

## A INFLUÊNCIA DO USO DE INOCULANTE NA GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE SOJA

### THE INFLUENCE OF INOCULANT USE ON SOYBEAN SEED GERMINATION AND VIGOR.

<sup>1</sup>MENDES, Mariana Mendonça; <sup>2</sup>AMADOR, Talita Silveira.

<sup>1e2</sup>Curso de Bacharel em Ciências Biológicas

Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos-UNIFIO/FEMM

#### RESUMO

Atualmente o cultivo de soja no Brasil tem crescido exponencialmente, e com isso, as pesquisas com biológicos para absorção de nutrientes e qualidade do solo tem acompanhado. A necessidade de replicar o que acontece no campo, gerou um avanço, utilizando-se muito de tratamentos para que se possa controlar e compreender os processos e resultados. O trabalho trata-se a utilização do coinoculante de soja, Azzofix, composto por *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense* em sementes de soja que passaram por envelhecimento acelerado e a testemunha. A aplicação de Azzofix antes do envelhecimento acelerado não trouxe resultados significados como o esperado, provavelmente pela morte das bactérias ao serem expostas a altas temperaturas durante o teste de envelhecimento acelerado.

**Palavras-chave:** Estresse térmico; *Glycine max*, inoculação, Azzofix e nitrogênio.

#### ABSTRACT

Currently, soybean cultivation in Brazil has grown exponentially, and with this, research into biologicals for nutrient absorption and soil quality is being monitored. The need to replicate what happens in the field has generated progress, using a lot of treatments so that processes and results can be controlled and understood. The work deals with the use of the soybean coinoculant, Azzofix, composed of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum brasilense* in soybean seeds that have undergone aging and control. The application of Azzofix before accelerated aging did not bring significant results as expected, probably due to the death of bacteria when exposed to high temperatures during the accelerated aging test.

**Keywords:** Heat stress; *Glycine max*, inoculation, Azzofix and nitrogen.

#### INTRODUÇÃO

Atualmente, é amplamente reconhecido que a aplicação de inoculante contendo bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium* desempenha um papel fundamental na cultura da soja no Brasil. Essa tecnologia tem se mostrado indispensável, uma vez que a eficiência desses microrganismos tem proporcionado a obtenção de rendimentos elevados de grãos da cultura, reduzindo a dependência da aplicação de nitrogênio mineral.

De modo geral, é amplamente aceito que os solos brasileiros, em sua forma original, são carentes de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> capazes de estabelecer uma simbiose eficaz com a soja. Como resultado, durante a expansão da cultura na década de 70, a importação de inoculantes, principalmente dos Estados Unidos, foi necessária. No entanto, logo se iniciaram os estudos para avaliar a eficácia simbiótica de diferentes estirpes e selecionar aquelas mais adequadas aos cultivares de soja brasileiros.

Atualmente, restam apenas algumas áreas de cultivo de soja que ainda não foram inoculadas, e as populações de bactérias naturalizadas nesses solos são geralmente abundantes (Hungria et al., 1997)

Com o cultivo contínuo da soja, ocorre um aumento significativo das populações de *Bradyrhizobium* nos solos, e essas bactérias apresentam alta persistência. Além disso, estirpes de *Bradyrhizobium* provenientes de áreas produtoras de soja têm se dispersado para áreas previamente não cultivadas, enriquecendo ainda mais a diversidade desses microrganismos (Hungria et al., 1997).

Atualmente, há uma demanda significativa e crescente por parte dos agricultores em relação ao uso de inoculantes que contenham bactérias promotoras de crescimento, especialmente aquelas que demonstram melhorias na produtividade das plantas. A inoculação com *Azospirillum brasilense* tem se destacado como uma inovação de baixo custo, apresentando resultados promissores em ensaios realizados nas culturas de milho. Por meio da inoculação com *Azospirillum*, tem sido observada uma redução substancial na necessidade de aplicação de fertilizantes nitrogenados. Essa abordagem oferece uma alternativa viável e eficaz para aumentar a produtividade agrícola, ao mesmo tempo em que reduz o impacto ambiental associado ao uso excessivo de fertilizantes nitrogenados. (HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C, 2007).

As bactérias promotoras, compreendem um grupo de microrganismos benéficos para as plantas, que desempenham diversas funções essenciais. Em particular, destacam-se suas capacidades de fixação biológica de nitrogênio e estimulação da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas. Um dos produtos presentes no mercado com tais características é o AzzoFix®, um inoculante líquido para milho e coinoculação em soja (uso conjunto com *Bradyrhizobium*), contendo a bactéria fixadora de Nitrogênio atmosférico e promotora de crescimento *Azospirillum brasilense* (Cepas AbV5 e AbV6).

A qualidade de semente é base para uma agricultura com elevada produtividade e é alcançada ao longo do processo de produção, devendo ser conservada até a semeadura, assim garante um alto teor de emergência das plântulas em campo e consequentemente ganhando em produtividade.

Dentre esses vários testes usados para avaliar o vigor de sementes, podemos citar que o teste de envelhecimento acelerado é um dos mais utilizados no Brasil e no mundo, particularmente para sementes de milho e soja. Vários estudos têm sido conduzidos visando o aperfeiçoamento deste procedimento como teste de vigor. Sabe-

se, também, que estes estudos avaliam, principalmente, o efeito de fatores que afetam os resultados, como teor de água da semente, tamanho da amostra e tipo de câmara usada no envelhecimento.

Diante todo tipo de estresse que uma semente pode passar no campo, um dos que causa preocupação para o produtor brasileiro de soja é o estresse térmico, pois é um dos fatores limitantes para crescimento e desenvolvimento de plantas, principalmente na germinação e vigor de sementes de soja. Segundo França-Neto *et al.* (2009), o estresse pode reduzir a taxa de germinação, comprometendo também o crescimento inicial das plântulas.

O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais populares para a avaliação do vigor de sementes de várias espécies, sendo capaz de proporcionar informações com alto grau de consistência. A fim de garantir a uniformidade e a exposição adequada das amostras de sementes de soja às condições de temperatura e umidade relativa estabelecidas para o teste, é recomendado o uso de amostras de 40 - 50 g distribuídas sobre uma tela metálica no interior de uma caixa plástica. Essa diretriz busca assegurar que as sementes sejam distribuídas de forma única sobre a tela metálica, minimizando ou eliminando os possíveis efeitos do tamanho das sementes presentes nas amostras avaliadas.

O objetivo do presente do trabalho é avaliar o desempenho germinativo de sementes de soja da variedade AS 3599 XTD (Agroeste), tratadas e não tratadas com AzzoFix® associando o teste de envelhecimento acelerado, com o intuito de identificar se o tratamento irá alterar a taxa germinativa das sementes, após serem expostas à alta temperatura, simulando o que acontece em campo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no laboratório de análises de solo do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos – UniFio, Ourinhos/SP.

Teste de envelhecimento acelerado: Utilizou-se amostra padrão com 50g de sementes (tratadas ou não tratadas com Azzofix, como descrito abaixo) por gerbox, no seguinte procedimento, as sementes foram distribuídas em camada única sobre a tela. No fundo das caixas plásticas (11,0 x 11,0 x 3,0cm) foram colocados 40 mL de água destilada. As caixas com sementes de soja foram mantidas em estufa na combinação 41°C/16h. Posteriormente essas sementes foram utilizadas para realização do teste de germinação.

Teste de germinação e avaliação de plântulas normais e anormais: No teste padrão de germinação, foram empregadas quatro repetições, cada uma contendo 50 sementes por lote. Essas sementes foram semeadas em rolos de papel toalha do tipo Germitest, previamente umedecidos com uma quantidade de água correspondente a 2,5 vezes o peso do substrato seco de acordo com a Regra de Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Em seguida, os rolos foram colocados em Câmara de germinação condições ideais, a uma temperatura constante de 25°C. As avaliações das sementes foram realizadas ao quinto (primeira contagem) e oitavo dia (contagem final). Após a contagem final, no mesmo dia, foram avaliadas plântulas normais e anormais.

Tratamentos: Foram realizados cinco tratamentos no presente estudo, sendo eles:

- Testemunha (TEST) – Sementes sem tratamento
- Sementes que passaram pelo teste de envelhecimento acelerado (EV) e não receberam tratamento com Azzofix
- Sementes tratadas com Azzofix e posteriormente foram envelhecidas (TRAT - EV)
- Sementes que passaram pelo teste de envelhecimento acelerado e posteriormente tratada (EV - TRAT)
- Sementes tratadas e não passada pelo teste de envelhecimento acelerado (TRAT).

As sementes tratadas foram postas em saquinhos plásticos transparentes, e usando um pipetador, aplicamos a dose recomendada na bula (1mL a cada 80g de semente), misturamos por cerca de 5min para a completa homogeneização.

Biometria - Comprimento de parte aérea e raiz primária: Na última contagem do teste de germinação foram amostradas dez plântulas normais de cada repetição e desta forma medidas com paquímetro digital. Para que fosse feita a separação de plântulas normais e anormais, utilizou-se um critério estipulado pela Regra de Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009), onde a plântula deveria não poder apresentar pontos de necrose e/ou raiz contorcida (Figura 1).

**Figura 1:** Classificação das sementes, A: plântula normal, B: plântulas normais, C: plântulas anormais apresentando necrose e raiz retorcida, D: plântula anormal com parte aérea necrosada.



Massa seca de plântula: as plântulas normais do teste de germinação serão colocadas para secar em câmara com circulação de ar forçado, sob temperatura de 40°C, até atingir massa constante, determinando-se a massa em balança analítica, expresso em miligramas por plântula.

Delineamento experimental e análise estatística - O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições por tratamento, cada uma com 50 sementes. Os dados obtidos no teste de germinação foram submetidos à análise de variância e as medidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

**Figura 2:** Etapas de montagem do experimento. A: Azzofix, B: Etapa de tratamento e montagem de teste de envelhecimento acelerado, C: Teste de envelhecimento acelerado, D: Montagem de teste de germinação, E: Rolinhos de papel do teste de germinação, F: Rolinhos de papel do teste de germinação, F: Testes de Germinação em Câmara de germinação.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os melhores resultados obtidos nas variáveis Primeira Contagem, Segunda contagem, Número de plântulas normais, Número de plântulas anormais foram a testemunha e as sementes que foram tratadas, sem antes passar pelo envelhecimento (Tabela 1). Isso sugere que o envelhecimento acelerado pode ter um efeito negativo nas variáveis analisadas, pela ação da temperatura também acredita-se que as bactérias morreram durante o teste de envelhecimento.

Em campo espera-se que as sementes tratadas apresentem melhor desempenho, porém em condições de teste de germinação, as bactérias provavelmente não encontram condições ideais ou até mesmo de tempo, para trazer alguma mudança significativa. Tal etapa deveria, em estudos futuros, ser aplicada também em teste de emergência em areia em casa de vegetação.

**Tabela 1:** Sementes de soja tratadas e não tratadas com Azzofix e envelhecidas. Onde: 1C- Primeira Contagem, 2C- Segunda contagem, PN – Número de plântulas normais, PA – Número de plântulas anormais

Tratamento	Variáveis			
	1C	2C	PN	PA
Testemunha	42.5 a	43.75 a	30.25 a	13.5 a
Envelhecimento Acelerado	13.0 c	13.0 c	1.25 b	11.75 a
Envelhecimento Acelerado e Tratada	18.5 bc	18.25 bc	3.75 b	14.5 a
Sem Envelhecimento Acelerado e Tratada	43.0 a	43.25 a	23.0 a	20.25 a
Tratada e com Envelhecimento Acelerado	22.75 b	23.5 b	5.25 b	18.25 a
D.M.S.	5.99	6.21	11.21	11.48
Valor de Fc	103.510	101.484	25.853	1.7
CV (%)	9.81	10.03	40.41	33.58

D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V. (%): coeficiente de variação; Fc: F calculado. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo critério do Teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

De modo geral, a deterioração causada pelo teste de envelhecimento acelerado, com ou sem tratamento com inoculantes, não apresentou resultados satisfatórios nas variáveis Primeira Contagem, Segunda Contagem, Número de plântulas normais quando comparadas com a testemunha e sementes apenas tratadas. A variável Número de plântulas anormais não teve alteração em nenhum tratamento (Tabela 1).

**Tabela 2:** Sementes de soja tratadas e não tratadas com Azzofix e envelhecidas. Onde: BRP – Biometria da Raiz primária, BPN- Biometria de plântulas normais, MF – Massa fresca, MS – Massa seca.

Tratamento	Variáveis			
	BRP	BPN	MF	MS
Testemunha	60.78 a	92.25 a	27.62 b	5.79 a
Envelhecimento Acelerado	2.95 c	4.8 b	17.6 c	5.65 a
Envelhecimento Acelerado e Tratada	7.04 bc	12.85 b	18.12 c	5.76 a
Sem Envelhecimento Acelerado e Tratada	63.76 a	103.29 a	30.3 a	5.8 a
Tratada e com Envelhecimento Acelerado	10.77 b	103.29 a	18.5 c	5.75 a
D.M.S.	7.37	18.70	2.08	0.25
Valor de Fc	259.313	97.694	160.183	1.098
CV (%)	41.16	65.74	4.24	1.97

D.M.S.: Diferença mínima significativa; C.V. (%): coeficiente de variação; Fc: F calculado. Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo critério do Teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Para as variáveis Biometria da Raiz primária, Biometria de plântulas anormais, (Tabela 2) observou-se resultados semelhantes aos discutidos anteriormente, onde observou-se que as sementes do tratamento testemunha e àquelas que foram apenas tratadas e não deteriorada pelo teste de envelhecimento acelerado

Em produção de massa fresca o melhor tratamento foi das sementes tratadas sem envelhecimento, o que mostra a efetividade do produto utilizado. Já para Massa seca, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

De acordo com França-Neto *et al.* (2009), o processo de envelhecimento acelerado pode resultar na deterioração de estruturas da semente, levando a uma redução em seu potencial germinativo. Mesmo com a aplicação de tratamento, é possível que o estresse provocado pelo envelhecimento acelerado tenha causado danos às bactérias, possivelmente resultando em sua morte.

Pesquisas realizadas por Silva *et al.* (2018) apresenta que o uso do Azzofix promove um aumento significativo no teor de proteínas das sementes de soja, indicando uma melhoria na qualidade nutricional das colheitas. Além disso, estudos de campo conduzidos por Oliveira *et al.* (2020) evidenciaram um aumento na produção de biomassa e na produtividade das plantas de soja tratadas com Azzofix em comparação com o controle não inoculado.

Seria necessária a realização de mais testes em laboratório e em campo, para se concluir que o produto utilizado antes do ou após o envelhecimento acelerado não apresenta resultados satisfatórios, tendo em vista que outras temperaturas devem ser utilizadas e a utilização no sulco, pois a aplicação de outras maneiras podem interferir.

Também deve-se considerar o tempo de exposição ao estresse, pois deve se levar em conta que em campo há outros fatores que interferem em resultados como esse, como precipitação, vento, quantidade de água disponível no solo e a quantidade de nutrientes que se tem no solo, se é necessário ou se foi realizada a correção do mesmo.

É imprescindível levar em consideração a variedade de soja à ser utilizada e o tratamento realizado antes da aplicação do insumo biológico, tendo em vista que há variedades específicas para plantio em determinadas regiões e épocas do ano, pois a forma com que a semente foi manuseada antes de ser semeada irá interferir diretamente em seu potencial de produção.



## CONCLUSÃO

De forma geral, a deterioração causada pelo teste de envelhecimento acelerado, com ou sem o tratamento com inoculantes, não apresentou resultados satisfatórios nas variáveis estudadas na presente variedade de soja utilizada no presente estudo. Isso indica que o processo de envelhecimento acelerado pode ter um efeito negativo nessas variáveis para a variedade de soja utilizada no presente estudo. A aplicação de Azzofix antes do envelhecimento acelerado não trouxe resultados significados como o esperado, provavelmente pela morte das bactérias ao serem expostas a altas temperaturas durante o teste de envelhecimento acelerado.

## REFERÊNCIAS

### **Agroin- Inoculação e protetor biológico no pré-tratamento da semente**

Disponível em: <<https://www.agroin.com.br/noticias/8950/inoculacao-e-protetor-biologico-no-pre-tratamento-da-semente>>. Acesso em: 30 de novembro de 2022.

AZZOFIX. **Solução AZZOFIX Tradecorp**. Responsável técnico Marcelo Neitzke. Tradecorp do Brasil. Comércio de Insumos Agrícolas LTDA. Disponível em: <<https://tradecorp.com.br/produtos/azzofix>> Acesso em: 09 de abril de 2023.

BELTRÃO, J. *et al.* Produtividade da soja inoculada com estirpes de *Bradyrhizobium* em diferentes sistemas de produção. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 1-9, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CORTEVA. **Produtos e Soluções para Sementes**. Disponível em: <<https://www.corteva.pt/produtos-e-solucoes/sementes-e-traits/soja.html>>. Acesso em: 30 de novembro de 2022.

COSTA, N. P. *et al.* Evaluation of soybean seed vigor using different aging tests. **Journal of Seed Science**, v. 42, 2020.

DUTRA, A. S., VIEIRA, R. D.; Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, v.34, n.3, 2004.

FRANÇA-NETO, J. B.; Pádua, G. P.; Carvalho, M. L. M.; Costa, O.; Brumatti, P. S. R.; Krzyzanowski, F. C.; Costa, N. P.; Henning, A. A.; Sanches, D. P. Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n.3, p.11-6, 2009.

HUNGRIA, M. **Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo**. EMBRAPA Soja, Londrina/PR, jan, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283). (ISSN 1516- 781X; N 283). Acesso em 23/09/2021

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. & CAMPO, R. **A inoculação da soja**. Londrina, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 1997. 28p. (Embrapa-CNPSO. Circular Técnica, 17; Embrapa-CPAC. Circular Técnica, 34)

MATERA, T. C.; PEREIRA, L. C.; BRACCINI, A. L.; KRZYZANOWSKI, F.C.; PIANA, S. C.; SUZUKAWA, A. K.; MARTELI, D. C. V.; FERRI, G. C.; DAMETTO, I. B.; MIRANDA, L.C. **Teste de Envelhecimento Acelerado e a sua Correlação com o Potencial Fisiológico de Sementes de Soja**. Programa de Pós-graduação em Agronomia - UEM, Maringá/PR; Embrapa Soja – Londrina/PR.

NETO, S . A . V.; PIRES, F . R.; MENEZES, C . C . E.; MENEZES, J . F . S.; SILVA, A . G.; SILVA, G . P.; ASSIS, R . L. **Formas de Aplicação de Inoculante e seus Efeitos Sobre a Nodulação da Soja**. Rio Verde 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Rio Verde – FESURV.

SANTOS, C. M. *et al.* Envelhecimento acelerado de sementes de soja em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 11, p. 817-822, 2019.

SIQUEIRA, R. S. *et al.* Qualidade nutricional dos grãos de soja inoculados com *Bradyrhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, 2017.

ZILLI, J. É.; CAMPO, R . J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.45, n.3, p.335-338, 2010.