

FACULDADE EVANGÉLICA DE GOIANÉSIA

KESIA MARCILIA MENDANHA SANTOS

CO-INOCULAÇÃO DE Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium japonicum NA SOJA COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE E REDUÇÃO DO USO DE NITROGÊNIO

Publicação nº: 22/2018

GOIANÉSIA/GO

2018



FACULDADE EVANGÉLICA DE GOIANÉSIA

KESIA MARCILIA MENDANHA SANTOS

CO-INOCULAÇÃO DE Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium japonicum NA SOJA COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE E REDUÇÃO DO USO DE NITROGÊNIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Faculdade Evangélica de Goianésia, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

ORIENTADOR: José Eduardo Barbosa de Souza

GOIANÉSIA/GO

2018

ASSOCIAÇÃO EDUCATIVA EVANGÉLICA FACULDADE EVANGÉLICA DE GOIANÉSIA CURSO DE AGRONOMIA

CO-INOCULAÇÃO DE Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium japonicum NA SOJA COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE E REDUÇÃO DO USO DE NITROGÊNIO

KESIA MARCILIA MENDANHA SANTOS

MONOGRAFIA DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA APRESENTADA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE BACHAREL EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

JOSÉ EDUARDO BARBOSA DE SOUZA -MESTRE
Faculdade Evangélica de Goianésia – FACEG
ORIENTADOR

AYURE GOMES DA SILVA - MESTRA

VICTOR ALVES RIBEIRO - MESTRE Faculdade Evangélica de Goianésia – FACEG EXAMINADOR

Faculdade Evangélica de Goianésia - FACEG

EXAMINADORA

FICHA CATALOGRÁFICA

SANTOS, K. M. M. Co-inoculação de Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium

japonicum na soja como estratégia para aumento de produtividade e redução do uso de

nitrogênio; Orientação de José Eduardo Barbosa de Souza – Goianésia, 2018. 23p.

Monografia de Graduação – Faculdade Evangélica de Goianésia, 2018.

1. Bactérias simbióticas. 2. Bactérias diazotróficas. 3. Inoculação mista.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SANTOS, K. M. M. CO-INOCULAÇÃO DE Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium japonicum NA SOJA COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE

E REDUÇÃO DO USO DE NITROGÊNIO. Orientação de José Eduardo Barbosa de Souza;

Goianésia: Faculdade Evangélica de Goianésia, 2018, 23p. Monografia de Graduação.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: KESIA MARCILIA MENDANHA SANTOS

GRAU: BACHAREL

ANO: 2018

É concedida à Faculdade Evangélica de Goianésia permissão para reproduzir cópias desta

Monografia de Graduação para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O

autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta Monografia

pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde

que citada à fonte.

Nome: KESIA MARCILIA MENDANHA SANTOS

CPF: 051.182.731-88

Endereço: Rua José Floriano, Nº12 B: Dona Fiica II

Email: Kesiamarcilia02@gmail.com

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus que é essencial em minha vida, ao meu pai Carlos Lázaro dos Santos a minha mãe Maria Inácia Crisóstomo M. Santos a minha irmã Carla Marilia Mendanha Santos, que não mediram esforços para que eu concluísse mais essa etapa da minha vida, aos meus avós paternos "In Memorian" Desidério Lázaro dos Santos e Josefa Nunes dos Santos e aos meus avós Maternos Ozul Grisoste Mendanha "In Memoriam" e Natalícia Nunes Mendanha pela existência de meus pais, ao curso de Agronomia da FACEG, e a todos que eu convivi nesse espaço durante esses cinco anos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força, para que eu chegasse até aqui, por não deixar que as dificuldades que apareceram no meu caminho me fizessem desistir.

À instituição de ensino que me acolheu e proporcionou ferramentas propicio para o meu aprendizado, a todo o corpo docente que foi excepcional nessa caminhada especialmente ao meu orientador Me José Eduardo Barbosa de Souza que me auxiliou neste trabalho e a coordenadora do curso, Drª Eliane Divina de Toledo,

Aos meus pais queridos que sempre me incentivaram e me apoiaram, a minha irmã que sempre esteve ao meu lado.

Aos meus amigos que estiveram junto durante essa jornada, em especial a Elisangela Borges, Isabela Antonia, Isabela Barbosa e Lucas Oliveira.

RESUMO

CO-INOCULAÇÃO DE Azospirillum brasilense E Bradyrhizobium japonicum NA SOJA COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE E REDUÇÃO DO USO DE NITROGÊNIO

Objetivou-se avaliar a nodulação, desenvolvimento e produtividade da soja em resposta a inoculação com Bradyrhizobium japonicum e co-inoculação com Azospirillum brasilense. Foi implantado dois experimentos na safra de 2017/18, um na Fazenda São Luiz II e outro na Fazenda Vera Cruz Agropecuária Ltda., em delineamento de blocos casualizados sendo 8 tratamentos e 4 repetições, composto por: 1-Testemunha; 2- (300 kg ha⁻¹de N) em V_5 ; 3- inoculação da semente com duas doses de B. japonicum; 4- inoculação da semente com duas doses de B. japonicum + pulverização com duas doses de A. brasilense no estádio V₃; 5- inoculação da semente com duas doses de B. japonicum + pulverização com duas doses de A. brasilense no estádio V5; 6- inoculação da semente com duas doses de B. japonicum + pulverização com três doses de A. brasilense no estádio fenológico V₃; 7inoculação da semente com duas doses de Soja B. japonicum + pulverização com três doses de A. brasilense no estádio fenológico V₅; 8- inoculação da semente com duas doses de B. japonicum + pulverização com 500 mL ha ¹ de Stimulate[®] no estágio V₅. No estádio R₂ foi avaliado o número de folhas (NF – n⁻¹), massa seca das folhas (MSF – g⁻¹), número de nódulos (NN – n⁻¹), massa seca dos nódulos (MSN – g⁻¹) e massa seca da raiz (MSR – g⁻¹ 1). No estádio R₈, foi avaliada a altura final das plantas (AP-nº planta-1). No momento da colheita foi determinado peso de 1000 grãos (PMG – g⁻¹) e produção de grãos em kg ha⁻¹ (PG – kg ha⁻¹). Para as variáveis (AP-nº planta⁻¹) e (PMG - g⁻¹) não ocorreu diferença estatística em nenhum tratamento, em (NF - n⁻¹) os tratamentos 3, 6 e 7 apresentaram resultados superiores, a testemunha apresentou resultado intermediário e os menores valores apresentaram os tratamentos que utilizaram a menor dose de aplicação com A. brasilense nos estádios V₃ e V₅, para a variável $(NN - n^{-1})$ o tratamento 2 promoveu menor número de nódulos, em $(MSF - g^{-1})$, os tratamentos 6e7 apresentaram melhores resultados, para (MSR – g⁻¹) o tratamento 7 apresentou maior valor, para a produtividade o tratamentos 4 apresentou melhore rendimento.

Palavras-chave: Bactérias simbióticas. Bactérias diazotróficas. Inoculação mista. *Glycine max*.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	<u>C</u>
	MATERIAL E MÉTODOS	
A	Análises prévias do solo	11
1	Instalações dos experimentos e avaliações	11
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.	CONCLUSÕES	19
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
6	ANEXO I	23

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a cultura com maior destaque em relação a área plantada e na produção de grãos, que são utilizados tanto para a alimentação humana como para alimentação animal (FORTE et al., 2015). A região centro—oeste brasileira é a principal produtora de soja, apresentando constante crescimento em relação à área plantada, totalizando um acréscimo de 3% na safra 2017/2018 em relação à safra 2016/2017. O desempenho nacional indica um crescimento de 3,5%, totalizando 35.089,8 milhões de hectares, com uma produção estimada de 118.048,1 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

A pesquisa desenvolve tecnologias de cultivo, assim como, materiais genéticos que resultam no aumento sucessivo de produtividade, resistência ou tolerância a doenças e pragas, eficiência na absorção de nutrientes e na adaptabilidade das variadas condições ambientais, simultaneamente necessitam de solos férteis e maior consumo de nitrogênio (N) (ZILLI et al., 2006). O nitrogênio é um dos elementos mais importantes para a planta, responsável por diversas reações, faz parte da composição da clorofila, proteínas e enzimas. A falta desse elemento essencial afeta diretamente o crescimento e desenvolvimento das folhas, raízes, fotossíntese, translocação de foto-assimilados e produção (TAIZ; ZIEGER, 2004). Ademais, sua deficiência provoca redução dos teores de proteínas nos grãos, baixa produção de clorofila provocando clorose geral e severa das folhas mais velhas, podendo levar a necrose (SFREDO; OLIVEIRA, 2010).

As plantas obtêm o N por meio da decomposição da matéria orgânica, dos fertilizantes nitrogenados, da fixação química do N₂ em descargas elétricas e, também, por meio da fixação biológica do N (FBN). A FBN acontece através da associação simbiótica com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*, esse último promove um baixo custo ao produtor, do ponto de vista ecológico reduz o impacto do N sobre o meio ambiente. No Brasil não é mais recomendado a utilização de adubos nitrogenados para a cultura da soja, visto que a fixação biológica do N supri a necessidade de nitrogênio da planta (HUNGRIA; CAMPOS, 2006).

A FBN acontece quando bactérias do gênero *Bradyrhizobium* em contato com as raízes e pelos radiculares infectam-nas, promovendo a formação dos nódulos, se a FBN for eficiente poderá suprir toda demanda do N que a cultura exige (EMBRAPA, 2004). As estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas atualmente para a cultura da soja são SEMIA 587, SEMIA 5019 (= 29 w), SEMIA 5079 (= CPAC 15) e SEMIA 5080 (=CPAC 7), que são introduzidas aos pares nos inoculantes comerciais (FAGAN et al., 2007).

O gênero *Azospirillum* faz parte do grupo das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), presente em praticamente todo tipo de solo (HUERGO et al., 2008). Inoculantes a base de bactérias desse gênero, estão sendo utilizadas em várias culturas, tais como: algodão, cereais, banana, cana-de-açúcar, tomate, café e forrageiras do gênero *Brachiaria* (BÁRBARO et al., 2008). O maior crescimento das raízes promovido pela inoculação de *A. brasilense* melhora a absorção da água e minerais, aumenta os níveis de tolerância ao estresse hídrico e salinidade, resultando em plantas com maior vigor e consequentemente uma maior produtividade (HUNGRIA, 2011).

A co-inoculação ou inoculação mista constitui em associar diferentes microrganismos, de forma que juntos a soma dos seus efeitos é maior do que quando utilizado isoladamente (BÁRBARO et al., 2008). Em geral, irá aumentar a nodulação e um maior crescimento das raízes, devido à interação benéfica entre as bactérias simbióticas (*Bradyrhizobium*) e as bactérias diazotróficas, em especial as pertencentes ao gênero *Azospirillum* (FERLINI, 2006). A combinação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* apresentou resultados positivos na cultura da soja (BENINTENDE et al., 2010). As bactérias do gênero *Azospirillum* possuem capacidade de estimular a produção de hormônios vegetais resultando em um maior crescimento das plantas, sendo um efeito benéfico. Estudos mostram a capacidade de *Azospirillum brasilense* de estimular a produção de auxinas, giberelinas e citocininas sob condições in vitro (MASCIARELLI et al., 2013).

Benintende et al. (2010), constataram um aumento na massa de nódulos na fase vegetativa, na fase reprodutiva e no rendimento de grãos em kg ha⁻¹ de soja, co-inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* em comparação com a inoculação padrão utilizada pelos produtores. Relataram ainda que ocorreu aumento de 5 % do N, resultante da FBN, na soja que foi co-inoculada.

No entanto, a co-inoculação pode apresentar resultados contraditórios, podendo estimular ou inibir a produção de nódulos e o crescimento das raízes em um sistema simbiótico, em função do nível de concentração do inóculo e do tipo de inoculação (FERLINI, 2006). Portanto o objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium* no desenvolvimento, nodulação e produtividade na cultura da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Análises prévias do solo

As amostras de solo foram coletadas previamente à instalação do experimento para análise química (Tabela 1) e física (Tabela 2) do solo:

Tabela 1. Atributos químicos do solo referente às áreas dos dois experimentos, realizadas na safra 2017/2018.

Salla 2017/20	10.						
		рН	Ca	Mg	Al	H+Al	M.O.
Local		H ₂ O	mmol _c dm ⁻³				g kg ⁻¹
2017 Fazen	da São Luiz II	6,0	3,0	0,9	0	1,50	15,00
2017 Fazen	da Vera Cruz	5,6	4,66	2,04	0	2,63	28,21
		P (Melich)) K	Cu	Z	Zn Fe	Mn
Ano Local		mg dm ⁻³					
2017 Fazen	da São Luiz II	10,1	146	1,1	1	,4 24	0,8
2017 Fazen	da Vera Cruz	38,4	163,0	3,80	2,	30 13,04	8,52

Fonte: Unisolo Laboratório Análise Química

Tabela 2. Atributos físicos do solo referente às áreas dos dois experimentos

Ano	Local	Argila	Silte	Areia	Classificação
			g kg ⁻¹		
2017	Fazenda São Luiz II	450	75	425	Argilosa
2017	Fazenda Vera Cruz	635	270	95	Franco argilosa

Fonte: Unisolo Laboratório Análise Química

Instalações dos experimentos e avaliações

Os experimentos foram desenvolvidos na safra 2017/18, em dois locais, o primeiro na Fazenda São Luiz II situada no município de Santa Rita do Novo destino, com as coordenadas 14º 52' 04.84"S e 49º 03' 18.23" O, com altitude de 573 m do nível do mar; e o

segundo na Fazenda Vera Cruz Agropecuária Ltda., situada no munícipio de Goianésia com as coordenadas 15° 17' 09.65"S e 49° 02' 49.46"O, com altitude de 643 m do nível do mar. O plantio e colheita foram realizados no dia 23 de novembro de 2017, 06 de abril de 2018 e 19 de dezembro de 2017, 20 de abril de 2018, para o primeiro e segundo experimento, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 8 tratamentos e 4 repetições, composto por: 1- Tratamento controle (sem inoculação e sem adubação nitrogenada); 2- Testemunha nitrogenada (300 kg ha⁻¹ de N) no estádio V₅; 3inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum); 4inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum) + pulverização com duas doses de SimbioseMaiz (Azospirillum brasilense) no estádio V₃; 5inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum) + pulverização com duas doses de SimbioseMaiz (Azospirillum brasilense) no estádio V₅; 6inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum) + pulverização com três doses de SimbioseMaiz (Azospirillum brasilense) no estádio fenológico V₃; 7- inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum) + pulverização com três doses de SimbioseMaiz (Azospirillum brasilense) no estádio fenológico V₅; 8- inoculação da semente com duas doses de SimbioseNod Soja (Bradyrhizobium japonicum) + pulverização com 500 mL ha⁻¹ de Stimulate[®] no estágio V₅. Nos tratamentos 3 à 8, foi realizado adubação no plantio equivalente a 20 kg ha⁻¹ de N. As parcelas constaram de 8 linhas de 5 m de comprimento, espaçadas por 0,50 cm entre linhas.

Utilizou-se a cultivar Brasmax Bônus IPRO – 8579RSF, industrialmente tratadas, esta cultivar possui hábito de crescimento indeterminado, com alto teto produtivo e ampla adaptação regional, excelente desenvolvimento inicial de plantas e resistência moderada ao acamamento, flor roxa, grupo de maturação 7.9 (BRASMAX, 2017). Os tratos culturais quanto à fertilidade, controle de pragas e doenças, foram realizados pelos produtores, conforme a necessidade e planejamento das respectivas propriedades agrícolas.

A instalação dos experimentos foi realizada segundo as normas estabelecidas no protocolo oficial para avaliação da viabilidade e eficiência agronômica de cepas, inoculantes e tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas, constante do anexo à Instrução Normativa SDA/MAPA n°13/2011 do MAPA.

As estirpes utilizadas para a inoculação de *A. brasilense* foram AbV5 e AbV6 SimbioseMaíz, com a concentração de 5x10⁸ células por mL do produto, e para os tratamentos com *B. japonicum* foram utilizadas as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 – 7,2x10⁹ células

viáveis mL⁻¹ de SimbioseNod Soja, produtos comerciais registrados no Ministério da Agricultura e Pecuária.

No estádio V_3 , foram realizadas aplicações de *A. brasilense* na dose de 200 mL ha⁻¹ e 300 mL ha⁻¹, sendo adicionado 0,5% (v/v) de óleo mineral em 150 L ha⁻¹ de calda. No estádio V_5 foram realizadas as aplicações de *A. brasilense* nas mesmas dosagens do estádio V_3 e pulverização com 500 mL ha⁻¹ de Stimulate[®]. No Florescimento pleno (estádio R_2), foram coletadas três plantas da 3º linha de cada parcela com ajuda de uma pá para retirar o volume de solo ocupado pelo sistema radicular. A parte aérea da planta foi avaliada o número de folhas $(NF-n^{-1})$ e massa seca das folhas $(MSF-g^{-1})$, os nódulos foram retirados das raízes e contados $(NN-n^{-1})$ e a massa seca dos nódulos $(MSN-g^{-1})$, as raízes foram retiradas com cuidado, separadas e lavadas para avaliar a massa seca da raiz $(MSR-g^{-1})$. Para a determinação de massa seca as amostras foram colocadas em saco de papel "Kraft" e levadas à estufa com ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, em seguida foram pesadas em balança de precisão.

No estádio R_8 , foi avaliada a altura final das plantas (AP-nº planta-¹) com o auxílio de uma régua medindo-se da base ao ápice da planta, no momento da colheita (estádio R_9) foram coletadas em 4 metros da quarta e quinta linhas de cada parcela, para a determinação dos componentes de rendimento: peso de 1000 grãos (PMG – g^{-1}), estipulado pela pesagem de 500 sementes em balança de precisão e multiplicado por 2 e produção de grãos em kg ha-¹ (PG – kg ha-¹).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso disposto em sistema fatorial 2 x 8 (2 locais x 8 tratamentos). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a fonte de variação Local, a média em altura de planta, na Fazenda Vera Cruz apresentou plantas com maior porte, sendo superior em 3,41% ao local Fazenda São Luiz II (Tabela 3). Para a interação dos tratamentos, apresentaram não significativo entre os tratamentos nos dois locais do experimento (Anexo I). Similar ocorreu no trabalho de Paniagua et al. (2017), testaram uma dose de *Bradyrhizobium japonicum*, duas doses de *B. japonicum*, três doses de *B. japonicum* e uma dose de *Bradyrhizobium japonicum* + uma dose de *Bradyrhizobium elkanii* foliar, também não constataram diferenças significativas. Porém, difere dos resultados encontrados por Finoto et al. (2017), estudaram em sistema de planta direto sobre palhiço de cana de açúcar, obtendo maiores valores de altura de planta em tratamentos utilizando 100 e 125 mL de *Bradyrhizobium* para 60 kg de sementes – inoculação padrão. Difere do trabalho de Bulegon et al. (2016), estudando duas variedades em casa de vegetação, encontrou resultados positivos para a cultivar BMX Turbo, em que apresentou maiores médias nos tratamentos utilizando inoculação com *A. brasilense* e não diferiu dos tratamentos que utilizaram co-inoculação com *B. japonicum*.

Conforme a Tabela 3, em relação média de número de folhas (NF – n planta⁻¹) para o Local, ocorreu estatisticamente um maior número de folhas no local Fazenda São Luiz II, com 102,96 folhas ou 58,30% superior ao local Fazenda Vera Cruz que obteve 65,04 folhas por planta. Os tratamentos: 3 (2B); 6 (2B+3AzV₃) e 7 (2B+3AzV₅) apresentaram resultados superiores com relação ao número de folhas (NF), o tratamento 1 (Testemunha) apresentou resultado intermediário e os menores valores apresentaram os tratamentos que utilizaram a menor dose de aplicação com *A. brasilense* nos estádios V₃ e V₅, os tratamentos 4 (2B+2AzV₃) e 5 (2B+2AzV₅). Estes resultados diferem dos estudos realizados por Zuffo et al. (2015), em que avaliaram diferentes doses de *A. brasilense* e *B. japonicum* em casa de vegetação e não ocorreu diferença significativa em número de folhas.

No parâmetro (NN – n planta⁻¹), na Tabela 3, os valores entre os tratamentos foram de 38,17 a 63,33 nódulos por planta. O tratamento 2 (300 kg ha⁻¹ de N), promoveu menor número de nódulos, os melhores resultados apresentaram os tratamentos 7 (2B+3AzV₅) e 8 (Stimulate V₅). Hungria; Campos; Mendes (2001) descreveram que para uma planta de soja ser considerada com boa nodulação deve apresentar de 15 a 30 nódulos no florescimento.

Tabela 3. Avaliação do número de folhas (NF-n° planta⁻¹), altura de planta (AP-n° planta⁻¹), número de nódulos (NN-n° planta⁻¹) e massa seca de nódulos (MSN-g planta⁻¹) da soja dentro de cada local e em função dos tratamentos realizados experimentos de campo conduzidos na fazenda Vera Cruz e fazenda São Luiz II no ano agrícola de 2017/2018.

Variáveis	NF	AP	NN	MSN
Local (L)			-	
Fazenda Vera Cruz	65,04 b	0,91 a	45,34 b	0,40 b
Fazenda São Luiz II	102,96 a	0,88 b	57,83 a	1,09 a
Tratamentos (T)				
1- TC	80,12 bc	0,89 a	43,40 cd	0,70 bc
2-TN	84,13 abc	0,87 a	38,17 d	0,58 с
3-T. 2B	87,58 ab	0,90 a	48,96 bc	0,59 c
$4-T.2B+2AzV_3$	77,38 c	0,91 a	44,58 cd	0,60 c
5-T. 2B+2AzV ₅	78,00 c	0,91 a	56,75 ab	0,85 ab
6-T. 2B+3AzV ₃	91,88 ab	0,90 a	55,75 ab	0,92 a
7-T. 2B+3AzV ₅	87,88 ab	0,88 a	63,33 a	0,87 a
8-T.Stimulate V ₅	85,67 abc	0,90 a	61,75 a	0,87 a
CV%	6,41	5,89	11,03	14,03

¹TC-Tratamento controle; ²TN- Testemunha nitrogenada; ³T2B- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum*; ⁴T.2B+2AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁵T.2B+2AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁶T.2B+3AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁷T.2B+3AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁸T.Stimulate V₅ –Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de 0,5 L no estádio V₅. As médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Para massa seca de nódulos (MSN – g planta⁻¹) na Tabela 3, os melhores desempenhos foram observados nos tratamentos 6, 7 e 8 e os menores resultados apresentados foram nos tratamentos 2 (TN), 3 (2B) e 4 (2B+2AzV₃). Esses resultados mostraram bom desempenho na atuação das bactérias em co-inoculação (REIS et al., 2008). Corroborando com o trabalho de Fipke (2015), que foi realizado o fornecimento de 100 kg ha⁻¹ de N na forma de ureia na semeadura e mais 100 kg ha⁻¹ de N aplicado em cobertura no estágio R₁, apresentou menor número de nódulos em dois anos de experimento. Resultado semelhante também foi encontrado no trabalho de Braccini et al. (2016), onde estudaram diferentes formas e doses de

aplicação de co-inoculação de *A. brasilense* + *B. japonicum* e inoculação padrão, observou-se melhores resultados nas variáveis número e peso de nódulos para todos os tratamentos utilizando inoculação diferindo significativamente da testemunha e do tratamento com 200 kg ha⁻¹ de N. Em estudos realizados por Godinho (2015), a testemunha e o tratamento utilizando de 200 kg ha⁻¹ de N, apresentou menor número e peso de nódulos, comparando com os tratamentos de inoculação padrão e co-inoculação em diferentes dosagens.

Na variável massa seca das folhas (MSF – g planta⁻¹), na Tabela 4 os tratamentos 6 (2B+3AzV₃) e 7 (2B+3AzV₅) os quais utilizaram a maior dosagem de *Azospirillum*, apresentaram os maiores valores nos. Resultado semelhante apresentou o trabalhado de Braccini et al. (2016), onde avaliaram a massa seca da parte aérea no estádio fenológico R₁, os tratamentos com inoculação padrão e co-inoculação com três doses *Bradyrhizobium japonicum* e duas doses de *Azospirillum brasilense* pulverizado via sulco, apresentaram valores superiores comparando com a testemunha.

Observando o parâmetro massa seca das raízes (MSR – g planta⁻¹) na Tabela 4, o tratamento 7 (2B+3AzV₅) apresentou o melhor resultado, e o menor valor no tratamento 4 (2B+2AzV₃). Zuffo et al. (2015), realizando experimento em casa de vegetação, não foi observado efeitos significativos para o parâmetro massa seca da raiz nos tratamentos utilizando co-inoculação. Torneli et al. (2015), conduziram ensaio em Colina, SP observando duas variedades em diferentes tratamentos com inoculação padrão e co-inoculação, não obtiveram diferenças estatísticas significativas, porém o tratamento com *Azospirillum + Bradyrhizobium* na cv. IAC Foscarin 31 mostrou superioridade numérica em relação aos demais, diferindo deste trabalho.

Na variável peso de mil grãos (PMG – g planta⁻¹) na Tabela 4, não ocorreu diferença significativa em nenhum tratamento, esse resultado corrobora com os estudos realizados por Scheneider et al. (2017), testando diferentes dosagens de co- inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com *Azospirillum brasilense*, não foi observado diferença significativa na variável em questão. Porém, difere do trabalho de Braccini et al. (2016), os tratamentos de inoculação padrão com uma dose inoculado na semente e co-inoculação com três doses de *Bradyrhizobium japonicum* e duas doses de *Azospirillum brasilense* pulverizado no sulco de plantio, apresentaram maior massa de mil grãos em comparação com os demais tratamentos.

Tabela 4. Avaliação de massa seca das folhas (MSF - g $^{-1}$), massa seca da raiz (MSR - g $^{-1}$) e peso de 1000 grãos (PMG - g $^{-1}$) da soja dentro de cada local e em função dos tratamentos 1 realizados experimentos de campo conduzidos na fazenda Vera Cruz e fazenda São Luiz II no ano agrícola de 2017/2018.

Variáveis	MSF	MSR	PMG
Local (L)			
Fazenda Vera Cruz	13,78 b	4,82 b	199,63 a
Fazenda São Luiz	17,34 a	6,18 a	188,30 b
Tratamentos (T)			
1-Trat. Controle	14,70 b	5,70 ab	199,87 a
2-Trat. Nitrogênio	15,93 ab	5,23 ab	191,89 a
3-Trat. 2B	14,74 b	5,32 ab	190,91 a
4-Trat.2B+2AzV ₃	14,62 b	4,99 b	197,09 a
5-Trat. 2B+2AzV ₅	14,19 b	5,48 ab	197,05 a
6-Trat. 2B+3AzV ₃	16,98 a	5,61 ab	190,13 a
7-Trat. 2B+3AzV ₅	17,17 a	5,98 a	190,89 a
8-Trat.StimulateV ₅	16,15 ab	5,70 ab	193,89 a
CV%	8,83	9,49	4,94

¹TC-Tratamento controle; ²TN- Testemunha nitrogenada; ³T2B- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum*; ⁴T.2B+2AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁵T.2B+2AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁶T.2B+3AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁷T.2B+3AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁸T.Stimulate V₅ −Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de 0,5 L no estádio V₅. As médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

No parâmetro produtividade na Tabela 5, o tratamento 3 (2B) apresentou maior rendimento, seguido do tratamento 4 (2B+2AzV₃) com as percentagens de 25,59% e 18,50 % em relação a testemunha respectivamente, que obteve o menor resultado, demais tratamentos obteve valores intermediários. Esses resultados mostram que a utilização de inoculação e coinoculação trazem respostas positivas para a cultura soja. Salin et al. (2018), testou coinoculação com uma dose de *Bradyrhizobium* e duas doses de *Azospirillum brasilense*, obteveram aumento de 5,12 % em rendimentos de grãos por ha⁻¹. Pardinho e Primiere (2015), comparando inoculação padrão e co-inoculação, obtiveram maior produtividade nos

tratamentos apenas com *Bradyrhizobium*, tratamentos utilizando *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* não diferiram estatisticamente. Bárbaro et al. (2009), verificaram que a média dos tratamentos de co-inoculação, inoculação tradicional e testemunha nos valores referente a produtividade não obteve diferença significativa entre si.

Tabela 5. Avaliação de produtividade $(PG - kg ha^{-1})$ da soja dentro de cada local e em função dos tratamentos ¹ realizados experimentos de campo conduzidos na fazenda Vera Cruz e fazenda São Luiz II no ano agrícola de 2017/2018.

Variáveis	PG
Local (L)	.
Fazenda Vera Cruz	5.267,58 a
Fazenda São Luiz II	4.479,40 b
Tratamentos (T)	
1-Trat. Controle	4.404,20 e
2-Trat. Nitrogênio	5.106,18 abc
3-Trat. 2B	5.531,46 a
4-Trat.2B+2AzV ₃	5.219,07 ab
5-Trat. 2B+2AzV ₅	4.583,33 de
6-Trat. 2B+3AzV ₃	4.900,64 bcd
7-Trat. 2B+3AzV ₅	4.672,90 cde
8-Trat.StimulateV ₅	4.570,15 de
CV%	6,36

TC- Tratamento controle; ² TN- Testemunha nitrogenada; ³ T2B- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum*; ⁴ T.2B+2AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁵ T.2B+2AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* e duas doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁶ T.2B+3AzV₃- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₃; ⁷ T.2B+3AzV₅- Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de três doses de *A. brasilense* no estádio V₅; ⁸ T.Stimulate V₅ –Inoculação da semente com duas doses de *B. japonicum* mais pulverização de 0,5 L no estádio V₅. As médias seguidas por mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Tukey (p<0,05)

4. CONCLUSÕES

- 1. Para avaliações sobre nodulação da planta de soja, a co-inoculação de *Azospirillum* brasilense interferiu positivamente sobre o número e massa seca dos nódulos, interagindo com o *Bradyrhizobium japonicum*.
- 2. A utilização da co-inoculação de *A. brasilense* com 3 doses em V₃ e V₅, promoveu maior disponibilidade de N e melhor desenvolvimento da área foliar.
- O tratamento com inoculação padrão obteve o melhor rendimento em produtividade, seguido o tratamento com 2 doses de A. brasilense no estádio fenológico V₃, demonstrando eficiência na produtividade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com** *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade, 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm. Acesso em: 05 Maio 2018.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com Bradyrhizobium japonicul y Azospirillum brasilense e inoculação simple con Brasyrhizobium japonicum em la nodulación, crecimiento y acumulación de N em el cultivo de soja. **Agriscientia**, Córdoba, v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.

BRACCINI, A. L., MARIUCCI, G. E. G., SUZUKAWA, A. K., DA SILVA LIMA, L. H., 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**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.

BRASMAX 2017. **Cultivar**. Disponível em: http://brasmaxgenetic.wpengine.com/cultivar-regiao-cerrado/. Acesso: 27 maio 2018.

BULEGON, L.G.L.; RAMPIM, J.; KLEIN, D.; KESTRING, V.F.; GUIMARÃES, A.G.; BATTISTUS, E.A.; INAGAKI, M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**. México, v.34, p.169-176, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grão**. Disponível em:< www.conab.gov.br. Acesso em: 27 Maio 2018>.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja**: Paraná. Londrina: Embrapa Soja, p. 224. (Sistemas de Produção/Embrapa Soja, n.5), 2004.

FAGAN, E. B; MEDEIROS, S. L. P; MANFRON, P. A; CASAROLI, D; SIMON, J; NETO, D. D; LIER, Q. J.V; SANTOS, O.S; MULLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja – revisão. **FZVA**, Uruguaiana, v.14, n.1, p. 89-106. 2007.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja** (*Glicyne max*) **con** *Bradyrhizobium japonicum* **y** *Azospirillum brasilense*. Articulos Técnicos — Agricultura. 2006. Disponível em: https://www.engormix.com/agricultura/articulos/co-inoculacion-en-soja-t26446.htm. Acesso: 7 abr. 2018.

FINOTO, E. L., JÚNIOR, P. S. C., BÁRBARO-TORNELI, I. M., MARTINS, M. H., SOARES, M. B. B., MARTINS, A. L. M. **Desenvolvimento e produção de soja co-**

- inoculada com *azospirillum brasilense* em semeadura direta sobre palhiço de cana crua. Nucleus, São Paulo, p. 9-14, 2017.
- FIPKE, G. M. Co-inoculação e pré-inoculação de sementes em soja. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2015.
- FORTE, C.T; AGAZZI, L.R; DAVID, F.A; WINTER, F.L; BASSO, F.J.M; NONEMACHER, F; WRUBLEWSKI, R; GALON, L. efeito da aplicação de micronutrientes na cultura da soja. In: **V SEPE Seminário de ensino pesquisa e extensão**, 2015, Erechim RS. Anais do V SEPE e Jornada de Iniciação Científica Rio Grande do Sul: SEPE, 2015. vol. 5.
- GODINHO, F. B., FERRI, G., LUCCA, A. B., ANGELLOT, P., MARTELI, D. C. V., ANGHINONI, G. Avaliação da eficiência da co-inoculação nos parâmetros de nodulação e no rendimento da soja. In: **Encontro Internacional de Produção Científica UniCesumar**, IX EPCC, 2015, *Anais eletrônico...*, n. 9, p. 4-8, 2015.
- HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. **Regulation of nitrogen fixation in** *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiologia, Argentina, p.17-35, 2008.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com** *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa soja, 2011.
- HUNGRIA, M., CAMPO, R. J.; MENDES, I. D. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Embrapa Soja; Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2001.
- HUNGRIA, M.; CAMPOS, R. J. **Fixação biológica no Brasil é um exemplo de sucesso:** visão agrícola. Piracicaba: ESALQ, p. 152, 2006.
- MASCIARELLI, O.; URBANI L.; Reinoso, H. and Luna, V. Alternative Mechanism for the Evaluation of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by *Azospirillum brasilense* Strains and Its Effects on the Germination and Growth of Maize Seedlings. **Journal of Microbiology**, vol. 51, n. 5, p. 590-597, 2013.
- PANIAGUA, B. A., MAZZETTO, E., ALVAREZ, J. W. R., FIGUEREDO, J. C. K. Doses e forma de aplicação de inoculante e seu efeito na cultura da soja. **Varia Scientia Agrárias**, Paraguai, v. 5, n. 2, p. 19-31, 2017.
- PARDINNHO. J. P; PRIMIERI. C. Produtividade da soja em relação a inoculação e co-inoculação com *Bradyrhizobium e Azospirillum*. **Revista Cultivando o Saber**, Paraná, edição especial, p. 109-114, 2015.
- REIS, J. F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, E. L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 32, n. 3, 2008.

- SALIN, M., GIMENES, E. S., MICHELON, C. J., DEON, B. C., RUBIN, V. A. B., SOUZA, R. A. P. Resposta da soja à co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense* na depressão central do RS. In: **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 4, 2018. Rio Grande do Sul: SIEPE, 2018.
- SCHENEIDER, F., SORDI, A., PANIZZON, L. C., LAJÚS, C. R., CERICATO, A., KLEIN, C. Eficiência agronômica da cultura da soja (*Glycine max* (l.) merril) submetida a coinoculação. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 72-79, 2017.
- SFREDO, G.J; OLIVEIRA, M.C.N. **Soja: Molibdênio e Cobalto**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, p. 36. (EMBRAPA-CPATSA. Documentos, 322), 2010.
- SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A.V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African. Journal. Research, v. 11, n.39,p. 3733-3740, 2016.
- TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. SANTARÉM, E.R. et al., 3° ed., Porto Alegre: Artemed, p.719, 2004.
- TORNELI, I. M. B., DA SILVA LIBÓRIO, P. H., DE NÓBILE, F. O., UNÊDATREVISOLI, S. H., MIGUEL, F. B. DA SILVA, J. A. A. Desempenho de cultivares de soja em resposta a co-inoculação nas sementes. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, **Jaboticabal**, v. 7, n. esp., 2015.
- ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; CAMPO, R. J.; GIANLUPPI, V.; HUNGRIA, M. Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima. Boa Vista: Embrapa Roraima, p. 9. (Comunicado Técnico, 20), 2006.
- ZUFFO, A. M., REZENDE, P. M., BRUZI, A. T., OLIVEIRA, N. T., SOARES, I. O., NETO, G. F., SILVA, L. O. Coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, Lavras, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.

6. ANEXO I

Valores e significância do teste F para os efeitos de Local (L), tratamentos (T) e suas interações (L x T) sobre o número de folhas (NF- n° planta⁻¹), altura de plantas (AP – cm^{-1}), número de nódulos (NN– n° planta⁻¹), massa seca das folhas (MSF – g planta⁻¹), massa seca da raiz (MSR- g planta⁻¹), massa seca de 1000 grãos (M100G– g), produção de grãos (PG– kg ha⁻¹)

	Fontes	CVI (VI)		
Variáveis -	Local (L) Tratamentos (T)		- CV (%)	
	F	F		
NF	793,59**	7,0228**	6,41	
AP	4,7568*	$0,4788$ $^{\mathrm{NS}}$	5,89	
NN	76,9778**	20,7572**	11,03	
MSF	107,5757**	5,5979**	8,83	
MSN	679,5849**	15,1333**	14,03	
MSR	109,2956**	2,8380*	9,49	
P1000G	22,3902**	1,1469 ^{NS}	4,94	
PG	103,5513**	12,4291**	6,36	

^{*} Significativo (p<0,05); ** Significativo (p<0,01); ** Não Significativo pelo teste F; CV – coeficiente de variação (%).