

Formas e tipos de coinoculação na cultura da soja no Cerrado

Forms and types of coinoculation in the soybean crop in Cerrado region

Laura Britto Garcia de Oliveira, Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, Fernando Shintate Galindo*, Thiago Assis Rodrigues Nogueira, Maurício Barco Neto e Salatiér Buzetti

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" FEIS/UNESP, Brasil
(*E-mail: fs.galindo@yahoo.com.br)

<https://doi.org/10.19084/rca.15828>
Recebido/received: 2018.12.03
Aceite/accepted: 2019.08.02

RESUMO

A utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) pode promover aumento na eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN), com benefícios no desenvolvimento e produtividade de grãos de soja. Sendo assim, objetivou-se determinar o efeito da coinoculação de rizóbios com espécies de BPCPs inoculadas nas sementes ou aplicadas diretamente na base da planta, avaliando-se a nodulação, acúmulo de N em parte aérea e produtividade de grãos da soja em região de Cerrado. O experimento foi conduzido em sistema de plantio direto, num Latossolo Vermelho Distrófico de textura argilosa, em cultivo irrigado. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, dispostos em esquema fatorial 6x2+3, consistindo na coinoculação de rizóbios com seis BPCPs (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*), em duas formas de inoculação (inoculadas na semente ou em jato dirigido na base da planta no estágio V3 da soja). Incluíram-se também três tratamentos adicionais que consistiram em: testemunha sem inoculação e sem N, inoculação de sementes apenas com rizóbios (*Bradyrhizobium japonicum*), e tratamento com adubação nitrogenada (ureia). O *B. licheniformis* via semente propiciou maior nodulação e acúmulo de N na parte aérea. A produtividade de grãos de soja coinoculada não foi superior ao da soja inoculada com *Bradyrhizobium japonicum*, independentemente da forma de coinoculação. Desta forma, novos estudos relacionando formas de coinoculação devem ser realizados a fim de se avaliar os possíveis benefícios desta tecnologia na cultura da soja.

Palavras-chave: *Bacillus* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Azospirillum brasilense*; fixação biológica de nitrogênio; nodulação

ABSTRACT

The use of plant growth promoting bacteria (PGPBs) may promote increased biological nitrogen fixation efficiency (BNF), with benefits in soybean development and grain yield. The objective of this study was to evaluate the effect of co-inoculation of rhizobia with PGPBs species inoculated on the seeds or applied to the plant tissue, evaluating the nodulation, N accumulation in shoots and grain yield of soybean in Cerrado region. The experiment was conducted in no-tillage system in an Oxisol with a clay texture in irrigated cultivation. The experimental design was a randomized block design with four replicates, arranged in a 6x2+3 factorial scheme, with the co-inoculation of rhizobia with six BPCPs (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*), with seed inoculation or directed jet at the base of the plant at the V3 stage of soybean. It was also included the control without inoculation and without N, inoculation of seeds only with rhizobia (*Bradyrhizobium japonicum*), and treatment with nitrogen fertilization (urea). The *B. licheniformis* with seed inoculation provided greater nodulation and N accumulation in the aerial part. The grain yield of co-inoculated soybeans was not higher than that of soybean inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*, regardless of the form of co-inoculation. Among the bacteria, the *B. amyloliquefaciens* co-inoculated via seed and the *B. pumilus* and *B. licheniformis* directed jet at the base of the plant at the V3 stage provided higher grain yield.

Keywords: *Bacillus* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Azospirillum brasilense*; biological nitrogen fixation; nodulation

INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) ocupou uma área de 120,958 milhões de hectares no mundo, com uma produção de 351,311 milhões de toneladas na safra 2016/2017 (USDA, 2017). No Brasil a área ocupada na safra 2017/2018 chegou a 35,149 milhões de hectares, com produtividade de grãos média de 3.394 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

Para obtenção de elevadas produtividades de grãos de soja, e em função da demanda em nitrogênio (N) da cultura, a fixação biológica de N₂ deve funcionar com a máxima eficiência (Galindo *et al.*, 2017, 2018; Moretti *et al.*, 2018). Nesse contexto, a utilização de novas tecnologias buscando aumento na fixação biológica de nitrogênio (FBN), com reflexo no desenvolvimento e produtividade de grãos, tornam-se essenciais para uma agricultura competitiva e sustentável. Desta forma, práticas que minimizam e/ou otimizam o uso de insumos devem ser utilizadas em sistemas agrícolas (Galindo *et al.*, 2016).

Considerando os benefícios verificados em diversas culturas com a inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), especialmente em função do efeito fitohormonal atuando diretamente na promoção de crescimento vegetal, desenvolvimento do sistema radicular, e conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes (Hungria *et al.*, 2013; Xiao-Ying *et al.*, 2015; Galindo *et al.*, 2018), controle biológico de plantas, produção de antibióticos naturais e efeito protetor contra fitopatógenos secundários do solo (Santoyo *et al.*, 2012; Mazzuchelli *et al.*, 2014; Sivasakthi *et al.*, 2014; Jardim, 2015), além do potencial de aumento da FBN e na eficiência do uso do N (Pankiewicz *et al.*, 2015; Galindo *et al.*, 2016), deduz-se que a coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. juntamente com BPCPs, como por exemplo *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. podem favorecer o desenvolvimento da cultura, e conseqüentemente a produção de grãos.

Hungria *et al.* (2013) concluíram que a co-inoculação com *Azospirillum brasilense* na soja (*B. japonicum* + *A. brasilense*) e no feijão-comum (*R. tropici* + *A. brasilense*) aumentou a produtividade de grãos na soja em 14,1 e 6,4% e no feijão-comum em 19,6 e 14,7%, em relação à ausência de inoculação

(controle) e a inoculação tradicional apenas com a bactéria simbiótica, respectivamente. Galindo *et al.* (2017), verificaram aumento no número de vagens por planta, massa de 100 grãos e produtividade de grãos de soja com a co-inoculação com *A. brasilense*, com aumento na produtividade de grãos em 11,2% e aumento em 14,4% na lucratividade obtida. Em estudos com co-inoculação com *A. brasilense* associada à utilização de Co e Mo nas sementes, Galindo *et al.* (2018), verificaram aumento na produtividade de grãos comparativamente à inoculação convencional (*B. japonicum*) em 18,1%, com aumento em 20,4% na lucratividade. Souza e Ferreira (2017), verificaram aumento em 5 e 26% na produtividade do feijão-comum com a co-inoculação com *A. brasilense* comparativamente à aplicação de fertilizantes e a inoculação convencional com *R. tropici*, respectivamente.

Nesse contexto, e frente à carência de informações acerca da coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*, *Bacillus amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* em condições de Cerrado brasileiras, no desenvolvimento e produtividade da soja, é expectável que a coinoculação das sementes de soja possa favorecer a nodulação, o acúmulo de N na parte aérea, e conseqüentemente, melhorar o desenvolvimento e enchimento de grãos com reflexo positivo na produtividade da cultura da soja. Diante do exposto, este estudo teve por objetivo determinar o efeito da coinoculação de *Bradyrhizobium* com BPCPs (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*), inoculadas na semente ou em jato dirigido na base da planta, no número de nódulos, acúmulo de N em parte aérea, massa de grãos, número de grãos por planta e produtividade de grãos de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na área experimental, pertencente à Faculdade de Engenharia – UNESP, localizada em Selvíria – MS, com altitude de 335 m. As coordenadas geográficas aproximadas são de 51° 22' Oeste e 20° 22' sul e 335 metros de altitude. A temperatura média anual é de 23,5°C, a precipitação pluvial média anual é de 1370 mm e a humidade relativa do ar média anual entre

70 e 80%. O tipo climático na região é Aw, segundo Köppen, caracterizado como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno (Alvares *et al.*, 2013). Os valores mensais de precipitação pluvial e temperatura do ar registrados durante a condução do experimento constam na Figura 1.

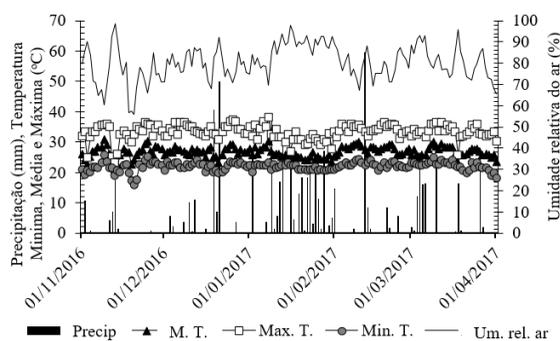


Figura 1 - Precipitação pluvial, temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima e umidade relativa do ar (UR) registradas durante a condução do experimento. Selvíria – MS, 2016/17.

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho Distrófico de textura argilosa, segundo a EMBRAPA (2013), o qual foi cultivado por culturas anuais durante mais de 28 anos, sendo os últimos 13 anos em sistema de plantio direto, e com as culturas da soja na safra e trigo no inverno.

Os atributos químicos do solo na camada arável (0-0,20 m) determinados antes da instalação do experimento de soja, segundo metodologia proposta por Raji *et al.* (2001), apresentaram os seguintes resultados: 25 mg dm⁻³ de P (resina); 2 mg dm⁻³ de S-SO₄; 22 g dm⁻³ de M.O.; 5,5 de pH (CaCl₂); K, Ca, Mg, H+Al = 6,6; 38,0; 25,0 e 31,0 mmol_c dm⁻³, respectivamente; Cu, Fe, Mn, Zn (DTPA) = 5,5; 15,0; 110,8 e 1,0 mg dm⁻³, respectivamente; 0,18 mg dm⁻³ de B (água quente) e 68% de saturação por bases.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, dispostos em esquema fatorial 6x2+3, sendo a coinoculação de rizóbios com seis bactérias promotoras de crescimento de plantas (*Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 (garantia de 2x10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC) por mL), *Bacillus amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* estirpe CCTB03 = CNPSo2719 (garantia

de 2x10⁸ UFC por mL) e com duas formas de inoculação (inoculados na semente ou em jato dirigido na base da planta no estágio V3 da soja). Incluíram-se também três tratamentos adicionais que consistiram em: testemunha sem inoculação e sem adição de N, inoculação de sementes apenas com *Bradyrhizobium japonicum* estirpe SEMIA 5079 (garantia de 5x10⁹ UFC por g, considerada como inoculação convencional), e tratamento com adubação nitrogenada (200 kg ha⁻¹ de N, parcelado em duas doses iguais na semeadura e florescimento, na forma de ureia). As parcelas do experimento apresentaram 6 m de comprimento com 7 linhas espaçadas em 0,45 m, sendo a área útil da parcela, quatro linhas centrais, excluindo-se 1 m das extremidades.

A inoculação de sementes com rizóbios (*B. japonicum*) foi sempre na dose de 80 g do inoculante turfoso para 50 kg de semente, com solução açucarada de 10%. Apenas a testemunha e o tratamento com adubação nitrogenada não receberam esta inoculação. Para a inoculação via semente, foram aplicados 100 mL do inoculante com *P. fluorescens* para 50 kg de semente; 50 mL dos inoculantes com *B. amyloliquefacens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus* e *B. subtilis* para 50 kg de semente, separadamente; e 100 mL do inoculante com *A. brasilense* para 50 kg de sementes a serem semeadas, conforme recomendação do fabricante dos inoculantes. Em relação às coinoculações em jato dirigido na base da planta no estágio V3 da soja, o volume de aplicação foi sempre de 150 l ha⁻¹, sendo aplicada a dose de 300 ml ha⁻¹ do inoculante das seis bactérias testadas, isoladamente.

As sementes foram tratadas com os fungicidas piraclostrobina + tiofanato-metílico (6 g + 56 g do i.a. por 100 kg de semente) e o inseticida fipronil (62 g do i.a. por 100 kg de semente), respectivamente. Após a secagem, foi efetuada a inoculação dos tratamentos nas sementes à sombra. Posteriormente, as sementes inoculadas foram transportadas em caixas de isopor até ao momento da semeadura.

A condução do experimento ocorreu em sistema de plantio direto. Com base na análise de solo e na recomendação de adubação da cultura da soja (Ambrosano *et al.*, 1997), foi realizada a adubação em sulco com 283 kg ha⁻¹ da fórmula 00-20-20, para todos os tratamentos, equivalente a 56,6 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e K₂O.

A semeadura da cultivar de soja BMX Potência RR foi realizada mecanicamente, semeando-se 15 sementes por metro, no dia 19 de novembro de 2016, com espaçamento entrelinhas de 0,45 m. A área experimental foi irrigada por aspersão, por meio de pivô central, com lâmina de água de aproximadamente 14 mm, quando necessário. A emergência das plântulas ocorreu 5 dias após a semeadura. Quando as plantas estavam no estágio vegetativo V2, foi realizada a adubação foliar em área foliar com cobalto e molibdênio, na dose 150 mL ha⁻¹ do CoMo (15% de Mo e 1,5% de Co) e com volume de calda para aplicação de 300 L ha⁻¹.

O controle de plantas daninhas foi efetuado com a aplicação do herbicida Glyphosate (1,56 kg ha⁻¹), em pós-emergência, no estágio V2. Também foram efetuadas duas aplicações para o controle de pragas e preventiva a doenças, principalmente a ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*), foram na primeira aplicação foi usado o fungicida Epoxiconazol (0,6 L ha⁻¹) juntamente com os inseticidas – acaricida Clorpirifós (0,8 L ha⁻¹), inseticida Imidacloprido (0,8 L ha⁻¹) e Metomil (0,8 L ha⁻¹). E na segunda aplicação foi utilizado o fungicida e Azoxistrobina (0,3 L ha⁻¹) com os inseticidas Tiametoxam (0,2 L ha⁻¹), Metomil (0,6 L ha⁻¹) e Clorotraniliprole (0,05 L ha⁻¹)

Foram coletadas dez plantas ao acaso, no estágio fenológico V6 para avaliação da nodulação tendo-se separado o sistema radicular da parte aérea. As raízes foram depois lavadas e os nódulos separados para contagem dos respectivos números. No estágio R2 da soja, foram amostradas cinco plantas representativas por parcela, para determinação da matéria seca da parte aérea e posteriormente, análise da concentração de N, conforme metodologia proposta por Malavolta *et al.* (1997). Com base nesta matéria seca extrapolada por hectare e na concentração de N, calculou-se o acúmulo de N na parte aérea.

Aos 130 dias após emergência das plântulas, dia 1 de abril de 2017, foi realizada a colheita de soja. Nesta ocasião foram coletadas 10 plantas de soja representativas por parcela para contagem do número de grãos por planta e obtenção da massa de 100 grãos, determinada em balança de precisão 0,01g, e corrigidos a 13% de humidade (base húmida). A produtividade de grãos foi determinada pela coleta das plantas contidas nas 4 linhas úteis

de cada parcela. Após a trilha mecânica, os grãos foram quantificados e os dados extrapolados em kg ha⁻¹ e corrigidos para 13% de humidade (base húmida).

Os resultados foram avaliados pela análise de variância (teste F $P < 0,05$) e teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, para comparação de médias dos tratamentos inoculados na semente ou via jato dirigido com os três tratamentos extras padrões, e foi utilizado o teste de Tukey a 5% para comparação fatorial (Formas x Tipos de coinoculações) utilizando-se o programa de análise estatística SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A nodulação da planta de soja foi influenciada pela coinoculação via semente (Quadro 1), sendo maior com o *B. licheniformis*, seguido do *A. brasilense*, *B. subtilis* e *B. pumilus* (que não diferiram entre si), os quais foram superiores à testemunha sem N e sem inoculação, ao tratamento com adubação nitrogenada e à inoculação convencional (apenas com *B. japonicum*). Tal resultado refletiu-se em parte, no acúmulo de N na parte aérea, em que a coinoculação com *B. licheniformis* proporcionou o maior acúmulo deste nutriente na altura do florescimento da soja, seguido da adubação nitrogenada, que também foi superior aos demais tratamentos. Contudo, não houve diferença entre os tratamentos aplicados via semente para massa de 100 grãos e número de grãos por planta (Quadro 1).

O aumento no acúmulo de N na parte aérea sugere que houve aumento na absorção e acúmulo de N pela cultura da soja quando co-inoculada com *B. licheniformis*, e possivelmente aumento no acúmulo de N nos grãos e formação de proteínas, uma vez que este nutriente está relacionado com a síntese de proteínas, clorofila, coenzimas, fitohormônios, ácidos nucléicos e metabólitos secundários (Marschner, 2012), além de ser um excelente resultado em função do aumento na qualidade dos grãos de soja colhidas. De acordo com Bárbaro *et al.* (2009), é reportado na literatura que BPCPs podem atuar na relação entre o rizóbio e espécies de leguminosas, promovendo o crescimento de plantas e o aumento na produtividade de grãos e sementes, no N total fixado biologicamente, além de maior

Quadro 1 - Nódulos por planta, acúmulo de N na parte aérea no florescimento, massa de 100 grãos, grãos por planta e produtividade de grãos de soja em função da co inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas e de acordo com a forma de co inoculação e adubação nitrogenada. Selvíria – MS

Tratamentos	Nódulos por planta	Acúmulo de N na parte aérea (kg ha ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Grãos por planta	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)
Coinoculação via semente					
0% de N e sem inoculação	70,40 c	141,24 c	16,82 a	156,40 a	4.221 b
100% N e sem inoculação	47,60 c	200,43 b	16,07 a	127,88 a	5.342 a
Inoculação apenas <i>B. japonicum</i>	78,40 c	152,11 c	16,00 a	147,86 a	5.527 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	71,80 c	123,13 c	15,99 a	138,38 a	5.125 a
<i>Bacillus subtilis</i>	129,20 b	169,95 c	16,56 a	156,40 a	4.693 b
<i>Bacillus pumilus</i>	127,00 b	162,08 c	16,76 a	130,18 a	4.803 b
<i>Bacillus licheniformis</i>	224,80 a	262,88 a	16,51 a	159,85 a	4.712 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	98,00 c	141,36 c	17,04 a	184,46 a	5.654 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	139,00 b	140,11 c	15,75 a	115,00 a	4.709 b
Média geral	109,57	165,92	16,39	146,26	4.976
C.V. (%)	29,52	17,95	8,58	24,86	11,17
Erro Padrão	14,46	17,19	0,62	16,26	248,54
Coinoculação via jato dirigido no estágio V3					
0% de N e sem inoculação	70,40 b	141,24 a	16,82 b	156,40 a	4.221 b
100% N e sem inoculação	47,60 b	200,43 a	16,07 b	127,88 a	5.342 a
Inoculação apenas <i>B. japonicum</i>	78,40 b	152,11 a	16,00 b	147,86 a	5.527 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	120,60 a	148,43 a	14,56 b	157,16 a	5.175 a
<i>Bacillus subtilis</i>	151,00 a	160,50 a	15,40 b	152,37 a	4.673 b
<i>Bacillus pumilus</i>	148,40 a	160,41 a	15,31 b	182,96 a	5.700 a
<i>Bacillus licheniformis</i>	169,60 a	170,59 a	16,14 b	154,67 a	5.609 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	157,00 a	183,58 a	18,81 a	173,26 a	5.603 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	126,60 a	169,45 a	16,00 b	139,45 a	5.365 a
Média geral	24,32	165,19	16,09	154,67	5.246
C.V. (%)	118,84	20,85	8,73	25,83	10,14
Erro Padrão	12,92	19,88	0,62	17,86	237,82

Médias seguidas de letra iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

utilização de N pela planta em função da co inoculação, corroborando parcialmente com os resultados verificados no presente trabalho.

Analisando a produtividade de grãos das co inoculações via semente, constatou-se que os maiores valores foram obtidos com *B. amyloliquefaciens*, inoculação convencional, *P. fluorescens* e com a adubação nitrogenada (Quadro 1). De modo geral foram obtidas altas produtividades de soja (em média 5.111 kg ha⁻¹) comparativamente à média nacional Brasileira (em média 3.394 kg ha⁻¹ na safra 2018/19 segundo CONAB, 2019), o que se deve a adequada fertilidade do solo, histórico de 13 anos da área agrícola em sistema de plantio direto e irrigação suplementar. Provavelmente por isso, as co inoculações com estas bactérias promotoras de

crescimento de plantas não tenham sobressaído em relação à inoculação convencional.

A aplicação de N mineral destacou-se em relação às inoculações com *B. japonicum* (convencional), *Pseudomonas fluorescens*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *Azospirillum brasilense* aplicados nas sementes e ausência de inoculação e adubação no acúmulo de N na planta e isso deve-se ao fato de que a aplicação de N mineral quando fornecida em dosagem adequada, é absorvida facilmente e assimilada pela planta (Parente *et al.*, 2015). Porém, ressalta-se que quando comparado com as bactérias, o *B. licheniformis* inoculado nas sementes obteve resultados superiores aos da aplicação de N mineral.

Quanto à coinoculação via jato dirigido no estádio V3 (Quadro 1), verificou-se que a nodulação das plantas de soja foi superior quando as bactérias foram coinoculadas, independentemente da bactéria promotora de crescimento. Porém, não interferiu de forma expressiva no acúmulo de N em parte aérea na ocasião do florescimento e no número de grãos por planta. Contudo, foi verificado maior massa de 100 grãos com a coinoculação de *B. amyloliquefaciens* em relação aos demais tratamentos. Em relação à produtividade de grãos para a forma de coinoculação via jato dirigido no estádio V3, as menores produtividades foram constatadas na testemunha sem inoculação e aplicação de N, e com a coinoculação com *B. subtilis*.

O aumento na produtividade de grãos da soja ocorre em função do somatório de fatores relacionados com a nutrição, como número e massa de nódulos, absorção, acúmulo e aproveitamento de água, N e demais nutrientes, índice de clorofila foliar e componentes produtivos, como massa de raízes e parte aérea, número de vagens por planta, grãos por vagem, índice de área foliar e massa de grãos (Prasanna *et al.*, 2014). Além disso, a inoculação com *B. subtilis* pode beneficiar o desenvolvimento

da cultura da soja, especialmente em função do efeito fitohormonal atuando diretamente na promoção de crescimento vegetal, desenvolvimento do sistema radicular, e consequentemente maior absorção de água e nutrientes (Hungria *et al.*, 2013; Xiao-Ying *et al.*, 2015), controle biológico de plantas, produção de antibióticos naturais e efeito protetor contra fitopatógenos secundários do solo (Santoyo *et al.*, 2012; Mazzuchelli *et al.*, 2014; Sivasakthi *et al.*, 2014; Jardim, 2015), além do potencial aumento da FBN e da eficiência do uso do N (Pankiewicz *et al.*, 2015; Galindo *et al.*, 2016). Desta forma, novos estudos relacionando formas de coinoculação devem ser realizados a fim de se avaliar os possíveis benefícios desta tecnologia na cultura da soja.

Para análise fatorial entre bactérias x formas de inoculação (Quadro 2), verificou-se um maior número de nódulos por planta para coinoculação com *B. licheniformis*, e massa de 100 grãos para o *B. amyloliquefaciens*. Contudo, a forma de inoculação não influenciou o número de nódulos por planta, assim como a massa de 100 grãos e número de grãos por planta. No desdobramento da interação entre bactérias e formas de coinoculação para o acúmulo de N na parte aérea no florescimento e

Quadro 2 - Nódulos por planta, acúmulo de N na parte aérea no florescimento, massa de 100 grãos, grãos por planta e produtividade de grãos de soja de acordo com o tipo de coinoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas e a forma de coinoculação. Selvíria – MS

Tratamentos	Nódulos por planta	Acúmulo de N na parte aérea (kg ha ⁻¹)	Massa de 100 grãos (g)	Grãos por planta	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)
Tipo de coinoculação					
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	96,20 b	132,25	15,28 b	147,70 a	5160
<i>Bacillus subtilis</i>	140,10 b	159,19	15,98 b	154,39 a	4683
<i>Bacillus pumilus</i>	137,70 b	161,29	16,04 b	156,57 a	5251
<i>Bacillus licheniformis</i>	197,20 a	171,99	16,33 b	157,26 a	5161
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	127,50 b	201,50	17,93 a	178,86 a	5629
<i>Azospirillum brasilense</i>	132,80 b	170,02	15,73 b	127,23 a	5037
DMS (5%)	48,03	48,18	2,06	51,38	256,4
Forma de coinoculação					
Semente	131,63 a	170,99	16,44 a	147,38 a	4949
Jato dirigido	145,53 a	161,09	15,99 a	159,99 a	5354
DMS (5%)	18,75	19,67	0,84	20,98	298,3
Média geral	138,58	166,04	16,21	153,68	5152
C.V. (%)	26,01	17,14	9,99	26,23	11,13

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

produtividade de grãos (Quadro 3), o maior acúmulo de N foi propiciado pelo *B. amyloliquefaciens* quando coinoculado via semente, mas isso não interferiu na produtividade da soja, a qual não diferiu entre os tipos de coinoculação. Com relação a coinoculação no estágio V3 da soja, as bactérias não diferiram quanto ao acúmulo de N e produtividade de grãos.

A forma de coinoculação das bactérias não influenciou sobremaneira o acúmulo de N em parte aérea (Quadro 3). Apenas na aplicação de *B. amyloliquefaciens* inoculado na semente houve aumento no acúmulo de N na parte aérea comparativamente à aplicação em jato dirigido em V3. Em relação à produtividade de grãos, verificou-se que o *B. pumilus*

e *B. licheniformis* proporcionaram maiores produtividades quando fornecidos em jato dirigido no estágio V3 da soja.

Embora a coinoculação tenha beneficiado alguns parâmetros avaliados, os efeitos da inoculação com BPCPs são muito variáveis, e de acordo com Novakowski *et al.* (2011), é difícil elaborar uma recomendação acurada do uso destes inoculantes nas culturas de interesse agrícola. Desta forma, é de fundamental importância levar em consideração que a interação adequada entre genótipos, bactérias e ambiente, bem como a melhor forma de se realizar a sua aplicação, é a chave para o sucesso na melhoria da FBN na soja (Hungria *et al.*, 2010; Galindo *et al.*, 2017).

Quadro 3 - Desdobramento da interação entre bactérias e formas de coinoculação para o acúmulo de N na parte aérea no florescimento e produtividade de grãos de soja. Selvíria - MS

Tipos de coinoculações	Formas de coinoculação	
	Semente	Aplicação em V3
	Acúmulo de N (kg ha ⁻¹)	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	123,13bA	141,36aA
<i>Bacillus subtilis</i>	148,43bA	169,95aA
<i>Bacillus pumilus</i>	160,50bA	162,08aA
<i>Bacillus licheniformis</i>	160,41bA	183,58aA
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	262,88aA	140,11aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	170,59bA	169,45aA
	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5.125aA	5.175aA
<i>Bacillus subtilis</i>	4.693aA	4.673aA
<i>Bacillus pumilus</i>	4.803aB	5.700aA
<i>Bacillus licheniformis</i>	4.712aB	5.609aA
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5.654aA	5.603aA
<i>Azospirillum brasilense</i>	4.709aA	5.365aA

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

CONCLUSÕES

A coinoculação da soja com as bactérias promotoras de crescimentos via semente ou em estágio V3 proporcionou maior número de nódulos por planta em relação à inoculação convencional. O *B. licheniformis* via semente propiciou maior nodulação e acúmulo de N na parte aérea, porém sem reflexo na produtividade da soja.

A produtividade de grãos de soja coinoculada com as diferentes bactérias promotoras de crescimento não foi superior ao da soja inoculada com *B. japonicum*, independentemente da forma de coinoculação.

Dentre as bactérias, o *B. amyloliquefaciens* coinoculado via semente e os *B. pumilus* e *B. licheniformis* via jato dirigido em estágio V3 proporcionaram maiores produtividades de grãos, sendo assim promissoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonçalves, J.L.M. & Sparovek, G. (2013) - Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, vol. 22, n. 6, p. 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Ambrosano, E.J.; Tanaka, R.T.; Mascarenhas, H.A.A.; Raij, B. van; Quaggio, J.A. & Cantarella, H. (1997) - Leguminosas e oleaginosas. In: Raij, B. van; Cantarella, H.; Quaggio, J. A. & Furlani, A.M.C. (Eds.) - *Recomendações de calagem e adubação para o Estado de São Paulo*. Campinas: IAC, 285 p. Boletim técnico, 100.

- Bárbaro, I.M.; Centurio, M.A.P. da C.; Gavioli, E.A.; Sarti, D.G.P.; Bárbaro Júnior, L.S.; Ticelli, M. & Miguel, F.B. (2009) - Análise de cultivares de soja em resposta à inoculação e aplicação de cobalto e molibdênio. *Revista Ceres*, vol. 56, n. 3, p. 342-349.
- CONAB (2019) - *Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sétimo levantamento, abril/2019*. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 119 p
- EMBRAPA (2013) - *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 3. ed. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 353 p.
- Ferreira, D.F. (2011) - Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, vol. 35, n. 6, p. 1039-1042. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Galindo, F.S.; Teixeira Filho, M.C.M.; Buzetti, S.; Santini, J.M.K.; Alves, C.J.; Nogueira, L.M.; Ludkiewicz, M.G.Z.; Andreotti, M. & Bellote, J.L.M. (2016) - Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 40, art. e015036. <http://dx.doi.org/10.1590/18069657rbc20150364>
- Galindo, F.S.; Teixeira Filho, M.C.M.; Buzetti, S.; Ludkiewicz, M.G.Z.; Rosa, P.A.L. & Tritapepe, C.A. (2018) - Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 22, n. 1, p. 51-56. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n1p51-56>
- Galindo, F.S.; Teixeira Filho, M.C.M.; Buzetti, S.; Santini, J.M.K.; Ludkiewicz, M.G.Z. & Baggio, G. (2017) - Modes of application of cobalt, molybdenium and *Azospirillum brasilense* on soybean yield and profitability. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 21, n. 3, p. 180-185. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v21n3p180-185>
- Hungria, M.; Campo, R.J.; Souza, E.M. & Pedrosa, F.O. (2010) - Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, vol. 331, n. 1-2, p. 413-425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M.; Nogueira, M.A. & Araujo, R.S. (2013) - Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, vol. 49, n. 7, p. 791-801. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5>
- Jardin, P. (2015) - Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, vol. 196, p. 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Malavolta, E.; Vitti, G.C. & Oliveira, S.A. (1997) - *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2a. ed. Piracicaba: Potafos.
- Marschner, P. (2012) - *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 3. ed. New York: Academic Press, 651 p.
- Mazzuchelli, R.C.L.; Sossai, B.F. & Araújo, F.F. (2014) - Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Colloquium Agrariae*, vol. 10, n. 2, p. 40-47.
- Moretti, L.G.; Lazarini, E.; Bossolani, J.W.; Parente, T.L.; Caioni, S.; Araujo, R.S. & Hungria, M. (2018) - Can additional inoculations increase soybean nodulation and grain yield? *Agronomy Journal*, vol. 110, n. 2, p. 1-7. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.09.0540>
- Novakowiski, J.H.; Sandini, I.E.; Falbo, M.K.; Moraes, A.; Novakowiski, J.H. & Cheng, N.C. (2011) - Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 32, n. supl. 1, p. 1687-1698. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32Suplp1687>
- Pankiewicz, V.C.S.; Amaral, F.P.; Santos, K.F.D.N.; Agtuca, B.; Xu, Y.; Schueller, M.J.; Arisi, A.C.M.; Steffens, M.B.R.; Souza, E.M.; Pedrosa, F.O.; Stacey, G. & Ferrieri, R.A. (2015) - Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. *Plant Journal*, vol. 81, n. 6, p. 907-919. <https://doi.org/10.1111/tpj.12777>
- Parente, T. de L.; Lazarini, E.; Caioni, S.; Pivetta, R.S.; Souza, L.G.M. de & Bossolani, J.W. (2015) - Nitrogen fertilization at soybean genotypes associated with inoculation in no-tillage in the Savannah. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, vol. 10, n. 2, p. 249-255.
- Prasanna, R.; Triveni, S.; Bidyarani, N.; Babu, S.; Yadav, K.; Adak, A.; Khetarpal, S.; Pal, M.; Shivay, Y.S. & Saxena, A.K. (2014) - Evaluating the efficacy of cyanobacterial formulations and biofilmed inoculants for leguminous crops. *Archives of Agronomy and Soil Science*, vol. 60, n. 3, p. 349-366. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.792407>

- Raij, B. van; Andrade, J.C.; Cantarella, H. & Quaggio, J.A. (2001) – *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas: IAC, 285 p.
- Santoyo, G.; Orozco-Mosqueda, M. del C. & Govindappa, M. (2012) - Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontrol Science and Technology*, vol. 22, n. 8, p. 855-872. <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.694413>
- Sivasakthi, S.; Usharani, G. & Saranraj, P. (2014) - Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 9, n. 16, p. 1265-1277. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>
- Souza, J.E.B. & Ferreira, E.P.B. (2017) - Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 237, p. 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.040>
- USDA (2018) - *Crop production*. United States Department of Agriculture National agricultural statistics service. [cit. 2018.09.14]. <<http://www.nass.usda.gov/Publications/index.php>>.
- Xiao-Ying, G.; Chun-E, H.; Tao, L. & Zhu, O. (2015) - Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth of greenhouse tomato and rhizosphere microbial community. *Journal of Northeast Agricultural University*, vol. 22, n. 3, p. 32-42. [https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(16\)30004-6](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(16)30004-6)