

EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO E RENDIMENTO PRODUTIVO DA SOJA SUBMETIDA À ASSOCIAÇÃO DE *BRADYRHIZOBIUM* spp. e *AZOSPIRILLUM* spp.

Adriel Bossi¹, Diego Fernando de Souza Correa² e Tiago Máximo da Silva³

Resumo - A soja por ser uma oleaginosa e ter grande destaque economicamente devido a importância na alimentação humana, animal e diversas aplicações industriais consideram-se carente em estudos sobre coinoculação, para aumento de produção e redução de impactos ao meio ambiente. A fixação biológica de nitrogênio (FBN) visa uma agricultura sustentável e altas produtividades com menores custos e menos impacto ambiental, devido a essa simbiose não dependendo de adubação nitrogenada, para bons resultados exige inoculantes de alta qualidade, que deem retornos lucrativos ao produtor. Desenvolvido na fazenda Tapiratuba, município de Morro Agudo – SP, o solo da área apresenta classificação como latossolo vermelho de textura argilosa. O delineamento experimental, em blocos distribuídos inteiramente casualizados, com 4 tratamentos e 6 repetições, totalizando 24 observações, tendo 1 metro de distância de cada parcela para que não houvesse beneficiamento das espécies como *Bradyrhizobium* spp. com a associação de bactérias *Azospirillum* spp. em busca de altos rendimentos devido ao benefício da associação das bactérias, tendo por objetivo avaliar os efeitos no desenvolvimento e rendimento produtivo. Não houve diferença significativa nos tratamentos quando comparadas a inoculação e a associação das bactérias nos tratamentos. Não influenciou na otimização de nitrogênio e fitormônios para a cultura da soja, o que exige ainda mais estudos.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio, agricultura sustentável, leguminosa, simbiose, grãos.

¹ Graduando em Engenharia Agrônoma no Centro Universitário UNIFAFIBE de Bebedouro, SP. E-mail: adriel_bss1@hotmail.com

² Graduando em Engenharia Agrônoma no Centro Universitário UNIFAFIBE de Bebedouro, SP. E-mail: diegofernando_agro@outlook.com

³ Docente no Centro Universitário UNIFAFIBE de Bebedouro, SP. E-mail: tiago.maximo@unifafibe.com.br

**EFFECTS ON THE DEVELOPMENT AND PRODUCTION YIELD OF SOYBEANS
SUBMITTED TO THE *BRADYRHIZOBIUM* spp. ASSOCIATION AND
AZOSPIRILLUM spp.**

ABSTRACT - Soybean is an oleaginous and economically important crop due to its importance in human feeding, animal feeding and several industrial applications. There is a lack of studies on co-inoculation, to increase production and reduce impacts to the environment. The biological nitrogen fixation (BNF) aims at sustainable agriculture and high yields with lower costs and less environmental impact, due to this symbiosis not depending on nitrogen fertilization, for good results it requires high quality inoculants, that give lucrative returns to the producer. Developed at the Tapiratuba farm, Morro Agudo municipality - SP, the soil of the area is classified as red clayey latosol. The experimental design, in blocks totally randomized, with 4 treatments and 6 replications, totaling 24 observations, taking 1 meter of each plot so that the species did not benefit as *Bradyrhizobium* spp. with the association of bacteria *Azospirillum* spp. in search of high yields due to the benefit of the association of bacterium, aiming to evaluate the effects on development and productive yield. There was no significant difference in the treatments when compared to the inoculation and the association of the bacterium in the treatments. It did not influence the optimization of nitrogen and phytohormones for the soybean crop, which requires even more studies.

Key-words: Biological nitrogen fixation, sustainable agriculture, leguminous symbiosis, grains.

INTRODUÇÃO

A cultura da soja, *Glycine max* Merril, vem ganhando cada vez mais espaço nas atividades agrícolas. Segundo dados da EMBRAPA (2016/2017) esta cultura ganha destaque no mercado mundial e o Brasil é o segundo maior produtor do mundo, sendo é a principal oleaginosa cultivada no país, além do Brasil estar em quarto lugar mundialmente como maior consumidor da soja onde o consumo da mesma acaba ficando somente atrás do consumo do milho, trigo e arroz.

Para produção de grãos, a cultura da soja exige alta extração de nitrogênio sendo uma das plantas cultivadas com maior absorção desse nutriente, é estimado que para cada 1.000 kg de grãos produzido seja necessário 80 kg de nitrogênio. A alta demanda de nitrogênio extraída pela cultura acaba inviabilizando fazer adubações nitrogenadas, devido aos altos custos de produção com insumos nitrogenados. As quantidades de nitrogênio que a soja é capaz de fixar através da FBN (fixação biológica de nitrogênio) podem ser de até 300 kg nitrogênio por ha⁻¹ fornecendo até 94% das necessidades da safra (HUNGRIA et al., 2006).

Sendo assim, nitrogênio é um nutriente que pode ser obtido pela planta através do solo, pela decomposição de matéria orgânica, processos naturais independentes da ação de organismos vivos; fertilizantes nitrogenados, e o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico, processo realizado por microrganismos que habitam no solo (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Neste contexto, a introdução das bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp, com a finalidade de promover a fixação biológica de nitrogênio, ganhou forças por disponibilizar nitrogênio no solo e assim garantir altos índices de produção da cultura da soja, e também melhor proteção da planta contra carência de nitrogênio, além de atribuir melhorias na qualidade do grão. Segundo Fagan et al. (2007) o uso de inoculantes contendo estirpes de *Bradyrhizobium* spp. levou a uma economia anual de fertilizantes nitrogenados a patamares de US\$ 3,2 bilhões comparados ao não uso de inoculantes.

Embora tenha-se muita discussão sobre a nomenclatura e classificação da família Rhizobiaceae, os rizóbios são classificados em seis gêneros: *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Mesorhizobium* sp., *Sinorhizobium* sp., *Azorhizobium* sp. e *Allorhizobium* sp. Sendo estes fixadores de nitrogênio atmosférico em nódulos presente nas raízes o que se diferencia de outras bactérias diazotróficas presentes nas raízes de plantas da Família Fabaceae (FREIRE, 1990). No Brasil a espécie mais utilizada é a mistura do *B. japonicum* e *B. elkanii* (RUMJANEK, 1993).

A partir da interação simbiótica de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. e o sistema radicular da planta, a qual excreta compostos que agem como substância quimiotáticas e estimulam a multiplicação de bactérias, pode ser encontrado os nódulos das bactérias que fixam o nitrogênio existente no ar atmosférico, fornecendo-o para planta que através do processo de simbiose, a bactéria recebe em troca os hidratos de carbono (SEDIYAMA; SILVA; BORÉM, 2015).

Além do Grupo de microrganismos das bactérias fixadoras de nitrogênio *Bradyrhizobium* spp., também existe o grupo dos microrganismos de bactérias promotoras do crescimento, bactérias do gênero *Azospirillum* spp., que através da produção de hormônios de crescimento proporciona o melhor desenvolvimento do sistema radicular, aumentando volume do solo explorado pela raiz, e assim influenciando na nodulação da soja e na eficiência da absorção de nutrientes (BRACCINI et al., 2016).

Hungria et al. (2013) considera que através da associação entre *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. pode ocorrer melhorias das culturas a respeito da demanda de sustentabilidade agrícola econômica social e ambiental. Porém ainda a poucos estudos sobre esse assunto no Brasil tornando necessárias realizações de ensaios que associem em condições brasileiras.

De acordo com o contexto acima, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos no desenvolvimento e rendimento produtivo da soja quando submetida à associação de *Bradyrhizobium* spp e *Azospirillum* spp.

REFERENCIAL TEÓRICO

Origem e expansão territorial da cultura da soja

A soja é uma cultura originária do leste da Ásia de uma região conhecida como Manchúria que se localiza mais precisamente no nordeste da China, chegando ao ocidente no final do século XV, conforme sua importância e comercialização aumentavam foi levada para o sul da China, Coréia e Japão e sudeste da Ásia (BEZERRA et al., 2015).

Segundo Sedyama et al. (2009) no Brasil a produção de grãos da leguminosa teve início no Rio Grande do sul, em torno de 1935, sendo cultivada em uma área de 702 hectares, logo ganhou espaço de expansão para as regiões Sudeste, Norte e Nordeste; inicialmente teve finalidade de cultura forrageira posteriormente, e no sul do Brasil produzida unicamente com finalidade *in natura* na alimentação de animais como suínos, depois objetivou-se na produção de grãos para extração do óleo, e na década de 1950 foi construída a primeira indústria de extração de óleo com fins alimentícios que passou a ser mais atrativo na produção da cultura da soja.

Classificação e aspectos morfológicos

Taxonomia

Para facilitar a classificação de plantas temos a taxonomia que tem por objetivo de facilitar os estudos de diferentes grupos taxonômicos, a cultura da soja *Glycine max* Merrill em razão da importância econômica houve interesse em entender as relações taxonômicas com outras morfológicamente relacionada (MATSUO, 2015). Conforme Judd et al. (2009), a espécie *G. max* pertence a classe das Dicotyledoneae, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Glycininae.

Caraterísticas da planta

É uma cultura herbácea, anual, com germinação epígia da semente, o ciclo pode ser de 70 a 200 dias classificando em precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio, podendo ter crescimento (determinado, semideterminado ou indeterminado), o cultivo inicia-se com o contato da semente ao solo desde que apresente boas condições de temperatura e umidade, a radícula se desenvolve rapidamente com geotropismo positivo do ápice, ou seja, penetrando no solo no sentido vertical e ao mesmo tempo o hipocótilo se expõe a superfície do solo (germinação epígea), logo após o tegumento se desprende da semente antes de emergir do solo; sendo assim os cotilédones entram em contato com a luz iniciando a formação de pigmentos fotossinteticamente ativos (LERSTEN; CARLSON, 2004).

Tem diversos fatores que afeta a germinação, sendo eles intrínsecos e extrínsecos, tratando dos intrínsecos a semente: genótipo, vitalidade e longevidade, viabilidade e maturidade, potencial fisiológico e qualidade sanitária, e os extrínsecos: água, temperatura, luz, oxigênio, condições do solo e profundidade da semente no solo (NOGUEIRA, 2013).

Raiz, caule e folhas.

O sistema radicular da cultura da soja é axial tendo a raiz principal e secundária, a radícula cresce para baixo sendo a principal e em seguida as

ramificações laterais que se desenvolvem as secundárias (SEDIYAMA et al, 1985). Segundo Abreu et al. (2004) a planta é capaz de utilizar água armazenada em maiores profundidades, por isso é de grande importância para o desenvolvimento da planta, o aprofundamento do sistema radicular se dá por ser bem flexível, lubrificada e altera a direção para ultrapassar obstáculos, esse desenvolvimento do sistema radicular ocorre por meios dos macrósporos ou espaços vazios entre agregados.

Encontra-se nas raízes uma interação simbiótica de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp., onde percebe-se nódulos, que fixam nitrogênio do ar atmosférico fornecendo para a planta, recebendo em troca os hidratos de carbono (NOGUEIRA et al. 2009). Este processo de nodulação inicia-se com a excreção de substâncias quimiotática pela planta estimulando a multiplicação de bactérias na rizosfera, sendo visíveis os nódulos nos estádios V1 e V2 e com interior róseo sinal que está ativo na fixação de nitrogênio atmosférico e por causa da leg-hemoglobina (FINOTO et al. 2009).

Segundo Nogueira et al. (2009) o caule tem crescimento ortótropo, o eixo embrionário da origem a o caule principal e cada cultivar depende das constituições genética e espaço para ramificações, com o desenvolvimento do epicótilo, são formados os internódios em direção ao ápice e em cada nó desenvolve uma folha, na axila desta, uma gema lateral. E estatura dessas plantas varia conforme variedade e das condições do ambiente, sendo o ideal entre 60 a 110 centímetros, para facilitar a colheita mecanizada e evitar acamamento (NEPOMUCENO, 2017).

Segundo Sedyama (2015) a soja durante o desenvolvimento pode apresentar quatro tipos de folhas: cotiledonares, unifolioladas, trifolioladas e os prófilos, a coloração, na maioria das cultivares é verde pálido e em algumas outras mais escuras, e os folíolos podem ser classificados em cinco formas: lanceoladas estreita, lanceolada, triangular, oval-pontiaguda ou oval-arredondada em três tamanhos: pequenas, médio ou grande.

Importância econômica da soja no Brasil

Devido a grandes importâncias na alimentação humana, animal e diversas aplicações industriais, a demanda pelo grão da soja será crescente para atender o mercado nos próximos anos, por este motivo, a perspectiva futura para a soja é a melhor possível; a soja é uma oleaginosa que vem tendo um grande destaque

economicamente, devido a importância na alimentação, tendo um baixo custo e um ótimo valor nutricional, vem tendo grande apreciação e interesse econômico por ser uma fonte primária de proteína e óleo vegetal (SEDIYAMA et al., 2015).

O Brasil ocupa o segundo lugar de maior produtor mundial de soja, com produção total na safra 2016/2017 de 114.07 milhões de toneladas em uma área plantada de 33.909,4 hectares com uma produtividade de 3.364 kg por hectare, sendo as principais regiões produtoras de soja do Brasil as regiões Norte, Nordeste, Centro Oeste, Sudeste, Sul, Norte/Nordeste e Centro Sul, onde os estado de Mato Grosso é o maior produtor brasileiro de soja, com uma produção de 30,514 milhões de toneladas o segundo maior produtor sendo estado do Paraná, com produção de 19,534 milhões de toneladas e Rio grande do Sul o terceiro maior produtor com 18,714 milhões de toneladas de soja, juntos esses estados representam 60,32% da produção brasileira de soja, nesta última safra 2016/2017 a maior produtividade por unidade de área, foi registrada no estado do Paraná com 3.731 kg por hectare (CONAB, 2017).

O estado do Mato Grosso sendo o maior produtor nacional e que possui as mais avançadas tecnologias de produção do país, não obtém a maior média de produtividade, devido ao sistema de produção adotado, onde a realização da segunda safra, os produtores de soja utilizam cultivares de ciclo mais curto, ocasionando menos produtividade por unidade de área acarretando oscilação na produtividade (SEDIYAMA et al., 2015).

Fixação biológica de nitrogênio em soja

O nutriente mais abundante na atmosfera terrestre e também o nitrogênio é essencial para crescimento e desenvolvimento das plantas, constituindo muitos componentes celulares como: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos é constituinte da molécula de clorofila onde se realiza a fotossíntese para produção de assimilados de grande importância no processo de manutenção e desenvolvimento celular (MALAVOLTA et al., 1997).

A Fixação biológica de Nitrogênio na cultura da soja no Brasil é essencial gerando grandes economias de cerca de US\$ 8,7 bilhões com fertilizantes nitrogenados no setor agrícola, além de contribuir com o meio ambiente evitando contaminações dos lençóis freáticos causada pelo uso excessivo de fertilizantes

nitrogenados, com a ocorrência de chuvas intensas causando a lixiviação do íon (FAGAN et al., 2007).

A fixação biológica de nitrogênio visa uma agricultura sustentável com altas produtividades com menor custo e benefício e menos impacto ambiental, a estimativas que cerca de 50% da entrada de nitrogênio fixado na terra, ocorre graças à fixação biológica de nitrogênio realizada pela simbiose de rizóbios com leguminosas, devido a essa fixação, a soja não depende de adubação nitrogenada, tendo altas produtividades apenas com o nitrogênio fixado do ar, dispensando totalmente a utilização de nitrogênio na adubação, permitindo substancialmente economia com fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al., 2007).

No processo de fixação biológica, o nitrogênio atmosférico é hidrogenado e convertido para amônia (NH_3) e metabolizado por microrganismos, denominados diazotróficos microrganismos procariotos que realizam o processo de redução por conterem a enzima nitrogenase, as variações nas taxas de fixação ocorre de acordo com a espécie de bactéria, interação entre rizóbio-planta e cultivares de plantas etc., estimativas de fixação indicam valores de 100 a 300 kg por hectare ano de nitrogênio fixado em plantas leguminosas forrageiras e cerca de 80 a 200 kg por hectare ano de nitrogênio na cultura da soja (CANTARELLA, 2007).

Inoculação de sementes de soja

Na cultura da soja são recomendadas quatro estirpes, para realização da inoculação da semente, duas espécies *Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 ou SEMIA 5080 e duas das espécies *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019, sendo de suma importância que os inoculantes sejam de alta qualidade, para que o processo de inoculação, de retornos lucrativos ao produtor, e possível observar a boa formação de nodulação em média de 10 a 12 dias após a emergência. Após a germinação das sementes as raízes exsudam substâncias químicas que atraem os rizóbios resultando na infecção das raízes pelos rizóbios provocando a nodulação, os nódulos ativos apresentam coloração rosada indicando sucesso na fixação de nitrogênio, a cor e resultado da leg-hemoglobina, substância que transporta o oxigênio para as células fixadoras nos nódulos (HUNGRIA, 2006).

Neste processo de fixação biológica de nitrogênio a ligação tripla que existe entre os dois átomos de nitrogênio o qual é abundante na atmosfera é quebrada, na

forma inorgânica amônia, a reação de redução do nitrogênio para amônio (NH₄) ocorre através dos microrganismos que contêm enzima nitrogenase e então é incorporado ao metabolismo do microrganismo fixador e após isso sendo aprisionado nas cadeias de compostos orgânicos sendo aproveitado pela planta (RAIJ, 2011).

Inoculação com bactérias *Azospirillum spp*

No solo encontram-se diversos tipos de rizobactérias de vida livre ou até mesmo associadas às raízes de plantas, essas bactérias são promotoras do crescimento em plantas, com os estudos das bactérias diazotróficas associativas, pertencem ao gênero *Azospirillum spp.*, é endofítica em gramíneas, e associativa em culturas leguminosas, a utilização como inoculantes passou a ser recomendadas em culturas como a do milho e trigo e percebeu-se acréscimos de 26 a 31 % na produtividade de grãos (HUNGRIA, 2011).

O *Azospirillum* apresenta as seguintes vantagens: antagonismo e agentes patogênicos, não se obtêm problema em questão a solos e clima, é produtor de fitormônios e não é sensível a variações de temperaturas; quando utilizado isoladamente mostrou-se resultados benéficos devido à capacidade de produzir fitormônio como auxinas, giberelinas e citocianinas em condições *in vitro* que resultam em maiores desenvolvimentos de plantas (ARAÚJO, 2008).

Conforme Hungria (2010), a colonização por estas bactérias tem proporcionado maior crescimento e desenvolvimento no sistema radicular aumentando a eficiência da absorção provocada pelo fitormônio produzido. Correa et al.; Barassi et al. (2008), também há uma maior tolerância a ataques de agentes patogênicos devido a planta estar bem nutrida, tornando-se mais vigorosa e produtiva, e também aos estresses a salinidade e seca, relatou-se melhoria nos parâmetros fotossintéticos das folhas e incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, também maior teor de prolina na parte aérea e raízes, aumentado o potencial hídrico, mais elasticidades da parede celular e produção de biomassa.

Associação de *Bradyrhizobium spp.* e *Azospirillum spp.* em Soja

A associação de bactérias é um grande aliado no sistema de produção de soja, é uma tecnologia que consiste na utilização das bactérias de *Bradyrhizobium* spp. em associação com as bactérias de *Azospirillum* spp., visando uma demanda de altos rendimentos com sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental, também propicia muitos benefícios para soja, entre os mais importantes destaca-se o aumento da área radicular da planta que permitiu a mesma explorar melhor o solo e assim obter melhor aproveitamento dos fertilizantes e até mesmo favorecer a planta em situações de stress hídrico devido aumento radicular a planta alcança maior profundidade explorando melhor o solo e com isso melhor absorção de água, de modo que ocorre aumento no potencial de nodulação (HUNGRIA, 2017).

De acordo com Hungria (2013), a realização da reinoculação corretamente ano a ano na implantação da cultura da soja, proporciona um aumento no rendimento de grãos de 8,4% em comparação as áreas de cultura da soja onde não são realizadas a reinoculação para nova implantação da cultura, e onde houve associação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* a produtividade teve um aumento de 16,1%, a tecnologia de associar bactérias em soja também dispensa o uso de fertilizantes nitrogenados, a associação com *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp., é uma prática que deve ser feita continuamente todo ano, para garantir o sucesso na obtenção de maximização dos benefícios.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Tapiratuba localizada no município de Morro Agudo - SP, situado na latitude de 20° 43' 53" S e longitude de 48° 03' 28" W, sendo altitude média de 546 metros, e com clima Cwa (tropical, inverno moderado e seco, verão quente e chuvoso), de acordo com a classificação de Köppen.

A precipitação anual média da área apresenta 1.449 mm, com temperaturas máximas de 29,4 °C e mínimas 12 °C de acordo com os dados da Climate-Data (2017). O solo da área apresenta classificação como Latossolo Vermelho distrófico típico, textura argilosa (SANTOS, 2013). Foram retiradas coletas de amostras de solo, com vistas a detectar os atributos químicos presente na camada 0-25 cm.

Com base nos resultados da análise química do solo apresentado na Tabela 1, e na produtividade esperada de 3,0 a 3,4 t.ha⁻¹ conforme Raij et al. (1997), na

adubação de plantio foi aplicado 30 kg.ha⁻¹ de P₂O₅, e 30 kg.ha⁻¹ de K₂O, nas formas de P₂O₅ (fosforo de liberação controlada) via sulco e cloreto de potássio a lanço.

Tabela 1. Atributos químicos do solo anteriormente à implantação do experimento.

¹ P resina	M.O.	pH	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	H+Al	SB	CTC	V
mg dm ⁻³	g dm ⁻³	CaCl ₂	----- mmolc dm ⁻³			-----		%	
46	34	5,3	10,	39	17	40	66,1	106	62

¹P resina – fósforo; M.O. – matéria orgânica; H+Al – acidez potencial; SB – soma de bases; CTC – capacidade de troca catiônica; V – saturação por bases. Fonte: Ribersolo (2017).

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, com 4 tratamentos e 6 repetições, totalizando 24 observações.

O experimento foi implantado na área em sistema manual de semeadura, a densidade de plantio foi de 18 sementes por metros lineares de sulco, com espaçamento de 0,5 m entrelinha, com objetivo de se obter um plantel final de 370 mil plantas por hectare, sendo que cada parcela experimental foi composta de 5 linhas de plantio com 6 metros de comprimento e distanciadas uma das outras a 0,5 metros, sendo as 3 fileiras centrais, utilizadas para avaliação dos resultados e as outras 2 linhas foram descartadas como bordaduras que serviram de limitações entre as parcelas.

Antes a semeadura, as sementes foram inoculadas com dois tipos de inoculantes líquidos com vistas em fazer análise comparativas, sendo uma inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e SEMIA 5080 100 ml para 50 kg de sementes, na concentração mínima de 5,0 x 10⁹ unidades formadora de colônia (UFC) e o outro tratamento inoculado com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 100 ml para 50 kg de sementes, na concentração mínima de células viáveis por ml de 2,0 x 10⁸ UFC/ml e o outro tratamento as sementes foram coinoculadas com os dois inoculantes *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 e SEMIA 5080 100 ml para 50 kg de sementes *mais* *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 100 ml para 50 kg de sementes, permanecendo a testemunha não inoculada. Os tratamentos estão descritos de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos constituídos para três inoculações.

Inoculantes	Tratamentos
Testemunha (Não inoculada)	(T1) Sem inoculante
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	(T2) Brad
<i>Azospirillum brasiliense</i>	(T3) Azos
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> + <i>Azospirillum brasiliense</i>	(T4) Brad + Azos

Fonte: Elaboração própria (2017).

Durante o desenvolvimento da cultura foram realizados alguns tratamentos culturais para controle de pragas e doenças. No estágio V6, aplicação de fungicida com princípio ativo (*trifloxistrobina*) 150 g/L (15,0 % m/v) e (*protioconazol*) 175 g/L (17,5 % m/v), pela ocorrência de algumas doenças fúngicas como a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e o oídio (*Microsphaera diffusa*), no estágio R3, controle de algumas pragas como o percevejo da soja, percevejo verde (*Nezara viridula*), percevejo-marrom (*Euschistus heros*) e vaquinha verde amarela (*Diabrotica speciosa*) com inseticida cujo princípio ativo (*tiametoxam*) 141 g/L (14,1% m/v) e (*lambda-cialotrina*) 106 g/L (10,6% m/v) e capina manual para controle de ervas daninhas.

Ao 23º dia foi avaliado o número de população de plantas, e no estágio R7 (ponto de maturação fisiológica) foi contado em 10 plantas por parcela o número de vagens por planta. E no estágio R8 com 95% das vagens maduras com 13% de umidade, iniciou-se a colheita dos grãos para avaliar o rendimento de grãos de cada tratamento, transformando esse resultado em rendimento de produção por hectare.

Os dados foram submetidos à análise de variância, por meio do teste F ($p < 0,05$), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o software estatístico AGROSTAT (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2015).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Analisando-se a Tabela 3 observou-se que o resultado da variante altura de plantas não houve diferença significativa quando comparada entre os tratamentos,

isso pode ter ocorrido devido à competição do *Azospirillum brasiliense* com as bactérias diazotróficas nativas e com a microflora do solo e possivelmente houve competição entre as bactérias do gênero *Bradyrhizobium japonicum* ou mesmo espécies nativas, limitando o efeito benéfico do *Azospirillum brasiliense* sobre o desenvolvimento e altura das plantas nas condições deste estudo.

Tabela 3. Media de altura de plantas, numero de vagens e peso de 100 grãos, de plantas de soja quando inoculadas ou coinoculadas com bactérias *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*.

Tratamentos	Altura das plantas (m) ¹	Nº de vagens/ planta ¹	Peso de 100 grãos (g) ¹
Sem inoculante	0,9083 a	57,23 a	16,54 a
<i>Bradyrhizobium</i> (Brad)	0,9250 a	62,20 a	16,66 a
<i>Azospirillum</i> (Azos)	0,9283 a	53,00 a	16,86 a
Brad + Azos	0,9017 a	61,97 a	17,14 a
CV (%)	2,43	12,57	4,12

¹ As médias seguidas pela mesma letra não se diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.
CV= Coeficiente de variação.

Comparando com o trabalho Zuffo (2016) que utilizou tratamentos das bactérias individuais e associação de *Azospirillum brasilense* com *Bradyrhizobium japonicum*, se assemelha com o presente trabalho e não houve interferência na produtividade e caracteres agrônômicos em cultivares de soja RR[®].

Também não notou diferença estatística no número de vagens por planta e peso de 100 grãos (g) indicando que a inoculação com *Bradyrhizobium* e a associação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* não influenciaram no número de vagens por planta e no peso de 100 grãos (g) não ocorrendo nenhum tipo de beneficiamento da coinoculação em função da fixação de nitrogênio provinda das bactérias para a cultivar RR[®] nos tratamentos.

Estes resultados são similares com estudos realizados por Battisti e Simonetti (2014) que avaliando o número de vagem por planta não encontraram diferença significativa na comparação da associação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* porem obtiveram maior peso de 1000 grãos quando utilizaram a inoculação de *Bradyrhizobium* e da coinoculação com 100 ml de *Azospirillum* em relação aos tratamentos contendo 150 mL/50 kg⁻¹.

Em todas as variantes avaliadas foi observado que as plantas sem inoculantes *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e sem qualquer tipo de adubação nitrogenada obtiveram bom desenvolvimento, isto pode ter ocorrido e estar relacionado com as bactérias nativas do solo bem como a matéria orgânica presente neste solo.

Avaliando os parâmetros de produtividade e de grãos (Tabela 4) não houve diferenças significativas entre os tratamentos utilizados.

Tabela 4. Produtividade final de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) e sacas por hectare ($\text{sc}\cdot\text{ha}^{-1}$) de soja em resposta de coinoculação com bactérias *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium*.

Tratamentos	Produtividade de grãos ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) ¹	Produtividade de grãos ($\text{sc}\cdot\text{ha}^{-1}$) ¹
Sem inoculante	4484,58 a	74,74 a
Bradyrhizobium (Brad)	4470,83 a	74,51 a
Azospirillum (Azos)	4444,17 a	74,06 a
Brad + Azos	4639,17 a	77,32 a
CV (%)	9,69	9,69

¹ As médias seguidas pela mesma letra não se diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. CV= Coeficiente de variação.

Esses resultados podem ser devido a alta fertilidade do solo conforme análise de solo (Tabela 1) e pela utilização de resíduos da cultura anterior, no caso a cana de açúcar, deixando com que as bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* não desempenhasse potencial. Conforme relatado por Bárbaro et al. (2007) e outros resultados obtidos em vários local do Brasil, a adubação contendo nitrogênio promove redução na nodulação e outros aspectos agronômicos da planta, não sendo viável a adubação nitrogenada para a cultura.

A produção media da região sudeste da safra 17/18 segundo Conab (2018) é de $3.546 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, sendo 23,3 % inferior quando comparada a produção média deste experimento.

Embora não apresente diferença estatisticamente entre os tratamentos para a produtividade, há uma diferença numérica de $164,5 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ nos valores relatado por

Battisti e Simonetti (2014), quando comparadas a sem inoculação e a coinoculação, enquanto no presente trabalho obteve 154,6 kg.ha⁻¹ (tabela 4).

Estes dados confirmam os resultados também obtidos por Bárbaro et al. (2009), não refletindo no aumento de produtividade quando utiliza a coinoculação com *Azospirillum*. Como não se torna viável a coinoculação, está de acordo que a utilização das bactérias deve conter somente *Bradyrhizobium* que é um meio de garantir a bactéria no solo e não realizar a adubação nitrogenada na cultura da soja.

CONCLUSÃO

Nas condições de execução deste trabalho não houve influência das bactérias quando submetida à associação de *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. no desenvolvimento e produtividade da soja.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente á Deus, que em sua infinita sabedoria colocou força, em nossos corações para vencermos mais essa etapa de nossa vida.

Agradecemos aos nossos familiares e amigos, que nunca negaram palavras de força, incentivo e otimismo ao longo da jornada acadêmica. Principalmente ao Vinicius de Freitas, Maicon Leite, Oscar Michel, Osmar Teixeira e Paulo Almeida, que participou diretamente na realização deste trabalho.

Agradecemos a todos os professores, especialmente ao Prof^o. Dr. Tiago Maximo, que nos deu suporte com suas correções e incentivos. Ao pessoal da biblioteca meu muito obrigado.

Agradecemos ao Proprietário da fazenda Tapiratuba Sr. Sergio Serio e administrador Fabio Cardoso, pela disponibilização da área e recursos para que esse trabalho fosse realizado.

E a todos que de uma forma direta ou indireta fizeram parte da nossa formação, o nosso muito obrigado.

REFERÊNCIAS

ABREU, S. L.; REICHERT, J. M.; REINERT, D. J. Escarificação mecânica e biológica para redução da compactação em Argissolos franco-arenoso sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 28, p. 519-531, 2004.

ARAÚJO, S. C. Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho. **Revista informações agrônômicas**, Piracicaba, n. 122, p. 4-6, 2008.

BARASSI, C. A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L. E.; CASANOVAS, W. M.; PEREYRA, M. A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el creciment vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 49-59, 2008.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C. BÁRBARO JÚNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 01-07, 2009.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO, JÚNIOR, W. 2015. **AgroEstat** - Sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos versão 1.1.0.712. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015.

BATTISTI, A. M.; SIMONETTI, A. M. M. Inoculação e coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista Cultivando o saber**, v. 8, n. 3, p. 294 – 301, 2014.

BEZERRA, A. R. G.; SEDYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M. M. importância econômica. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (Ed.). **Soja: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, p. 9-26, 2015.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K.; LIMA, L. H. S.; PICCININ, G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F et al.. **Fertilidade do solo**. 1. ed. Viçosa MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 395-397.

CARLSON, J.B.; LERSTEN, N.R. Reproductive morphology. In: BOERMA, R.; SPECHT, J.E. (Ed.). **Soybeans: improvement, production, and uses**. [S.1.]: American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc. Soil Science Society of America, Inc., p. 15-27, 2004.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2016/2017**: Décimo segundo levantamento. Brasília, Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento, 2017. 80 p. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 08 out. 2017.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2018/2019**: Primeiro levantamento. Brasília, Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento, 2018. 80 p. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 12 out. 2018.

CORREA, O. S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 87-95, 2008.

EMBRAPA. **Fixação Biológica de Nitrogênio na Cultura da Soja**. ISSN:1516-7860 ISSN:1517-0187. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/564416/fixacao-biologica-do-nitrogenio-na-cultura-da-soja>> Acesso em 08 out.2017.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMOM, J.; DOURADO, N. D.; MULLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - Revisão. **Revista da FZVA** , vol. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FINOTO, E. L.; SEDIYAMA, T. ; BARROS, H. B. Fixação biológica de nitrogênio e inoculação com *Bradyrhizobium*. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Londrina, PR: Mecnas, p. 59-69, 2009.

FREIRE, J. R. J. Fixação do nitrogênio pela simbiose rizóbio/leguminosas. CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**., 1990.

HUNGRIA, M.; FRANCINI, J. C.; CRISPINO, C.C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; ARIHARA, J. Nutrição de nitrogênio da soja no Brasil: contribuições de fixação biológica de N₂ e fertilizante N para produção de grãos. **Canadian Journal of Plant Science** , vol. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil, 33, 2013, Londrina. **Resumos expandidos**... Brasília, DF: Embrapa, 2013.

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

HUNGRIA, M. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Washington, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: uma tecnologia ambientalmente sustentável e economicamente bem sucedida. In: Embrapa Soja-Artigo em Comissão de Nutrição, Fertilidade e Biologia dos Solos. In:XXXVI Reunião de pesquisa de soja 2017, Londrina. **Resumos expandidos**... Londrina, PR: Embrapa, 2017. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/88704/1/Tecnologia-de-coinoculacao-da-soja-com-Bradyrhizobium-e-Azospirillum-incrementos-no-rendimento-com-sustentabilidade-e-baixo-custo.pdf>> Acesso em:10 out. 2017.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, L. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja. Componente essencial para a competitividade de produto brasileiro. **Documentos. Embrapa Soja**, n. 283, 2007. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/468512/a-importancia-do-processo-de-fixacao-biologica-do-nitrogenio-para-a-cultura-da-soja-componente-essencial-para-a-competitividade-do-produto-brasileiro>> Acesso em 08 out. 2017.

JUDD, W. S.; CAMPELL, C.S.; KELLOGG, E. A.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal, um enfoque filogenético**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

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

MATSUO, E.; FERREIRA, S. C.; SEDIYAMA, T. Botânica e fenologia. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (Ed.). **Soja: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, p. 27-53, 2015.

NEPOMUCENO, A. L; FARIAS, J. R. B; NEUMAIER, N. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_24_271020069131.html>. Acesso em 08 Out. 2017.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R. C. T.; DESTRO, D. Estádios de desenvolvimento. In SEDIYAMA, T. (Ed). **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Londrina, PR: Mecenias, 2013. p. 15-44.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; BARROS, H. B.; TEIXEIRA, R. C. Morfologia, crescimento e desenvolvimento. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina, PR: Mecenias, 2009. p. 7-16.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. 2. ed. Piracicaba: IPNI, 2011. 420 p.

RAIJ, B.V; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.) **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).

RUMJANEK, Norma G. et al. Common soybean inoculant strains in Brazil are members of *Bradyrhizobium elkanii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 12, p. 4371-4373, 1993.

SANTOS, G. H. **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio à colheita**. 1. ed. Minas Gerais: UFV, 2015. 333p.

SEDIYAMA, T. **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Londrina, PR: Mecenias, p. 59-69, 2009.

SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M. G.; SEDIYAMA, C. S.; GOMES, J. L. L. **Cultura da soja** – Parte I. Visçosa, MG: Impr. Univer., ufv, 1985. 96 p.

ZUFFO, A. M. Aplicações de *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. 2016. 101 p. **Tese** (Doutorado e Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras 2016.