

**Inoculação e co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja**

**Inoculation and co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in soybean culture**

**Inoculación y coinoculación de *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* en cultivo de soja**

Recebido: 06/04/2020 | Revisado: 19/04/2020 | Aceito: 21/04/2020 | Publicado: 22/04/2020

**Felipe Gomes de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4449-3049>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [felipe.gomes@cerradinho.com.br](mailto:felipe.gomes@cerradinho.com.br)

**Elícia Lidiane Santos da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7968-3435>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [eliciasilva6@gmail.com](mailto:eliciasilva6@gmail.com)

**Rita de Cassia Félix Alvarez**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1655-9939>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [ritacfalvarez@gmail.com](mailto:ritacfalvarez@gmail.com)

**Mayara Santana Zanella**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0108-1768>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [may\\_tate@hotmail.com](mailto:may_tate@hotmail.com)

**Sebastião Ferreira de Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5693-912X>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: [sebastiao.lima@ufms.br](mailto:sebastiao.lima@ufms.br)

**Resumo**

A co-inoculação é uma prática utilizada com frequência no Brasil por proporcionar resultados positivos na cultura da soja. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da co-inoculação e as formas de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* sobre a cultura

da soja. O experimento foi conduzido, nas safras agrícolas de 2017/18 e 2018/19, no Município de Chapadão do Sul - MS. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com sete tratamentos: testemunha (não inoculada e sem nitrogênio), *Bradyrhizobium* na semente (100 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* no sulco (250 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* na semente + *Azospirillum* no sulco (100 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* no sulco + *Azospirillum* no sulco (250 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>); *Bradyrhizobium* na sementes + *Bradyrhizobium* no sulco (100 mL ha<sup>-1</sup> + ); *Azospirillum* na semente + *Bradyrhizobium* no sulco (100 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>), com quatro repetições. Os valores obtidos para altura de plantas, índice relativo de clorofila e massa de cem grãos não superaram a testemunha com o uso de *B. japonicum* e *A. brasilense* aplicados em sementes ou sulcos, inoculados ou co-inoculados, nas duas safras estudadas. A produtividade de grãos de soja foi favorecida tanto pela inoculação de *B. japonicum* nas sementes como pela co-inoculação em sulco.

**Palavras-chave:** Teor de nitrogênio; Fixação biológica; Inoculação.

### Abstract

Co-inoculation is a practice frequently used in Brazil because it provides positive results in soybean culture. The objective of this work was to evaluate the effect of co-inoculation and the ways of applying *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean culture. The experiment was carried out in the 2017/18 and 2018/19 agricultural seasons in the municipality of Chapadão do Sul - MS. The experimental design used was randomized blocks, with seven treatments: control (not inoculated and without nitrogen), *Bradyrhizobium* in the seed (100 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* in the furrow (250 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* in the seed + *Azospirillum* in the groove (100 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>), *Bradyrhizobium* in the groove + *Azospirillum* in the groove (250 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>); *Bradyrhizobium* in the seeds + *Bradyrhizobium* in the furrow (100 mL ha<sup>-1</sup> + ); *Azospirillum* in the seed + *Bradyrhizobium* in the furrow (100 mL ha<sup>-1</sup> + 250 mL ha<sup>-1</sup>), with four replications. The values obtained for plant height, relative chlorophyll index and mass of one hundred grains did not exceed the control with the use of *B. japonicum* and *A. brasilense* applied to seeds or furrows, inoculated or co-inoculated, in the two studied crops. The productivity of soybeans was favored both by inoculation of *B. japonicum* in the seeds and by co-inoculation in furrow.

**Keywords:** Nitrogen content; Biological fixation; Inoculation.

## Resumen

La coinoculación es una práctica frecuentemente utilizada en Brasil porque proporciona resultados positivos en el cultivo de soja. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la coinoculación y las formas de aplicación de *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasiliense* en el cultivo de soja. El experimento se llevó a cabo en las temporadas agrícolas 2017/18 y 2018/19 en el municipio de Chapadão do Sul - MS. El diseño experimental utilizado fue bloques al azar, con siete tratamientos: control (no inoculado y sin nitrógeno), *Bradyrhizobium* en la semilla ( $100 \text{ mL ha}^{-1}$ ), *Bradyrhizobium* en el surco ( $250 \text{ mL ha}^{-1}$ ), *Bradyrhizobium* en la semilla + *Azospirillum* en el surco ( $100 \text{ ml ha}^{-1} + 250 \text{ ml ha}^{-1}$ ), *Bradyrhizobium* en el surco + *Azospirillum* en el surco ( $250 \text{ ml ha}^{-1} + 250 \text{ ml ha}^{-1}$ ); *Bradyrhizobium* en las semillas + *Bradyrhizobium* en el surco ( $100 \text{ ml ha}^{-1} +$ ); *Azospirillum* en la semilla + *Bradyrhizobium* en el surco ( $100 \text{ ml ha}^{-1} + 250 \text{ ml ha}^{-1}$ ), con cuatro repeticiones. Los valores obtenidos para la altura de la planta, el índice relativo de clorofila y la masa de cien granos no excedieron el control con el uso de *B. japonicum* y *A. brasilense* aplicado a semillas o surcos, inoculados o co-inoculados, en los dos cultivos estudiados. La productividad de la soja fue favorecida tanto por la inoculación de *B. japonicum* en las semillas como por la co-inoculación en el surco.

**Palabras clave:** Contenido de nitrógeno; Fijación biológica; Inoculación.

## 1. Introdução

A cultura da soja é hoje a mais importante do agronegócio mundial. Em 2018, movimentou aproximadamente 31,7 bilhões de dólares (AGROSTAT, 2019). Os principais países produtores, Estados Unidos e Brasil, são responsáveis por de cerca de 231 milhões de toneladas, que equivalem a 64 % da produção mundial. Na safra 2017/18, os Estados Unidos e o Brasil produziram cerca de 116,7 e 118,0 milhões de toneladas, em área cultivada de 36,9 e 35,0 milhões de hectares, com produtividades médias de 4.080 e 3.359  $\text{kg ha}^{-1}$ , respectivamente (CONAB, 2018, USDA, 2019).

A cultura da soja é muito exigente em nitrogênio (N), devido ao elevado teor proteico dos grãos, que atingem de 36 a 42% (Brancalhão et al., 2015). Em um sistema que o suprimento de N utiliza apenas a adubação mineral, os custos de produção são elevados, colocando em risco a rentabilidade e a sustentabilidade do mesmo. Uma das alternativas para melhorar este cenário é a fixação biológica de nitrogênio (FBN), que supre a exigência de N, por meio da interação simbiótica entre a bactéria e a planta hospedeira, promovendo a

viabilidade econômica da cultura e a independência de fertilizantes nitrogenados (Hungria et al., 2007; Hungria et al., 2011).

As sementes inoculadas com bactéria do gênero *Bradyrhizobium* podem fornecer todo N exigido pela planta (Taiz et al., 2017). No entanto, a eficiência deste processo é influenciada por fatores edafoclimáticos e práticas de manejo, como o tratamento químico de sementes antes da inoculação (Campo et al., 2009), que dependendo do ingrediente ativo, pode reduzir a nodulação em até 80% (Zilli et al., 2009). Além da inoculação de sementes, existe outra tecnologia de inoculação denominada co-inoculação ou inoculação mista, que consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem efeito sinérgico, em que os resultados produtivos obtidos superam o uso separado desses microrganismos (Cibeda et al., 2015).

Os resultados de co-inoculação de sementes com as bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, embora abundantes na literatura, ainda são inconsistentes para confirmar o aumento de produtividade de grãos de soja. Estudos mostram que a inoculação de *Azospirillum* ou a co-inoculação com *Bradyrhizobium*, não promovem efeitos significativos na altura da planta e teor de N foliar (Zuffo et al., 2015). Por outro lado, foi constatado que a inoculação de sementes com *Bradyrhizobium* ou *Azospirillum* apresenta resposta diferenciada de genótipos, com aumento da produtividade de grãos do genótipo BMX Turbo (Bulegon et al., 2016). A co-inoculação na semente e sulco com *Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense* proporcionou maiores produtividades de grãos, e a inoculação e co-inoculação no sulco promoveram maiores teores de nitrogênio foliar (Rengel et al., 2018).

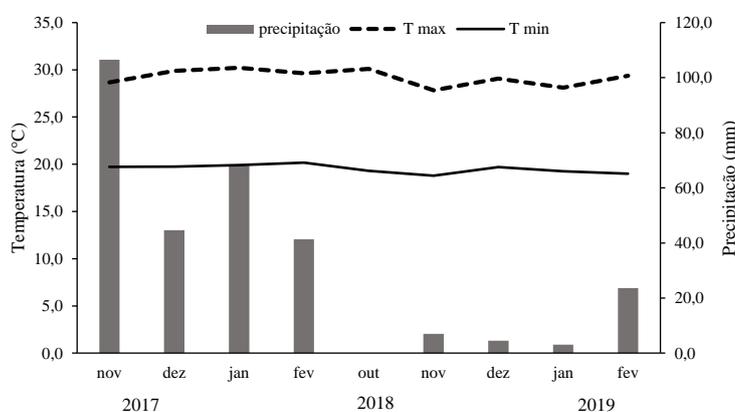
Para ampliar o uso da tecnologia de co-inoculação, é pertinente, testar a hipótese de que a inoculação ou a co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento no sulco, influencia características de crescimento, o aproveitamento do N, os componentes de produção e produtividade de grãos de soja. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da inoculação e co-inoculação com as bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja.

## 2. Metodologia

O presente trabalho trata-se de uma pesquisa experimental desenvolvida em condições de campo e de natureza quantitativa, seguindo os preceitos fundamentais deste tipo de pesquisa, conforme recomendam Pereira et al. (2018).

A experiência foi instalada na área experimental na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, Chapadão do Sul – MS, localizado na latitude 18° 46'17,9" S, longitude 52°37'25" W e altitude de 810 metros. O clima da região é classificado como tropical úmido (Aw) segundo Köeppen, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A precipitação média anual é de 1850 mm, com temperaturas anuais variando de 13 °C a 28 °C (Cunha et al., 2013). Os dados de temperatura e precipitação foram obtidos para todo o intervalo de condução do experimento (Figura 1).

**Figura 1.** Dados climáticos de precipitação pluvial, temperaturas diárias máxima e mínima, de outubro a fevereiro nas safras 2017/18 e 2018/19 no município de Chapadão do Sul – MS.



Fonte: INMET, 2019.

Conforme os dados climáticos apresentados na Figura 1, as chuvas regularizaram a partir de novembro em ambas as safras (2017/2018 e 2018/2019), com menor intensidade e atreladas a altas temperaturas máximas no segundo ano safra (2018/2019), sendo, portanto, satisfatória para a realização do presente estudo.

O solo da área experimental foi identificado como Latossolo Vermelho Distrófico (Santos et al., 2018). Antes da instalação dos experimentos foram coletadas amostras de solo na camada de 0,00 – 0,20 m e realizada a análise química, segundo método proposto por Raij et al. (2001). Foram encontrados os seguintes valores:  $P_{(resina)}$ : 37,4 ( $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ); M.O. = 38,8  $\text{g dm}^{-3}$ ; K = 209,7  $\text{mg dm}^{-3}$ , Ca, Mg e SB = 2,8; 1,1 e 8,2  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , respectivamente; pH ( $\text{CaCl}_2$ ), Al e H+Al = 5,3; 0,05; 3,7  $\text{cmmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , respectivamente; S-SO<sub>4</sub> = 3,3  $\text{g dm}^{-3}$  e V = 54,2%.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições (Tabela 1). As parcelas, de ambos os experimentos, foram constituídas por cinco linhas de 5,0 m de comprimento espaçadas de 0,45 m entre si. A área útil foi constituída por três linhas centrais de cada parcela, perfazendo 6,75 m<sup>2</sup>.

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos de inoculação e co-inoculação em sementes de soja nas safras 2017/2018 e 2018/2019. Chapadão do Sul - MS, 2019.

Tratamentos
Testemunha – não inoculada e sem nitrogênio (NIN)
Inoculação – <i>Bradyrhizobium</i> na semente, dose de 100 mL ha <sup>-1</sup> (IN)
Inoculação – <i>Bradyrhizobium</i> no sulco na dose de 250 mL ha <sup>-1</sup> (IN Sulco)
Co-inoculação I – <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> no sulco (IN + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup> )
Co-inoculação II – <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> (IN sulco + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup> )
Co-inoculação III – <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Bradyrhizobium</i> (IN + IN sulco)
Co-inoculação IV – <i>Azospirillum</i> na semente + <i>Bradyrhizobium</i> (Azo 100 mL ha <sup>-1</sup> + IN sulco)

Fonte: Próprios autores

As informações contidas na Tabela 1 revelam a descrição dos tratamentos de inoculação e co-inoculação realizados em sementes de soja nas safras 2017/2018 e 2018/2019.

A cultivar utilizada na safra 2016/2017 foi a M6410 IPRO (porte médio, com crescimento indeterminado e ciclo de 123 dias), tratada com o fungicida Tiodicarbe e o inseticida Imidacloprido, nas doses de 450 g do i.a. L<sup>-1</sup> e 150 g do i.a. L<sup>-1</sup>. Para safra 2017/2018 a cultivar utilizada foi a M7739 IPRO (porte médio, com crescimento semi-indeterminado e ciclo de 117 dias), já tratada com o fungicida Maxim XL na dose de 35 g do i.a L<sup>-1</sup> e os inseticidas Cruiser e Amulet nas doses de 350 g do i.a. L<sup>-1</sup> e 250 g do i.a. L<sup>-1</sup>, respectivamente.

A correção do solo foi realizada com aplicação de 470 kg ha<sup>-1</sup> de calcário. A adubação foi feita com base nas recomendações de Souza e Lobato (2004). Foram aplicados 100 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 70 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, sendo 35 kg ha<sup>-1</sup> no plantio e 35 kg ha<sup>-1</sup> em cobertura, com a cultura no estágio V3 (Fehr et al., 1977).

O solo foi preparado convencionalmente, por meio de uma aração e duas gradagens, uma na incorporação do calcário, 60 dias antes do plantio e uma gradagem dois dias antes da implantação da cultura. A inoculação na semente foi feita em laboratório, uma hora antes da semeadura. A semeadura da safra 2017/2018 foi realizada em novembro de 2017 e a da safra 2018/2019 em outubro de 2018. A semeadura dos dois experimentos foi feita manualmente, com densidade de semeadura de 18 sementes por metro.

O produto comercial utilizado como fonte de *Bradyrhizobium japonicum* foi o inoculante Masterfix®, estirpes SEMIA 5019 e SEMIA 5079 ( $5 \times 10^9$  de células viáveis por g ou mL), e como fonte de *Azospirillum brasilense* foi utilizado o inoculante Masterfix Gramíneas®, que contem estirpes Abv5 e Abv6 ( $2 \times 10^8$  células viáveis por mL).

Para as aplicações dirigidas no sulco de semeadura foi utilizado pulverizador costal elétrico, com pressão constante de 0,4 mpa, uma vazão de  $0,35 \text{ L min}^{-1}$ , equipado com lança contendo dois bicos, trabalhando a uma altura de 10 cm do alvo e velocidade de  $1 \text{ m segundo}^{-1}$ , atingindo uma faixa aplicada de 10 cm de largura, propiciando volume de calda de  $100 \text{ L ha}^{-1}$ .

Durante o desenvolvimento da cultura, para o manejo de plantas daninhas, pragas e doenças foram utilizados os produtos: glifosate ( $2,5 \text{ L ha}^{-1}$ ) em V5 (Fehr et al., 1977); Imidacloprido + beta-ciflutrina ( $85,0 \text{ g ha}^{-1}$ ), e Triflumurom ( $14,0 \text{ g ha}^{-1}$ ) em V5 (Fehr et al., 1971); Protiocozazol + Trifloxistrobina ( $105 \text{ mL ha}^{-1}$ ) em R4 (Fehr et al., 1977). A avaliação do índice relativo de clorofila (IRC), foi realizado utilizando-se o clorofilômetro (FALKER, modelo CFL 1030), quando as plantas se encontravam em estágio R<sub>2</sub> (Fehr et al., 1977). A leitura foi realizada em três plantas por parcela, na terceira folha do terceiro trifólio completamente desenvolvido, a partir do ápice da planta.

Para determinação do teor de nitrogênio foliar, foram coletados 20 trifólios por parcela, no terceiro ou quarto trifólio a partir do ápice da planta, sem o pecíolo, no estágio R<sub>2</sub> (Fehr et al., 1977). As folhas foram secas a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , por aproximadamente 72 horas, até atingir massa constante. Em seguida, as folhas foram moídas e armazenadas para análise do teor de nitrogênio foliar (Bataglia et al., 1983).

No estágio fenológico R<sub>8</sub> (Fehr et al., 1977) foram avaliadas a altura das plantas, altura da inserção do primeiro legume, o número de legumes e grãos por planta, em 10 plantas da parcela útil, tomadas aleatoriamente. Foram avaliadas também a massa de 100 grãos e a produtividade de grãos, corrigida para 13% de umidade em base úmida e expressa em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott, a 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e Discussão

Observou-se que a altura de plantas e produtividade de grãos foram significativamente ( $p < 0,05$ ) influenciadas pelos tratamentos em pelo menos um ano de cultivo (Tabela 2).

**Tabela 2.** Altura de planta (ALTP), índice relativo de clorofila (IRC), massa de cem grãos (MSG) e produtividade de grãos (PROD), em função dos tratamentos de inoculação e co-inoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* na cultura da soja. Chapadão do Sul – MS, safra 2017/2018 e 2018/19.

		Quadrado médio							
FV	GL	ALTP		IRC		MSG		PROD	
		2017/18	2018/19	2018/19	2018/19	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
Trat	6	40,4**	14,4 <sup>ns</sup>	4,6 <sup>ns</sup>	6,5 <sup>ns</sup>	2,47 <sup>ns</sup>	0,62 <sup>ns</sup>	137706,6*	272206,9 <sup>ns</sup>
Bloco	3	27,4	17,4	6,5	1,3	0,84	0,74	36066,3	161681,8
Erro	18	8,3	15,3	3,4	2,8	2,59	0,61	63414,8	123316,4
CV(%)	-	5,2	5,0	5,2	3,8	11,9	5,3	7,2	9,5

\*, \*\* e <sup>ns</sup>: significativo a 5%, 1% e ns, respectivamente, pelo teste de F. Fonte: Próprios autores.

Quanto à altura de plantas houve efeito dos tratamentos, para a safra 2017/18 (Tabela 2), onde, apesar da influência positiva da inoculação com *A. brasilense* associada a co-inoculação com *B. japonicum* no sulco (Azo 100 mL ha<sup>-1</sup> + IN sulco), o tratamento não diferiu da testemunha e dos tratamentos isolados com inoculação de *Bradyrhizobium* na semente e sulco (IN semente e IN sulco, respectivamente) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Altura de planta (ALTPL) e índice relativo de clorofila (IRC), em função dos tratamentos de inoculação e co-inoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* na cultura da soja. Chapadão do Sul – MS, safra 2017/2018 e 2018/19.

Tratamentos <sup>1</sup>	ALTPL (cm)		IRC	
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
NIN	56,25 a	78,65 a	35,58 a	46,58 a
IN semente	56,75 a	80,50 a	34,53 a	43,98 a
IN sulco	60,35 a	79,65 a	35,63 a	43,05 a
IN + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup>	54,35 b	75,25 a	36,53 a	45,50 a
IN sulco + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup>	52,00 b	76,75 a	35,70 a	43,15 a
IN semente + IN sulco	51,03 b	76,25 a	34,43 a	44,33 a
Azo 100 mL ha <sup>-1</sup> + IN sulco	56,75 a	77,33 a	37,50 a	43,83 a

<sup>1</sup>NIN = testemunha – não inoculada e sem nitrogênio; IN = inoculação – *Bradyrhizobium* na semente, dose de 100 mL ha<sup>-1</sup>; IN Sulco = inoculação – *Bradyrhizobium* no sulco na dose de 250 mL ha<sup>-1</sup>; IN + Azo 250 mL ha ha<sup>-1</sup> = co-inoculação I – *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* no sulco; IN sulco + Azo 250 mL ha ha<sup>-1</sup> = co-inoculação II – *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*; IN + IN sulco = co-inoculação III – *Bradyrhizobium* + *Bradyrhizobium*; Azo 100 mL ha<sup>-1</sup> + IN sulco = co-inoculação IV – *Azospirillum* na semente + *Bradyrhizobium*.  
<sup>2</sup>Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, a 5% de probabilidade. Fonte: Próprios autores.

Mediante os dados expressos na Tabela 3, pode se observar o efeito significativo dos tratamentos para altura de plantas na safra 2017/2018. O tratamento inoculação com *A. brasilense* associada a co-inoculação com *B. japonicum* no sulco (Azo 100 mL ha<sup>-1</sup> + IN sulco), influenciou positivamente à altura das plantas, apesar de não diferir da testemunha e dos tratamentos isolados com inoculação de *Bradyrhizobium* na semente e sulco (IN semente e IN sulco, respectivamente).

Para que a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* seja eficaz, elas devem ter a capacidade de competir com as bactérias diazotróficas nativas e com a microflora do solo (Diodonet et al., 2000). Além da qualidade do inoculante, o processo de inoculação é de fundamental importância para atingir um alto número de bactérias viáveis. Assim, é possível que haja competição entre as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* ou mesmo de espécies

nativas, impedindo o efeito benéfico de *A. brasilense* no desenvolvimento e na nodulação da soja.

O IRC não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. De acordo com Salla et al. (2007) a determinação dos teores de clorofila da folha é importante porque a atividade fotossintética da planta depende parcialmente da capacidade da folha em absorver luz. Quanto melhor a captação da radiação solar durante o processo de fotossíntese, melhor será a conversão em energia química na forma de ATP e NADPH (TAIZ et al., 2017). Através do IRC avaliado por clorofilômetro, é possível inferir sobre a situação do N da folha, por esse fazer parte da clorofila. O clorofilômetro vem sendo utilizado na avaliação de clorofila das folhas, proporcionando mais rapidez e simplicidade, mas principalmente por possibilitar uma avaliação não destrutiva da amostra e poder acompanhar as condições nutricionais do N da planta em tempo real (Fonseca et al., 2012). Segundo Cipriani et al. (2016), até o presente momento, não há trabalhos que avaliem o aumento de produtividade, com adubos nitrogenados e os teores de clorofila na cultura da soja, sendo verificado falta de linearidade entre os teores relativos (obtidos pelo clorofilômetro) e os teores absolutos de clorofila, observados na literatura. Sugerem que a distribuição da clorofila na superfície da folha apresenta certa desuniformidade, sobretudo em folhas bem esverdeadas o que pode levar a uma subestimação dos valores do clorofilômetro em folhas com altos teores de clorofila.

Para a variável massa de cem grãos (Tabela 4), não se observou diferença significativa nas duas safras estudadas. Esse resultado coincide com o estudo de Sordi et al. (2017), que também não observaram diferença significativa para essa variável, em estudo sobre a eficiência agrônômica da soja submetida a co-inoculação, onde os tratamentos foram constituídos da combinação de *B. japonicum* e *A. brasilense*. Já Braccini et al. (2016), constataram que quando foi efetuado a inoculação com *B. japonicum* nas sementes ou co-inoculação com *A. brasilense*, no sulco de semeadura, a massa de 1000 grãos foi superior a testemunha e ao tratamento com fertilizante nitrogenado.

**Tabela 4.** Massa de cem grãos (MCG) e produtividade de grãos (PROD), em função dos tratamentos de inoculação e co-inoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* na cultura da soja. Chapadão do Sul – MS, safra 2017/2018 e 2018/19.

Tratamentos <sup>1</sup>	MCG (g)		PROD (kg ha <sup>-1</sup> )	
	2017/18	2018/19	2017/18	2018/19
NIN	12,55 a	14,75 a	3.256,23 b	3660,98 a
IN semente	14,25 a	14,65 a	3.697,00 a	3470,35 a
IN sulco	13,10 a	14,65 a	3.400,10 b	3434,50 a
IN + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup>	12,95 a	15,60 a	3.331,93 b	3433,13 a
IN sulco + Azo 250 mL ha <sup>-1</sup>	14,23 a	14,48 a	3.652,90 a	4010,83 a
IN semente + IN sulco	12,70 a	14,88 a	3.365,75 b	4008,38 a
Azo 100 mL ha <sup>-1</sup> + IN sulco	14,30 a	15,23 a	3.675,43 a	3844,33 a

<sup>1</sup>NIN = testemunha – não inoculada e sem nitrogênio; IN = inoculação – *Bradyrhizobium* na semente, dose de 100 mL ha<sup>-1</sup>; IN Sulco = inoculação – *Bradyrhizobium* no sulco na dose de 250 mL ha<sup>-1</sup>; IN + Azo 250 mL ha<sup>-1</sup> = co-inoculação I – *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* no sulco; IN sulco + Azo 250 mL ha<sup>-1</sup> = co-inoculação II – *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*; IN + IN sulco = co-inoculação III – *Bradyrhizobium* + *Bradyrhizobium*; Azo 100 mL ha<sup>-1</sup> + IN sulco = co-inoculação IV – *Azospirillum* na semente + *Bradyrhizobium*.  
<sup>2</sup>Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-knott, a 5% de probabilidade. <sup>2</sup>Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste Scott-knott, a 5% de probabilidade. Fonte: Próprios autores.

Para a produtividade de grãos (Tabela 4), observou-se diferença significativa para os tratamentos na safra 2017/2018, onde a inoculação com *Bradyrhizobium* na semente (IN semente), inoculação com *Bradyrhizobium* no sulco associado a *Azospirillum* no sulco (IN sulco + Azo 250 mL ha<sup>-1</sup>) e inoculação com *Azospirillum* no sulco associado a *Bradyrhizobium* no sulco (Azo 100 mL ha<sup>-1</sup> + IN sulco) em relação a testemunha não inoculada (NIN). Foi verificado que a utilização de ambas as bactérias resultou em um aumento médio significativo da produção de 418,88 kg ha<sup>-1</sup>. Os resultados foram obtidos quando a co-inoculação foi comparada ao controle não inoculado.

Observa-se que a produtividade de grãos de soja foi influenciada tanto pela inoculação isolada como pela co-inoculação. Esse resultado possibilita a escolha pelo produtor, uma vez que a aplicação unicamente na semente é mais fácil, no entanto, o uso de agrotóxicos no tratamento das sementes pode influenciar os efeitos da inoculação. Assim, o uso da co-

inoculação no sulco de cultivo seria uma alternativa para minimizar os efeitos do tratamento da semente. De toda forma, é importante a continuidade da pesquisa nesse sentido para a confirmação desses resultados.

Os dados obtidos corroboram com os obtidos por Braccini et al. (2016), onde a inoculação com *B. japonicum* via tratamento de sementes e a utilização da associação do *B. japonicum* com *A. brasilense*, via sulco de semeadura, promoveram acréscimos no rendimento de grãos da soja, quando comparado com a testemunha. Bulegon et al. (2016) observaram respostas diferentes entre cultivares de soja e salientam a importância em se buscar cultivares que sejam responsivas a associação com bactérias diazotróficas.

Bactérias do gênero *Azospirillum* podem sobreviver tanto em condições endofíticas como associativa próximas as raízes (Baldani et al., 1997). Assim, verifica-se que o uso de bactérias que se estabelecem nas raízes gera resultados que podem ser muito variados, por sofrerem a ação de fatores externo do solo, como outras bactérias que ali competem por recursos e que podem limitar as respostas da planta. Sturz e Nowak (2000) sugerem que, se as bactérias fossem somente endofíticas, a inconstância dos resultados seria menor, uma vez que não estariam expostas as condições do solo e ambiente, ou também não estariam sujeitas à competição por nutrientes na rizosfera.

Os resultados obtidos na presente pesquisa elucidaram que tanto a inoculação isolada como a co-inoculação, influenciaram positivamente a produtividade de grãos de soja, sendo uma ferramenta sustentável adicional ao produtor. Devido a variabilidade de bactérias existentes nos diferentes tipos de solo e condições de cultivo, e ainda diferentes respostas de cultivares a associação com bactérias, é importante a continuidade de pesquisas para confirmação dos resultados.

#### **4. Considerações Finais**

A produtividade de grãos de soja foi favorecida tanto pela inoculação de *B. japonicum* nas sementes como pela co-inoculação em sulco.

Os valores obtidos para altura de plantas, índice relativo de clorofila e massa de cem grãos não superaram a testemunha com o uso de *B. japonicum* e *A. brasilense* aplicados em sementes ou sulcos, inoculados ou co-inoculados, nas duas safras estudadas.

Embora abundantes na literatura, os efeitos da inoculação e a co-inoculação de bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, ainda são inconsistentes para confirmar

o aumento de produtividade de grãos de soja. Contudo, é importante que trabalhos futuros sejam realizados para avaliar a influência e consolidar o uso desta tecnologia.

## Referências

Baldani, V.L.D., Oliveira, E., Balota, E., Baldani, J.I., Kirchhof, G. & Döbereiner, J (1997). *Burkholderia brasiliensis* sp. nov., uma nova espécie de bactéria diazotrófica endofítica. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 69, 116.

Bataglia, O. C., Furlani, A. M. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R. & Gallo, J.R (1983). *Métodos de análise química de plantas*. Campinas: Instituto Agrônomo.

Braccini, A. L., Mariucci, G. E. G., Suzukawa, A. K., Lima, L. H. S. & Piccinin, G. G. (2016). 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*, 15(1), 27-35. DOI: <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n1p27-35>.

Brançalião, S.R., Aguiar, A.T.E., Brançalião, E.M., Limonta, C.R., Rossi, C.E. & Cristovão, N.N (2015). Produtividade e composição dos grãos de soja após o aporte de nitrogênio com o uso de culturas de cobertura em sistema de semeadura direta. *Nucleus*, 12(1), 69-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.3738/1982.2278.1001>.

Bugelon, L.G., Rampim, L., Klein, J., Kestring, D., Guimarães, V.F., Battistus, A.G. & Inagaki, A.M (2016). Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. *Terra Latinoamericana*, 34(2), 169 – 176. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v34n2/2395-8030-tl-34-02-00169.pdf>

Campo, R. J., Araujo, R. S. & Hungria, M. (2009). Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. *Symbiosis*, 48, 154-163. Recuperado de: <https://link.springer.com/content/pdf/10.007/BF03179994.pdf>

Cipriani, K., Cericato, A., Lajús, C.R., Sordi, A., & Schafer, A. (2016). Eficiência técnica e econômica da cultura da soja submetida à aplicação de fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura. *Scientia Agraria*, 17(2), 14-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v17i2.45413>

Chibeba, A.M., de Fátima Guimarães, M., Brito, O.R., Nogueira, M.A., Araujo, R.S. & Hungria, M. (2015) Co-Inoculation of Soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* Promotes Early Nodulation. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 1641-1649. DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.610164>.

Companhia Nacional de abastecimento - CONAB (2018). *Acompanhamento de safra brasileira de grãos*. Brasília: CONAB, 5(10), 1-145p.

Cunha, F. F., Magalhães, F. F. & Castro, M. A (2013). Métodos para estimativa da evapotranspiração de referência para Chapadão do Sul – MS. *Engenharia na agricultura*, 21(2), 159-172.

Didonet, D. A., Lima, O. S., Candaten, M. H. & Rodrigues, O (2000). Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(2), 401-411. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000200019>.

Estatística de comércio exterior do agronegócio brasileiro – AGROSTAT (2019). Recuperado em 28 de agosto de 2019 de <http://www.indicadores.agricultura.gov.br/index.htm>.

Fehr, W.R. & Canivess, C.E (1977). *Stages of soybean development*. Iowa, Ames: Iowa State University of Science and Technology.

Fonseca, P. R. B. da, Fernandes, M. G., Dutra, F., Souza, T. A. de & Pontim, B. C. A (2012). Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, em híbridos de milho, (*Zea mays* L.) bt e isogênico. *Revista Verde*, 7(1), 56-60. Recuperado de: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/1087/1068>

Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). (2019). BDMEP - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. s/d. Acesso em 5 de setembro, em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/>.

Hungria, M., Campo, R. J. & Mendes. I. C (2001). *Fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja*. Londrina: Embrapa Soja.

Hungria, M., Campo, R.J. & Mendes, I.C (2007). *A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro*. Londrina: Embrapa Soja.

Pereira, A.S., Shitsuka, D.M., PARRIRA, F.J. & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1). Acesso em: 20 Abril 2020.

Raij, B. van, Andrade, J.C., Cantarella, H. & Quaggio, J.A (2001). *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas: Instituto Agrônomo.

Rengel, D.S., Meert, L., Hanel, A., Espindola, J.S. & Borghi, W.A (2018). Diferentes inoculantes e formas de inoculação e sua influência sobre os componentes de produção e teor de nitrogênio na cultura da soja. *Revista Campo Digit@l*, 13(1), 46 – 51. Recuperado de: <http://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/2382/1007>

Salla, L., Rodrigues, J. C. & Marenco, R. A (2007). Teores de clorofila em árvores tropicais determinados com o SPAD-502. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2), 159-161. Recuperado de: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/174/163>

Santos, H. G., Jacomine, P. K. T., Dos Anjos, L. H. C., Oliveira, V. A., Lumberras, J. F., Coelho, M. R., Coelho, M. R., Almeida, J. A., Araújo Filho, J. C., Oliveira, J. B. & Cunha, T. J. F. (2018). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa.

Sordi, A., Schneider, F., Panizzon, L.C., Lajús, C. R., Cericato, A. & Klein, C (2017). Eficiência agrônômica da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida a coinoculação. *Revista Scientia Agraria*, 18(4), 72-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v18i4.52047>

Sousa, D.M.G., Lobato, E. & Rein, T.A. Adubação com fósforo. In: Sousa, D.M.G., Lobato, E., eds. *Cerrado: Correção do solo e adubação*. 2.ed (2004). Planaltina, Embrapa Cerrados.

Sturz, A.V. & Nowak, J (2000). Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology*, 15:183- 190. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9)

Taiz L., Zeiger E., Moller I. M. & Murphy A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed.

Taiz, L. & Zeiger, E. *Fisiologia vegetal* (2004). Porto Alegre: Artmed.

United states department of agriculture - USDA. Long-Term agricultural projections agricultural. USDA (2019). Recuperado em 07 de março de 2019 de <http://www.usda.gov/oce/commodity/projections>>.

Zilli, J. E., Ribeiro, K. G., Campo R. J. & Hungria, M (2009). Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33(4), 917–923. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000400016>

Zuffo, A. M., Rezende, P. M., Bruzi, A. T., Oliveira, N. T., Soares, I. O., Gontijo Neto, G. F., Cardillo, B. E. S. & SILVA, L. O (2015). Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. *Revista de Ciências Agrárias*, 38(1), 87-93. Recuperado de: <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v38n1/v38n1a13.pdf>

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Felipe Gomes de Souza - 25%

Elícia Lidiane Santos da Silva – 20%

Mayara Santana Zanella – 15%

Rita de Cassia Félix Alvarez- 25%

Sebastião Ferreira de Lima – 15%