

GUILHERME FERNANDO PEIXE

**EFEITO DO ESTIMULANTE DE MICORRIZAÇÃO
FORMONONETINA NA NUTRIÇÃO E PRODUTIVIDADE DO
MILHO (*Zea mays*) E SOJA (*Glycine max*) EM SANTA
CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Manejo do Solo, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Dr. Osmar Klauberg Filho

Coorientador: Dr. Júlio Cesar Pires Santos.

Dr. Álvaro Luís Mafra

Dr^a. Fátima Maria de Sousa
Moreira

**LAGES-SC
2013**

P379e Peixe, Guilherme Fernando
Efeito do estimulante de micorrização
formononetina na nutrição e produtividade do milho
(*Zea mays*) e soja (*Glycine max*)/ Guilherme
Fernando Peixe. - 2013.
89 p. : il. ; 21 cm

Orientador: Osmar Klauberg Filho
Coorientador: Júlio Cesar Pires Santos
Coorientador: Álvaro Luiz Mafra
Coorientadora: Fatima Maria de Sousa Moreira
Bibliografia: p. xx-xx

Dissertação (mestrado) - Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveteinárias, Programa de Pós-Graduação em
Manejo do Solo, Lages, 2013.

1. *Zea mays*. 2. *Glycine max*. 3. Fungos
micorrízicos arbusculares. 4. Fósforo. 5.
Isoflavonóide formononetina. I. Peixe, Guilherme
Fernando.

II. Klauberg Filho, Osmar. III. Universidade do
Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Manejo do Solo. IV. Título

CDD: 631.46 - 20.ed.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Setorial do
CAV/UDESC

GUILHERME FERNANDO PEIXE

**EFEITO DO ESTIMULANTE DE MICORRIZAÇÃO
FORMONONETINA NA NUTRIÇÃO E PRODUTIVIDADE DO
MILHO (*Zea mays*) E SOJA (*Glycine max*) EM SANTA
CATARINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Manejo do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Banca Examinadora:

Orientador: _____

Dr. Osmar Klauberg Filho
UDESC-Lages/SC

Membro: _____

Dr. Luis Carlos Iuñes Oliveira Filho
UDESC – Lages/SC

Membro: _____

Dr. David José Miquelluti
UDESC – Lages/SC

Membro externo: _____


Dra. Sonia Purin
UFSC – Curitiba/SC

Lages SC, 26 de setembro de 2013

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder a vida, e estando vivo poder mudar de opinião a qualquer momento.

Aos meus pais pela oportunidade da vida.

A minha esposa Cibele e meu filho Eduardo, pela paciência e compreensão.

Ao Gláucio Panzera que segurou as pontas na minha ausência.

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e estímulo.

À Universidade do Estado de Santa Catarina, em especial ao Programa de Pós Graduação em Manejo do Solo, pela oportunidade do mestrado.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto do Edital MCT/CNPq/CT-AGRO Nº 69/2009 e pela concessão das bolsas de estudos de ITI-A e DTI 3.

A UDESC pela concessão de bolsa do PROMOP.

Ao meu orientador e amigo, Dr. Osmar Klauberg Filho, por sempre estar depositando confiança a minha pessoa.

Ao prof. Dr. Júlio Cesar Pires Santos pela amizade e auxílio nas horas de necessidade.

Aos prof. Álvaro Luiz Mafra e David José Miqueluti pela prontidão em ajudar com as análises estatísticas.

À professora Dra. Fatima Maria de Souza Moreira, pela oportunidade de desenvolver este projeto que contribuiu muito para meu crescimento científico.

A todos os professores do Departamento de Solos que participaram direta ou indiretamente da minha formação, pela troca de conhecimento.

Aos meus colegas, amigos e companheiros de mestrado Márcio Gonçalves da Rosa, Eduardo Henrique Felisberto e Janaina Broering pela convivência e aprendizado.

Aos meus colegas, amigos e companheiros do Laboratório de Biologia do Solo, em especial à Ana Carolina Lovatel, Alisson Manica Masiero, Robson Spader, Ben Hur

Natal Dall Piva, Marlo Nandino de Liz e Gessiane
Ceola pela convivência e colaboração.

RESUMO

PEIXE, Guilherme Fernando. **Efeito do estimulante de micorrização Formononetina na nutrição e produtividade do milho (*Zea mays*) e soja (*Glycine Max*) em Santa Catarina.** 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo – Universidade do Estado de Santa Catarina). Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2013.

Existem diversos microrganismos que estão intimamente relacionados com a qualidade do solo ou que são benéficos para o crescimento, desenvolvimento e produção das plantas, dentre eles os fungos micorrízicos arbusculares. A associação micorrízica não substitui a adubação fosfatada, mas aumenta a eficiência da utilização pelas plantas, do fósforo natural ou do adicionado ao solo pela adubação. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da adição de Formononetina na produção e nutrição fosfatada do milho e da soja, na região do Planalto Catarinense. Para tanto, 2 experimentos com milho e 3 com soja foram conduzidos a campo durante os anos agrícolas de 2010/2011 e 2011/2012. Todos os experimentos seguiram o arranjo fatorial 4 x 4, sendo quatro doses de Formononetina (0, 25, 50 e 100 g AI PHC 506 ha⁻¹) e quatro doses de P (0, 35, 70 e 140 kg de P₂O₅ ha⁻¹ para o milho e 0, 15, 30 e 60 kg de P₂O₅ ha⁻¹ para a soja). O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso, com 5 repetições. Durante a condução dos experimentos foram realizadas amostragens do sistema radicular das plantas de modo a avaliar o efeito do estimulante Formononetina sobre a nodulação na soja. Também foram realizadas amostragens para avaliação do estado nutricional (teor de P) baseado na análise foliar. Ao final do ciclo do milho e da soja foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre o desenvolvimento e produtividade das culturas, com base nas seguintes determinações: altura de planta (milho), número de vagens por planta (soja), peso de 100 grãos, índice de colheita

e produção de grãos por parcela. Adição de Formononetina afetou a produção e a nutrição fosfatada da cultura do milho, evidenciando os efeitos sobre a produção de grãos por parcela em dois anos de cultivo. Os maiores resultados foram com as doses 2,8 e 5,6 g kg⁻¹ de Formononetina. Houve incremento no índice de colheita com resultados positivos. O peso de 100 grãos apresentou o melhor resultado na dose de 2,8 g kg⁻¹ de Formononetina, quando aplicados 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅. Somente a altura de inserção da espiga apresentou efeito das doses de P. Estes resultados mostram que quando aplicado menor dose ou ausência de P os efeitos do Formononetina são capazes de manter ou maximizar a produtividade. Para a cultura da soja a dose de 1,84g kg⁻¹ de Formononetina exerceu efeito positivo para os dois anos de cultivo sobre a produtividade. Para o primeiro ano Observou-se efeito das doses de fósforo sobre o peso de nódulos (PNOD), número de nódulos por planta (NNOD) e Número de Vagens (NVAG) verificou-se interação entre as doses de fósforo e Formononetina, por outro, lado as doses de fósforo apresentaram significância com o Índice de Colheita (IC) no primeiro ano. Para o segundo ano de cultivo o único parâmetro que apresentou efeito positivo foi a dose de fósforo (70 kg ha⁻¹) não evidenciando qualquer modificação para os demais parâmetros avaliados.

Palavras-chave: *Zea mays*. *Glycine max*. Fungos micorrízicos arbusculares. Fósforo. Formononetina

ABSTRACT

PEIXE, Guilherme Fernando. **Stimulant effect of mycorrhizal formononetin nutrition and productivity of maize (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*) in Santa Catarina.** 2013. 89 f. Dissertation (Master in Land Management - University of the State of Santa Catarina Graduate Program in Agricultural Sciences, Lages, 2013.

There are many microorganisms that are closely related to soil quality or that are beneficial to the growth, development and yield of plants, including the mycorrhizal fungi. The mycorrhizal association does not replace the phosphorus, but increases the efficiency of the plant uptake of phosphorus natural or added to the soil by fertilization. This study aimed to evaluate the effect of adding Formononetina and phosphorus nutrition on the production of corn and soybeans, in Santa Catarina Plateau region. To this end, experiments 2 and 3 corn with soybeans were conducted in the field during the crop years 2010/2011 and 2011/2012. All experiments followed the 4 x 4 factorial arrangement, with four doses of formononetin (0, 25, 50 and 100 g ha⁻¹) and four P rates (0, 35, 70 and 140 kg P₂O₅ ha⁻¹ for the corn and 0, 15, 30 and 60 kg P₂O₅ ha⁻¹ for soybeans design was a randomized block design with 5 replications. During the conduct of experiments samples of the root system of the plants were performed to assess the effect of stimulating Formononetina on nodulation in soybean. Samples also for assessment of nutritional status (P content) based on leaf analysis. upon completion of the corn and soybean cycle were performed evaluating the effects of treatments on the development and crop yields, based on the following determinations: plant height (corn), number of pods per plant (soy), 100-grain weight, harvest index and grain yield per plot. Adding Formononetina affected the yield and nutrition phosphorus of maize, showing the effects on grain yield per

plot in two years of cultivation . Higher results with doses 2.8 and 5.6 g kg⁻¹ of formononetin. Increment in harvest index with positive results. 100 grain weight showed the best results at a dose of 2.8 g kg⁻¹ of formononetin, when applied 35 kg ha⁻¹ of P₂O₅. Only the height of insertion of the spike showed effect of P rates. These results show that when applied to low-dose or absence of the effects of P Formononetina are able to maintain or maximize productivity. Soybean for a dose of 1.84 g kg⁻¹ of Formononetina showed positive effect for both years of cultivation on productivity. for the first year observed effect of phosphorus levels on weight of nodules (PNOD), number of nodules per plant (NNOD) and number of pods (NVAG) there was interaction between doses phosphorus and formononetin on the other hand, the phosphorus levels were significant with the harvest index (CI) in the first year. For the second year of cultivation the only parameter that showed the positive effect was the dose of phosphorus (70 kg ha⁻¹) not showing any modifications to other parameters.

Key-words: *Zea mays*. *Glycine max*. Mycorrhizal fungi. Phosphorus. Isoflavonoid formononetin

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Atributos químicos dos solos utilizados nos ensaios no Município de Campos Novos (Latossolo Vermelho Distroférico)..... 46
- Tabela 2. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (FOSF folhas), peso de grãos por parcela (AREAUT), peso de 100 grãos (PCEM), altura de inserção da espiga (HESP), altura de inserção do pendão (HPEND), relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (IC), em milho (*Zea mays*), cultivar AS 1551 Bt. 49
- Tabela 3. Peso total de grãos de milho por parcela (kg parcela⁻¹). Cultivar AS 1551 Bt. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011..... 49
- Tabela 4. Relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (-). Cultivar AS 1551 Bt. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011..... 50
- Tabela 5. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (FOSF folhas), peso de grãos por parcela (AREAUT), peso de cem grãos (PCEM), altura de inserção da espiga (HESP), altura de inserção do pendão (HPEND), relação grãos/massa seca da parte aérea para 5 plantas por parcela (IC), em milho (*Zea mays*), cultivar AS 1565..... 51
- Tabela 6. Peso total de grãos de milho por parcela (kg parcela⁻¹). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012. 51

Tabela 7. Peso de 100 grãos (g) . Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012..	53
Tabela 8. Teor de P nas folhas (mg kg ¹). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012	53
Tabela 9. Relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (-). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012Altura de inserção da espiga (m). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012	54
Tabela 10. Altura de inserção da espiga (m). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.	55
Tabela 11. Atributos químicos dos solos utilizados nos ensaios nos Municípios de Campo Belo do Sul (Nitossolo Distrófico Alumínico) e Campos Novos (Latossolo Vermelho Distroférrico).....	62
Tabela 12. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (FOSF folhas), produtividade por hectare (PROD), peso de 100 grãos (PCEM), peso de grãos por parcela (AREAUT), peso de nódulos de 10 plantas (PNOD), massa seca da parte aérea (MSPA), peso dos grãos de 10 plantas (PGP), número de nódulos de 10 plantas (NNOD), número de vagens por planta (NVAG), relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC), em soja (<i>Glycine max</i>), cultivar Fundacep 53 RR.....	66
Tabela 13. Peso total de grãos de soja por parcela (kg parcela ⁻¹). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.....	67

Tabela 14. Peso de nódulos de 10 plantas. Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.....	68
Tabela 15. Número de nódulos de 10 plantas (-). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.....	699
Tabela 16. Número de vagens por planta, (média de 10 plantas). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.....	70
Tabela 17. Relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela. Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.....	71
Tabela 18. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (FOSF folhas), produtividade por hectare (PROD), peso de 100 grãos (PCEM), peso de grãos por parcela (AREAUT), peso de nódulos de 10 plantas (PNOD), massa seca da parte aérea (MSPA), peso de grãos de 10 plantas (PGP), número de nódulos de 10 plantas (NNOD), número de vagens por planta (NVAG), relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC), em soja (<i>Glycine max</i>), cultivar BMX Titan RR.....	72
Tabela 19. Peso total de grãos de soja por parcela (kg parcela-1). Cultivar BMX Titan RR. Média de 5 repetições. Safra 2011-2012.....	72
Tabela 20. Peso de 100 grãos. Cultivar BMX Titan RR. Média de 5 repetições. Safra 2011-2012	73

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	27
2 REFERENCIAL TEÓRICO	33
2.1 FÓSFORO	33
2.2 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES.....	34
3. CAPITULO I - EFEITO DO BIOFERTILIZANTE FORMONONETINA NA MICORRIZAÇÃO E AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DO MILHO (<i>Zea mays</i>)	39
3.1 INTRODUÇÃO.....	42
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.4 CONCLUSÃO	55
4. CAPITULO II - EFEITO DO BIOFERTILIZANTE FORMONONETINA NA MICORRIZAÇÃO E AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DA SOJÁ (<i>Glycine max</i>) EM SANTA CATARINA	56
4.1 INTRODUÇÃO	58
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	61
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.4 CONCLUSÃO	73
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	76
ANEXOS	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. O uso do milho em grão como alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal, isto é, cerca de 70% no mundo. Nos Estados Unidos, cerca de 50% é destinado a esse fim, enquanto que no Brasil varia de 60 a 80%, dependendo da fonte da estimativa e do ano considerado.

Apesar de não ter uma participação muito grande no uso de milho em grão, a alimentação humana, com derivados de milho, constitui fator importante de uso desse cereal em regiões com baixa renda. Em algumas situações, o milho constitui a ração diária de alimentação, por exemplo: no Nordeste do Brasil, o milho é a fonte de energia para muitas pessoas que vivem no semiárido.

A soja é uma das mais importantes oleaginosas cultivadas no mundo. No Brasil, até meados dos anos 60, a soja não tinha importância econômica, porém nas últimas décadas a cultura tem crescido de maneira excepcional, contribuindo na elevação da taxa de crescimento da produção nacional de grãos.

A soja, apesar do seu baixo teor de óleo (18/20%), atualmente responde por 30% do óleo vegetal produzido no mundo. Esta oleaginosa, mais dendê, colza e girassol, respondem por quase 90% do óleo vegetal produzido em nível global. O elevado teor em proteínas (40%) faz do farelo de soja a principal matéria prima na fabricação de rações para alimentação de animais. Em torno de 70% do farelo proteico das rações que alimentam os animais domésticos vêm da soja.

No Brasil foi cultivada na safra de 2011/2012 a área de 50.885.200 de hectares com uma produtividade total de 166.172.100 de toneladas nas principais culturas nos países. Deste total destacam-se as culturas do milho e da soja que com as áreas somadas totalizam 32.600.400 de hectares, o que

representa aproximadamente 64 % da área cultivada no país na safra 2011/2012 segundo informações da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB - Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2011/12 – Décimo Levantamento – Julho/2012). Com toda esta representatividade estas duas culturas merecem destaque em estudos que melhorem também a eficiência de uso de fertilizantes fosfatados cujas fontes não são renováveis.

A agricultura moderna, mesmo a familiar, extrapolou os limites físicos da propriedade, depende cada vez mais de insumos adquiridos fora da fazenda. O aumento da produção de grãos no Brasil não deve basear-se apenas na abertura de novas áreas. A adoção de novas tecnologias que permitam o aumento da produtividade de forma sustentável e sem riscos para o ambiente constitui o novo paradigma da agricultura brasileira.

A agricultura avançou nas últimas décadas, calcada no uso de fertilizantes. No Brasil, por exemplo, segundo dados do IBGE (2011) a produção agrícola aumentou em cerca de 300% entre a década de 1980 e 2010, enquanto a expansão da área cultivada foi de cerca de 20%. Um dos fatores que mais contribuíram para o aumento na produção agrícola brasileira foi o consumo de insumos agrícolas, principalmente, na forma de fertilizantes. Em um período de aproximadamente 45 anos, o consumo de fósforo na agricultura brasileira passou de 48.200 toneladas, em 1958, para 3,54 milhões de toneladas em 2003 (IBGE 2011).

Um dos fatores que limita a maximização da produtividade nestes solos é a alta capacidade de fixação de fósforo, diminuindo a disponibilidade deste nutriente para as plantas (NOVAIS; SMYTH, 1999). O baixo nível de P disponível nos solos é devido à alta reatividade de fosfatos solúveis com outros elementos, como alumínio e ferro, em solos ácidos, e cálcio em solos calcários (BALIGAR; FAGERIA, 2001). O fósforo é adicionado aos solos na forma de fertilizantes fosfatados solúveis, sendo uma parte utilizada

pelas plantas, enquanto a maior parte rapidamente forma complexos insolúveis com os constituintes do solo, tornando-se indisponível para as plantas, o que leva à necessidade de frequentes aplicações de adubos fosfatados (NOVAIS; SMYTH, 1999).

O fósforo (P) é de fundamental importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sem ele não é possível atingir o máximo potencial produtivo das plantas cultivadas pelo homem. Em alguns tipos de solos este nutriente é encontrado em quantidades maiores que as necessárias para se maximizar a produção, mas não se encontra na forma disponível para as plantas impedindo-as de utilizá-lo, impossibilitando assim um maior desenvolvimento das plantas. Há várias formas para se tentar aumentar a produtividade destas culturas, seja por técnicas de manejo, melhoramento genético, melhor entendimento da ecologia do solo ou como estes organismos do solo podem auxiliar no melhor desenvolvimento das plantas (ERNANI, 2009).

Uma agricultura sustentável deve se fundamentar no uso da biodiversidade do solo aliada a práticas de manejo adequado. Estes fatores juntos podem aumentar a produtividade ou diminuir os custos de produção do agronegócio brasileiro, mantendo a produtividade. Para tanto, as tecnologias desenvolvidas no ramo da microbiologia agrícola no Brasil fundamentam-se em dois grupos de microrganismos: as bactérias fixadoras de nitrogênio e os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

No caso das bactérias fixadoras de nitrogênio, o processo de fixação biológica deste nutriente nitrogênio na cultura da soja por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* possibilitou a produção de soja sem adição de adubação nitrogenada. Este é um exemplo de recurso altamente benéfico do ponto de vista biológico e econômico.

O segundo grupo de microrganismos, composto pelos FMAs, ainda não são comercialmente disponíveis no mercado

brasileiro apesar de serem amplamente reconhecidos cientificamente pelo seu efeito biofertilizante, biorregulador e biocontrolador. Dentre os papéis destes fungos como inoculantes, destaca-se o grande potencial destes fungos em reduzir o uso de agroquímicos e amenizar os efeitos de estresses diversos como: déficit hídrico e estresses causados por fatores tóxicos e por doenças, além de outros efeitos como facilitador da agregação do solo e estabilização dos agregados. Os FMAs aumentam a eficiência de utilização do fósforo do solo.

Esses microrganismos são biotróficos obrigatórios e a introdução destes fungos no solo através da inoculação nem sempre resulta em benefícios, uma vez que estão amplamente distribuídos na natureza, sendo sua ocorrência considerada regra e não exceção. Por isso, a exploração prática destes agentes biológicos é viável para culturas que passam por formação de mudas, em substratos estéreis ou desinfestados, mas não é viável para culturas extensivas como as produtoras de grãos, por exemplo (SILVEIRA, FREITAS, 2007).

Entretanto, a identificação de compostos orgânicos ativos sobre os propágulos de fungos micorrízicos presentes em exsudatos de plantas sob estresse nutricional, possibilitou o desenvolvimento de uma nova estratégia para estimular a micorrização das culturas sem a necessidade da inoculação

Compostos específicos (formononetina) foram identificados e serviram de base para o desenvolvimento da tecnologia comercial que visa promover a micorrização das culturas no campo com efeitos significativos na produtividade. (FERREIRA, 2012)

Portanto com a descoberta de substâncias estimulantes da micorrização, como o isoflavonóide formononetina surge uma alternativa para promover a colonização e maximizar os benefícios dos FMAs nativos do solo. Um produto comercial à base de formononetina sintética, denominado Formononetina,

já é produzido e comercializado em outros países. (FERREIRA, 2012)

Para se obter sucesso com produtos a base de Formononetina é importante considerar alguns aspectos como: a cultura deve ser micotrófica e compatível com os FMAs, as quais são capazes de estabelecer relações simbióticas mutualistas com as raízes de 95% das espécies vegetais; deve haver propágulos viáveis no solo, porém em densidade abaixo da necessária para atingir máxima colonização; as condições nutricionais ou ambientais devem impor algum grau de estresse para garantir os benefícios da melhor micorrização e a viabilidade tecnológica depende dos benefícios consistentes na produtividade e/ou redução no uso de insumos, como os fertilizantes fosfatados (SIQUEIRA *et al.*, 2002).

Em alguns estudos observou-se a eficácia destes produtos na produção de soja e de milho no Brasil (ROMERO, 1999; SIQUEIRA *et al.*, 1992). As diversas condições climáticas e tipos de solo, assim como a baixa fertilidade natural, há neste país um grande potencial para a aplicação comercial de produtos formulados à base de estimulantes da micorrização.

Considerando-se a hipótese de que fungos micorrízicos arbusculares possuem capacidade de solubilizar o fósforo indisponível, aumentar a área superficial específica das raízes, e conseqüentemente melhorar o desempenho das plantas frente a estresses como deficiência hídrica, deficiência nutricional devido à capacidade de ir além da zona de esgotamento radicular, a maior colonização micorrízica poderá melhorar a eficiência da absorção de P, melhorando a sua eficiência de uso em solos tropicais com o estímulo a micorrização de culturas anuais. Considerando que a formononetina induz a colonização por FMAs nativos, espera-se que a sua aplicação em lavouras de milho e soja proporcionem um melhor aproveitamento. Portanto, este trabalho teve como objetivo realizar ensaios que comprovem a eficácia da formulação sintética de

formononetina (Formononetina) como estimulante da micorrização e como biofertilizante em soja e milho buscando testar e avaliar a capacidade do produto de alterar positivamente um ou mais parâmetros de desempenho das culturas. Para isso, foram testadas doses crescentes de Formononetina aplicadas às sementes e sua interação com diferentes níveis de adubação fosfatada.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FÓSFORO

A ação do fósforo não se limita apenas à função específica de nutrição. Ele proporciona bom desenvolvimento do sistema radicular, influenciando, portanto, em todo o desenvolvimento da planta, e conseqüentemente no rendimento dos grãos. Favorece também o desenvolvimento das bactérias fixadoras de nitrogênio. Seu aproveitamento é máximo quando o pH do solo está situado entre 6 e 7.

A maior parte dos solos de clima tropical contém baixo teor de fósforo total. A deficiência deste nutriente é devida principalmente ao fato de estes solos serem altamente intemperizados, com baixo pH e presença de óxidos de Fe e Al (Cardoso *et al.*, 2010). Isto aumenta a adsorção de fosfatos à fração argila e reduz a quantidade de fósforo na solução do solo, indisponibilizando-o para as plantas (Rolim-Neto *et al.*, 2004; Siqueira *et al.*, 2008). Devido a essas características, o fósforo é visto como um nutriente de baixo aproveitamento pelas plantas, o que faz com que as quantidades de fertilizantes fosfatados aplicados sejam sempre superiores a capacidade de extração do nutriente pelas culturas (LANTMANN; CASTRO, 2004).

Em solos brasileiros, por exemplo, o fósforo é um dos nutrientes mais utilizados no processo de adubação. O fósforo é essencial para o metabolismo vegetal, pois integra estruturas dos ésteres de carboidratos, fosfolipídios, coenzimas e ácidos nucléicos, assim como atua nos processos de armazenamento e transferência de energia (RAIJ, 1991; RICHARDS; JOHNSTON 2001; MENDES *et al.* 2008). A deficiência de fósforo nas plantas leva a restrições no crescimento de raízes, e conseqüentemente ao desenvolvimento da planta. A concentração deste nutriente nas plantas varia entre 0,1 a 0,5 %, sendo que ele é absorvido tanto na forma de H_2PO_4^- como

na forma de HPO_4^{-2} , dependendo do pH do solo (TISDALE *et al.* 1995).

O fósforo é um nutriente essencial para o crescimento das plantas e, como tal, é importante para maximizar o potencial produtivo do campo. Muitas vezes o P é encontrado no solo em grandes quantidades, mas de um modo indisponível para as plantas. O P total do solo pode estar na forma orgânica ou inorgânica, sendo que o P orgânico pode contribuir com até 50% da composição total de P nos solos, principalmente em sistema de plantio direto (BAYER *et al.*, 2001; GYANESHWAR *et al.*, 2002). O P de origem orgânica ocorre principalmente na forma indisponível de fosfato inositol (fitato) e outras como fosfomonoésteres, fosfolipídios, ácidos nucleicos e fosfotriésteres (GYANESHWAR *et al.*, 2002).

2.2 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES

Os FMAs são simbiotróficos obrigatórios pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER *et al.*, 2001) classe Glomeromycetes e ordem Glomerales. Estes colonizam aproximadamente 95% das plantas terrestres formando uma associação simbiótica mutualística, denominada micorriza arbuscular. Através desta associação, o fungo recebe da planta fotoassimilados e em contra partida auxilia na absorção de nutrientes e água para a planta, promovendo modificações fisiológicas, metabólicas e nutricionais (SIQUEIRA *et al.*, 1994).

Esses fungos são membros importantes do sistema solo-planta, uma vez que sua própria diversidade está intimamente ligada a diversidade e à produtividade de comunidades vegetais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). A maioria das plantas apresenta simbiose com FMAs, em especial as plantas de interesse econômico como soja, milho, feijão, sorgo, trigo, arroz, café, citros, mandioca, espécies arbóreas entre outras (SIQUEIRA *et al.*, 2002). E grandes contribuições dessa simbiose vêm sendo observadas, tanto para as culturas quanto

para o ambiente edáfico. Além de explorar maior volume de solo e com isso maximizar o uso dos nutrientes (SILVA *et al.*, 2003) com grande destaque no processo de absorção de P. Esta simbiose promove um melhor aproveitamento do P, especialmente nos solos muito deficientes e que possuem característica de adsorção desse nutriente.

As micorrizas com suas hifas permitem a absorção de nutrientes fora da zona de esgotamento do sistema radicular, também aumentam a atividade biológica em torno das raízes das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Um dos benefícios atribuídos às micorrizas é o favorecimento da nodulação e fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas (SIQUEIRA *et al.*, 2002).

A transformação da Micorriza natural em tecnologia agrícola, para maximizar seus efeitos na eficiência da absorção de fósforo é um desafio que a pesquisa vem procurando superar. Dois enfoques vêm sendo utilizados neste propósito, a inoculação de espécies selecionadas de fungos micorrízicos ou aplicação de estimulantes da colonização pelos fungos autóctones, tecnologia esta mais promissora na agricultura extensiva.

Os esporos dos FMAs são capazes somente de germinar e de realizar um limitado crescimento de suas hifas na ausência da planta, por esse motivo parece provável que os sinais de plantas, envolvendo substâncias, são essências para as fases iniciais da simbiose (HARRISON, 1998). Exsudados de raiz têm sido estudados e mostram a capacidade de estimular o crescimento e ramificação de hifas de FMAs e certos flavonoides/isoflavonóides em baixas concentrações estão se mostrando como componentes principais da planta funcionando como promotores do crescimento de hifas (NAIR *et al.*, 1991; GIOVANNETTI *et al.*, 1993).

A associação micorrízica não substitui a adubação fosfatada, mas aumenta a eficiência de sua utilização pelas plantas, tanto do P natural quanto do adicionado ao solo pela

adubação tornando-se muito importante para as culturas de soja e milho. (Miranda & Miranda, 1997),

Essa simbiose mutualista exerce grande influência na nutrição e tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos (SIQUEIRA; SAGGIN JÚNIOR, 1995). Um grupo de fungos estabelece uma simbiose com plantas, denominado Micorriza, que beneficia a planta envolvida de forma direta, principalmente pelo aumento na eficiência de absorção de fósforo (MARSCHNER; DELL, 1994).

Micorriza arbuscular (MA) é uma simbiose mutualista biotrófica, de ocorrência generalizada nas plantas vasculares, resultante da associação entre raízes e fungos da ordem Glomales, exercendo efeitos benéficos para o crescimento do hospedeiro em condições de estresse nutricional (SIQUEIRA, 1994). Apesar do grande volume de estudos sobre esta simbiose e da importância destas para a produção agrícola e sustentabilidade dos ecossistemas, sua exploração nos cultivos anuais é ainda inviável economicamente.

Uma das alternativas apontadas para aumentar a contribuição desta simbiose nas culturas anuais é a maximização da atividade dos fungos indígenas do solo, através de práticas de manejo seletivas ou do uso de estimulantes da formação de micorriza arbuscular (SIQUEIRA *et al.*, 1991a, 1992).

O processo de colonização das raízes envolve uma série de eventos morfofisiológicos e bioquímicos, regulados pelo genoma do fungo e da planta, bem como por fatores ambientais. Os exsudatos radiculares (ELIAS; SAFIR, 1987), a presença de raízes (BECARD; PICHÉ, 1989) e de células vegetais ou seus extratos (PAULA; SIQUEIRA, 1990) estimulam o crescimento assimiótico destes fungos *in vitro*, indicando a existência de fatores químicos ativos. Em geral, para o milho ocorre redução na colonização quando aplicado fósforo (CARRENHO *et al.*, 2010).

A formononetina foi descoberta em 1991, isolada de plantas de trevo (*Trifolium repens*) estressadas por deficiência de fósforo. Esse isoflavonóide é ativo em propágulos de fungos micorrízicos arbusculares. Acredita-se que o efeito estimulante da formononetina pode ser devido a maior germinação e crescimento micelial de FMA (NAIR *et al.*, 1991).

A formononetina apresenta grande potencial para aplicação comercial como um “aditivo” para solo (UNITED STATE PATENT, 1991; SIQUEIRA *et al.*, 1992). Seu emprego contribuirá para maximizar os benefícios dos fungos micorrízicos indígena na produção agrícola e reduzir o impacto da agricultura sobre o meio ambiente. Para isto torna-se necessário um melhor entendimento do modo de ação desta substância no fungo diretamente e na simbiose micorrízica. O fósforo interfere na simbiose entre o fungo e a planta.

Devido ao estímulo a micorrização, a formononetina pode proporcionar aumento na produção de matéria seca da parte aérea. Campos *et al.* (2010) em um experimento realizado em casa de vegetação utilizando um Latossolo Vermelho coletada numa área de pastagem degradada, a qual não recebia calagem ou adubação há mais de quatro anos observaram aumento na massa seca de diversos genótipos de milho inoculados com fungos micorrízicos arbusculares. Este composto também tem potencial para proporcionar ganhos na produtividade das plantas. A descoberta de substâncias de origem vegetal, capazes de estimular a colonização radicular por fungos MAs, como no caso do isoflavonóide formononetina (NAIR *et al.*, 1991), oferece uma alternativa para aumentar a colonização e atividade desses fungos no solo (SIQUEIRA *et al.*, 1991a; SILVA JÚNIOR;. SIQUEIRA, 1997) com resultados promissores mas que necessitam comprovação nos diversos tipos de solo e clima brasileiros.

A colonização das raízes pelos FMA resulta em um micélio abundante na rizosfera, o que ajuda a absorver maior quantidade de nutrientes do solo (MOREIRA; SIQUEIRA,

2006). Os benefícios advindos das associações micorrízicas são dependentes das interações entre o sistema radicular das plantas hospedeiras e dos fungos, em determinadas condições edafoclimáticas.

A densidade de propágulos infectivos, a capacidade infectiva e efetividade dos FMA são fundamentais para garantir o efeito do uso de estimulantes de micorrização. Em solos degradados onde o potencial de inóculo é baixo não é recomendado o uso deste tipo de tecnologia sendo mais recomendada a introdução de espécies exóticas (SIQUEIRA *et al.*, 2002). Associado a isso, a dependência micorrízica é outro fator importante para o sucesso da micorrização de plantas. A dependência micorrizica é propriedade intrínseca de cada espécie de planta, determinando a magnitude do benefício da micorrização e o nível crítico de P para responder à inoculação (ALLEN, 1991; SIQUEIRA; FRANCO, 1988). Na soja, além dos benefícios diretos, existem efeitos positivos na interação fungo micorrízico rizóbio, que resultam da melhor nutrição de P, necessária para a nodulação e a fixação biológica de N (PAULA; SIQUEIRA, 1987; VEJSADOVA *et al.*, 1992).

3 CAPITULO I - CONTRIBUIÇÃO DO ESTIMULANTE DE MICORRIZAÇÃO FORMONONETINA NA NUTRIÇÃO E PRODUTIVIDADE DO MILHO (*Zea mays*) no Planalto Catarinense.

RESUMO

A utilização de inoculantes a base de micorrizas apresenta limitações em termos de produção e aplicação no solo, especialmente em grandes áreas de cultivo. A aplicação comercial de produtos formulados à base de estimulantes da micorrização (p.ex. MYCONATE®), surge como alternativa agrotecnológica, haja vista o comprovado valor desta simbiose para a nutrição mineral, especialmente a de P, para as plantas. Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da adição de Formononetina na produção e nutrição fosfatada do milho, na região do Planalto Sul Brasileiro, em SC. Um experimento foi conduzido a campo em arranjo fatorial 4x4, com 4 doses de Formononetina (0; 1,4; 2,8 e 5,6 g kg⁻¹) de sementes e 4 doses de P (P₂O₅), com 5 repetições. Foram analisadas as seguintes características: teor de P nas folhas, altura de inserção do pendão, altura de inserção da espiga, peso de 100 grãos, índice de colheita (massa dos grãos de 5 plantas dividido pelo massa seca de 5 plantas) e produção de grãos por parcela. Na safra 2010/2011 a dose de 2,8 g kg⁻¹ resultou no maior aumento de produção de grãos para a cultura do milho independente das doses de P aplicadas ao solo. A aplicação da dose de 5,6 g de Formononetina kg⁻¹ de sementes apresentou resultado na relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela. Na safra 2011/2012 observou-se que o teor de P nas folhas aumentou com a aplicação de 5,6 g kg⁻¹ de Formononetina. A produção de grãos apresentou resposta positiva a aplicação de 5,6 g kg⁻¹ de Formononetina. Na variável peso de 100 grãos observou-se efeito da adição das doses 35 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e 2,8 g kg⁻¹ de Formononetina. Foi observado aumento na altura de inserção da espiga com a

adição da dose de 140 kg de P_2O_5 ha^{-1} . A relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela foi maior com a adição de 5,6 g kg^{-1} de Formononetina.

Palavras-chave: Formononetina ; Fósforo; *Zea mays* L.

ABSTRACT

The use of mycorrhizal inoculants base has limitations in terms of production and soil application, especially in large cultivated areas. The commercial application of formulated based on stimulating mycorrhizal (Myconate[®]) products, emerges as biotechnology alternative, given the proven value of this symbiosis to mineral nutrition, especially of P for plants. This study aimed to evaluate the effect of adding Formononetina in production and phosphorus nutrition of maize in the Brazilian plateau south, SC in the region. An experiment was conducted under field conditions in a 4x4 factorial scheme with 4 doses of formononetin (0 , 1.4, 2.8 and 5.6 g kg⁻¹) and seed 4 P rates (0 , 35, 70 and 140 kg ha⁻¹ P₂O₅) with 5 replications. P content in leaves, height of insertion of the tassel, ear insertion height, 100-grain weight, harvest index (grain weight of 5 plants divided by dry weight of 5 plants) and production: The following characteristics were reviewed grains per plot. In the 2010/2011 season the dose of 2.8 g kg⁻¹ of seeds resulted in the greatest increase in grain production for maize regardless of P rates applied to soil. The application dose of 5.6 g kg⁻¹ of formononetin results presented in relation grains/dry weight of shoots of 5 plants per plot . In the season 2011/2012 it was observed that the P content in the leaves increased with the application of 5.6 g kg⁻¹ of formononetin. Grain yield showed positive response to application of 5.6 g kg⁻¹ of formononetin. In the variable weight of 100 grains observed effect of adding dosis of P₂O₅ 35 kg ha⁻¹ and 2.8 g kg⁻¹ Formononetina. Increase in the height of insertion of the spike with the addition of 140 kg ha⁻¹ of P₂O₅ was observed. The relationship grains/dry weight of shoots of 5 plants per plot was higher addition of 5.6 g kg⁻¹ formononetin.

Key-words : Formononetina, Phosphorus, *Zea mays* L.

3.1 INTRODUÇÃO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencem ao filo Glomeromycota (SCHÜSSLER *et al.* 2001) formando uma ampla simbiose com as plantas e podem ser encontrados naturalmente em praticamente todos os ecossistemas e agroecossistemas. Os FMAs através da associação promovem maior absorção de nutrientes, beneficiando a planta principalmente com a translocação do fósforo (HE *et al.* 2002) além de outros íons, aumentando a resistência vegetal contra patógenos (LIU *et al.* 2007) e maior tolerância às modificações ambientais (BELTRANO; RONCO 2013) auxiliando ainda para outros parâmetros físicos e químicos do solo (MERGULHÃO *et al.*, 2010). Micorriza arbuscular (MA) é uma simbiose mutualista biotrófica, de ocorrência generalizada nas plantas vasculares, resultante da associação entre raízes e fungos da ordem Glomales, exercendo efeitos benéficos para o crescimento do hospedeiro em condições de estresse nutricional (SIQUEIRA, 1994).

Uma ampla gama de estudos tem demonstrado os benefícios dos FMA para a nutrição de plantas, especialmente em culturas agrícolas dentre eles destacam-se as pesquisas de Ramos *et al.* (2012), que avaliou o efeito de forragens e/ou culturas em consórcio, na população micorrízica autóctone, através da análise quantitativa e qualitativa de esporos no solo e colonização radicular das culturas e/ou pastagens, demonstrando que parece ocorrer associação preferencial de espécies de fungos a determinados hospedeiros assim como encontrou os gêneros de maior ocorrência após a implantação das culturas e forragens que foram: *Glomus sp.*, *Acaulospora sp.* e *Scutelospora cerradensis*.

Estudos envolvendo a utilização dos FMAS e suas relações com outros tipos de sistemas de uso e manejo do solo também são relatados na literatura científica como, por exemplo, o estudo de Melo *et al.* (2012), que buscou

determinar a infectividade, a riqueza de FMA e a condição micorrízica da vegetação em área de Caatinga não antropizada. Nair *et al.* (1991) identificaram a partir de raízes de trevo deficientes em fósforo, o isoflavonóide formononetina capaz de estimular o crescimento assimbiótico de fungos micorrízicos arbusculares.

A atividade sobre os fungos micorrízicos arbusculares foi confirmada em vários outros estudos *in vitro* com diferentes espécies fúngicas e flavonoides (BAPTISTA; SIQUEIRA, 1994; CHABOT *et al.*, 1992; GIANINAZZI-PEARSON *et al.*, 1989 ; MORANDI *et al.*, 1992; ROMERO; SIQUEIRA, 1996; TSAI; PHILLIPS, 1991) e também *in vivo* sobre a colonização micorrízica (SIQUEIRA *et al.*, 1991a; 1991b). Por isso, a formononetina apresenta grande potencial para aplicação comercial como um “aditivo” para solo (UNITED STATE PATENT, 1991; SIQUEIRA *et al.*, 1992). Seu emprego pode contribuir para maximizar os benefícios dos fungos micorrízicos indígenas na produção agrícola e reduzir o impacto da agricultura sobre o meio ambiente. Outros estudos envolvendo a utilização de FMA também foram objeto de estudo de Carneiro *et al.* (2004); Zsögön (2006); Azevedo (2008); Miranda (2008).

Apesar do grande volume de estudos sobre esta simbiose e da importância destas para a produção agrícola e sustentabilidade dos ecossistemas, sua exploração nos cultivos anuais é ainda inviável economicamente. Uma das alternativas apontadas para aumentar a contribuição desta simbiose nas culturas anuais é a maximização da atividade dos fungos indígenas do solo, através de práticas de manejo seletivas ou do uso de estimulantes da formação de micorriza arbuscular (SIQUEIRA *et al.*, 1991a, 1992).

Considerando os benefícios dos FMAs no que diz respeito a nutrição de plantas este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da adição de doses crescentes de Formononetina na produção e nutrição fosfatada do milho e um

Latossolo com diferentes níveis de adubação fosfatada, em Santa Catarina.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram conduzidos dois ensaios a campo durante as safras de 2010/2011 e 2011/2012, na área experimental da EPAGRI no Município de Campos Novos - SC, localizado a 27° 29' 14.20" S e 51° 24' 56.21" W. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, com altitude de aproximadamente 900 m. O clima da região segundo a classificação de Köpen é do tipo Cfa - clima temperado úmido e com verão quente.

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 4x4 sendo quatro doses do Formononetina (0, 25, 50 e 100g ha⁻¹) correspondendo a 0-1,4; 2,8 e 5,1g do produto comercial Myconate[®] por Kg de sementes. As doses seguiram a recomendação da empresa Plant Health Care (PCH), INC-Pittsburg, EUA; e quatro níveis de adubação fosfatada (0, 25, 50 e 100%) da dose recomendada de Fósforo para a cultura do milho equivalente a 0, 35, 70 e 140 kg/ha de P₂O₅ na forma de super fosfato triplo.

Amostras de solo compostas foram coletadas na área experimental para determinação dos atributos químicos e físicos do solo. (Tabela 1). Historicamente, a área experimental foi plantada com soja na safra 2009/2010, seguida de azevém (para cobertura) no inverno de 2010; na safra 2010/2011 foi plantada com milho (experimento) no verão e azevém (para cobertura) no inverno de 2011; na safra 2011/2012 recebeu milho (experimento) no verão.

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho Distroférico na área experimental com plantio de milho, nas safras 2010-2011 e 2011-2012 no Município de Campos Novos – SC.

Análise	Unidades	Safrá	
		2010/2011	2011/2012
pH H ₂ O(1:1)	-	5,1	5,0
pH SMP	-	5,5	5,3
Ca	cmolc/dm ³	5,84	5,76
Mg	cmolc/dm ³	3,14	2,53
Al	cmolc/dm ³	0,62	0,34
H+Al	cmolc/dm ³	7,70	9,70
CTC efetiva	cmolc/dm ³	10,50	9,28
Saturação Al	%	5,90	3,66
Saturação Bases	%	56,22	47,99
M.O.	%	5,3	5,2
Argila	%	43	32
P Mehlich	mg/dm ³	12,0	26,4
Na	mg/dm ³	4	14
K	mg/dm ³	353	256
CTC pH 7,0	cmolc/dm ³	17,58	18,64
K	cmolc/dm ³	0,903	0,655
Ca/Mg	-	1,9	2,3

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Os tratamentos foram sempre arrançados em esquema fatorial 4 x 4, sendo quatro (4) doses de Formononetina, (0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹), na forma do produto comercial Formononetina, o qual foi aplicado nas sementes de milho nas doses de cujas dosagens são recomendadas pela empresa Plant Health Care (PHC), INC-Pittsburg, EUA; e quatro (4) níveis de adubação fosfatada (0; 35; 70 e 140 kg ha⁻¹ de P₂O₅ para a cultura do milho). O delineamento experimental utilizado foi o

de Blocos Inteiramente Casualizados (BIC), com cinco (5) repetições.

O produto comercial Myconate[®] é um produto a base do isoflavonóide formononetina formulado como pó de coloração creme, na forma de sal de potássio cuja nomenclatura química é 4'- metoxi, 7-hidroxi isoflavona, solúvel em água (1 g em 3 ml de água), o qual foi aplicado às sementes (películação).

No experimento da safra 2010/2011 foram utilizadas parcelas constituídas por 6 linhas de 7 metros de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,80 m com uma área total da parcela de 33,6 m². As 4 linhas centrais foram amostradas e colhidas tendo sido desprezados 1 metro na extremidade de cada parcela resultando uma área útil da parcela de 16 m².

Na safra 2011/2012 foi utilizado espaçamento de 0,50 m e as parcelas foram constituídas por 8 linhas de 7m, sendo que apenas as 4 linhas centrais foram amostradas e colhidas tendo sido desprezados 1 metro em cada extremidade totalizando uma área total de 28m², e a área útil de 10m².

A adubação foi efetuada de acordo com a recomendação do manual da Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC (2004), e as doses corresponderam a 0, 35, 70 e 140 kg de P₂O₅ ha⁻¹. A adubação com potássio foi 70 kg ha⁻¹ (fonte KCl). Na semeadura foi utilizado 40 kg de N ha⁻¹ (fonte ureia) e para a adubação de cobertura, utilizou-se 100 kg de N ha⁻¹ (fonte uréia).

Nos dois anos, as sementes de milho foram tratadas com 300 ml ha⁻¹ do inseticida imidacloprido + tiocarbe (Cropstar[®]). Foram realizados os seguintes tratamentos ao longo do ciclo da cultura do milho: no estágio fenológico V3 foram aplicados 2 l ha⁻¹ de Primoleo + 1 l ha⁻¹ de Áureo + 240 ml ha⁻¹ de Soberan para controle de plantas infestantes; no estágio fenológico V5 foram aplicados 400 kg ha⁻¹ de nitrato.

Na safra 2010/2011 foram utilizadas sementes de milho da cultivar AS 1551 Bt, com uma população de 65.000 plantas

por hectare, a semeadura ocorreu em 16 de dezembro de 2010 e a colheita em 20 de maio de 2011. Na safra 2011/2012 foram utilizadas sementes e milho da cultivar AS 1565, com uma população recomendada de 65.000 plantas por hectare, a semeadura ocorreu em 7 de novembro de 2011 e a colheita em 22 de maio de 2012.

Durante o estágio fenológico VT (pendoamento) da cultura foram realizadas amostragens para avaliação do estado nutricional baseado na análise foliar. Para isso foi realizada a amostragem em 10 plantas por parcela coletando-se a folha oposta e abaixo da espiga. As folhas foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C até peso constante, moídas em moinho tipo Willey e em seguida as amostras sofreram digestão nitro perclórica para a determinação de P (colorimetria), segundo metodologia descrita por Malavolta *et al.* (1997).

Ao final do ciclo do milho foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre o desenvolvimento e produtividade da cultura, realizando-se as seguintes determinações: altura de inserção do pendão, altura de inserção da espiga, peso de 100 grãos, índice de colheita e produção de grãos por parcela. Para as avaliações de peso, os grãos tiveram a umidade corrigida para 13%.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na safra 2010-2011 observou-se que a aplicação de Formononetina às sementes de milho influenciou a produção de grão por parcela dependendo da dose de P adicionada ao solo. O Índice de Colheita foi influenciado apenas pela adição de Formononetina (Tabela 2)

Tabela 2. Resultado da análise de variância para peso de grãos por parcela (PGparcela), peso de 100 grãos (P100g), teor de fósforo nas folhas (Pfolhas), altura de inserção da espiga (AltESP), altura de inserção do pendão (AltPEND), peso grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (IC), em milho (*Zea mays*), cultivar AS 1551 Bt, Safra 2010-2011. Média de 5 repetições.

Fontes de variação	PGparcela kg/16m ²	P100g g	P folhas mg/kg	AltESP m	AltPEND m	IC (-)
Formonetina (F)	ns	ns	ns	ns	ns	*
Fósforo(P)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Inter. F x P	*	ns	ns	ns	ns	ns

Ns;**, *: não significativo e significativo 1 e 5% respectivamente pelo teste F.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

A produção de grãos de milho por parcela foi maior nas doses de 2,8 e 5,6 g kg⁻¹ de Formonetina com produtividades de 6.168 e 5.968 kg ha⁻¹ respectivamente, que não diferiram entre si (Tabela 3). Este efeito do Formonetina, entretanto, foi observado na dose 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ adicionada ao solo, sendo o aumento de produção de 11,4% e 7,8% respectivamente em relação a não aplicação de Formonetina.

Tabela 3. Peso total de grãos de milho por parcela (kg parcela⁻¹) cultivar AS 1551 Bt. Safra 2010-2011. Média de 5 repetições.

Formonetina g kg ⁻¹ semente	Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)			
	0	35	70	140
0	9,57 Aa	9,17 Aa	8,86Bb	9,17 Aab
1,4	8,96 ABab	9,20 Aab	9,28 Aab	8,23 Bb
2,8	8,19 Bb	9,05 Aab	9,87 Aa	9,31 Aa
5,6	8,63 Ab	9,26 Aa	9,55 Aa	9,13 Aab

Não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. n.s. = teste F não significativo (p = 0,05). * = teste F significativo (p = 0,01). ** = teste F não significativo (p = 0,05).

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Com relação a relação peso de grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (IC) observou-se que a aplicação da dose de 5,6 g kg⁻¹ de Formononetina promoveu aumentos no IC (Tabela 4), indicando uma maior eficiência produtiva das plantas nesse tratamento. A aplicação de doses de P, contudo, não influenciaram o IC.

Tabela 4. Índice de colheita. cultivar AS 1551 Bt. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Formononetina g kg⁻¹semente	IC
0	0,421 B
1,4	0,413 B
2,8	0,438 AB
5,6	0,456 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Na safra seguinte (2011-2012) observou-se que a adição de Formononetina influenciou novamente a PGparcela, o teor de P nas folhas e o IC, independente da dose de P adicionada ao solo (Tabela 5). O peso de cem grãos (P100) também variou com a dose de Formononetina adicionada as sementes, mas este efeito foi dependente da dose de P adicionada ao solo.

A altura de inserção de espiga (AltESP) e altura do pendão (AltPEND) não demonstraram-se variáveis muito afetadas pelos tratamentos tanto no primeiro como no segundo ano de testes. Neste segundo ano AltESP foi afetada apenas pela dose de P adicionada ao solo.

Tabela 5. Resultado da análise de variância para peso de grãos por parcela (PGparcela), peso de cem grãos (P100g), teor de fósforo nas folhas (Pfolhas), altura de inserção da espiga (AltESP), altura de inserção do pendão (AltPEN), relação grãos/massa seca da parte aérea para 5 plantas por parcela (IC), em milho (*Zea mays*), cultivar AS 1565, Safra 2011-2012, media de 5 repetições.

Fontes de variação	PG parcela kg/10m ²	P100g	P Folhas mg/kg	AltPEN m	AltPEN	IC (-)
Formononetina (F)	**	ns	*	ns	ns	*
Fósforo (P)	ns	ns	ns	**	ns	ns
Inter. F x P	ns	**	ns	ns	ns	ns

Ns;**, *: não significativo e significativo 1 e 5% respectivamente pelo teste F.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

A produção de grãos por parcela (PGparcela) foi maior nas doses mais elevadas de Formononetina, 2,8 e 5,6 g kg⁻¹ de sementes de milho, com um aumento de 7,31% e 8,04% respectivamente em relação a testemunha. (Tabela 6). Esse aumento de produção equivale a 303 e 330 kg por ha de milho, respectivamente. Estes resultados confirmam o pronunciado efeito do Formononetina nas doses mais altas testadas, também observado no primeiro ensaio com milho (2010-2011).

Tabela 6. Peso total de grãos de milho por parcela (kg parcela⁻¹). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	PGparcela
0	4,1055 AB
1,4	3,9217 B
2,8	4,4082 A
5,6	4,4352 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

O peso de 100 grãos aumentou na safra 2011/2012 (Tabela 7) em doses mais baixas de P adicionadas ao solo,

possivelmente, devido a efeito da micorrização, que melhora absorção de nutrientes, como o fósforo que é um nutriente essencial ao desenvolvimento da planta e dos grãos, pois faz parte de compostos de energia, fosfolipídios e outros ésteres (MALAVOLTA *et al.*, 2006), é necessário ao bom desenvolvimento do sistema radicular e por consequência absorção de nutriente (CRUSCIOL *et al.*, 2005). Em geral ocorre redução na colonização quando aplicado fósforo o que pode prejudicar a contribuição da micorrização para a planta segundo Carrenho *et al.* (2010). Assim, foi observado que a dose (140 kg P₂O₅ ha⁻¹) limitou o efeito na produtividade por parcela. Os melhores resultados foram encontrados na dose de 35 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ quando as sementes foram submetidas a inoculação de Myconate na dose de 2.8g kg⁻¹. As demais doses não apresentaram interação. O crescimento e o desenvolvimento dos fungos micorrízicos são afetados pelo suprimento de P, o qual tem correlação negativa com a colonização micorrízica das raízes (BRESSAN; VASCONCELLOS, 2002). O efeito micorrízico aumenta com adição de menores teores de P (KARAGIANNIDIS; NIKOLAOU, 1999), ou reduz em altos teores de P (GUILLEMIN *et al.*, 1995; AL-KARAKI; CLARK, 1999), fato que confirma o presente estudo.

Tabela 7. Peso de 100 grãos (g) de milho, cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)			
	0	35	70	140
0	38,13 Ab	38,19 Bb	39,82 Aa	38,49 Aab
1,4	38,53 Aa	38,47 Ba	36,65 Bb	38,24 Aa
2,8	37,83 Ab	40,26 Aa	38,04 Bb	39,22 Aab
5,6	38,99 Aa	38,13 Ba	38,55 ABa	38,62 Aa

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Duncan a 1% de probabilidade. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade. ns = teste F não significativo (p = 0,05). * = teste F significativo (p = 0,01). ** = teste F não significativo (p = 0,05).

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

O teor de P nas folhas (Pfolhas) de milho foi maior nas doses 1,4 e 5,6 de Formononetina utilizado, (Tabela 8). As doses de P adicionadas ao solo não influenciaram o teor de P nas folhas.

Tabela 8. Teor de P nas folhas (mg kg⁻¹). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	Pfolhas
0	0,2987 B
1,4	0,3146 AB
2,8	0,2969 B
5,6	0,3286 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

A relação grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela (IC) sofreu efeito das doses de Formononetina (Tabela 9). A ausência deste produto apresentou o maior resultado, e não apresentou diferença estatística significativa

com a dose de 1,4 e 5,6 g kg⁻¹ Formononetina. A aplicação de doses de P não influenciou no IC.

Tabela 9. Relação peso de grãos/massa seca da parte aérea de 5 plantas por parcela de milho cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	IC
0	0,252 A
1,4	0,240 A
2,8	0,217 B
5,6	0,248 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

A altura de inserção da espiga foi influenciada apenas pela dose de P adicionada ao solo sendo maior nas maiores doses. Percebe-se que havendo aumento das doses aplicadas de fósforo há uma redução no efeito do Formononetina diminuindo a colonização micorrízica, o que confirma que em níveis elevados de P no solo há uma diminuição na porcentagem de colonização micorrízica por um mecanismo de auto regulação da simbiose segundo Colozzi-filho *et al.* (1999), corroborando com (CARRENHO *et al.*, 2010) que afirmam que fósforo interfere na simbiose entre o fungo e a planta. Em geral, para o milho ocorre redução na colonização quando aplicado fósforo e também que o teor de P nas plantas tem grande efeito no desenvolvimento da simbiose segundo Smith e Read (1997), corroborando com este estudo onde não foi observado o efeito do Formononetina na altura da inserção da espiga.

Tabela 10. Altura de inserção da espiga (m). Cultivar AS 1565. Média de 5 repetições. Safra 2011/2012.

Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)	AltESP
0	1,15 B
35	1,13 B
70	1,18 AB
140	1,20 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

3.4 CONCLUSÃO

Adição de Formononetina afetou a produção e a nutrição fosfatada da cultura do milho, ficando mais evidente os efeitos sobre a produção de grãos por parcela que nos dois anos de experimento apresentou os maiores resultados quando adicionados 2,8 e 5,6 g kg⁻¹ Formononetina nas sementes, evidenciando o efeito positivo da aplicação de Formononetina às sementes de milho sobre a produtividade. Ainda nas mesmas doses de Formononetina (2,8 e 5,6 g kg⁻¹) pode-se observar o incremento no índice de colheita que nos dois anos de experimento também tiveram resultados positivos. O peso de 100 grãos apresentou o melhor resultado na dose de 2,8 g kg⁻¹ de Formononetina, quando aplicados 35 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (efeito de interação). Para a variável Altura de inserção da espiga as doses de fosforo foram responsáveis pelo efeito positivo para este atributo, não diferindo significativamente quando submetidas aos tratamentos contendo Formononetina Estes resultados mostram que quando aplicado menor dose ou ausência de P os efeitos da Formononetina são capazes de manter ou aumentar a produtividade, demonstrando a efetividade do produto testado e conseqüentemente redução de adubação fosfatada nessa cultura e com redução dos custos com insumos agrícolas deste gênero.

4 CAPITULO II - CONTRIBUIÇÃO DO ESTIMULANTE DE MICORRIZAÇÃO FORMONONETINA NA NUTRIÇÃO E PRODUTIVIDADE DA SOJA (*Glycine max*) EM SANTA CATARINA

RESUMO

A aplicação comercial de produtos formulados à base de estimulantes da micorrização (p.ex. Myconate[®]) surge como alternativa agrotecnológica, haja vista o comprovado valor desta simbiose para a nutrição mineral, especialmente a de P, para as plantas. Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da adição de Formononetina na produção e nutrição fosfatada da soja, na região do Planalto Sul Brasileiro, em SC. Um experimento foi conduzido a campo em arranjo fatorial 4x4, com 4 doses de Formononetina (0; 0,46; 0,92 e 1,84 g kg⁻¹ Formononetina) e 4 doses de P (0; 15; 30 e 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ por ha), com 5 repetições. Foram analisadas as seguintes características: teor de P nas folhas, peso de 100 grãos, produção de grãos por parcela, produtividade (sc ha⁻¹), peso dos nódulos secos de 10 plantas por parcela, massa seca da parte aérea de 10 plantas, peso dos grãos de 10 plantas, número de nódulos de 10 plantas, número de vagens de 10 plantas, índice de colheita (massa dos grãos de 10 plantas divididos pela massa seca da parte aérea destas 10 plantas). Nas avaliações realizadas na safra 2010/2011 obteve-se resultado nos parâmetros avaliados: peso total dos grãos de soja por parcela, quando se aplicou (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina foi onde o maior resultado ocorreu, o peso de nódulos de 10 plantas foi maior na dose recomendada (70 kg ha⁻¹) de P₂O₅. O número de nódulos por planta apresentou efeito simples (p = 0,01) com diferença estatística na aplicação de doses de Formononetina. O número de vagens por planta (média de 10 plantas) apresentou efeito simples (p = 0,01) com diferença estatística na aplicação de doses de Formononetina, também apresentou efeito simples (p = 0,01) nas doses de P e ainda

efeito da interação entre as doses de Formononetina aplicada as sementes com as doses de P adicionadas ao solo. Na relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela (IC) foi maior na dose recomendada ($17,5 \text{ kg ha}^{-1}$) de P_2O_5 para a cultura da soja. Nas avaliações realizadas na safra 2011/2012 houve efeito simples sobre o peso de 100 grãos e se observou que quando foi aplicada a dose de ($1,84 \text{ g kg}^{-1}$) de Formononetina foi onde o maior resultado ocorreu e para o peso total de grãos de soja por parcela a produção aumentou conforme foram aumentadas as doses de Formononetina aplicadas sementes.

Palavras-chaves: Formononetina; Fósforo ; *Glycine max*.

ABSTRACT

The commercial application of formulated based on stimulating mycorrhiza (Myconate[®]) product emerges as biotechnology alternative, given the proven value of this symbiosis to mineral nutrition , especially of P for plants. This study aimed to evaluate the effect of adding Formononetina in production and phosphorus nutrition of soybeans in the Brazilian plateau south, SC in the region. An experiment was conducted under field conditions in a 4x4 factorial scheme with 4 doses of Formononetina (0 , 0.46 , 0.92 and 1.84 g kg^{-1}) and four P rates (0 , 15, 30 and 60 kg ha^{-1} of P_2O_5 per ha^{-1}) , with 5 repetitions. The following characteristics were analyzed: P content in leaves , 100-grain weight , grain yield per plot , yield (sc ha^{-1}) , dry weight of nodules from 10 plants per plot , dry mass of shoots of 10 plants , grain weight of 10 plants , number of nodes of 10 plants , number of pods of 10 plants , harvest index (grain weight of 10 plants divided by dry mass of these 10 plants). In evaluations conducted in the 2010/2011 harvest yielded results in the evaluated parameters: total weight of soybeans per plot when applied (1.84 g kg^{-1}) of Formononetina which was the best result occurred, the weight

of nodules from 10 plants was higher at the recommended dose (70 kg ha^{-1}) P_2O_5 . The number of nodules per plant showed simple effect ($p = 0.01$) with statistical difference in dose delivery Formononetina. The number of pods per plant (average of 10 plants) showed a simple effect ($p = 0.01$) with statistical difference in dose delivery Formononetina also presented simple effect ($p = 0.01$) at doses of P, and also interaction effect between treatments applied Formononetina with doses of P added to the soil. In relation grains/dry mass of shoots of 10 plants per plot (CI) was higher at the recommended dose (17.5 kg ha^{-1}) P_2O_5 for the soybean crop. In evaluations conducted in the 2011/2012 season was simple effect on the weight of 100 grains and observed that when the dose (1.84 g kg^{-1}) of Formononetina was applied which was the best result occurred and the total weight soybean production per plot increased as the doses applied Formononetina seeds were increased.

Key-words: Formononetina. Match. Glycine max.

4.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a soja parece ter sido primeiramente introduzida na Bahia, em 1882. Em 1908 foi introduzida em São Paulo, por imigrantes japoneses, e em 1914 foi introduzida no Rio Grande do Sul pelo professor Craig, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foi no Rio Grande do Sul que a soja começou a ser cultivada em larga escala (FABRIS *et al.*, 2011). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja atrás apenas dos EUA. Na safra 2010, a cultura ocupou uma área de 24,6 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 75 milhões de toneladas. A produtividade média da soja brasileira foi de 3.106 kg por hectares (EMBRAPA 2011 *apud* FABRIS *et al.*, 2011).

No que diz respeito a economia e o impacto social, a cultura da soja assume importante posição como atividade

agrícola geradora de emprego e renda e sua produção movimentada uma série de agentes econômicos e institucionais. Além disso, é dentre os setores agrícolas um dos mais dinâmicos e demandante de inovações e investimentos constantes em virtude do alto grau de competitividade a que está exposta (FAGUNDES; SIQUEIRA, 2013)

Parte da atual representatividade dessa cadeia produtiva pode ser explicada pelo desenvolvimento científico e tecnológico nas áreas de genética, biotecnologia e demais segmentos que fornecem insumos para a lavoura de soja (COSTA; SANTANA, 2013) neste sentido a utilização de ferramentas biotecnológicas aplicadas à produção agrícola pode ser um nicho de mercado de extrema importância afim de obter maior produtividade na produção desta cultura e conseqüentemente um possível estímulo tecnológico e econômico.

O uso inoculantes nas culturas agrícolas tem sido foco de diversos estudos. De acordo com Smith e Hume (1987), a associação do *Bradyrhizobium japonicum* com a soja (*Glycine max* L. Merrill) pode resultar numa fixação de nitrogênio de até 102,9 kg de N.ha⁻¹. Segundo Döbereiner (1997), os produtores brasileiros aplicam menos de 6% do nitrogênio necessário para a soja, sendo grande parte, fixado a partir do N₂ da atmosfera, o que equivale a 150 milhões de toneladas de nitrogênio.

A disponibilização de nitrogênio para as culturas pode ocorrer de formas diferenciadas de acordo com a espécie vegetal. Este nutriente pode ser absorvido do solo na forma de NH₄⁺ ou de NO₃⁻ ou através do N₂ atmosférico pela fixação biológica. Nas leguminosas o N é absorvido na forma de N₂ e transformado em NH₄ através do processo simbiótico com bactérias (GERAHTY *et al.*, 1992; TAIZ; ZIEGER, 2004). Em vista disso, o entendimento do processo fisiológico de fixação biológica do nitrogênio e de fatores que o controlam é de suma importância tanto para pesquisadores como para produtores, pois com esse conhecimento é possível adequar o manejo da

planta visando aumentar a eficiência de utilização de N e incrementar a produtividade da cultura.

O aumento da produtividade e a redução dos custos de produção da soja na região sul, têm contribuído para que os produtores recorram a novas praticas tecnológicas de manejo e ao melhor aproveitamento dos recursos já existentes no solo para elevar a produção. Neste cenário estão surgindo processos para maximizar o emprego dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

Em geral, flavonoides podem estimular a germinação de esporos (BAPTISTA; SIQUEIRA, 1994), a colonização (NAIR *et al.*, 1991; SIQUEIRA *et al.*, 1991) e o crescimento e produção vegetal (SILVA JÚNIOR; SIQUEIRA, 1997, 1998; DAVIES JÚNIOR *et al.*, 2005, 2005). Cândido e Siqueira (2009) observaram efeito positivo na esporulação de sete isolados de FMAs quando foi feita a aplicação do isoflavonóide Formononetina em estudo conduzido em casa de vegetação. Mas pouco se conhece sobre o efeito dessas substâncias na esporulação dos FMAs em condições de campo.

As micorrizas através de suas hifas permitem a absorção de nutrientes fora da zona de esgotamento do sistema radicular que surge devido a maior absorção de nutrientes pelas raízes, também aumentam a atividade biológica em torno das raízes das plantas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002); outros benefícios são atribuídos às micorrizas como o favorecimento da nodulação e fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas (SIQUEIRA *et al.*, 2002) e a maior tolerância às plantas a estresses ambientais como hídricos e por metais pesados (SIQUEIRA *et al.*, 1994).

Assim, espera-se que substâncias capazes de estimular a colonização micorrízica, como o isoflavonóide formononetina (NAIR *et al.*, 1991; SIQUEIRA *et al.*, 1991), possam também estimular a produção de esporos e, desse modo, facilitar a aplicação dos FMAs na agricultura e em larga escala.

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da adição de Formononetina na produção e nutrição fosfatada da soja, em Santa Catarina.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Dois ensaios de campo foram conduzidos nos municípios de Campo Belo do Sul e de Campos Novos, SC, na safra 2010-2011, para avaliar o efeito da aplicação de Formononetina na nutrição e produtividade da soja em semeadura direta, foi utilizada a cultivar Fundacep 53 RR. Um terceiro ensaio com soja, utilizando a cultivar BMX Titan RR, foi realizado na safra 2011-2012 apenas em Campos Novos.

Todos os ensaios de campo tiveram seus tratamentos arrançados um delineamento em blocos ao caso com arranjo fatorial 4 x 4, com cinco repetições, sendo testados quatro doses de Formononetina, aplicados nas sementes nas doses de 0, 25, 50 e 100 g ha⁻¹, e quatro doses de adubação fosfatada, correspondentes 0; 17,5; 5 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅ para a cultura da soja.

Em Campo Belo do Sul, o ensaio com soja foi conduzido no período de 13 de janeiro de 2011 a 12 de junho de 2011 na Fazenda Dona Elvira localizada nas coordenadas geográficas 27° 53' 50.32" S e 50° 39' 43.92" O, a aproximadamente 1000 m de altitude. O clima da região, segundo a classificação de Koopen, é do tipo Cfa - clima temperado úmido e com verão quente. O solo da área experimental é classificado como Nitossolo Distrófico Alumínico cujos atributos químicos e físicos são apresentados na tabela 1. Desde 1984 a área vem sendo cultivada com soja, milho, feijão e trigo.

Em Campos Novos, o primeiro ensaio com soja foi conduzido no período de 15 de dezembro de 2010 a 17 de maio de 2011 e o segundo no período de 28 de novembro de 2011 a 20 de abril de 2012, ambos na área experimental da EPAGRI localizada nas coordenadas geográficas 27° 29' 13.96" S e 51°

24' 58.18"O, a aproximadamente de 900 m de altitude. O clima da região segundo a classificação de Koopen é do tipo Cfa - clima temperado úmido e com verão quente. O solo da área foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico, cujos atributos químicos são apresentados na (Tabela 11).

O produto comercial Formononetina é um produto a base do isoflavonóide formononetina formulado como pó de coloração creme, na forma de sal de potássio cuja nomenclatura química é 4'- metoxi, 7-hidroxi isoflavona, solúvel em água (1 g em 3 ml de água).

Tabela 11. Atributos químicos dos solos utilizados nos ensaios nos Municípios de Campo Belo do Sul (Nitossolo Distrófico Alumínico) e Campos Novos (Latossolo Vermelho Distroférrico).

Atributo	Unidades	Nitossolo Campo Belo do Sul		
		Safra 2010/2011	Safra 2010/2011	Safra 2011/2012
pH H ₂ O (1:1)	-	5	5,1	5,0
pH SMP	-	5,6	5,5	5,3
Ca	cmolc/dm ³	12,2	5,84	5,76
Mg	cmolc/dm ³	4,49	3,14	2,53
Al	cmolc/dm ³	1,27	0,62	0,34
H+Al	cmolc/dm ³	6,9	7,7	9,7
CTC efetiva	cmolc/dm ³	18,3	10,5	9,28
Saturação Al	%	6,94	5,9	3,66
Saturação Al	%	71,18	56,22	47,99
Bases				
M.O.	%	5	5,3	5,2
Argila	%	59	43	32
P Mehlich	mg/dm ³	22,5	12	26,4
Na	mg/dm ³	40	4	14
K		126	353	256
CTC pH 7,0	cmolc/dm ³	23,93	17,58	18,64
K	cmolc/dm ³	0,322	0,903	0,655
Ca/Mg	-	2,7	1,9	2,3

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Os quatro tratamentos de estimulante para micorrização (isoflavonóide formononetina denominado como Formononetina) foram: ausência de aplicação de Formononetina; 0,46 g kg⁻¹, 0,92 g kg⁻¹ e 1,84 g kg⁻¹ (dose recomendada do produto para a cultura). O processo de inoculação das sementes de soja com o Formononetina foi realizado através da mistura do pó nas sementes momentos antes do plantio. As quantidades necessárias para o tratamento das sementes foram pesadas no laboratório, em balança de precisão; cada dose de Formononetina foi pesada de acordo com a quantidade de sementes que foi utilizada em cada tratamento, tendo sido determinado à quantidade de sementes que foi utilizada em cada tratamento anteriormente a data da semeadura. (Anexos III e IV). Este pó foi misturado as sementes logo após a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* semia 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* semia 587.

Nos experimentos realizados na safra 2010/2011 foram utilizadas parcelas constituídas por 6 linhas de 7 metros de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,45 m, com uma área total da parcela de 18,9m². As 4 linhas centrais foram amostradas e colhidas, sendo desprezados um metro em cada extremidade das parcela, totalizando uma área útil de 9 m² de soja.

No experimento da safra 2011/2012 foi utilizado espaçamento de 0,50 m e as parcelas foram constituídas por 8 linhas de 7 m, sendo que apenas as 4 linhas centrais foram amostradas e colhidas tendo sido desprezados um metro em cada extremidade de cada parcela totalizando uma área total de parcela de 28m², sendo a área útil da parcela 10m². A adubação foi calculada de acordo com a recomendação do manual da Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC (2004), e as doses para a cultura da soja corresponderam a 0, 15, 30 e 60 kg de P₂O₅ ha⁻¹. A adubação com potássio para a cultura da soja foi 60 kg ha⁻¹ (fonte KCl).

Historicamente, a área experimental na Fazenda Dona Elvira foi plantada com milho na safra 2009/2010, seguida de aveia branca (para semente) no inverno de 2010; na safra 2010/2011 foi plantada com soja (experimento). Na área experimental da EPAGRI foi cultivada com soja na safra 2009/2010, e azevém (para cobertura) no inverno de 2010; na safra 2010/2011 recebeu soja (experimento) no verão, no inverno de 2011 azevém (para cobertura) e na safra 2011/2012 recebeu novamente o experimento com soja.

Nos dois anos, as sementes de soja foram tratadas com fungicida carbendazim (Derosal[®]) e inseticida imidacloprido + tiodicarbe (Cropstar[®]). Após esses tratamentos, nas sementes de soja, foi realizada a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* semia 5079 e *Bradyrhizobium elkanii* semia 587 (em meio líquido aquoso com um mínimo de 1.400.000 bactérias semente⁻¹, utilizando-se 100 ml de inoculante para cada 50 kg de semente).

Durante a condução dos experimentos foram realizadas práticas culturais comumente adotados na região. Na cultura da soja utilizaram-se os inseticidas Dimethylcyclopropanecarboxlate 100 ml/ha (Talcord), lufenuron 150 ml/ha (Match[®]) e TRIFLUMUROM 30 ml/ha (Certero); o herbicida glifosato 2 l/ha (Glifosato[®]) e os fungicidas pyraclostrobina 0,6 l/ha (Ópera[®]), trifloxistrobina + ciproconazol 0,15 l/ha (Sphere Max[®]).

Durante o estágio fenológico R2 (floração plena com a maioria dos racemos com flores abertas) da soja foram realizadas amostragens para avaliação do estado nutricional baseado na análise foliar. Foi realizada amostragem em 10 plantas por parcela coletando-se o terceiro e o quarto trifólios com hastes das plantas. As folhas foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 70 °C até peso constante, moídas em moinho tipo Willey e em seguida as amostras sofreram digestão nitro perclórica para a

determinação de P (colorimetria), segundo metodologia descrita por Malavolta *et al.* (1997).

Também foi avaliada a nodulação das plantas no estádio R2 mediante coleta de 10 plantas por parcela, coletadas aleatoriamente com auxílio de uma pá para a retirada das raízes contendo solo rizosférico, visando à retirada dos nódulos, os quais foram contados, lavados em água corrente, secos em estufa e em seguida pesados para determinação do peso seco de nódulos.

Ao final do ciclo da soja foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre o desenvolvimento e produtividade da cultura, realizando-se as seguintes determinações: peso de 100 grãos, produção de grãos por parcela, produtividade ($sc\ ha^{-1}$), peso dos nódulos secos de 10 plantas por parcela, massa seca da parte aérea de 10 plantas, peso dos grãos de 10 plantas, número de nódulos de 10 plantas, número de vagens de 10 plantas, índice de colheita (massa dos grãos de 10 plantas divididos pela massa seca da parte aérea destas 10 plantas). Para as avaliações de peso, os grãos tiveram a umidade corrigida para 13%.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos experimentos do primeiro ano (2010-2011) a avaliação do teor de P nas folhas (Pfolhas) realizado no início do florescimento da cultura a soja não houve diferença estatística significativa ($p=0,05$) (Tabela12).

Nas avaliações realizadas no final do ciclo da cultura, foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p=0,05$) para a produção de grãos por parcela (PGparcela), com efeito simples das doses de Formononetina aplicadas às sementes (Tabela12). O peso de nódulos (PNOD) apresentou diferenças significativas ($p=0,05$) com relação às doses de P aplicadas ao solo (Tabela12). O número de nódulos de 10 plantas (NNOD) apresentou efeito simples ($p=0,05$) nas doses de Formononetina aplicadas as sementes, efeito simples ($p=0,01$) nas doses de P

aplicadas ao solo e também apresentou interação ($p=0,01$) entre doses de Formononetina e doses de P (Tabela 12). O número de vagens por planta (NVAG) apresentou efeito simples ($p=0,05$) nas doses de Formononetina aplicadas as sementes, efeito simples ($p=0,05$) nas doses de P aplicadas ao solo e também apresentou interação ($p=0,05$) entre doses de Formononetina e doses de P (Tabela 12). A relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC) apresentou efeito simples ($p=0,01$) nas doses de P (TABELA 12). Peso dos grãos de 10 plantas (PGP), o peso de 100 grãos (P100g) e a produtividade sacos hectare⁻¹ (PROD) não apresentaram diferença estatística significativa ($p=0,05$) para nenhuma avaliação (Tabela12).

Com exceção do peso dos grãos de 10 plantas (PGP) e número de vagens por planta (NVAG), todos os outros parâmetros apresentaram diferença significativa quando comparados os locais vs as repetições (Tabela 12).

Tabela 12. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (Pfolhas), produtividade sacos hectare⁻¹ (PROD), peso de 100 grãos (P100g), peso de grãos por parcela (PGparcela), peso de nódulos de 10 plantas (PNOD), massa seca da parte aérea (MSPA), peso dos grãos de 10 plantas (PGP), número de nódulos de 10 plantas (NNOD), número de vagens por planta (NVAG), relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC), em soja (*Glycine max*), cultivar Fundacep 53 RR.

Fator de variação	PGparcela Kg/6,8m ²	PROD sc/ha	P100g g	P folhas mg/kg	PNOD g	MSPA g	PGP g	NNOD (-)	NVAG (-)	IC (-)
Dose de formo	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**	**	ns
Doses de P	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	*	**	*
Dose Formo x Dose P	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	**	ns

Ns; **; *: não significativo e significativo 1 e 5% respectivamente pelo teste F.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Para a avaliação do peso total dos grãos de soja por parcela observa-se que a aplicação de (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina não difere estatisticamente de (0,46 e 0,92 g kg⁻¹) de Formononetina aplicada às sementes, e as doses de P também não apresentaram diferença estatística (Tabela 13). No entanto quando se aplicou (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina foi onde o maior resultado ocorreu, o que também foi observado por Lambais *et al.* (2003) que verificaram aumento na produtividade de feijão cultivado em vasos, utilizando 840 mg de Formononetina em 200 sementes.

Tabela 13. Peso total de grãos de soja por parcela (kg parcela⁻¹). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	PGparcela
0	2,02 B
0,46	2,13 AB
0,92	2,09 AB
1,84	2,24 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Observa-se que o peso de nódulos de 10 plantas foi maior na dose recomendada (70 kg ha⁻¹) de P₂O₅ para a cultura da soja (Tabela 14), que não difere estatisticamente da aplicação de (17,5 e 35 kg ha⁻¹) de P₂O₅, que é considerado como 25% e 50% ,respectivamente, da dose recomendada para a cultura da soja. O peso de nódulos seco (PNOD) apresentou diferenças significativas (p=0,05) com relação às doses de P, e não mostrou efeito com a aplicação de Formononetina e nem da interação entre estes fatores. Houve um incremento do PNOD com o aumento da dose de P aplicada

Tabela 14. Peso de nódulos de 10 plantas. Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)	PNOD g
0	1,36 B
17,5	1,51 AB
35	1,50 AB
70	1,67 A

Médias seguidas da mesma letra diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Foi possível observar que houve efeito entre as doses de Formononetina e as doses de fósforo adicionadas ao solo (efeito de interação) (Tabela 15), onde se tem o melhor resultado quando foi aplicado (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina com (70 kg ha⁻¹) de P₂O₅, a qual não difere estatisticamente da aplicação de (0 e 35 kg ha⁻¹) de P₂O₅, com (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina e da aplicação de (0,92 g kg⁻¹) de Formononetina com (70 kg ha⁻¹) de P₂O₅, fato este, que corrobora com o estudo realizado por Cordeiro (2007) na região do Sudoeste Goiano com aplicação de Formononetina e de P, onde na condição de alto P houve incremento de 34% no número de nódulos.

Tabela 15. Número de nódulos de 10 plantas (NNOD). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Formononetina g kg ⁻¹	Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)			
	0	17,5	35	70
0	330 Ab	448 Aa	414 Aab	407 Bab
0,46	338 Aa	327 Ba	270 Ba	318 Ba
0,92	371 Aa	383 ABa	353 Aa	445 ABa
1,84	377 Ab	332 Bb	422 Ab	527 Aa

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Duncan a 5% de probabilidade. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade. ns = teste F não significativo (p = 0,05). * = teste F significativo (p = 0,01). ** = teste F não significativo (p = 0,05).

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

O número de vagens por planta, (média de 10 plantas) apresentou efeito simples (p = 0,01) com diferença estatística na aplicação de doses de Formononetina (Tabela 16), observa-se que nas doses de (0; 0,92 e 1,84 g kg⁻¹) de Formononetina na ausência de P há aumento contínuo no número de vagens (NVAG). Também pode ser observado efeito simples (p = 0,01) nas doses de P com ausência da aplicação de Formononetina (Tabela 16), onde o maior resultado pode ser observado quando foi adicionado (35 kg ha⁻¹) de P₂O₅, média esta que não difere significativamente da aplicação das doses de (0, 17,5 e 70 kg ha⁻¹) de P₂O₅.

Observa-se ainda efeito da interação entre as doses de Formononetina aplicada as sementes com as doses de P adicionadas ao solo (Tabela 16), onde se tem o melhor resultado quando foi aplicado (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina com (35 kg ha⁻¹) de P₂O₅, a qual não difere estatisticamente da aplicação de (0, 17,5 e 70 kg ha⁻¹) de P₂O₅, com (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina e da aplicação de (0,92 g kg⁻¹) de Formononetina com (35 kg ha⁻¹) de P₂O₅.

Tabela 16. Número de vagens por planta, (média de 10 plantas). Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	Doses de P (kg ha ⁻¹ P ₂ O ₅)			
	0	17,5	35	70
0	66,65 Ba	62,86 Ba	68,66 Ba	64,86 Ba
0,46	56,40 Bb	65,77 ABa	69,13 Ba	70,04 ABa
0,92	72,44 ABa	63,72 Bb	74,13 ABa	68,85 ABab
1,84	75,13 Aa	71,48 Aa	77,92 Aa	72,85 Aa

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Duncan a 1% de probabilidade. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade. ns = teste F não significativo (p = 0,05). * = teste F significativo (p = 0,01). ** = teste F não significativo (p = 0,05).

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Observa-se que relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela (IC) foi maior na dose recomendada (17,5 kg ha⁻¹) de P₂O₅ para a cultura da soja (Tabela 17), que não difere estatisticamente da aplicação de (70 kg ha⁻¹) de P₂O₅, que é considerado como 100% da dose recomendada para a cultura da soja. A relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela apresentou diferenças significativas (p=0,05) com relação às doses de P, e não mostrou efeito com a aplicação de Formononetina e nem da interação entre estes fatores. Houve um incremento na relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela com o aumento da dose de P aplicada.

Tabela 17. Relação grãos/massa seca da parte aérea de 10 plantas por parcela. Cultivar Fundacep 53 RR. Média de 5 repetições. Safra 2010-2011.

Doses de P (kg ha⁻¹ P₂O₅)	IC (-)
0	0,0708 B
17,5	0,0739 A
35	0,0719 AB
70	0,0727 AB

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

No experimento realizado no segundo ano (2011-2012) a avaliação do teor de P nas folhas (FOSFfolhas) realizado no início do florescimento da cultura a soja não houve diferença estatística significativa ($p=0,05$) para nenhum parâmetro avaliado (Tabela18).

Nas avaliações realizadas no final do ciclo da cultura, foram observadas diferenças estatísticas significativas ($p=0,01$) com efeito simples sobre as doses de Formononetina aplicadas nas sementes para peso de 100 grãos (P100g), peso de grãos por parcela (PGparcela) também apresentou diferença significativa ($p=0,05$) com efeito simples sobre as doses de Formononetina (Tabela 18). Peso de nódulos de 10 plantas (PNOD) e peso de grãos de 10 plantas (PGP) apresentaram diferença estatística significativa ($p=0,01$) nas repetições (Tabela 18).

As variáveis produtividade por hectare (PROD), massa seca da parte aérea (MSPA), número de nódulos de 10 plantas (NNOD), número de vagens por planta (NVAG), relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC) não apresentaram diferença estatística significativa ($p=0,05$) para nenhuma avaliação (Tabela18).

Tabela 18. Resultado da análise de variância para teor de fósforo nas folhas (Pfolhas), produtividade sacos hectare⁻¹ (PROD), peso de 100 grãos (P100g), peso de grãos por parcela (PGparcela), peso de nódulos de 10 plantas (PNOD), massa seca da parte aérea (MSPA), peso dos grãos de 10 plantas (PGP), número de nódulos de 10 plantas (NNOD), número de vagens por planta (NVAG), relação grãos/massa seca da parte aérea para 10 plantas por parcela (IC), em soja (*Glycine max*), cultivar BMX Titan RR.

Fator de variação	PGparcela Kg/8m ²	PROD sc/ha	P100g g	P folhas mg/kg	PNOD g	MSPA g	PGP g	NNOD (-)	NVAG (-)	IC (-)
Doses	*	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Myconate®(F)										
Fósforo (P)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Inter. F x P										
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns;**, *: não significativo e significativo 1 e 5% respectivamente pelo teste F.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Para a avaliação do peso total de grãos de soja por parcela pode ser observado que a aplicação de (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina difere estatisticamente de (0, 0,46 e 0,92 g kg⁻¹) de Formononetina aplicada às sementes, sem a aplicação de doses de P (Tabela 19). Quando foi aplicada a dose de (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina foi onde o maior resultado ocorreu.

Tabela 19. Peso total de grãos de soja por parcela (kg parcela⁻¹). Cultivar BMX Titan RR. Média de 5 repetições. Safra 2011-2012.

Formononetina g kg ⁻¹ semente	PGparcela kg/8m ²
0	1,51 B
0,46	1,52 B
0,92	1,54 B
1,84	1,65 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

Para a avaliação do peso 100 grãos pode ser observado que a aplicação de (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina difere estatisticamente de (0, 0,46 e 0,92 g kg⁻¹) de Formononetina aplicada às sementes, sem a aplicação de doses de P (Tabela20). Quando foi aplicada a dose de (1,84 g kg⁻¹) de Formononetina ocorreu o maior resultado, o que se respalda com o que diz Bressan *et al.* (2002) que estudaram o sorgo inoculado com *Glomus etunicatum*, e verificaram aumento na massa de grãos.

Tabela 20. Peso de 100 grãos. Cultivar BMX Titan RR. Média de 5 repetições. Safra 2011-2012.

Formononetina g kg ⁻¹	P100g g
0	16,75 B
0,46	16,76 B
0,92	17,02 B
1,84	17,45 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade.

Fonte: Pesquisa do Autor (2013)

4.4 CONCLUSÃO

No primeiro ano de cultivo da Soja foram testados as variáveis Peso de grãos por parcela (PGparcela), Produtividade (PROD), Peso de 100 grãos (P100g), Teor de Fosforo nas folhas (Pfolhas), Peso de nódulos de 10 plantas (PNOD), Massa seca da parte aérea (MSPA), Peso dos grãos de 10 plantas (PGP), Numero de nódulos de 10 plantas (NNOD), Numero de vagens por planta (NVAG) e Índice de Colheita (IC) com doses crescentes de Formononetina (0; 0,46; 0,92 e 1,84 g kg⁻¹) e Fosforo (0; 17,5; 35 e 70 kg ha⁻¹) dentre os parâmetros avaliados, PGparcela apresentou efeito simples em relação a Formononetina, não respondendo aos tratamentos que continham Fosforo; o PNOD respondeu melhor na ausência de

Formononetina. O NNOD e NVAG foram maiores quando submetidos aos dois tratamentos (Formononetina e Fosforo), ou seja, apresentou efeito de interação entre as variáveis testadas. O IC apresentou melhores resultados nas maiores doses de Fosforo não sofrendo efeito do Formononetina. Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferença significativa, quando submetidos aos tratamentos que continham Fosforo e o produto Formononetina. De modo geral os atributos testados NNOD, PGparcela, NVAG e IC foram as variáveis que responderam melhor aos tratamentos estudados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A) O produto estimulante da micorrização promoveu efeitos positivos sobre o desenvolvimento e a produção de soja e milho, podendo ser denominado um biofertilizante.

B) Houve interação entre doses de Formononetina aplicada as sementes e doses de P aplicadas ao solo sobre o desenvolvimento e a produção de soja e milho em diferentes parâmetros e níveis de significância.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AISYAH, S. A.; GRUPPEN, H.; MEDZORA, B.; VINCKEN, J. P. Modulation of isoflavonoid composition of rhizopus oryzae elicited soybean (*Glycine max*) seedlings by light and wounding. **J. Agric. Food Chem.**, v. 61, n. 36, p. 8657-8666, 2013.

AL-KARAKI, G. N. & CLARK, R. B. Mycorrhizal influence on protein and lipid of durum wheat grown at different soil phosphorus levels. **Mycorrhiza**, Berlin, v.9, n.2, p. 97-101, 1999.

ALLEN M.F. **The ecology of mycorrhizae**. Cambridge University Press, Cambridge, Mass. Bethlenfalvay gj, Dakessian S, Pacovsky RS (1984) Mycorrhizae. 1991.

ANDRADE, C. M.; SÁ, M. F. S.; TOLOI, M. R. Torqueti. Effects of phytoestrogens derived from soy bean on expression of adhesion molecules on HUVEC. **Informa Healthcare.**, v. 15, n. 2, p. 186-194, april 2012.

BALIGAR, V. C.; FAGERIA, N. K. Nutrient use efficiency in plants. **Communications in soil science and plant analysis**, New York, v. 32, p. 921-950, 2001.

BAPTISTA, M. J.; SIQUEIRA, J. O. Efeito de flavonóides na germinação de esporos e no crescimento assimiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora gigantea*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.6, p.127-134, 1994.

BAYER, C., MARTIN-NETO, L., MIELNICZUK, J., SANGOI, L. Changes in soil organic matter fractions under subtropical no-till cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p.1473-1478, 2001.

BÉCARD, G.; PICHÉ, V. New aspects on the acquisition of biotrophic status by a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. **New Phytologist**, v. 112, p.77-83, 1989.

BELTRANO, J *et al.* Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. **J. Soil Sci. Plant Nutr.**, Temuco, v. 13, n. 1, marzo 2013 . Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S07185162013000100012&lng=es&nrm=iso>. accedido en 26 nov. 2013. Epub 06-Feb-2013. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000012>.

BRESSAN, W.; VASCONCELLOS, C.A. Alterações morfológicas no sistema radicular do milho induzidas por fungos micorrízicos e fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p.509-517, 2002.

CAMPOS, D.T.S.; ANDRADE, J.A.C.; CASSIOLATO, A.M.R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, v. 69, p. 555-562, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; MALUCHE-BARETTA, C. R. D. & PAULA, AL. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N. & TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A.C. Fósforo e inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**. (UFG). v. 34, n. 3, p. 119-126, 2004.

CARRENHO, R.; COSTA, S.M.G.; BALOTA, E.L.; COLOZZI FILHO, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M., (Ed.). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras, Editora UFLA, 2010. p. 215-250.

CHABOT S, BECARD G, PICHE Y. 1992. Life cycle of *Glomus intraradix* in root organ culture. **Mycologia.**, v. 84, p. 315–321.

COLOZZI-FILHO, A.; BALOTA, E. L.; ANDRADE, D. S. Microrganismos e processos biológicos na sistema plantio direto. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Ed.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS/Lavras: UFLA: DCS, p. 487-508. 1999.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **SBCS**. 10. ed. Porto Alegre, 2004. 400p.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, julho 2013 / Companhia Nacional de Abastecimento. – Brasília: Conab, 2013.

CORDEIRO, M. A. S. **Avaliação da eficácia do Mycoform® (isoflavonóide formononetina) via peliculização de semente na colonização micorrízica e produtividade da soja no Centro-Oeste**. 2007. 70p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

COSTA, N. L.; SANTANA, A. C. Poder de mercado e desenvolvimento de novas cultivares de soja transgênicas e convencionais: análise da experiência brasileira. **Rev. Cienc. Agrar.**, v. 56, n. 1, p. 61-68, jan./mar. 2013.

CRUSCIOL, C.A.C. *et al.* Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo forrageiro no plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.2, p.161-168, 2005.

DAVIES JUNIOR, F. T.; CALDERÓN, C. M.; HUAMAN, Z. Influence of arbuscular mycorrhizae indigenous to Peru and a flavonoid on growth, yield and leaf elemental concentration of Yungay' potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **Scientia Horticulture**, v.40, p.381-385, 2005.

ELIAS, K.S.; SAFIR, G.R. Hyphal elongation of *Glomus fasciculatum* in response to root exudates. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 8, p.1928-33, 1987.

FABRIS, S. R.; FABRIS, J. P.; DULLIUS, A. I. S. Análise da produção da cultura do soja no Brasil através dos modelos arima. **Revista GEINTEC**. São Cristóvão/SE., v. 1, n. 2, p. 49-56, 2011.

FAGUNDES, M. B. B.; SIQUEIRA, R. P. Caracterização do sistema agroindustrial da soja em Mato Grosso do Sul. **Revista Política Agrícola**, a. XXII, n. 3, p. 58-72, jul./ago./set. 2013.

FERREIRA, D.F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).

FERREIRA, Dorotéia Alves. **Avaliação da eficácia de estimulante de Micorrização em soja e milho em diferentes Doses de fosfato no solo**. Dissertação apresentada à

Universidade Federal de Goiás – UFG, Campus Jataí, GO.
2012.

GERAHTY, N.; *et al.* Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. **Plant Science**, v. 58, p. 1-7.

GIANINAZZI-PEARSON V, BRANZANTI B, GIANINAZZI S. In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. **Symbiosis**, v.7, p. 243-255, 1989.

GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; SBRANA, C.; CITERNESI, A. S. Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) **Gerd. EL Trappe**. *New Phytol*, v. 123, p.115-122; 1993.

GUILLEMIN, J. P.; OROZCO, M. O.;
GIANINAZZIPEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 63-70, 1995.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G.N.; PAREKH, L.J.;
POOLE, P.S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, v. 245, p. 83–93, 2002.

HARRISON, M. J. Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Current Opinion Plant Biology**, v.1, p. 360-365, 1998.

HE, X.; MOURATOV, S.; STEINBERGER, Yosef. Temporal and spatial dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi

under the canopy of *Zygophyllum dumosum* Boiss. in the Negev Desert. **Journal of Arid Environments.**, v. 52, n. 3. p. 379-387, 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro Geografia Estatística.
Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro v.24, n.02, p.1-82, fev. 2011.

KARAGIANNIDIS N.; NIKOLAOU N. Arbuscular mycorrhizal root infection as an important factor of grapevine nutritional status. **Multivariate analysis**, 1999.

LANTMANN, A. F.; CASTRO, C. Resposta da soja à adubação fosfatada. In: Yamada, T.; Abdalla, S. R. S. **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba, p. 223-239, 2004.

LIU J, MALDONADO-MENDOZA I, LOPEZ-MEYER M, CHEUNG F, TOWN CD, HARRISON MJ. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. **Plant J.**, v. 50, n. 3, p. 529-544, Apr./ May, 2007.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo. Ceres. 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARSCHNER, H.; DELL. B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.159, n.1, p. 89-102, 1994.

MELLO, C. M. A.; SILVA, I. R.; PONTES, J. S. P.; GOTO, B. T.; SILVA G. A. M.; COSTA, I. Diversidade de fungos

micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 4, p. 938-943, 2012.

MENDES, A. M. S., FARIA, C. M. B., SILVA, D. J., RESENDE, G. M., OLIVEIRA - NETO, M. B., SILVA, M. S. L. Nutrição mineral e adubação da cultura da cebola no submédio do Vale do São Francisco. **Circular Técnica - EMBRAPA**, Petrolina, n.86, 2008.

MERGULHÃO, A.C.E.S.; OLIVEIRA, J.P.; BURITY, H.A.; MAIA, L.C. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares em áreas nativas e impactadas por mineração gesseira no semiárido brasileiro. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 341-348. 2007.

MORANDI, D.; BRAZANTI, B.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Effect of some plant flavonoids on in vitro behaviour of an arbuscular mycorrhizal fungus. **Agronomie**, v.12, p. 811-816, 1992.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2002. 625p.

MORRIS, P. F.; WARD, E. W. B. Chemoattraction of zoospores of soybean pathogen *Phytophthora sojae* by isoflavones. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 40, p. 17-22, 1992.

NAIR, M. G.; SAFIR, G. N.; SIQUEIRA, J. O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 2, p. 434-439. 1991.

NOVAIS, C. B. M.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos

micorrízicos em braquiária. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.44, n.5, p.496-502, maio 2009.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 399 p.

PAULA, M. A.; SIQUEIRA, J. O. Efeito de micorrizas vesicular arbusculares no crescimento, nodulação e acúmulo de N na soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 71-178, fev. 1987.

PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. Stimulation of hyphal growth of the VA mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* by suspension cultured *Pueraria phaseoloides* cells and cell products. **New Phytologist**, v. 115, p. 69-73,1990.

PHOSPHATE UPTAKE ZONES OF MYCORRHIZAL AND NON-MYCORRHIZAL ONIONS Volume 75, Issue 3, November 1975, Pages: 555–561, L. H. RHODES and J. W. GERDEMANN Article first published online : 2 MAY 2006, DOI: 10.1111/j.1469-8137.1975.tb01419.

RAIJ, B. V. Fertilidade do solo e Adubação. Piracicaba. Associação Brasileira para pesquisa da patossa e do fosfato, **Agrônômica Ceres**, p. 343, 1991.

RAMOS, M. L. G.; KONRAD, M. L. F.; SILVA, D. E.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; BATISTA, L. M. T. Diversidade de fungos micorrízicos e colonização radicular, em forrageiras solteiras e em consórcio com milho. **Bioscl. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 2, p. 235-244, Mar./Apr. 2012.

RICHARDS, I. R.; JOHNSTON, A. E. The effectiveness of different precipitated phosphates as sources of phosphorus for plants. **Soil Use and Management**, v. 19, p. 45-49, 2001.

ROLIM NETO, F.C.; SCHAEFER, C.E.G.R.; COSTA, L.M.; CORRÊA, M.M.; FERNANDES FILHO, E.I.F. & IBRAIM, M.M. Adsorção de fósforo, superfície específica e atributos mineralógicos em solos desenvolvidos de rochas vulcânicas do Alto Paranaíba (MG). **R. Bras. Ci. Solo**, v. 28, p. 953-964, 2004.

ROMERO, A.G. F.; SIQUEIRA J.O. Atividade de flavonóides sobre esporos do fungo micorrízico *Gigaspora gigantea* in vitro. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 37, n. 7. p. 517-522, 1996.

ROMERO, A.G.F. **Avaliação agronômica de formulações de isoflavonóide estimulante da micorrização no milho (*Zea mays* L.)**. Lavras, 1999. 40p. (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas - Universidade Federal de Lavras).

SILVA JÚNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Colonização micorrízica e crescimento da soja com diferentes fungos e aplicação do isoflavonóide formononetina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 953-959, 1998.

SILVA-JUNIOR, J. P.; SIQUEIRA, J. O. Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.9, p.33-39, 1997.

SILVEIRA Adriana Parada Dias.; FREITAS, Sueli dos Santos. **Microbiota do solo e qualidade ambiental IAPAR**. Campinas, São Paulo, 2007. 312p.

SIMONS, R.; VINCKEN, J. P.; ROIDOS, N.; BOVEE, T. F. H.; IERSEL, M. V.; VERBRUGEN, M. A.; GRUPPEN, H. Increasing Soy Isoflavonoid Content and Diversity by Simultaneous Malting and Challenging by a Fungus to

Modulate Estrogenicity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 12, p.6748-.758, 2011.

SIQUEIRA, J. O. Micorrizas arbusculares: In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, p.151-194, 1994.

SIQUEIRA, J. O.; BROWN, D. G.; SAFIR, G. R.; NAIR, M. G. Field application of the VA-mycorrhiza stimulating isoflavonoid formononetin (Rhizotropin TM) on corn and soybean in Brazil. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MANAGEMENT OF MYCORRHIZAS IN AGRICULTURE, HORTICULTURE AND FORESTRY, 1992, Perth. **Proceedings...** Perth: University of Western Australia, 132p. 1992.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. p.326, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; LAMBAIS, M. R.; STÜRMER, S. L. Fungos micorrízicos arbusculares. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. p.326, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; SILVA, C. A. Matéria orgânica em solos de áreas degradadas. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p.495-524.

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. In: ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Eds). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília, EMBRAPA,1994. p.151-194.

SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotechnologia do solo.** MEC/ESAL/ FAEPE/ABEAS, Brasília, p. 125-177, 1988.

SIQUEIRA, J.O.; SAFIR, G.R.; NAIR, M.G. VA-mycorrhizae and mycorrhizal stimulating isoflavonoid compounds reduce plant herbicidiae injury. **Plant and Soil**, v. 34, p. 233-242, 1991a.

SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN JÚNIOR, O.J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESTRESSE AMBIENTAL: O milho em perspectiva, México, 1995. Anais. Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS/ México, CIMMYT/UNDP, 1995. p.240-280.

SMITH S. E.; READ D. J. (ed) **Mycorrhizal symbiosis.** Academic Press, London, 1997.

TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal.** Trad. Santarém, E.R. *et al.*, 3° ed., Porto Alegre: Artemed, 2004, p.719.

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D. **Soil fertility and fertilizers.** 4.ed. New York: Macmillan, 1995.

TSAI, S. M.; PHILIPS, D. A. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores in vitro. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 57, p.1485–1488, 1991.

TSAI, S. M.; PHILLIPS, D. A. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores in vitro. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 57, p. 1485–1488, 1991.

UNITED STATE PATENT. Method and Compositions for stimulating vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Inventors:

Gene R. Safir; Muraleedharan G. Nair; José O. Siqueira. Patent Number 5.001.603, March, 26, 1991.

VEJSADOVA, H.; SBLIKOVA, D.; HRSELOVA, H.; VANCURA, V. Effect of the VAM fungus *Glomus* sp. on the growth and yield of soybean inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 140, n. 1, p. 121-125, 1992.

ANEXOS

Anexo I. Cálculo do número de sementes por parcela e da dosagem de formononetina para inoculação das sementes de milho antes da semeadura, com densidade de semeadura de 65.000 sementes por hectare. Safra 2010/2011, cultivar AS 1551 Bt.

Doses (g ha ⁻¹)	Peso de 60.000 sementes (kg)	Forno por 1 kg de sementes (g)	Área da parcela (m ²)	Sementes por m ²	Sementes por parcela	Número de parcelas com cada tratamento	Número total de sementes por tratamento (kg)	Peso de 1.000 sementes (kg)	Peso de sementes por tratamento (kg)	Total de inoculante pesado por tratamento (g)
0	18	0	33,6	6,5	218,4	20	4368	0,3	1,310	0
25	18	1,4	33,6	6,5	218,4	20	4368	0,3	1,310	1,84
50	18	2,8	33,6	6,5	218,4	20	4368	0,3	1,310	3,67
100	18	5,6	33,6	6,5	218,4	20	4368	0,3	1,310	7,34

Anexo II. Cálculo do número de sementes por parcela e da dosagem de formononetina para inoculação das sementes de milho antes da semeadura, com densidade de semeadura de 65.000 sementes por hectare. Safra 2011/2012, cultivar AS 1565.

Doses (g ha ⁻¹)	Peso de 60.000 sementes (kg)	Forno por 1 kg de sementes (g)	Área da parcela (m ²)	Sementes por m ²	Sementes por parcela	Número de parcelas com cada tratamento	Número total de sementes por tratamento (kg)	Peso de 1.000 sementes (kg)	Peso de sementes por tratamento (kg)	Total de inoculante pesado por tratamento (g)
0	18	0	28	6,5	182	20	3640	0,3	1,092	0
25	18	1,4	28	6,5	182	20	3640	0,3	1,092	1,53
50	18	2,8	28	6,5	182	20	3640	0,3	1,092	3,06
100	18	5,6	28	6,5	182	20	3640	0,3	1,092	6,12

Anexo III. Cálculo do número de sementes por parcela e da dosagem de formononetina para inoculação das sementes de soja antes da semeadura, com densidade de semeadura de 350.000 sementes por hectare. Safra 2010/2011, cultivar Fundacep 53 RR.

Doses (g ha ⁻¹)	Peso de 350.000 sementes (kg)	Formo por 1 kg de sementes (g)	Área da parcela (m ²)	Sementes por m ²	Sementes por parcela	Número de parcelas com cada tratamento	Número total de sementes por tratamento	Peso de 1.000 sementes (kg)	Peso de sementes por tratamento (kg)	Total de inoculante pesado por tratamento (g)
0	54,34	0	18,9	35	661,5	20	13.230	0,155	2,050	0
25	54,34	0,46	18,9	35	661,5	20	13.230	0,155	2,050	0,94
50	54,34	0,92	18,9	35	661,5	20	13.230	0,155	2,050	1,88
100	54,34	1,84	18,9	35	661,5	20	13.230	0,155	2,050	3,77

Anexo IV. Cálculo do número de sementes por parcela e da dosagem de formononetina para inoculação das sementes de soja antes da semeadura, com densidade de semeadura de 350.000 sementes por hectare. Safra 2011/2012, cultivar BMX Titan RR.

Doses (g ha ⁻¹)	Peso de 350.000 sementes (kg)	Formo por 1 kg de sementes (g)	Área da parcela (m ²)	Sementes por m ²	Sementes por parcela	Número de parcelas com cada tratamento	Número total de sementes por tratamento	Peso de 1.000 sementes (kg)	Peso de sementes por tratamento (kg)	Total de inoculante pesado por tratamento (g)
0	54,34	0	28	35	980	20	19.600	0,155	3,038	0
25	54,34	0,46	28	35	980	20	19.600	0,155	3,038	1,4
50	54,34	0,92	28	35	980	20	19.600	0,155	3,038	2,8
100	54,34	1,84	28	35	980	20	19.600	0,155	3,038	5,6