

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA
CURSO DE AGRONOMIA**

**MORFOFISIOLOGIA E DESEMPENHO PRODUTIVO DE SOJA
COINOCULADA COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum
brasilense***

Ágamo Bispo Simão

**ANÁPOLIS-GO
2018**

ÁGAMO BISPO SIMÃO

MORFOFISIOLOGIA DE SOJA COINOCULADA COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense*

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário de Anápolis-UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Fitotecnia

Orientador: Prof. M. Sc. Thiago Rodrigues Ramos Farias

**ANÁPOLIS-GO
2018**

Simão, Ágamo Bispo

Morfofisiologia e desempenho produtivo de sojo coinoculada com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*. / Ágamo Bispo Simão. – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2018.

26 páginas.

Orientador: Prof. M. Sc. Thiago Rodrigues Ramos Farias

Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2018.

1. *Glycine max*. 2. RPCP 3. *Azospirillum* I. Ágamo Bispo Simão. II. Morfofisiologia e desempenho produtivo de sojo coinoculada com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*.

CDU 504

ÁGAMO BISPO SIMÃO

**MORFOFISIOLOGIA E DESEMPENHO PRODUTIVO DE SOJA
COINOCULADA COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense***

Monografia apresentada ao Centro
Universitário de Anápolis –
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.
Área de concentração: Fitotecnia

Aprovada em: 25 de junho de 2018

Banca examinadora

Prof. M. Sc. Thiago Rodrigues Ramos Farias
UniEvangélica
Presidente

Prof.ª. Dr.ª. Josana de Castro Peixoto
UniEvangélica

Leonardo Brandão Gonçalves Bizinoto
Engenheiro Florestal
Coordenador Regional SENAR-GO

“Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, a minha esposa Renata Simão, ao meu pai Isaque Simão, minha mãe Lúcia Leão, meus irmãos e familiares.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitário, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

A minha esposa Renata Simão, com muito carinho e apoio, não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao meu orientador Prof. Thiago Rodrigues, pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

Agradeço a todos os professores por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Agradeço a minha mãe Lúcia Leão, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço.

Ao meu pai que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e que para mim foi muito importante.

Meus agradecimentos aos amigos Ilton Chaveiro e Karla Cristina companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

“A Nação que destrói seu solo se destrói”.

Franklin D. Roosevelt

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1. CULTIVO DE SOJA	10
2.2. RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCP). 11	
2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN).	14
2.4. BENEFÍCIOS DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RPCP E BACTÉRIAS DA FBN	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÕES.....	22
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

RESUMO

A soja na atualidade se destaca como uma das principais culturas agrícolas mundiais e a principal cultivada no Brasil. O uso de nitrogênio mineral na adubação da soja torna inviável a competitividade com outros países e com outras culturas menos exigentes a esse nutriente pelo aumento gradativo dos preços. A fixação biológica de nitrogênio é um processo realizado por alguns grupos de microrganismos que fixam o nitrogênio da atmosfera e o disponibiliza às plantas em troca de fotoassimilados. O experimento foi conduzido na Unidade Experimental do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, localizado no município de Anápolis-GO. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, foram aplicadas três fontes de variação e suas interações como tratamentos: Inoculante com *Bradyrhizobium japonicum* (A), Inoculante com *Azospirillum brasilense* (B) e adubo químico nitrogenado (C). Contabilizando a presença isolada de cada um dos fatores e suas possibilidades de interação, foram compostos quatro tratamentos, incluindo a testemunha. Sendo estes: Testemunha, A, AxB e C. Portanto, o esquema fatorial foi 4x4x3, com quatro blocos e 3 repetições por bloco. Foi utilizada a cultivar CD 2737 RR da Coodetec que apresenta plantas com grupo de maturação 7.3 que é recomendada para a região. A inoculação da semente foi realizada com as doses recomendadas de *A. brasilense* (100 ml do inoculante para cada 25 kg de semente) e de *B. japonicum* (120 g do inoculante para cada 50 kg de semente), tanto para os tratamentos com as bactérias isoladas como para a utilização destas em conjunto. A variável resposta será a área foliar total. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, para verificar o ordenamento das médias. Esses cálculos foram executados por meio do programa Assistat 7.7. A coinoculação de semente de soja, de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e o *Azospirillum brasilense*, proporciona incrementos no desenvolvimento da planta com a utilização de bactérias promotoras de crescimento em plantas de maneira sustentável e de baixo custo.

Palavras-chave: *Glycine max*, RPCP, *Azospirillum*.

1. INTRODUÇÃO

A sojicultura desempenha um papel valoroso no cenário agropecuário brasileiro, apresentando importante função na produção em áreas agrícolas. É o principal grão entre os produtos agrícolas que compõe a balança comercial brasileira, destacando-se nas exportações tanto de grãos quanto de derivados de soja, como farelo e óleo (SAMPAIO et al., 2012).

O desequilíbrio dos nutrientes minerais na planta de soja, pode resultar numa absorção deficiente de alguns e excessiva de outros. Por isso, os nutrientes precisam ser monitorados no solo e nas folhas por meio de análise visual e química. Além disso, dos nutrientes que são aplicados através de fertilizantes no solo, as plantas aproveitam parcialmente esses nutrientes, sendo que parte é lixiviada e, ou fixada ao solo (DOMINGOS et al., 2015).

Por volta da década de 70, pesquisas realizadas identificaram bactérias associativas capazes de quebrar a tripla ligação entre os átomos de nitrogênio (N), transformando-o numa forma assimilável pelas plantas (FAGAN et al., 2007). Estudos realizados posteriormente por pesquisadores de instituições e empresas, demonstraram que esta associação é capaz de suprir toda a demanda por nitrogênio na cultura da soja (HUNGRIA et al., 2001). Esse fato reduziu os custos de produção no sistema brasileiro, tornando a soja produzida competitiva a nível internacional e com diminuição dos impactos ambientais (BULEGON et al., 2016).

Estas bactérias, classificadas hoje como *Bradyrhizobium japonicum*, associam-se com a soja através de simbiose (FAGAN et al., 2007). Esse processo começa pela liberação de exsudatos radiculares, possibilitando atração das bactérias. A associação acontece nos primórdios dos pelos radiculares, resultando na formação de nódulos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A partir da concretização do uso de *B. japonicum*, novas bactérias foram estudadas para os mais diversos fins, com destaque para *Azospirillum brasilense*, inicialmente estudada para uso em gramíneas visando a redução do uso do nitrogênio. Todavia, trabalhos mostraram que essa bactéria possui melhor desempenho como promotora de crescimento vegetal, devido a estímulos na produção de hormônios vegetais tais como auxina (ácido 3-indolacético), ácido giberélico, citocininas, ácido abscísico, poliaminas (PERRIG et al., 2007).

A utilização de bactérias do gênero *Azospirillum* para a inoculação de gramíneas apresenta resultados de aumento da produtividade na cultura do milho (HUNGRIA et al., 2007). No entanto, informações da sua utilização na cultura da soja em associação com *Bradyrhizobium* são escassas, embora, estudos reportem os benefícios da coinoculação de

Bradyrhizobium e *Azospirillum* em outros países, torna-se necessário conduzir ensaios nas condições brasileiras (HUNGRIA et al., 2013).

Esta pesquisa trará uma maior compreensão e entendimento do processo de coinoculação na cultura da soja, tendo em vista a baixa disponibilidade de trabalhos relacionados ao tema. Sob essa ótica é notável a importância da avaliação dos parâmetros agronômicos propostos no trabalho, gerando maiores informações a respeito da utilização da técnica de coinoculação na soja através da avaliação dos efeitos desse processo na cultura, por meio de experimento de campo com tratamentos comparativos e análise estatística, baseando-se na seguinte variável resposta: área foliar total.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CULTIVO DE SOJA

O Brasil parte para ser o maior produtor mundial de soja, e em 2014 esteve atrás apenas dos EUA. Com aproximadamente 100 milhões de hectares aptos à expansão, seu plantio cresce nos países do Mercosul (Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai), assim como as instalações de grandes empresas multinacionais nos segmentos de industrialização e comercialização, que abrange áreas de produção de sementes e financiamentos da produção do grão (DOMINGUES et al., 2014).

De acordo com a Embrapa (2014), a exigência nutricional por hectare para a produção de uma tonelada de grãos de soja é: 83 kg de Nitrogênio; 15,4 kg de Fósforo; 38 kg de Potássio; 12,2 kg de Cálcio; 6,7 kg de Magnésio; 15,4 kg de Enxofre; 77 g de Boro; 515 g de Cloro; 26 g de Cobre; 460 g de Ferro; 130 g de Manganês; 7 g de Molibdênio e 61 g de Zinco. Em síntese, trabalhos referentes à fertilidade dos solos do Cerrado, geralmente ácidos e de baixa fertilidade natural, foram fundamentais para o avanço do cultivo da soja na região Central do país. Fazem parte das pesquisas de fertilidade dos solos os trabalhos de adequação a campo que contribuíram para o desenvolvimento de tabelas de recomendação de corretivos e fertilizantes para diversas regiões e Estados do país (IBGE, 2016).

O sistema de exploração agrícola em utilização tem induzido o solo a um processo acelerado de degradação. Dentre esses fatores destacam-se a compactação causada pela presença de máquinas cada vez mais pesadas, pela ausência da cobertura vegetal do solo que por sua vez provoca compactação e arraste da camada superficial do solo em meio a ação das chuvas de alta intensidade, o uso de áreas inaptas para culturas anuais, o preparo do solo com excessivas gradagens superficiais e o uso de práticas conservacionistas isoladas. Em substituição a esse modelo deve-se dar prioridade ao uso do sistema plantio direto, que envolve, simultaneamente, todas as boas práticas conservacionistas e se adotado corretamente é indispensável para reverter o processo de degradação dos solos e melhorar o desempenho da soja e culturas associadas (EMBRAPA, 2014).

A produção de soja sofreu várias mudanças nas últimas décadas, como a utilização do sistema plantio direto e o desenvolvimento de cultivares transgênicas que possibilitaram o avanço da cultura em grande parte do território nacional (SOUZA et al., 2010). Especialmente na região Sul do Brasil, houve aumento expressivo da utilização de cultivares de soja que

apresentam tipo de crescimento indeterminado, alta precocidade, arquitetura compacta das plantas e alto potencial de produtivo de grãos (PROCÓPIO et al., 2013).

A semeadura da soja pode ser feita na primeira quinzena de outubro ou até a segunda quinzena de dezembro, dependendo das condições locais e das cultivares utilizadas. Semeaduras antecipadas para início de outubro, garantem a cultura uma boa disponibilidade de umidade no período reprodutivo das plantas, mas, geralmente, produzem plantas com porte reduzido. Semeaduras após meados de dezembro (com exceção de alguns estados mais ao norte e de algumas particularidades como irrigação artificial) expõem as plantas a maiores riscos de perdas provocadas por percevejos, ferrugem e por deficiência hídrica no solo, além da redução do porte das plantas, da duração de ciclo e compromete a segunda safra pela baixa disponibilidade hídrica (EMBRAPA, 2014).

Áreas de chapadas altas do Cerrado apresentam condições favoráveis ao bom crescimento de plantas e podem ser utilizadas populações de plantas mais baixas, 300 mil ha⁻¹ ou menos. Em regiões mais quentes, onde a soja apresenta limitação de altura de planta, especialmente em semeaduras realizadas antes de meados de outubro ou depois de dezembro, populações em torno de 400 mil plantas ha⁻¹ ou um pouco mais, podem contribuir para aumentar o porte das plantas (EMBRAPA, 2014).

Quase todos os estados brasileiros com exceção de Roraima e do Distrito Federal, informaram crescimento da produção em 2017 comparado ao ano de 2016, com destaques para Maranhão (101,9%), Piauí (212,5%), Bahia (62,8%), Paraná (15,2%), Rio Grande do Sul (14,6%), Mato Grosso do Sul (22,0%), Mato Grosso (17,0%) e Goiás (11,2%), com aumentos superiores a 1,0 milhão de toneladas (IBGE, 2017). O atual levantamento concretiza o crescimento na área plantada da oleaginosa em 2% e uma produção de 114.041,9 milhões de toneladas, se comparado com o levantamento da safra 2015/016. O bom desenvolvimento da oleaginosa foi respaldado pelo comportamento do clima em praticamente todas as regiões do país (CONAB, 2017).

2.2. RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCP)

O manejo adequado da adubação nitrogenada é um dos fatores relevantes para ganhos em produtividade, principalmente pelo fato deste elemento ser absorvido em grandes quantidades, garantindo assim as melhores respostas em termos de rendimento. Tendo em vista que o nitrogênio é fator limitante de produção em volume e qualidade por ser nutriente

constituente da proteína, a atenção dada as fontes do mineral são de muito valor para a produção (MUMBACH et al., 2017).

Acredita-se que, desde a safra de 2007, houve um aumento consideravelmente substancial no uso de fertilizantes no Brasil devido à intensificação da agricultura e à recuperação de áreas degradadas sob uso de pastagens ou até mesmo de áreas agrícolas de baixa eficiência. O mercado brasileiro de fertilizantes é frágil e com grande dependência das importações, que são responsáveis pelo fornecimento de 73% do N, 49% do P e 90% do K consumidos. Sendo assim, o uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas que aumentem a eficiência da utilização dos nutrientes, e que supra a exigência do nitrogênio via fixação biológica, representa uma estratégia viável economicamente, além dos benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes (HUNGRIA et al., 2007).

A utilização de adubos industrializados sintéticos é a prática mais comum para o suprimento de N às culturas agrícolas. Apesar de apresentar alta solubilidade, e consequentemente rápida disponibilidade à absorção pelas plantas, é um nutriente com grandes potencias de perdas no ambiente (TEIXEIRA FILHO et al., 2010). Como alternativa ao N como adubo sintético há a possibilidade da utilização de inoculantes à base de bactérias fixadoras de N, principalmente dos gêneros *Rhizobium* e *Azospirillum* (MILLÉO; CRISTÓFOLI, 2016).

A porção de solo que envolve as raízes é chamada de rizosfera (KLOEPPER et al., 1980; HARTMANN et al., 2008). Os microrganismos presentes na rizosfera são fundamentais para a sanidade vegetal, sendo a região de maior interação da planta com o solo (BAIS et al., 2006; BULGARELLI et al., 2013). As bactérias que se estabelecem neste ambiente competitivo são definidas como rizobactérias (BULGARELLI et al., 2013).

Vários trabalhos têm sido realizados com o intuito de conhecer a diversidade e compreender a atividade bacteriana na rizosfera, permitindo um maior conhecimento de suas características, de modo que se alcance uma maior compreensão do seu papel na interação com a planta e com o meio ambiente (ZEHNDER et al., 2001; BERG; SMALLA 2009; CHAPARRO et al., 2013; FORTE et al., 2015; SALLA et al., 2016). Entre as rizobactérias, existe um grupo que se destaca por exercer efeitos positivos sobre o desenvolvimento das plantas, denominadas rizobactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP). As BPCPs são microrganismos não patogênicos, cuja interação com as plantas é benéfica e simbiótica (SUSLOW et al., 1979; KLOEPPER et al., 1980; BULGARELLI et al., 2013).

As RPCP's são divididas em duas classes: endofíticas e epifíticas (MARIANO; ROMEIRO, 2000; ROMEIRO, 2000). São consideradas epifíticas as que vivem na superfície das plantas sem colonizar o seu interior promovendo, geralmente, alterações benéficas. São endofíticas se, ao menos por um período do seu ciclo vital, habitarem o interior das plantas sem causar danos consideráveis a planta hospedeira (AZEVEDO et al., 2000; AZEVEDO et al., 2002), tornando-a mais tolerante a estresses e promovendo seu crescimento (HALLMANN et al., 1997).

São vários os mecanismos de ação das rizobactérias em plantas, tais como: indução de resistência, produção de antibiótico, parasitismo, produção de fitormônios (RAMAMOORTHY, 2001; TARNAWSKI, 2006). Sendo assim, as rizobactérias são capazes de colonizar rapidamente o sistema radicular das plantas. Além de prevenir a invasão de patógenos mediante a produção de metabólitos secundários, elas auxiliam no desenvolvimento da planta através da indução por fitormônios e no fornecimento de nitrogênio através do processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (KLOEPPER, 2004). Muitos gêneros bacterianos são conhecidos com tais capacidades, dentre estes: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Bacillus* são os mais estudados e de importância comercial (KLOEPPER, 2004; BASHAN; BASHAN, 2005; ARAÚJO, 2008; OLIVEIRA et al., 2016).

Entre as bactérias que fazem parte do gênero *Azospirillum*, a de maior potencial é a *Azospirillum brasilense*, existindo inoculantes comercializados no Brasil que contem essa bactéria. A bactéria pode causar vários estímulos para o crescimento das plantas, destacando-se a FBN (FUKAMI et al., 2016), elaboração de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (CAVALLET et al., 2000), solubilização de fosfato, maior desenvolvimento das raízes (KAZI et al., 2016), aumento nos níveis de clorofila e condutância estomática (HUNGRIA, 2011), além de modificação na atividade fotossintética das plantas (GORDILLODELGADO et al., 2016). Ainda, quando se desenvolvem no interior da planta, podem aumentar a atividade da enzima nitrato redutase (HUNGRIA, 2011).

Deste modo, outras tecnologias alternativas têm sido pesquisadas visando resultados cada vez mais produtivos para a cultura de soja, por exemplo, a coinoculação (ZUFFO et al., 2015). Segundo Ferlini (2006) e Bárbaro et al. (2008), a coinoculação consiste no uso de diferentes microrganismos combinados que produzem um efeito sinérgico, isto é, quando usado, eles vão além dos resultados produtivos que obteriam de forma isolada. O uso combinado de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* tem mostrado excelentes

resultados na soja (BENINTENDE et al., 2010). Bactérias do gênero *Azospirillum* fornecem efeitos benéficos para as plantas devido à sua capacidade de estimular a produção de hormônios em quantidades expressivas, o que resulta no crescimento da planta (CROZIER et al., 1988; CACCIARI et al., 1989; ARSHAD; FRANKENBERGER, 1997; MASCIARELLI et al., 2013). De modo geral, ocorre a potencialização da nodulação e maior crescimento radicular devido à interação positiva entre as bactérias simbióticas do gênero *Rhizobium* e as bactérias diazotróficas, em especial as pertencentes ao gênero *Azospirillum* (FERLINI, 2006).

As bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *A. brasilense* tem sido usada como inoculante em diversas culturas como milho, sorgo, trigo, algodão, tomate, banana, cana-de-açúcar, café, forrageiras (BÁRBARO et al., 2008). O cultivo de leguminosas com inoculação conjunta de rizóbios e *Azospirillum* através do processo de coinoculação tem sido retratado como um dos trabalhos com maiores expectativas, onde já se tem observado, em alguns experimentos, efeitos positivos em produção de matéria seca, rendimento e teor de nitrogênio foliar quando comparados com leguminosas inoculadas somente com bradyrhizóbios (BENINTENDE et al., 2010; BURDMAN et al., 1996).

O aumento considerável dos níveis de compostos promotores de crescimento pode auxiliar o desenvolvimento e produtividade das plantas (VASSILEV et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2010; ARAUJO et al., 2012), pois, observou-se a formação de sistemas radiculares mais desenvolvidos tanto em tamanho como densidade em plantas de soja que receberam inoculação nas sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* (BÁRBARO et al., 2009). Da mesma forma, maiores valores médios de massa seca de parte aérea foram verificados em plantas de feijão que receberam inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes (GITTI et al., 2012), enquanto que, a produtividade de plantas de milho (LANAET et al., 2012), feijão (GITTIET et al., 2012), e soja (BÁRBARO et al., 2009) foram incrementadas pela inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*.

2.3. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é a conversão do nitrogênio atmosférico de maneira que seja assimilável pelos organismos vivos, sendo considerada o segundo processo biológico mais importante do planeta, perdendo apenas para a fotossíntese (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os microrganismos diazotróficos podem manifestar diversos modelos de vida que vão desde a vida livre até associações simbióticas específicas. O tipo de relação que

os microrganismos diazotróficos estabelecem com as plantas podem ser classificados em simbióticos (que desenvolvem uma associação mutualística com seus hospedeiros) ou associativos (vivem o interior ou a superfície dos tecidos) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Dentre os dois modelos, a associação simbiótica entre espécies da família das leguminosas e as bactérias diazotróficas (conhecidas como rizóbios) é o sistema mais bem estudado. Nesta associação, as bactérias penetram as raízes das plantas, formando nódulos onde o nitrogênio livre no ar é convertido em nitrogênio fixado para assimilação ou armazenamento pela planta. Embora presente em muitas espécies, a capacidade de FBN não é comum a todas as leguminosas, alterando entre subfamílias, gêneros e até mesmo entre espécies dentro de um mesmo gênero (ALLEN; ALLEN, 1981; SPRENT, 2009).

A FBN é a principal forma de entrada de N em ecossistemas naturais (CLEVELAND et al., 1999). Nas áreas cultivadas, a inclusão de espécies fixadoras de N ou o manejo adequado da FBN em culturas fixadoras (principalmente leguminosas, mas também gramíneas) podem exercer um papel crucial na manutenção de estoques adequados de N no solo. As quantidades de N fixadas em ecossistemas naturais ou agrícolas são influenciadas por diversos fatores ambientais e práticas de manejo conservacionista das qualidades biológicas do solo (FREITAS, 2015).

A simbiose entre bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio e leguminosas como a soja é o mais importante sistema de FBN, pois, consegue suprir toda a necessidade requerida pela planta e disponibilizar até 30 kg de N à cultura subjacente. O processo ocorre em estruturas típicas formadas nas raízes, os nódulos (HUNGRIA et al., 2013). Após a formação de nódulos nas raízes dessas plantas, a bactéria passa a fixar o nitrogênio atmosférico em compostos orgânicos que são utilizados pela planta (BÁRBARO, 2017).

A utilização de inoculante a base de *Bradyrhizobium* spp. seja via semente ou no sulco de plantação, é uma prática agrícola consolidada no Brasil que pode ser realizada simultaneamente em operações de semeadura ou fertilização do solo (EMBRAPA, 2011). No entanto, a melhoria contínua das cultivares visando maiores rendimentos pode resultar em uma demanda de fornecimento de N maior do que a inoculação padrão com *Bradyrhizobium* spp. (HUNGRIA et al., 2015).

Ainda nesse sentido, para incrementar a eficiência da FBN em soja, tem-se como alternativa o uso da coinoculação que é uma tecnologia recém implantada no Brasil, que combina uma prática já bem conhecida pelos produtores que consiste na inoculação de *Bradyrhizobium*, com o uso do *Azospirillum*, uma bactéria até então conhecida por sua ação

promotora de crescimento em gramíneas (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008; BÁRBARO et al., 2009; BÁRBARO et al., 2011; HUNGRIA et al., 2013; EMBRAPA, 2014). Para a soja, no entanto, considerando as diversas condições ambientais em que a cultura é cultivada no Brasil, é preciso mais estudos sobre os efeitos da inoculação desta bactéria (HUNGRIA et al., 2013).

2.4. BENEFÍCIOS DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RPCP E BACTÉRIAS DA FBN

Segundo Hungria (2011), o *Azospirillum* spp. é comercializado como inoculação para trigo e milho, com aumentos de 31 e 26 % na produtividade de grãos, respectivamente, porém, com fornecimento da maior parte do nitrogênio requerido pela planta pelo fertilizante mineral. Os mecanismos de ação do *Bradyrhizobium* e do *Azospirillum* são diferentes. No caso do último, os benefícios também advêm da produção de fito hormônios, com grande impacto no crescimento e densidade das raízes. Desta forma, um sistema radicular maior e mais volumoso, propicia maior absorção e aproveitamento de água e nutrientes.

Considerando-se a água, têm-se como resultados uma maior resistência a estresses hídricos. Em relação aos nutrientes, observa-se maior vigor das plantas, além de equilíbrio nutricional dado o melhor aproveitamento dos nutrientes contidos no solo através de uma maior exploração das raízes e por meio das fertilizações. Além disso, vale ressaltar, que o maior desenvolvimento do sistema radicular com *Azospirillum* também potencializa a nodulação em número de nódulos e melhor desenvolvimento dos mesmos e conseqüentemente maior contribuição da fixação biológica do nitrogênio e assim incremento da produtividade (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2014).

Na ausência de oxigênio, verificou-se que *A. brasilense* apresentava maior taxa de fixação de N (DOBBELAERE et al., 1999). No entanto, o aumento do crescimento e rendimento dos tratamentos coinoculados da soja com esta bactéria pode não só ser creditado na FBN, uma vez que a excreção de hormônios da associação bactéria-planta pode aumentar o número e o diâmetro médio do lateral e raízes adventícias (DOBBELAERE et al., 2003), o que poderia ter intensificado a absorção de nutrientes da planta e, assim, a produtividade (BASHAN; DE-BASHAN, 2010).

Desta forma, pode se constatar que os efeitos benéficos à cultura da soja pela coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasiliense* são destacados por uma

maior produção de biomassa de nódulos, aumento considerável no rendimento de grãos (HUNGRIA et al., 2013).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Unidade Experimental do Centro Universitário de Anápolis - UniEVANGÉLICA, localizada no município de Anápolis-GO. Situada geograficamente entre as coordenadas 16° 17' 43'' de latitude sul de e 48° 56' 16'' de longitude oeste de Greenwich, com 1.017 m de altitude USGS. Segundo dados divulgados pela Climat data (2017), o município de Anápolis apresenta uma temperatura média entre 18°C e 23°C. O período mais frio vai de maio a setembro, e o mais quente, de outubro a abril. Existem duas estações distintas, a da seca, que coincide com o período de frio, e a das chuvas, que coincide com o período de calor e apresenta uma pluviosidade média anual de 1.441 mm. Quando comparados o mês mais seco (junho) tem uma diferença de precipitação de 238 mm em relação ao mês mais chuvoso (janeiro).

O solo da área é classificado como Latossolo Vermelho com textura média, e de acordo com análise de solos apresentou os seguintes resultados: 0-20 cm: pH CaCl₂ 5,60 cmol_c dm³; Ca+Mg 4,40 cmol_c dm³; Ca 3,10 cmol_c dm³; Mg 1,30 cmol_c dm³; Al 0,0; H+Al 3,30 cmol_c dm³; K 0,28 cmol_c dm³; K (Mehlich) 108,0 mg dm³ (ppm); P (Mehlich) 1,9 mg dm³ (ppm); S (Mehlich) 3,9 mg dm³ (ppm). De 20-40 cm: pH CaCl₂ 5,80 cmol_c dm³; Ca+Mg 4,30 cmol_c dm³; Ca 3,00 cmol_c dm³; Mg 1,30 cmol_c dm³; Al 0,0; H+Al 2,80 cmol_c dm³; K 0,21 cmol_c dm³; K (Mehlich) 84,0 mg dm³ (ppm); P (Mehlich) 1,4 mg dm³ (ppm); S (Mehlich) 7,5 mg dm³ (ppm).

A adubação de plantio foi calculada com base nos resultados da análise de solo, como adubação de produção e reposição, caso necessário. No entanto, aspectos de análises anteriores justificam a necessidade de calagem na taxa de 1,0 t ha⁻¹. A pulverização de calcário dolomítico no local do experimento foi realizada conforme a recomendação técnica, antes do plantio, com calcário dolomítico de PRNT 100%. Quanto à uniformidade da distribuição, foram observados os aspectos de deriva pelo vento. A altura do Vincon para a distribuição foi a meio metro do nível do solo, a uma velocidade de 5 km h⁻¹.

Quanto ao experimento nas condições de campo, o delineamento experimental foi blocos ao acaso com repetição dos tratamentos nos blocos para elevar a precisão dos dados. Sobre o cultivo da soja, foram aplicadas três fontes de variação e suas interações como tratamentos: Inoculante com *Bradyrhizobium japonicum* (A), Inoculante com *Azospirillum brasiliense* (B) e adubo químico nitrogenado (C). Contabilizando a presença isolada de cada um dos fatores e suas possibilidades de interação, foram compostos quatro tratamentos,

incluindo a testemunha. Sendo estes: Testemunha, A, AxB e C. Portanto, o esquema fatorial foi 4x4x3, com quatro blocos e 3 repetições por bloco.

Foi utilizada a cultivar CD 2737 RR da Coodetec que apresenta plantas com grupo de maturação 7.3 que é recomendada para a região. A inoculação de semente foi realizada com as doses recomendadas de *A. brasilense* (100 ml do inoculante para cada 25 kg de semente) e de *B. japonicum* (120 g do inoculante para cada 50 kg de semente), tanto para os tratamentos com as bactérias isoladas como para a utilização destas em conjunto.

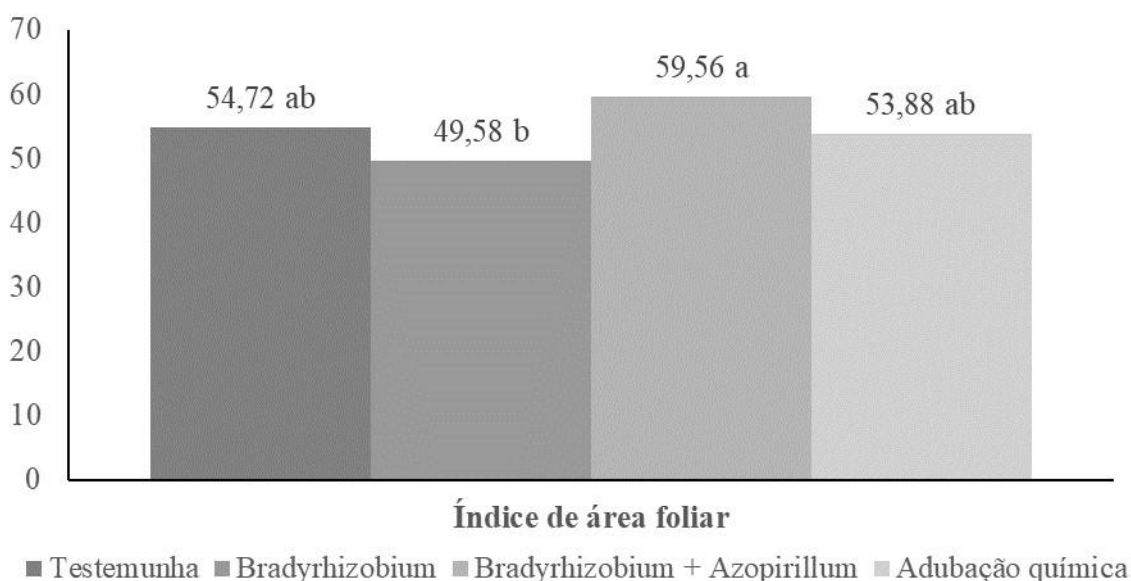
Na organização do delineamento experimental, foi utilizado três vasos que tiveram seus dados médios correspondentes a informação da parcela analisada. Foi utilizado vasos de oito litros com o substrato composto anteriormente ao plantio. No experimento foi coletado informações relativas à morfologia e fenologia das plantas. As plantas foram separadas e destacadas suas folhas para que fossem submetidas ao teste em estúdio fotográfico montado a campo. A variável resposta foi a área foliar total.

Foi utilizado o programa ImageJ para calcular a área foliar através das imagens coletadas. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, para verificar o ordenamento das médias. Esses cálculos foram executados por meio do programa Assistat 7.7.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os resultados apresentados na figura 1, as plantas de soja coinoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, apresentaram maior desempenho em termos de desenvolvimento aéreo com base na análise quantitativas das médias dos tratamentos, onde, o tratamento AxB apresentou melhor resultado. A testemunha e o tratamento C não tiveram diferença estatisticamente significativa do tratamento AxB, porém, obtiveram resultados na análise de dados superiores ao resultado do tratamento A. Já na análise de estatística do tratamento A, houve diferença significativa do tratamento AxB, entretanto, não obteve o mesmo resultado quanto aos tratamentos testemunha e C.

Figura 1. Resultados obtidos do experimento realizado em vaso na Unidade Experimental da UniEVANGÉLICA de Anápolis-GO.



A utilização do *Azospirillum brasilense* na cultura da soja juntamente ao *Bradyrhizobium* contribuiu para o aumento dos índices de desenvolvimento foliar das plantas. O aumento considerável dos níveis de compostos promotores de crescimento pode auxiliar o desenvolvimento e produtividade das plantas (VASSILEV et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2010; ARAUJO et al., 2012), pois, observou-se a formação de sistemas radiculares mais desenvolvidos tanto em tamanho como densidade em plantas de soja que receberam

inoculação nas sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* (BÁRBARO et al., 2009).

Em trabalhos sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, foi relatado a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas como: o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e das raízes, melhoria no potencial hídrico, aumento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa, maior altura de plantas (BARASSI et al., 2008).

5. CONCLUSÕES

A coinoculação de semente de soja, de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e o *Azospirillum brasilense*, proporciona incrementos no desenvolvimento da planta com a utilização de bactérias promotoras de crescimento em plantas de maneira sustentável e de baixo custo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BÁRBARO, I. M., MIGUEL, F. B., SILVA, J. A. A., SILVA LIBÓRIO, P. H., SOBRINHO, R. M., FINOTO, E. L., FREITAS, R. S. Viabilidade técnica e econômica da co-inoculação de soja no estado de são paulo. **Revista Nucleus**, Ituverava, Ed. Especial, p. 45-58, 2017.

BULEGON, L. G., RAMPIM, L., KLEIN, J., KESTRING, D., GUIMARÃES, V. F., BATTISTUS, A. G., INAGAKI, A. M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 34, n. 2, p. 169-176, 2016.

BULEGON, L. G., GUIMARÃES, V. F., EGEWARTH, V. A., DOS SANTOS, M. G., HELING, A. L., FERREIRA, S. D., BATTISTUS, A. G. Crescimento e trocas gasosas no período vegetativo da soja inoculada com bactérias diazotróficas. **Revista Nativa**, v. 4, n. 5, p. 277-286, 2016

CLIMATE-DATA.ORG, Climograma Anápolis. Disponível em <<https://pt.climate-data.org/location/3192/>>. Acessado em 08 de novembro de 2017.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_08_10_11_27_12_boletim_graos_agosto_2017.pdf> Acesso em: 09/09/2017.

DOMINGOS, C. S., LIMA, L. H. S, BRACCINI, A. L. Nutrição mineral e ferramentas para o manejo da adubação na cultura da soja. Maringá: **Scientia Agraria Paranaensis**, 2015. v. 14, n. 3, p. 132-140.

DOMINGUES, M. S. D., BERMANN, C., MANFREDINI, S. A produção de soja no brasil e sua relação com o desmatamento na amazônia. **Revista Presença Geográfica**, v. 1, n. 1, p. 32-47, 2014

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265p. (Sistema de Produção/Embrapa Soja, n.16).

FERRI, G. C., BRACCINI, A. L., ANGHINONI, F. B. G., PEREIRA, L. C. Effects of associated co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with *Azospirillum brasilense* on soybean yield and growth. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, v. 1, p. 6-11, jan. 2017.

FREITAS, A. D. S., SAMPAIO, E., SANTOS, C., SILVA, A., CARVALHO, R. Fixação biológica de nitrogênio no Semiárido Brasileiro (Biological nitrogen fixation in the Brazilian

Semiárido). **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 8, n. especial IV SMUD, p. 585-597, dez. 2015.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express** v. 6, p. 1-13, 2016.

GARCIA, A. **Doses de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas, na produção e na qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2015. 54f.. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. **International Journal of Thermophysics** v. 37, p. 1-11, 2016.

HORSTMANN, J. L. **Caracterização de isolados de *Streptomyces* spp. provenientes de raízes de Fabaceae como rizobactérias promotoras de crescimento e indutoras de respostas de defesa em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. 2017. 97f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componentes essenciais para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. **Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo**. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33, 2013, Londrina.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. **Estatística da Produção Agrícola**: junho de 2017. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201706.pdf>. Acesso em: 10/09/2017.

LINS, C. B. **Modelagem de níveis críticos de p e de k no solo e da demanda nutricional para soja**. 100f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) Faculdade de Agronomia – Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2016.

MUMBACH, G. L., KOTOWSKI, I. E., SCHNEIDER, F. J. A., MALLMANN, M. S., BONFADA, E. B., PORTELA, V. O., KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. Curitiba: **Scientia Agraria**, 2017. v. 18, n. 2, p. 97-103.

OLIVEIRA, G. R. F., SILVA, M. S., MARCIANO, T. Y. F., PROENÇA, S. L., SÁ, M. E. **Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis***. Ilha Solteira: **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, 2016. v. 10, n. 4, p. 439-448.

PREFEITURA DE ANÁPOLIS, **Aspectos Geográficos**. Disponível em <<http://www.anapolis.go.gov.br/portal/anapolis/aspectos-geograficos/>>. Acesso em 08 de novembro de 2017.

PROCÓPIO, S. O.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; PANISON, F. **Plantio cruzado na cultura da soja utilizando uma cultivar de hábito de crescimento indeterminado**. Belém: Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 2013. v. 56, n. 4, p. 319-325.

SAMPAIO, L. M. B.; SAMPAIO, Y.; BERTRAND, J. **Fatores determinantes da competitividade dos principais países exportadores do complexo soja no mercado internacional**. Organizações Rurais & Agroindustriais, v. 14, n. 2, p. 227-242, 2012.

Sistema Brasileiro de Classificação de Solos / Humberto Gonçalves dos Santos ... [et al.]. – 4. ed. – Brasília, DF: Embrapa, 2014.

THULER, R. T., BARROS, R., MARIANO, R. M. R. Efeito do método de aplicação de bactérias promotoras de crescimento de plantas e cultivares de repolho no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.). **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife: UFRPE, 2006, v. 3, p. 263-275.

USGS Science for a changing world: **Earth Explorer**. 2017. Disponível em: <<https://earthexplorer.usgs.gov/>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

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**, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 87-93, mar. 2015.