et al. Stage of development descriptions for soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v.11, p.929-931. 1971.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

GAN, Y. et al. Effect of fertilizer top-dressing at various reproductive stages on growth N2 fixation and yield of three soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes. **Field Crops Research**, v.80, p.147–155, 2003.

HARTLEY, E. J. et al. Age of peat-based lupin and chickpea inoculants in relating to quality and efficacy. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.45, p.183–188, 2005.

HAYAT, L. et al. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**. v.60, p.579-598, 2010.

HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. Ciência & Ambiente, v.38, p.43-58, 2009.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.88-93, 2003.

HUNGRIA, M. et al. **Inoculação com** *Azospirillum brasilense*: **inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 37p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v.49, p.791-801, 2013.

JUGE, C. et al. Growth and biochemical responses of soybean to double and triple microbial associations with *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizae. **Applied Soil Ecology**, v.61, p.147-157, 2012.

MENDES, I. C. et al. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1053-1060, 2008.

MERCANTE, F. M. et al. Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 4p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 169).

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, MAPA. Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011. Brasília, 2011. Disponível em http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF &tipo=INM&numeroAto=00000013&seqAto=000&valorAno=2011&orgao=SDA/MAPA&c odTipo=&desItem=&desItemFim>. Online. Acessado dia 13 de março de 2015.

MUNDSTOCK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja: Fatores que afetam o crescimento e o rendimento dos grãos.** UFRGS, Departamento de plantas de Lavoura da Universidade do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005. 31p.

PEELL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v.11, p.1633-1644, 2007.

PETTER, F. A. et al. Respostas de cultivares de soja à adubação nitrogenada tardia em solos de cerrado. **Revista Caatinga**, v.25, p.67-72, 2012.

SANTOS, M. A. et al. Mapping of QTLs associated with biological nitrogen fixation traits in soybean. **Hereditas**, v.150, p.17-25, 2013.

SILVA, A. F. et al. Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, v.27, p.404-412, 2011a.

SILVA, A. F. et al. Inoculação com *Bradyrhizobium* e formas de aplicação de Cobalto e Molibdênio na cultura da soja. **Agrarian**, v.4, p.98-104, 2011b.

SOUZA, R. A. et al. Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.83-91, 2008.

STEEL, R. G. D. et al. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3.ed. New York: McGraw Hill Book, 1997. 666p.

VERMA, J. P. et al. Impact of plant growth promotion rizhobacteria on crop production. **International Journal of Agricultural Research**, v.11, p.954-983, 2010.

TOLEDO, M. Z. et al. Nodulação e atividade da Nitrato redutase em função da aplicação de molibdênio em soja. **Bioscience Journal**, v.26, p.858-864, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os benefícios encontrados no presente trabalho, destacam-se duas tecnologias com potencial para serem empregadas em lavouras da região sul.

O uso de osmoprotetor de sementes mostrou ser uma ferramenta importante para garantir a sobrevivência do inóculo por até sete dias que antecedem a semeadura. O benefício prático deste resultado diz respeito ao melhor aproveitamento do tempo e mão de obra. A agricultura em geral visa a diminuição dos custos para a maximização de renda. Devido a condições climáticas, características de cada ano, as condições de umidade e temperatura do solo ótimo para a semeadura, é bastante limitado. Isso representa uma curta janela de semeadura. Portanto, pode-se considerar que economizar tempo, seria o mesmo que reduzir custo. A logística do processo poderia ser melhor dimensionada, como por exemplo, utilizar apenas um dia da semana para o tratamento químico e inoculação das sementes. Desta forma garantindo o perfeito recobrimento das sementes com o inoculante, o que por muitas vezes não é atendido quando as sementes são inoculadas no mesmo instante da semeadura.

Outro aspecto relacionado aos osmoprotetores diz respeito às moléculas de sinalização presentes em sua formulação. No presente trabalho não foram feitas avaliações sobre a precocidade das nodulações, mas o autor e colaboradores, puderam observar "in loco" que os tratamentos que continham a substância apresentavam vantagens. A rápida formação do nódulo condiz que, logo ele seja formado, já tenha a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN). Portanto, o suprimento inicial da cultura por N é maximizado. O amarelecimento (senescência) dos cotilédones é caracterizado na literatura como sintoma típico de deficiência de N. Onde são remobilizados nutrientes de folhas velhas em direção as folhas jovens. Tal fato não era percebido com frequência nos tratamentos onde foi usado o osmoprotetor.

A co-inoculação não prejudicou os componentes de nodulação e fitomorfológicos da cultura da soja. Destaca-se o incremento de produtividade superior à 240 kg de grãos ha⁻¹ em relação ao tratamento inoculado convencionalmente. Resultado evidenciado principalmente em condições de restrição hídrica. A tomada de decisão por optar ou não pelo uso da tecnologia diz respeito principalmente ao seu custo benefício. Se considerarmos o incremento médio citado anteriormente ter-se-á um ganho econômico de R\$ 264,00 [R\$ 66,00 saca⁻¹ de 60kg (CEPEA, 2015)].

Devido à inconsistência nos resultados, ora favorável, ora desfavorável à suplementação com ureia, fica evidente a resposta negativa para este tipo de manejo. Reduzindo o uso de adubos em geral, vem ao encontro das demandas atuais que estão sempre em pauta, enfocando sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental.

CONCLUSÕES

O uso do osmoprotetor para a inoculação com *Bradyrhizobium* isoladamente (inoculação convencional) ou combinado com *Azospirillum brasilense* (co-inoculação) com sete dias anteriores a semeadura proporciona produtividades na cultura da soja, semelhantes à inoculação no momento da semeadura. A co-inoculação proporcionou 31 e 16% de incremento de produtividade em relação ao tratamento não inoculado para o primeiro e segundo ano de experimentos, respectivamente.

A co-inoculação proporcionou incremento na produtividade de grãos de 240 kg ha⁻¹ quando comparado à inoculação convencional. Os cultivares BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência quando co-inoculadas apresentaram incrementos na produtividade 6, 4 e 12% respectivamente. Com a adição de 150 kg de N ha⁻¹, os dois cultivares indeterminados tiveram incremento na produtividade de 300 kg de grãos ha⁻¹, porém, sem retorno econômico. Os cultivares testados quando inoculados convencionalmente não respondem positivamente à aplicação de ureia. Na maioria das variáveis observadas não houve incremento pelo fornecimento de ureia, sendo, portanto, um manejo desnecessário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA, CEPEA. **Indicadores de preços**. ESALQ/USP, São Paulo, 2015. Disponível em http://cepea.esalq.usp.br/soja/>. Online. Acesso dia 21 de junho de 2015.

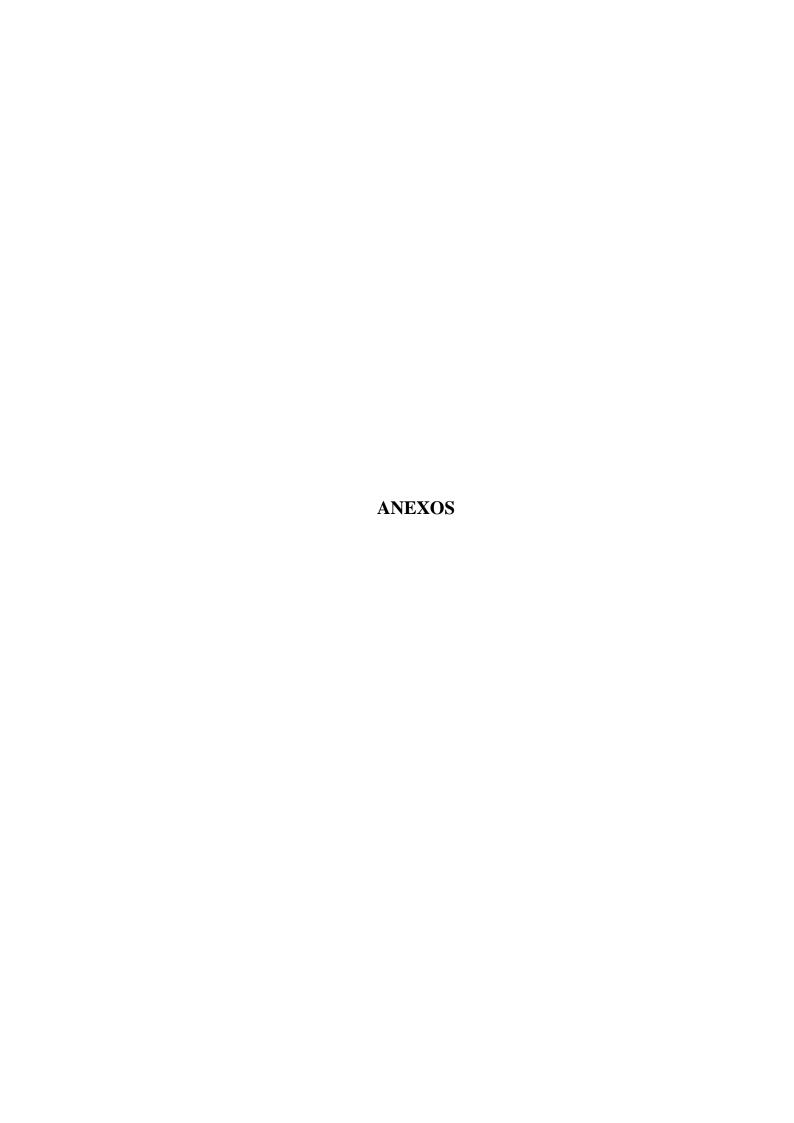
COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** v.2 – Safra 2014/15, n.8, maio 2015. Disponível em http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_maio_2015.pdf. Online. Acesso dia 04 de junho de 2015.

DELAMUTA, J. R. M. et al. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v.63, p.3342-3351, 2013.

HUNGRIA, M. et al. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v.49, p.791-801, 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, MAPA. **Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011.** Brasília, 2011. Disponível em http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF &tipo=INM&numeroAto=00000013&seqAto=000&valorAno=2011&orgao=SDA/MAPA&c odTipo=&desItem=&desItemFim>. Online. Acessado dia 13 de março de 2015.

VENTIMIGLIA, L. A. et al. Potencial de rendimento da soja em razão da disponibilidade de fósforo no solo e dos espaçamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p. 195-199, 1999.



ANEXO A – Análise de solo da área experimental, 2013/14

		Diag	nóstico para aci	dez do solo e ca	ılagem	
Amostra	Nº registro	pН	H+A1	Al	Bases	Índice SMP
		água 1:1	cmol/dm³	Satura	ção (%)	
2013/14	29371	5,1	7,9	10,5	47,8	5,6
2014/15	17185	5,2	4,4	6,1	67,5	6,0
	Dia	gnóstico para m	acronutrientes e	recomendação	de adubação NI	PK-S
	% M.O.	% Argila	S	P-melich	CTC pH7	K
	m	/v	mg/	/dm³	cmol/dm³	mg/dm³
2013/14	2,2	23,0	12,5	17,3	14,7	84,0
2014/15	2,4	24,0	12,0	12,6	13,7	108,0

Laudo emitido pelo Laboratório de Análise de Solo da UFSM. Determinado em analisador elementar de combustão seca.

ANEXO B - Imagem da área experimental



*Google Earth® Área experimental: 29°42' de latitude sul, 53°42' de longitude oeste e 116 metros de altitude

ANEXO C - Croqui dos experimentos

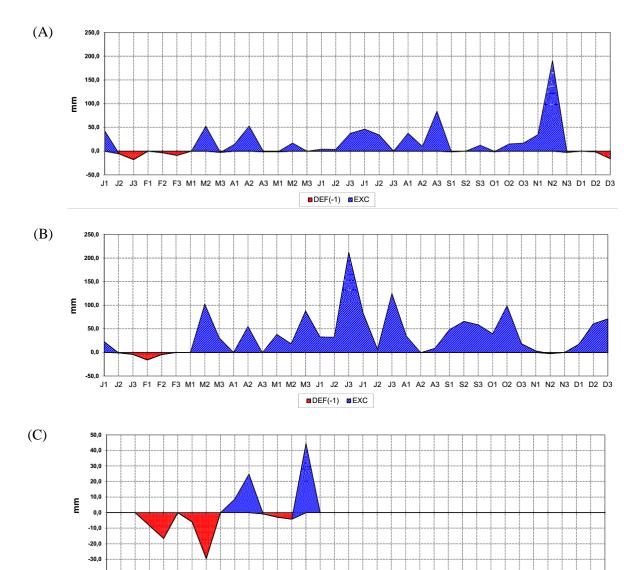
Experimento 1

	L 01	L 02	L 03	L 04	L 05	L 06	L 07	L 08	L 09	3	34,75m
Bloco 01	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	7m	
2.25	NI	NI+N	I (Brady)	BROS	BROS7	BROS10	BROSAZO	BROSAZO7	BROSAZO10		
2,25m	L 18	L 17	L 16	L 15	L 14	L 13	L 12	L 11	L 10		
Bloco 02	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029		
2,25m	NI	NI+N	I (Brady)	BROS	BROS7	BROS10	BROSAZO	BROSAZO7	BROSAZO10		
2,23111	L 19	L 20	L 21	L 22	L 23	L 24	L 25	L 26	L 27		
Bloco 03	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029		
	NI	NI+N	I (Brady)	BROS	BROS7	BROS10	BROSAZO	BROSAZO7	BROSAZO10		
2,25m	L 36	L 35	L 34	L 33	L 32	L 31	L 30	L 29	L 28		
Bloco 04	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029	TEC 6029		
	NI	NI+N	I (Brady)	BROS	BROS7	BROS10	BROSAZO	BROSAZO7	BROSAZO10		
	2,25m										
	20.25m										

Experimento 2

							CULTIVAR	ES (3) X TIP	D DE INOCL	JLAÇÃO (2)	X DOSES DE	UREIA (3)								
				Inoculaçã	ão Padrão (só Brady)							Co-inocu	ulação (Brad	dy + Azo)					
	A 01	A 02	A 03	A 04	A 05	A 06	A 07	A 08	A 09	A 10	A 11	A 12	A 13	A 14	A 15	A 16	A 17	A 18	1	ı
Bloco 01	ATIVA	6029	POTENC	6029	POTENC	POTENC	6029	ATIVA	ATIVA	POTENC	ATIVA	6029	6029	ATIVA	POTENC	POTENC	ATIVA	6029	7m	
	75 N	150 N	75 N	75 N	150 N	00 N	00 N	150 N	00 N	150 N	00 N	150 N	75 N	150 N	75 N	00 N	75 N	00 N		
2,25m	A 36	A 35	A 34	A 33	A 32	A 31	A 30	A 29	A 28	A 27	A 26	A 25	A 24	A 23	A 22	A 21	A 20	A 19		
Bloco 02	ATIVA	6029	POTENC	6029	POTENC	POTENC	6029	ATIVA	ATIVA	POTENC	ATIVA	6029	6029	ATIVA	POTENC	POTENC	ATIVA	6029		
2,25m	75 N	150 N	75 N	00 N	00 N	150 N	75 N	150 N	00 N	75 N	75 N	75 N	150 N	150 N	00 N	150 N	00 N	00 N		
2,23111	A 37	A 38	A 39	A 40	A 41	A 42	A 43	A 44	A 45	A 46	A 47	A 48	A 49	A 50	A 51	A 52	A 53	A 54		
Bloco 03	ATIVA	6029	POTENC	6029	POTENC	POTENC	6029	ATIVA	ATIVA	POTENC	ATIVA	6029	6029	ATIVA	POTENC	POTENC	ATIVA	6029		
	00 N	75 N	150 N	150 N	00 N	75 N	00 N	75 N	150 N	150 N	00 N	150 N	75 N	150 N	00 N	75 N	75 N	00 N		
2,25m	A 72	A 71	A 70	A 69	A 68	A 67	A 66	A 65	A 64	A 63	A 62	A 61	A 60	A 59	A 58	A 57	A 56	A 55		
Bloco 04	ATIVA	6029	POTENC	6029	POTENC	POTENC	6029	ATIVA	ATIVA	POTENC	ATIVA	6029	6029	ATIVA	POTENC	POTENC	ATIVA	6029		
	150 N	00 N	150 N	150 N	00 N	75 N	75 N	75 N	00 N	00 N	00 N	00 N	150 N	75 N	150 N	75 N	150 N	75 N		34,75r
	2,25m																			

ANEXO D – Extrato do balanço hídrico climatológico



Extrato do balanço hídrico normal¹ por Thornthwait & Mather (1955), representado por decêndios² para 2013 (A), 2014 (B) e 2015 (C). Santa Maria/RS. ¹Adaptado de Rolim & Sentelhas (1998). Disponível em: https://geojurista.files.wordpress.com/2014/04/bhaula.xls ²Dados das estações automáticas do Instituto Nacional de Metereologia (INMET). Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep%2Fbdmep>

J1 J2 J3 F1 F2 F3 M1 M2 M3 A1 A2 A3 M1 M2 M3 J1 J2 J3 J1 J2 J3 A1 A2 A3 S1 S2 S3 O1 O2 O3 N1 N2 N3 D1 D2 D3

ANEXO E - Análise de variância do experimento 1

Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, experimento 1.

2013/14									
				1	,, 1 -			R3 ¹	
FV	GL	NNP ²	MSP^2	$TC A^2$	$TC B^2$	$TC T^2$	NNP^2	MSP^2	
Trat	8	555,83**	15,22**	1,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	1.42 ^{ns}	1157.77**	116,69**	
Blocos	3	46,33 ^{ns}	3,28 ^{ns}	3,50 ^{ns}	$0,99^{ns}$	10,60**	210,83 ^{ns}	9,43 ^{ns}	
Residuo	24	41,68	2,58	1,51	0,23	1,77	117,42	21,17	
Média		57,56	24,00	32,09	7,55	39,5	123,23	59,96	
CV%		11,22	6,7	3,23	6,39	3,37	8,79	7,67	
						8 ¹			
		$AIPV^2$	ATP^2	NVP^2	N	GV^2	MMG^2	PG^2	
Trat	8	33,90**	21,75**	159,43	** 0,	002 ^{ns}	70,75**	476,12**	
Blocos	3	8,25 ^{ns}	5,58 ^{ns}	14,01 ^{ns}	0,	004^{ns}	45,14 ^{ns}	17,67 ^{ns}	
Residuo	24	6,12	4,83	16,08	0,	005	16,56	42,08	
Média		26,47	122,58	50,25 2,30		36	184,5	3,44	
CV%		9,35	1,79	7,98	3,	07	2,21	5,95	
'				2014					
				V5 ¹				R3 ¹	
FV	GL	NNP	MSP	TC A	TC B	TC T	NNP	MSP	
Trat	8	186,26**	0,96**	X	X	X	814,18 ^{ns}	23,85**	
Blocos	3	29,97 ^{ns}	0.35^{ns}	X	X	X	1005,06 ^{ns}	5,35 ^{ns}	
Residuo	24	21,06	9,14	X	X	X	452,99	5,68	
Média		67,76	4,68	X	X	X	123,63	22,19	
CV%		6,77	8,07	X	X	X	17,22	10,75	
						81			
		AIPV	ATP	NVP		GV	MMG	PG	
Trat	8	10,48*	24,29**	122,70		0077 ^{ns}	45,48 ^{ns}	181,16**	
Blocos	3	4,67 ^{ns}	$4,72^{ns}$	30,66 ^{ns}	0,	0058^{ns}	92,07*	65,67*	
Residuo	24	3,27	4,94	48,05	0,	004	21,03	18,91	
Média		22,71	113,70	40,31	2,	10	164,47	3,36	
C.V.		7,97	1,96	17,20	2,	97	2,79	4,08	

^{*} e ** significativo pelo teste F á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente. ^{ns}não significativo; Fonte de variação (FV); Grau de liberdade (GL); Coeficiente de variação (CV%); ¹estádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); ²variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta⁻¹); massa seca (MSP, g planta⁻¹), teor de clorofila A (TCA, ICF planta⁻¹), teor de clorofila B (TCB, ICF planta⁻¹), teor de clorofila total (TCT, ICF planta⁻¹), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (ATP, m); número de vagens (NVP, planta⁻¹); número de grãos (NGV, vagem⁻¹), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha⁻¹).

ANEXO F - Análise de variância do experimento 2, semeadura 15/10/2013

Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, experimento 2. Semeadura 15/10/2013.

			V5 ¹		-R3 ¹
FV	GL	NNP^2	MSP^2	NNP^2	MSP^2
Fator A ³	1	331,27*	28,06**	5801,40**	1958,40**
Fator D ³	1	1145,63**	9,63**	1355,75*	11,21 ^{ns}
Fator C ³	2	1316,45**	15,81**	174,58 ^{ns}	316,72**
Int AxD	1	123,20 ^{ns}	$0.88^{\rm ns}$	1868,75*	134,00*
Int AxC	2	670,66**	7,15**	2501,49**	403,10**
Int DxC	2	1651,55**	0,85*	3509,50**	181,13**
Int AxDxC	2	444,26**	$0.05^{\rm ns}$	61,37 ^{ns}	262,42**
Blocos	3	$10,79^{ns}$	0.33^{ns}	162,49 ^{ns}	$71,57^{\text{ns}}$
Residuo	33	52,42	0,22	270,24	31,30
Média	0	73,83	9,59	144,40	48,19
CV%	0	9,81	4,93	11,38	11,61

					χο		
		$AIPV^2$	ATP^2	NVP^2	NGV^2	MMG^2	PG^2
Fator A	1	4408,33**	72463,02**	3469,70**	1,40**	5229,18**	3234,92**
Fator D	1	4,08 ^{ns}	$2,52^{ns}$	473,13**	$0,003^{ns}$	285,18**	485,01 [*]
Fator C	2	58,77**	18,14*	178,25 ^{ns}	$0,002^{\text{ns}}$	694,02**	404,65**
Int AxD	1	30,08**	105,02**	46,21 ^{ns}	$0,0008^{ns}$	117,18**	$288,45^{*}$
Int AxC	2	48,27**	5,64 ^{ns}	129,41 ^{ns}	$0,003^{\text{ns}}$	566,06**	286,23 [*]
Int DxC	2	19,39**	51,02**	176,93 ^{ns}	0.01^{ns}	195,06**	376,93**
Int AxDxC	2	$7,89^{ns}$	17,77 ^{ns}	295,05*	$0,005^{\text{ns}}$	430,18**	791,89 ^{**}
Blocos	3	$7,50^{\rm ns}$	$0,57^{ns}$	24,36 ^{ns}	0.007^{ns}	$27,40^{\text{ns}}$	69,85 ^{ns}
Residuo	33	2,63	5,42	56,86	0,003	11,48	66,61
Média	0	21,66	88,10	68,90	2,22	165,72	3,11
CV%	0	7,49	2,64	10,94	2,51	2,04	8,29

^{*}e ** significativo pelo teste F á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente; ns não significativo; Fonte de variação (FV); Grau de liberdade (GL); Coeficiente de variação (CV%); lestádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta-1); massa seca (MSP, g planta-1), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (ATP, m); número de vagens (NVP, planta-1); número de grãos (NGV, vagem-1), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha-1); Fatores: cultivares (A); tipo de inoculação (D); manejo nitrogenado (C).

ANEXO G - Análise de variância do experimento 2, semeadura 18/11/2013

Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, experimento 2. Semeadura 18/11/2013.

			-V5 ¹	R3 ¹		
FV	GL	NNP^2	MSP^2	NNP^2	MSP^2	
Fator A ³	2	1826,95**	6,64 ^{ns}	989,93**	531,73**	
Fator D ³	1	1844,26**	2,72 ^{ns}	$57,60^{\text{ns}}$	527,58**	
Fator C ³	2	191,17**	0.74^{ns}	1217,79**	$62,29^{\text{ns}}$	
Int AxD	2	4,27 ^{ns}	18,50**	6026,20**	304,19**	
Int AxC	4	466,63**	26,53**	377,18 ^{ns}	160,45**	
Int DxC	2	$33,79^{ns}$	4,16 ^{ns}	161,33 ^{ns}	187,34**	
Int AxDxC	4	24,89 ^{ns}	$11,14^*$	972,14**	41,31 ^{ns}	
Blocos	3	36,94 ^{ns}	0,83 ^{ns}	259,85 ^{ns}	34,38 ^{ns}	
Residuo	51	24,73	3,25	196,02	30,87	
Média		51,46	18,56	118,17	51,48	
CV%		9,67	9,71	11,85	10,79	
			R	81		

		$AIPV^2$	ATP^2	NVP ²	NGV ²	MMG^2	PG^2
Fator A	2	986,51**	23427,59**	2851,93**	0,402**	1809,76**	1610,96**
Fator D	1	128,00**	364,50 ^{**}	37,55 ^{ns}	0,027**	5,01 ^{ns}	$40,94^{\text{ns}}$
Fator C	2	23,01**	1,93 ^{ns}	56,09*	$0,017^{**}$	20,18 ^{ns}	629,73**
Int AxD	2	$6,79^{ns}$	$17,79^{\text{ns}}$	299,34**	0,013**	688,93**	368,77**
Int AxC	4	49,70**	16,18 ^{ns}	93,07**	0,022**	179,74**	$89,72^{ns}$
Int DxC	2	4,54 ^{ns}	52,54**	47,34 ^{ns}	$0,003^{\text{ns}}$	122,59**	611,05**
Int AxDxC	4	28,52**	18,95 ^{ns}	63,70**	0,016**	139,70**	107,22 ^{ns}
Blocos	3	$4,62^{ns}$	19,44 ^{ns}	4,48 ^{ns}	$0,001^{\text{ns}}$	39,82 ^{ns}	14,93 ^{ns}
Residuo	51	3,93	9,07	15,83	0,00	19,56	42,53
Média		27,38	113,55	54,88	2,38	168,76	3,26
CV%		7,24	2,65	7,25	1,75	2,62	6,32

^{*}e ** significativo pelo teste F á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente; ns não significativo; Fonte de variação (FV); Grau de liberdade (GL); Coeficiente de variação (CV%); lestádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta-1); massa seca (MSP, g planta-1), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (ATP, m); número de vagens (NVP, planta-1); número de grãos (NGV, vagem-1), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha-1); Fatores: cultivares (A); tipo de inoculação (D); manejo nitrogenado (C).

ANEXO H - Análise de variância do experimento 2, semeadura 12/11/2014

Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, experimento 2. Semeadura 12/11/2014.

			V5 ¹		·R3 ¹
FV	GL	NNP^2	MSP^2	NNP^2	MSP^2
Fator A ³	2	316,31**	2,76** 7,47**	6032,39**	53,40**
Fator D ³	1	21,56 ^{ns}	7,47**	102,96 ^{ns}	40,35*
Fator C ³	2	324,66**	0.39^{ns}	81,83 ^{ns}	6,75 ^{ns}
Int AxD	2	89,13*	0,99*	1175,68**	$11,14^{\rm ns}$
Int AxC	4	$34,27^{ns}$	1,23**	945,48**	15,74 ^{ns}
Int DxC	2	336,73**	0,04 ^{ns}	1089,26**	5,32 ^{ns}
Int AxDxC	4	58,99 ^{ns}	0,83*	1080,96**	29,39*
Blocos	3	63,26 ^{ns}	0.39^{ns}	317,51 ^{ns}	15,23 ^{ns}
Residuo	51	25,23	0,30	129,18	8,18
Média		42,41	5,23	94,21	23,30
CV%		11,84	10,61	12,06	12,28
			·	no!	•

					ко		
		$AIPV^2$	ATP^2	NVP^2	NGV^2	MMG^2	PG^2
Fator A	2	120,19**	37595,09**	27,63 ^{ns}	0,299**	18074,77**	5669,91**
Fator D	1	$29,26^{*}$	18,60 ^{ns}	4,60 ^{ns}	0.007^{ns}	304,22*	1299,27**
Fator C	2	$2,10^{ns}$	14,20 ^{ns}	78,55 [*]	$0,001^{\text{ns}}$	48,95 ^{ns}	35,17 ^{ns}
Int AxD	2	258,36**	56,60 [*]	180,10**	0.012^{ns}	10,83 ^{ns}	177,52 [*]
Int AxC	4	8,12 ^{ns}	51,58*	17,28 ^{ns}	$0,006^{\text{ns}}$	103,61 ^{ns}	93,53 ^{ns}
Int DxC	2	13,56 ^{ns}	$69,20^{*}$	119,26**	0.015^{ns}	182,45*	34,12 ^{ns}
Int AxDxC	4	$23,37^{*}$	9,63 ^{ns}	120,45**	$0,003^{ns}$	367,26**	220,98**
Blocos	3	4,48 ^{ns}	6,86 ^{ns}	31,05 ^{ns}	$0,008^{ns}$	113,88 ^{ns}	52,48 ^{ns}
Residuo	51	7,16	14,36	21,57	0,008	45,08	54,62
Média		16,80	125,24	42,73	2,15	166,29	3,24
CV%		15,93	3,03	10,87	4,25	4,04	7,20

^{*}e ** significativo pelo teste F á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente; ^{ns}não significativo; Fonte de variação (FV); Grau de liberdade (GL); Coeficiente de variação (CV%); ¹ estádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); ² variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta-1); massa seca (MSP, g planta-1), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (ATP, m); número de vagens (NVP, planta-1); número de grãos (NGV, vagem-1), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha-1); ³Fatores: cultivares (A); tipo de inoculação (D); manejo nitrogenado (C).

ANEXO I - Análise de variância do experimento 2, semeadura 15/12/2014

Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, experimento 2. Semeadura 15/12/2014.

			V5 ¹		R3 ¹			
FV	GL	NNP^2	MSP^2		NN		MSP^2	
Fator A ³	2	1567,80**	14.60**),84 ^{ns}	121.49**	
Fator D ³	1	460,56*	31,07**		618	3,93 ^{ns}	39.45**	
Fator C ³	2	452,06*	0,45		737	7,18 ^{ns}	75,01**	
Int AxD	2	177,62 ^{ns}	5 18**		248	33,23**	$10,17^*$	
Int AxC	4	$43,42^{ns}$	0,71**		148	39,54**	$8,79^{*}$	
Int DxC	2	$29,20^{\text{ns}}$	0.83^{**} 333,66 ^{ns}			3,66 ^{ns}	14,79**	
Int AxDxC	4	265,19 [*]	$0.24^{\rm ns}$		$264,72^{\text{ns}}$		6,67 ^{ns}	
Blocos	3	121,81 ^{ns}	0.08^{ns}		13,08 ^{ns}		1,74 ^{ns}	
Residuo	51	102,51	0,13		303,12		2,88	
Média		60,93	4,18		126,62		19,26	
CV%		16,62	8,90		13,75		8,81	
]	R8 ¹			
		$AIPV^2$	ATP^2	NVP^2	NGV^2	MMG^2	PG^2	
Fator A	2	290,84**	16916,02**	13241,67**	0,258**	16141,74**	384,95**	
Fator D	1	15,96 [*]	607,84**	$206,38^{\text{ns}}$	$0,001^{\text{ns}}$	324,27**	271,46**	
Fator C	2	10,34*	24,06*	118,52 ^{ns}	$0,002^{ns}$	79,33 [*]	169,98 ^{**}	
Total D	_	2116**	00.00**	557 01**	0.01008	C4.50*	1 4 7 00**	

		$AIPV^2$	ATP^2	NVP^2	NGV^2	MMG^2	PG^2
Fator A	2	290,84**	16916,02**	13241,67**	0,258**	16141,74**	384,95**
Fator D	1	15,96*	607,84**	206,38 ^{ns}	0.001^{ns}	324,27**	271,46**
Fator C	2	10,34*	24,06*	118,52 ^{ns}	$0,002^{ns}$	79,33 [*]	169,98**
Int AxD	2	24,16**	98,82**	557,81**	0.012^{ns}	64,58*	145,88**
Int AxC	4	13,80**	26,33**	170,25 ^{ns}	$0,007^{\text{ns}}$	$22,06^{\text{ns}}$	37,48 ^{ns}
Int DxC	2	$1,27^{ns}$	5,85 ^{ns}	800,05**	0.006^{ns}	14,42 ^{ns}	97,06 [*]
Int AxDxC	4	7,61 ^{ns}	16,67*	663,47**	0.005^{ns}	66,12**	67,13 [*]
Blocos	3	5,14 ^{ns}	$7,62^{ns}$	88,14 ^{ns}	0.001^{ns}	4,38 ^{ns}	$36,18^{ns}$
Residuo	51	3,17	4,81	12,00	0,00	16,38	20,76
Média		21,84	101,13	72,04	2,36	142,20	3,49
CV%		8,16	2,17	12,00	2,60	2,85	4,12
** **						nc	

^{**}e *** significativo pelo teste F á 5 e 1% de probabilidade de erro, respectivamente; ns não significativo; Fonte de variação (FV); Grau de liberdade (GL); Coeficiente de variação (CV%); lestádio fenológico (FEHR et al., 1971), V5 (quinto nó e quarta folha trifoliolada completamente desenvolvida); R3 (início da formação de vagem); R8 (maturação plena de 95% das vagens); variável explicativa: número de nódulos (NNP, planta-1); massa seca (MSP, g planta-1), altura de inserção da primeira vagem (AIPV, m); altura total de planta (ATP, m); número de vagens (NVP, planta-1); número de grãos (NGV, vagem-1), massa de mil grãos (MMG, g) e produtividade de grãos (PG, Mg ha-1); Fatores: cultivares (A); tipo de inoculação (D); manejo nitrogenado (C).