

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**COINOCULAÇÃO DA SOJA COM *Bradyrhizobium japonicum* E
BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO**

RAFAELLA DE PAULA PACHECO NORONHA

CASSILÂNDIA – MS

MARÇO/2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**COINOCULAÇÃO DA SOJA COM *Bradyrhizobium japonicum* E
BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO**

RAFAELLA DE PAULA PACHECO NORONHA

Orientador: Prof. Dr. Tiago Zoz

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, com área de concentração em Sustentabilidade na Agricultura.

CASSILÂNDIA – MS

MARÇO/2023

N767c Noronha, Rafaella de Paula Pacheco
Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium japonicum* e
bactérias promotoras do crescimento/ Rafaella de Paula
Pacheco Noronha. Cassilândia, MS: UEMS, 2023.
90f. ; 30cm
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade
Estadual de Mato Grosso do Sul, 2023.
Orientador: Prof. Dr. Tiago Zoz.

1. *Glycine max* 2. *Azospirillum* spp. 3. *Pseudomonas*
spp. 4. *Bacillus* spp. I. Zoz, Tiago II. Título.

CDD 23.ed. - 631.4

Bibliotecária Susy dos Santos Pereira CRB1º1783



Governo do Estado de Mato Grosso do Sul
Fundação Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
PROPP - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - Sede Dourados
UUCass - Unidade Universitária de Cassilândia
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
PGAC - Área de Concentração em Sustentabilidade na Agricultura




CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: COINOCULAÇÃO DA SOJA COM *Bradyrhizobium japonicum* E BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO


AUTOR(A): RAFAELLA DE PAULA PACHECO NORONHA

ORIENTADOR(A): TIAGO ZOZ


Aprovado como parte das exigências para obtenção de MESTRE EM AGRONOMIA, Área de concentração: “**Sustentabilidade na Agricultura**”, pela Comissão Examinadora.



Prof. Dr. Tiago Zoz - UEMS
Orientador



Prof. Dr. Cássio de Castro Seron - UEMS
Participação via Webconferência



Prof. Dr. Sebastião Soares de Oliveira Neto - CDA
Participação via Webconferência

Data da realização: 02 de março de 2023.

DEDICATÓRIA

À Deus, tua mão me guiou e sustentou

A toda minha família, pela confiança DEDICO

Em especial minha Avó Semiramis Cuimar Noronha e Antônio Beltrão Noronha

Dedico esta dissertação ao meu mestre Prof. Dr. Fabrício Khoury Rebello *In memoriam*.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me fortalecer a chegar ao fim desse desafio

Ao meu orientador Prof. Dr. Tiago Zoz pela oportunidade de estar realizando este trabalho sob sua orientação, por todo seu auxílio, dedicação e parceria, minhas palavras jamais serão suficientes, muitíssimo OBRIGADA.

Agradeço, ao Dr. Pesquisador Carlos Eduardo da Silva Oliveira por toda sua dedicação e solicitude.

A Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul - Unidade de Cassilândia, e ao programa de pós-graduação em Agronomia

A CAPES pelo apoio financeiro

Ao meu namorado Deivison Diógenes por estar comigo me dando todo suporte necessário, a ele todo meu AMOR e GRATIDÃO

Ao meu pai Paulo Roberto Cuimar Noronha, e a minha mãe Rosilea Portal Pacheco, pelo APOIO e INCENTIVO.

Aos amigos meus amigos, Pamela Cunha, Michele Moutinho, Paola Correa Westefan Santos, que sempre me incentivaram e auxiliaram

A todos os colegas do curso de pós-graduação

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	3
LISTA DE FIGURAS	4
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1 Experimento em Selvíria - MS	9
2.2 Experimento em Maripá - PR	10
2.3 Implantação e condução dos experimentos.....	11
2.4 Delineamento experimental	12
2.5 Avaliações.....	12
2.6 Análise dos dados	13
3. RESULTADOS	13
3.1 Selviria - MS	13
3.2 Maripá - PR.....	20
4. DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÃO.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quadro de análise de variância (quadrado médio) das características agronômicas, nutricionais e fisiológicas das plantas de soja cultivada em Selvíria-MS, safra 2020/2021.....	14
Tabela 2. Quadro de análise de variância (quadrado médio) das características agronômicas, nutricionais e fisiológicas das plantas de soja cultivada em Maripá-PR, safra 2020/2021.....	20

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização da área experimental em Selvíria – MS, região Centro-Oeste do Brasil.....9
- Figura 2.** Localização da área experimental em Maripá – PR, região Sul do Brasil.....10
- Figura 3.** Acúmulo de N nos grãos (A), na palhada (B), acúmulo de P nos grãos (C), na palhada (D), acúmulo de K nos grãos (E) e na palhada (F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....15
- Figura 4.** Radiação fotossinteticamente ativa (PAR-A), taxa de fotossíntese líquida (A-B), concentração subestomática de carbono (Ci-C), transpiração (E-D), condutância estomática (gs-E) e eficiência do uso da água (EUA-F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....17
- Figura 5.** Número de nódulos (A), massa de nódulos (B), número de vagens (C), massa de 100 grãos (D), número de grãos (E), altura de plantas (F), massa seca da palhada (G) e produtividade de grãos (H) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....19
- Figura 6.** Acúmulo de N nos grãos (A), na palhada (B), acúmulo de P nos grãos (C), na palhada (D), acúmulo de K nos grãos (E) e na palhada (F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....21
- Figura 7.** Radiação fotossinteticamente ativa (PAR-A), taxa de fotossíntese líquida (A-B), concentração subestomática de carbono (Ci-C), transpiração (E-D), condutância estomática (gs-E) e eficiência do uso da água (EUA-F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....23
- Figura 8.** Número de nódulos (A), massa de nódulos (B), número de vagens (C), massa de 100 grãos (D), número de grãos (E), altura de plantas (F), massa seca da palhada (G) e produtividade de grãos (H) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.....25

COINOCULAÇÃO DA SOJA COM *Bradyrhizobium japonicum* E BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO

RESUMO: O aumento dos preços dos fertilizantes nitrogenados intensificou a busca por alternativas que possam substituir total ou parcialmente o uso dos fertilizantes tradicionais, a fim de reduzir os custos da produção agrícola. A coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com outros microrganismos promotores de crescimento das plantas pode ser uma alternativa para reduzir o uso de fertilizantes. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com bactérias promotoras de crescimento (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, e *Pseudomonas fluorescens*) sobre as características fisiológicas e a produtividade da soja. Foram conduzidos dois experimentos em regiões agrícolas distintas. Um experimento foi conduzido em Selvíria, Mato Grosso do Sul, região Centro-Oeste do Brasil, e o outro experimento foi conduzido em Maripá, PR, região Sul do Brasil, ambos na safra 2020/2021. O delineamento experimental utilizado em ambos os experimentos foi em blocos ao acaso com cinco repetições, em esquema fatorial 5x2. O primeiro fator foi constituído pela inoculação e coinoculações (controle - não inoculado, *Bradyrhizobium japonicum*, *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*, *B. japonicum* + *Bacillus subtilis* e *B. japonicum* + *Pseudomonas fluorescens*). O segundo fator foi constituído por dois níveis de adubação, sendo a adubação recomendada para soja, com base na análise de solo e recomendações técnicas para a cultura da soja (300 kg ha⁻¹ da formulação NPK 02-20-20) e uma dose inferior a dose recomendada, equivalente a 200 kg ha⁻¹ da formulação NPK 02-20-20. Os 45 dias após a emergência foram realizadas avaliações de número e massa seca de nódulos e trocas gasosas. Na fase de colheita foram realizadas avaliações de componentes de produção e produtividade. Também foram analisadas o acúmulo de NPK na palhada e nos grãos. A coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* tem potencial para elevar a produtividade de grãos da soja se comparada com a inoculação com *B. japonicum*. A coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* e *P. fluorescens* é capaz de compensar a redução da adubação e manter produtividades de grãos da soja similares as plantas que recebem a adubação adequada.

PALAVRAS-CHAVES: *Glycine max*; *Azospirillum* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Bacillus* spp.

COINOCULATION OF SOYBEAN WITH *Bradyrhizobium japonicum* AND GROWTH-PROMOTING BACTERIA

ABSTRACT: The increase in the prices of nitrogen fertilizers has intensified the search for alternatives that can totally or partially replace the use of traditional fertilizers, in order to reduce the costs of agricultural production. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with other microorganisms that promote plant growth can be an alternative to reduce the use of fertilizers. The objective of the present study was to evaluate the effect of coinoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with growth-promoting bacteria (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas fluorescens*) on the physiological characteristics and productivity of soybean. Two experiments were conducted in different agricultural regions. One experiment was conducted in Selvíria, Mato Grosso do Sul, Midwest region of Brazil, and the other experiment was conducted in Maripá, PR, Southern region of Brazil, both in the 2020/2021 harvest. The experimental design used in both experiments was randomized blocks with five replications, in a 5x2 factorial scheme. The first factor consisted of inoculation and coinoculations (non-inoculated control, *Bradyrhizobium japonicum*, *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*, *B. japonicum* + *Bacillus subtilis*, and *B. japonicum* + *Pseudomonas fluorescens*). The second factor consisted of two levels of fertilization, with the recommended fertilization for soybean, based on soil analysis and technical recommendations for soybean cultivation (300 kg ha⁻¹ of the NPK 02-20-20 formulation) and a dose lower than the recommended dose, equivalent to 200 kg ha⁻¹ of the NPK 02-20-20 formulation. At 45 days after emergence, evaluations of the number and dry mass of nodules and gas exchange were conducted. In the harvest phase, evaluations of yield and its components were carried out. The accumulation of NPK in straw and grains was also analyzed. Co-inoculation of *B. japonicum* with *A. brasilense*, *B. subtilis* and *P. fluorescens* has the potential to increase soybean grain yield compared to inoculation with *B. japonicum*. Co-inoculation of *B. japonicum* with *A. brasilense* and *P. fluorescens* is able to compensate for the reduction in fertilization and maintain soybean grain yield similar to that of plants that receive adequate fertilization.

KEYWORDS: *Glycine max*; *Azospirillum* spp.; *Pseudomonas* spp.; *Bacillus* spp.

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é a principal oleaginosa cultivada no mundo, cultura de grande valor comercial internacional e nacional, sua importância no mercado agrícola brasileiro o tornando o maior responsável pelo aumento da colheita dos grãos, elevando o Brasil a níveis de maior exportador (LANDAU et al. 2020). Ao longo dos anos seu cultivo se expandiu em todo território nacional, o Brasil é o maior produtor mundial do grão, com uma produção de 125.552,3 milhões de toneladas de grãos, em uma área de aproximadamente 41,45 milhões de hectares da safra 2021/2022 (CONAB, 2022).

A soja é uma leguminosa que possui alta produtividade e requer grande demanda de fertilizantes, em países como o Brasil a disponibilidade de nutrientes juntamente aos fatores climáticos são os principais limitantes ao seu rendimento (NETO et al., 2012). A adubação é um dos fatores que mais afetam os custos de uma lavoura e conseqüentemente a produtividade, na soja o nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade. É possível verificar na literatura que para se alcançar uma produtividade de 3.000 kg/ha são necessário 200 kg/ha de nitrogênio (JUHÁS et al., 2019).

Uma das estratégias e práticas sustentáveis que contribuem para diminuir o uso de fertilizantes químicos é a aplicação de microrganismos nas culturas (PACENTCHUK et al., 2020). Por exemplo, através fixação biológica de nitrogênio (FBN) a soja pode suprir boa parte da demanda requerida do nutriente (MORETTI et al., 2020).

Diante disso, para o processo de FBN o uso de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* se tornaram indispensáveis, outrora essas bactérias extraem o nitrogênio atmosférico (N₂) reduzindo para forma amoniacal, sendo translocado e convertido em proteínas e aminoácidos (MORETTI et al., 2020). E juntamente com os microrganismos promotores de crescimento de planta (MPCP) são eficientes para o aumento da produtividade agrícola. Se tornando uma das ferramentas biotecnológicas promissoras, quando é realizada a coinoculação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* com MPCPs (HUNGRIA et al. 2015b; GARCIA et al., 2021).

Como exemplo de possíveis coinoculações, pode-se citar o uso de *Bradyrhizobium* spp. e *Rhizobium* spp. juntamente com microrganismos que estimulam a produção de fitormônios tais como *Azospirillum* spp. e *Pseudomonas* spp., ou os que solubilizam fosfatos e promovem controle biológico, como *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. (SANTOS et al. 2019).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são amplamente distribuídas no cenário agrícola, devido sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico em plantas superiores

(CASSÁN et al., 2020). Estudos apontam que o *Azospirillum* tem capacidade de fixar nitrogênio da atmosfera, e sintetizar fitormônios que influenciam diretamente no crescimento de plantas e indiretamente por mecanismos de tolerância a estresses abióticos (FUKAMI et al., 2018). Promovem alterações morfológicas nas raízes, devido ao aumento da produção e secreção de auxina (DOBBELAERE et al., 2007). A coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* promoveu aumento de 16% na produtividade em relação somente ao uso de *Bradyrhizobium* (HUNGRIA et al., 2015)

As bactérias do gênero *Bacillus* podem ser consideradas MPCP, pois apresentam habilidade de colonizar a rizosfera e promover o crescimento vegetal (KUNDAN et al., 2015). Espécies de *Bacillus subtilis* têm um efeito benéfico sobre a nodulação (ARAÚJO Et al., 2010). Assim, podem promover um aumento na produtividade (BRAGA JUNIOR et al., 2018). Em um estudo de CHAGAS JUNIOR et al. (2021), a inoculação de sementes de soja com *Bacillus* sp. resultou em maior crescimento das plantas, número de entrenós, massa seca da parte aérea e radicular e comprimento das raízes.

O gênero *Pseudomonas* contribui com a nutrição mineral da planta, através da solubilização de fosfatos e síntese de sideróforos, além de ser precursor do etileno em plantas superiores pela síntese da ACC-deaminase (HUNGRIA et al., 2021). As bactérias *P. fluorescens* atuam como promotoras de crescimento, contribuindo para aumentar o teor da clorofila, a fotossíntese, produção de biomassa e a absorção de nutrientes (RÊGO et al., 2014; NASCENTE et al., 2016). Quando inoculados em sementes de soja, *Pseudomonas fluorescens* proporcionou maiores teores de nutrientes (NPK) no tecido vegetal, aumentou os parâmetros morfométricos refletindo o ganho de massa seca (GUIMARÃES et al., 2021)

Nessa perspectiva, a busca por novas alternativas que minimizem o uso de fertilizantes nitrogenados se tornou imprescindível, fazendo-se necessário mais pesquisas e tecnologias que proporcionem a independência de tais fertilizantes. Pesquisas envolvendo a *Bradyrhizobium japonicum* vem se destacando, em conformidade com os benefícios que a coinoculação proporciona através do uso das BPCPs.

Diante da hipótese que a coinoculação potencializa os efeitos promovidos BPCPs, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com bactérias promotoras de crescimento (*Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*) sobre as características fisiológicas e a produtividade da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi composto por dois experimentos. Um experimento foi conduzido em Selvíria, MS, região Centro-oeste do Brasil, e outro experimento em Maripá, PR, região sul do Brasil. A distância em linha reta entre as duas localidades é de 510 km.

2.1 Experimento em Selvíria - MS

O cultivo de soja na área experimental de Selvíria-MS foi realizado na Fazenda Experimental da UNESP de Ilha Solteira, situada nas coordenadas 22° 25' 5" S e 51° 20' 30" O, com altitude de 335 metros. A classificação climática da região, de acordo com Köppen, é do tipo Aw, tropical com inverno seco, com precipitação média anual de 1370 mm, temperatura média anual 23,5 °C.

A área experimental conta com sistema de irrigação por aspersão do tipo pivô central, com lâmina mínima de 14 mm aplicada pelo equipamento a 100%, a irrigação era realizada conforme necessidade em função da evapotranspiração (ET_o) e o coeficiente da cultura (K_c) instalada em seus diferentes estágios fenológicos (Figura 1).



Figura 1. Localização da área experimental em Selvíria – MS, região Centro-Oeste do Brasil.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho distrófico, com textura argilosa, 470 g kg⁻¹ de argila, 90 g kg⁻¹ de silte e 440 g kg⁻¹ de areia (Santos et al., 2018). A área utilizada para implantação do experimento tem histórico de cultivos EM

sistema de plantio direto a 16 anos, as culturas antecessoras são feijão e soja estes cultivados na 1º safra.

Amostras de solo na camada de 0 – 20 cm foram coletadas e analisadas quanto as características químicas, de acordo com Raij et al. (2001). Os resultados foram 38 mg dm⁻³ de P (resina); 5 mg dm⁻³ de S-SO₄; 23 g dm⁻³ de matéria orgânica. 5,2 de pH (CaCl₂); K, Ca, Mg, H+Al e CTC = 3,0; 39,0; 33,0, 34,0 e 74,9 mmolc dm⁻³, respectivamente; Cu, Fe, Mn, Zn (DTPA) = 6,1; 29,0; 107,7 e 1,4 mg dm⁻³, respectivamente; 0,15 mg dm⁻³ de B (água quente) e 69% de saturação por bases. Com base na análise de solo a adubação recomendada para cultivo de soja é de 300 kg ha⁻¹ de fertilizante NPK 02-20-20

2.2 Experimento em Maripá - PR

O experimento em Maripá – PR, foi conduzido na Fazenda Zoz Farm, situada nas coordenadas 53° 44' W e 24° 22' S e altitude de 380 m. A classificação climática da região de acordo com Köppen, é Cfa, subtropical úmido, com verões quentes apresentando tendência de concentração de chuvas (temperatura média acima de 22 °C) e invernos com geadas inusitadas (temperatura média abaixo de 18 °C), sem uma estação definida. A área experimental tem histórico de cultivo no sistema de plantio direto a 32 anos e as culturas que antecederam o experimento são soja na primeira safra e milho na segunda safra.

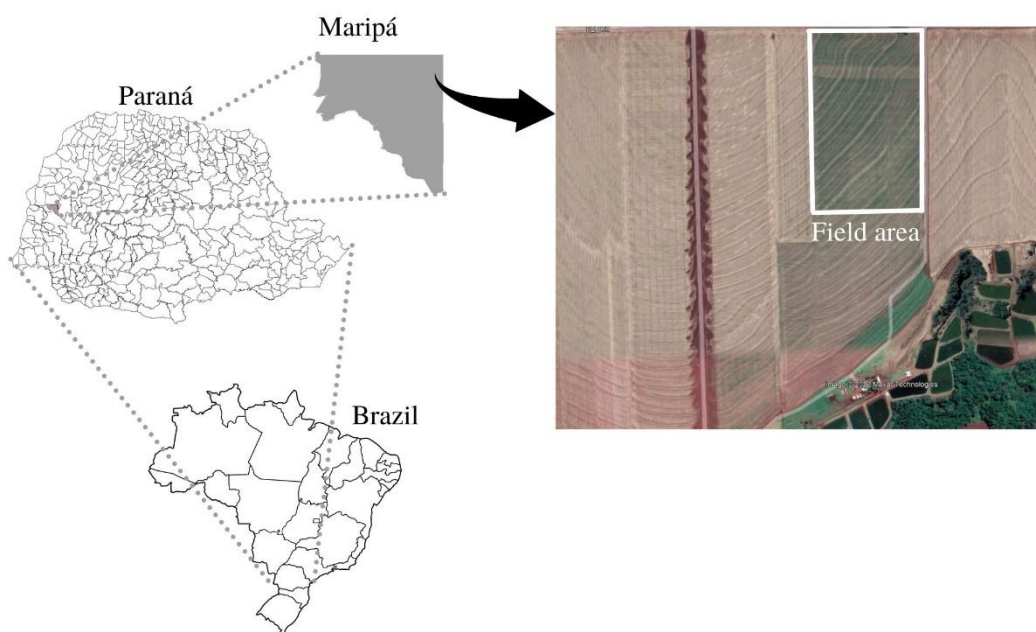


Figura 2. Localização da área experimental em Maripá – PR, região Sul do Brasil.

O solo é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico, textura argilosa com granulometria de 720 g kg⁻¹ de argila, 120 g kg⁻¹ de silte e 160 g kg⁻¹ de areia (SANTOS et al., 2018).

Amostras de solo na camada de 0 – 20 cm foram coletadas e analisadas quanto as características químicas, de acordo com Raij et al. (2001). Os resultados foram 43 mg dm⁻³ de P (resina); 12 mg dm⁻³ de S-SO₄; 31 g dm⁻³ de matéria orgânica. 5,5 de pH (CaCl₂); K, Ca, Mg, H+Al e CTC = 3,3; 41,0; 22,0, 34,0 e 100,3 mmol_c dm⁻³, respectivamente; Cu, Fe, Mn, e Zn (DTPA) = 15,3; 25,0; 78,4 e 3,8 mg dm⁻³, respectivamente; 0,44 mg dm⁻³ de B (água quente) e 66,3% de saturação por bases. Com base na análise de solo a adubação recomendada para cultivo de soja é de 300 kg ha⁻¹ de fertilizante NPK 02-20-20.

2.3 Implantação e condução dos experimentos

Para a implantação do experimento em Selviria-MS, foi utilizada a cultivar TMG 7063 IPRO, o plantio foi realizado em novembro/2020 e a colheita em março/2021. Para o experimento em Maripá-PR a cultivar utilizada pertence a Monsoy M5947, o plantio foi realizado em outubro/2020 e a colheita em março/2021.

Para o tratamento das sementes foi utilizado o produto STANDAK[®] TOP (ingredientes ativos: piraclostrobina, tiofanato metílico e fipronil), com base nas recomendações do fabricante para a cultura.

Em ambos os experimentos, as parcelas experimentais foram constituídas por oito linhas de 5,0 m de comprimento, semeadas com espaçamento entrelinhas de 0,5 m. As avaliações foram realizadas apenas na área útil da parcela, descartando as linhas laterais e 0,5 m de bordadura.

Aos 15 dias após a emergência da soja foram aplicados via foliar cobalto (Co) e Molibdênio (Mo), estes são nutrientes fundamentais para o crescimento das plantas. O molibdênio é essencial, este participa da enzima nitrogenase e nitrato redutase atuando no metabolismo para fixação de nitrogênio (TAIZ et al., 2017). O Cobalto auxilia na síntese da vitamina B12, estas atuam nas reações metabólicas para formação da leg-hemoglobina, que contribuem para o aumento da resistência a seca em sementes, retardamento da senescência foliar, e inibindo a biossíntese do etileno (TAIZ et al., 2017). Quando necessário foi feito o controle de pragas e doenças conforme as recomendações da cultura, em ambos os experimentos.

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado em ambos os experimentos foi em blocos ao acaso com cinco repetições, em esquema fatorial 5x2. O primeiro fator foi constituído pela inoculação e coinoculações (controle -não inoculado, *Bradyrhizobium japonicum*, *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*, *B. japonicum* + *Bacillus subtilis* e *B. japonicum* + *Pseudomonas fluorescens*). O segundo fator foi constituído por dois níveis de adubação, sendo a adubação recomendada para soja, com base na análise de solo e recomendações técnicas para a cultura da soja (300 kg ha⁻¹ da formulação NPK 02-20-20) e uma dose inferior a dose recomendada, equivalente a 200 kg ha⁻¹ da formulação NPK 02-20-20.

Utilizou-se o inoculante líquido de origem comercial com *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 e AbV6 na dose de 100ml (garantia de 2x10⁸ UFC ml⁻¹), *Bacillus subtilis* (estirpe CCTB04) na dose de 50ml de inoculante líquido (garantia de 1x10⁸ UFC ml⁻¹) e a inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03) foi realizada na dose de 50ml de inoculante líquido (garantia de 2x10⁸ UFC ml⁻¹) para 50kg de sementes.

2.5 Avaliações

As avaliações referentes as trocas gasosas foram obtidas aos 45 dias após a emergência quando as plantas estavam em florescimento pleno (70% das plantas em florescimento), as aferições foram realizadas pela parte da manhã, em oito plantas aleatoriamente com o equipamento Infra Red Gas Analyser - IRGA, modelo LI-6400.

Para avaliação do número e massa de nódulos, foram coletadas plantas com as raízes completas, utilizando uma pá reta aleatoriamente dentro da parcela, eram coletadas entre 3 e 4 plantas, as plantas deveriam estar com as raízes intactas, posteriormente eram levadas até uma pia, para lavagem e contagem dos nódulos.

Para a análise dos componentes de produção: número de vagens por planta, massa de 100 grãos, palhada após colheita (ajuste de 10 plantas para palhada em kg ha⁻¹). A colheita foi realizada aos 120 dias, na ocasião da colheita foram coletadas 10 plantas de forma manual das 4 linhas centrais e posteriormente as plantas foram trilhadas de forma mecânica. A massa de grãos obtidas na trilha foi pesada, avaliada a umidade e extrapolada a produtividade de grãos corrigida para 13% (kg ha⁻¹).

A palhada e grãos foi encaminhada para secagem em estufa de ventilação de ar forçado a 60 °C por 72 horas, para obter as massas seca. Posteriormente a secagem, pesagem e moagem dos materiais vegetais em moinho tipo Willey, determinou-se de acordo com a

metodologia de Malavolta et al. (1997), as concentrações de N, P, K, na palhada e nos grãos. Os acúmulos de nutrientes na palhada e nos grãos foi calculado com base nas respectivas massas secas e nas concentrações dos nutrientes encontradas. Utilizando a equação (rendimento do peso seco em kg ha⁻¹ X concentração dos nutrientes encontrados em g kg⁻¹ ou mg kg⁻¹ = acúmulo em kg ha⁻¹ ou g ha⁻¹).

2.6 Análise dos dados

Os dados apresentaram distribuição normal e variância homogêneas (Shapiro Wilk-Test) e foram submetidos à análise de variância. A significância dos quadrados médios obtidos na análise de variância foi testada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias referentes as inoculações foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. As médias referentes aos níveis de adubação foram comparadas pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

3.1 Selvíria – MS

No experimento em Selvíria, os resultados evidenciam efeitos significativos da interação entre os níveis de fertilizantes e as coinoculações (N*C), em quase todas as características avaliadas, exceto para a transpiração foliar (E), número de vagens por planta (NVAG), número de grãos por vagem (NGRAO) e altura das plantas (ALT) (Tabela 1). Entretanto, a transpiração foliar (E), o número de vagens por planta (NVAG), o número de grãos por vagem (NGRAO) e a altura das plantas (ALT) foram influenciadas pela coinoculação de forma isolada, e apenas o número de grãos por vagem foi influenciado pelo nível de adubação (Tabela 1).

A coinoculação com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *A. brasilense* promoveu maior acúmulo de N nos grãos, no maior nível de adubação. No menor nível de adubação, verificou-se que a coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* promoveu maior concentração de N nos grãos (Figura 3A).

Quanto a concentração de N na palhada, observa-se que a coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens* proporcionou um acúmulo 93,01% maior em relação ao tratamento não inoculado no maior nível de adubação (Figura 3B).

Tabela 1. Quadro de análise de variância (quadrado médio) das características agrônômicas, nutricionais e fisiológicas das plantas de soja cultivada em Selvíria-MS, 2020/2021.

F.V	Selvíria - MS									
	N	P	K	N	P	K	PAR	A	Ci	E
	Acúmulo nos grãos			Acúmulo na palhada						
Bloco	67,44	0,62	25,77	2,40	0,05	11,19	14743	0,73	2910	0,14
Nível (N)	55445**	449,2**	12487**	2996**	91,12**	5244**	15681 ^{ns}	7346**	11022*	0,41 ^{ns}
Coinc. (C)	41831**	423,4**	9245**	1073**	63,13**	2368**	3392554**	8906**	27998**	6,42**
N*C	2408**	11,74**	609,7**	84,15**	3,54**	370,2**	94059**	2841**	73141**	0,20 ^{ns}
Resíduo	375	3,06	63,87	23,56	0,62	68,43	15582	14,13	2338	0,17
CV (%)	11,44	6,88	7,20	11,34	10,17	10,84	11,62	13,99	12,62	11,30
F.V.	gs	EUA	NOD	MNOD	NVAG	NGRAO	M100	ALT	MSPA	PROD
Bloco	0,002	13,27	14,65	997,5	8,43	0,06	0,74	33,10	3629	25823
Nível (N)	0,0003 ^{ns}	250,1**	13,27 ^{ns}	3110 ^{ns}	8,29 ^{ns}	0,17*	0,09 ^{ns}	57,60 ^{ns}	145245*	1488547**
Coinc (C)	0,04**	1465**	229,6**	11019**	87,98**	0,33**	7,36**	200,1**	2519397**	4305883**
N*C	0,009**	404,0**	32,20**	3132**	20,35 ^{ns}	0,04 ^{ns}	3,83**	38,35 ^{ns}	555897*	448914*
Resíduo	0,002	10,97	6,18	1272	10,87	0,02	0,69	22,93	204768	113604
CV (%)	9,50	12,05	11,33	16,63	8,89	5,93	9,68	8,80	10,08	15,28

* e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade respectivamente, ns – não significativo, F.V. – fonte de variação, CV – coeficiente de variação, ALT – altura de plantas, M100 – massa de 100 grãos, NVAG – número de vagens por planta, NGRAO – número de grãos por vagem, NOD – número de nódulos por planta, MNOD – massa de nódulos por planta, EUA – eficiência do uso da água, MSPA – massa seca da palhada, PROD – produtividade de grãos, PAR – radiação fotossinteticamente ativa, A – fotossíntese líquida, Ci – concentração subestomática de CO₂, E – transpiração foliar, gs – condutância estomática.

Em ambos os níveis de adubação, as coinoculações com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. Japonicum* + *B. subtilis* apresentaram maior acúmulo de P (Figura 3C). O acúmulo de P na palhada, em ambos os níveis de adubação foi superior nas coinoculações com *B. Japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 3D).

O acúmulo de K nos grãos foi superior na coinoculação com *B. Japonicum* + *B. subtilis* em relação ao tratamento sem inoculação, em ambos os níveis de adubação (Figura 3E). Na palhada, houve maior acúmulo de K na coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens*, no maior nível de adubação (Figura 3F). No menor nível de adubação, a coinoculação *B. Japonicum* + *B. subtilis* proporcionou maior acúmulo de K na palhada (Figura 3F).

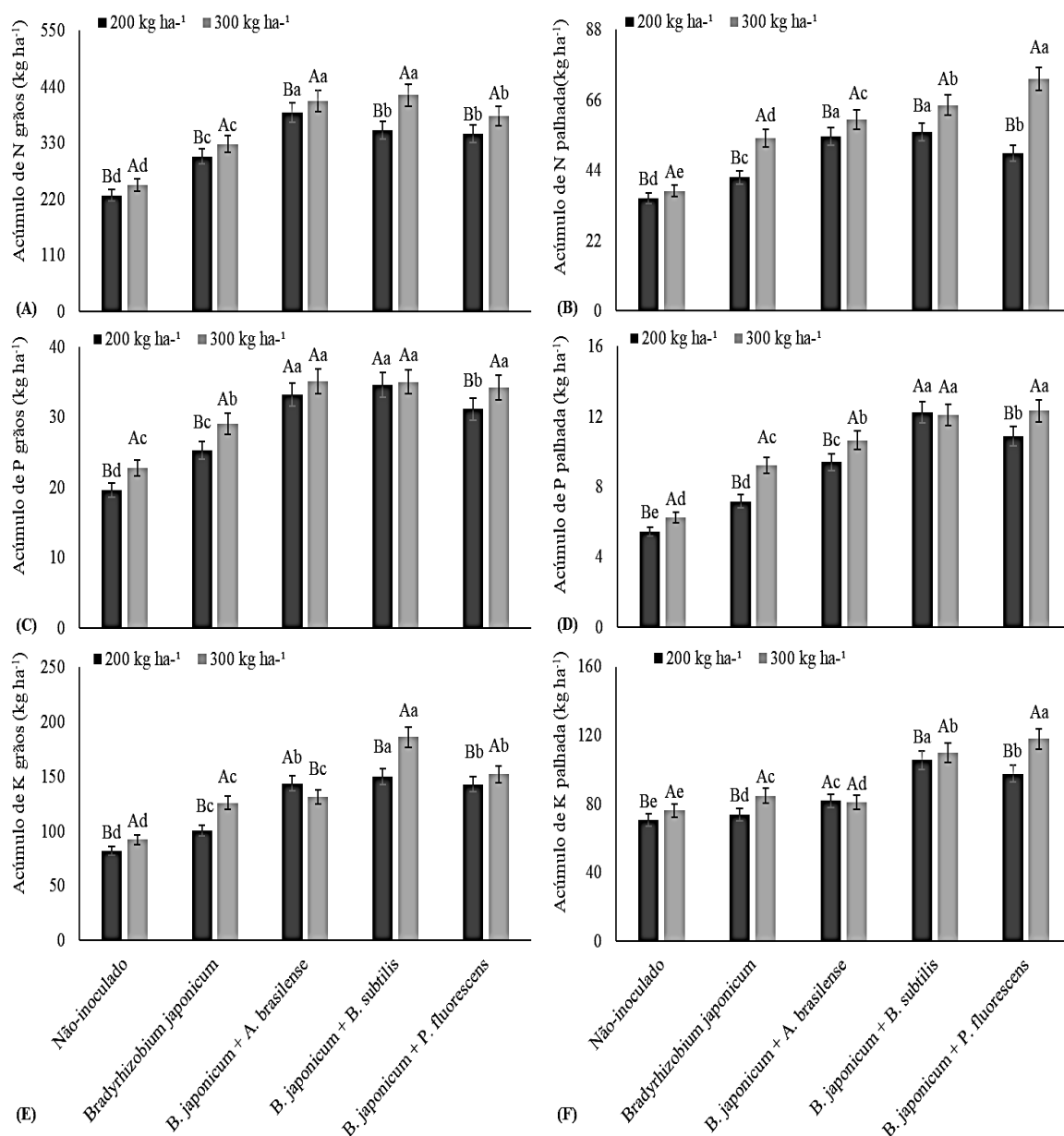


Figura 3. Acúmulo de N nos grãos (A), na palhada (B), acúmulo de P nos grãos (C), na palhada (D), acúmulo de K nos grãos (E) e na palhada (F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em ambos os níveis de adubação verificou-se que os maiores valores de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) ocorreram nas coinoculações com *B. Japonicum* + *B. subtilis* e *B. Japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 4A). Em relação a taxa de fotossíntese líquida (A), verificou-se que no maior nível de adubação, a inoculação e as coinoculações

apresentaram resultados superiores ao tratamento não inoculado (Figura 4B). No menor nível de adubação, as coinoculações com *B. japonicum* + *A. brasilense*, e no maior nível de adubação *B. Japonicum* + *B. subtilis* apresentaram resultados superiores de taxa de fotossíntese líquida em relação aos tratamentos inoculado e sem inoculação (Figura 4B).

Com relação a concentração subestomática de carbono (Ci), no maior nível de adubação, a coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens* apresentou resultados superior aos demais tratamentos (Figura 4C). No menor nível de adubação, as coinoculações com *B. japonicum* + *P. fluorescens* apresentaram resultados de concentração subestomática de carbono superiores aos demais tratamentos (Figura 4C).

Com relação a transpiração (E), não houve diferença entre os níveis de adubação quanto a transpiração (Figura 4D).

Em ambos os níveis de adubação, os maiores valores de condutância estomática (gs) foram encontrados no tratamento inoculado *B. japonicum* em relação as coinoculações e o tratamento não inoculado (Figura 4E).

No maior nível de adubação, a inoculação com *B. japonicum* e a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense* promoveram maior eficiência do uso da água (Figura 4F). No menor nível de adubação, a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense* promoveu maior eficiência do uso da água (Figura 4F).

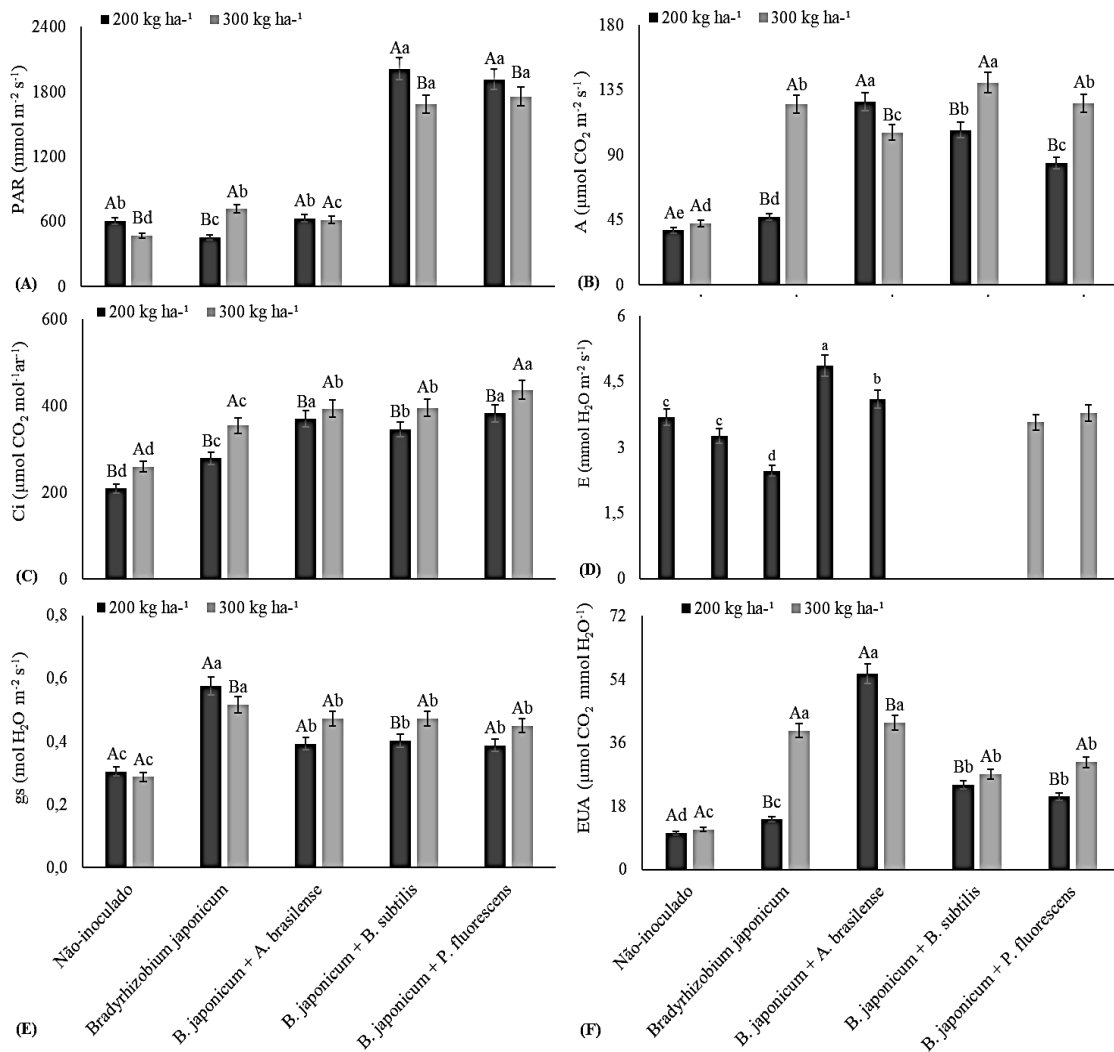


Figura 4. Radiação fotossinteticamente ativa (PAR-A), taxa de fotossíntese líquida (A-B), concentração subestomática de carbono (Ci-C), transpiração (E-D), condutância estomática (gs-E) e eficiência do uso da água (EUA-F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Independentemente do nível de adubação, as plantas inoculadas com *B. japonicum* apresentaram maior número de nódulos em relação as plantas não inoculadas e coinoculadas (Figura 5A). Para a massa de nódulos, verificou-se que no maior nível de adubação, a maior massa de nódulos ocorreu no tratamento inoculado com *B. japonicum* (Figura 5B). Porém, no menor nível de adubação, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* apresentaram maior massa de nódulos (Figura 5B).

Com relação ao número de vagens, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* apresentaram resultados superiores aos demais tratamentos (Figura 5C). Não houve diferença no número de vagens entre os níveis de adubação (Figura 5C).

Foi verificada maior massa de 100 grãos nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *P. fluorescens* no maior nível de adubação (Figura 5D). No menor nível de adubação, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *B. subtilis* apresentaram maior massa de 100 grãos (Figura 5D).

O maior número de grãos por vagem foi verificado nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* (Figura 5E). Também foi verificado maior número de grãos por vagem nas plantas que receberam maior nível de adubação (Figura 5E). Foi verificada maior altura de planta nas plantas que não foram inoculadas e coinoculadas com *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 5F). Não houve diferença de altura de planta entre os níveis de adubação (Figura 5F).

No maior nível de adubação, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *P. fluorescens* apresentaram maior massa seca de palhada (Figura 5G). Por outro lado, no menor nível de adubação, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* apresentaram maior massa seca de palhada (Figura 5G).

No maior nível de adubação, a maior produtividade de grãos foi constatada nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 5H). No menor nível de adubação, a maior produtividade de grãos foi verificada nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 5H).

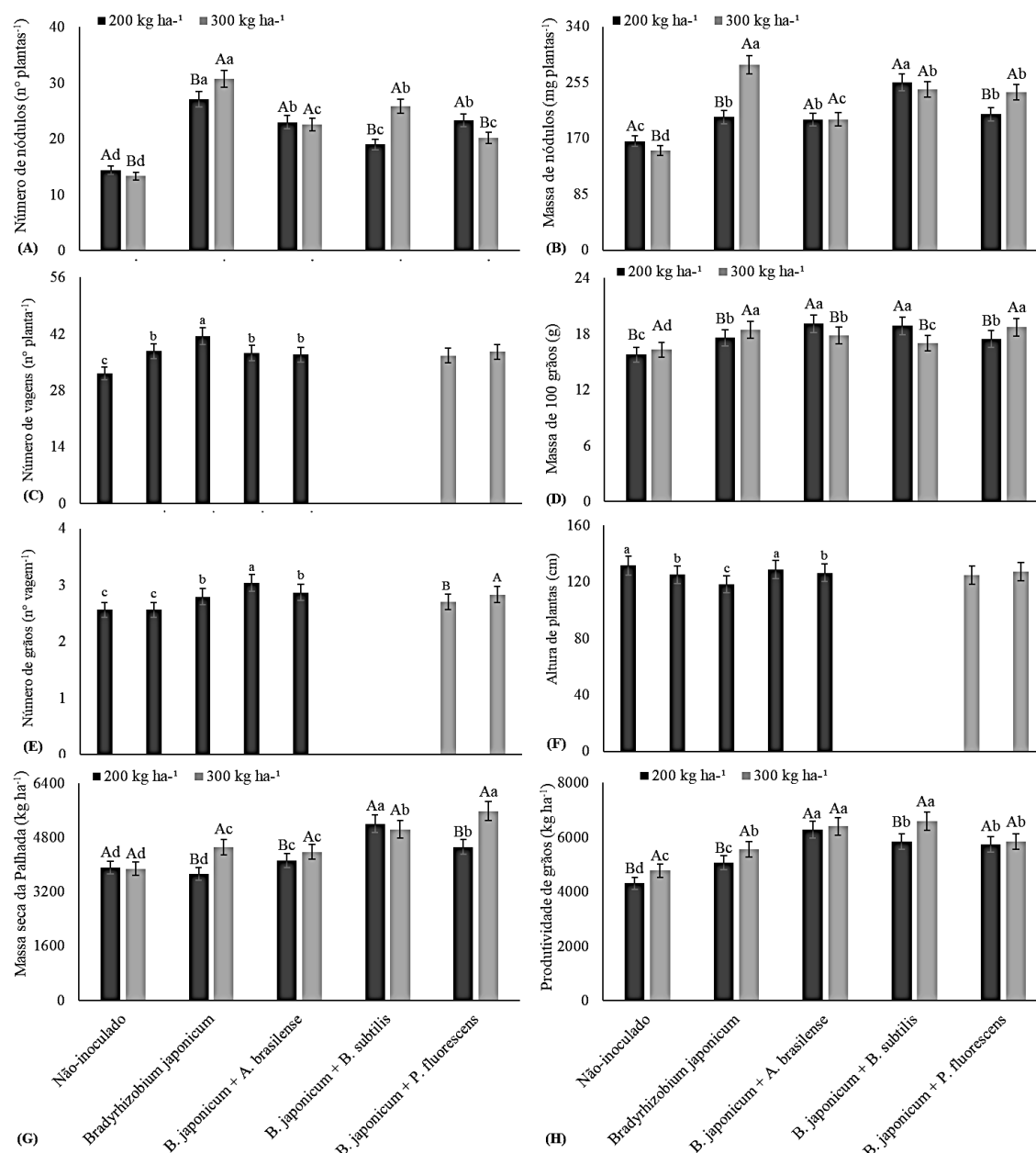


Figura 5. Número de nódulos (A), massa de nódulos (B), número de vagens (C), massa de 100 grãos (D), número de grãos (E), altura de plantas (F), massa seca da palhada (G) e produtividade de grãos (H) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Selvíria-MS, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

3.2 Maripá - PR

Para o experimento conduzido em Maripá – PR, verificou-se que houve influência da interação entre os níveis de adubação e a coinoculação em todas as variáveis avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2. Quadro de análise de variância (quadrado médio) das características agrônômicas, nutricionais e fisiológicas das plantas de soja cultivada em Maripá-PR, 2020/2021.

F.V.	Maripá - PR						PAR	A	Ci	E
	N	P	K	N	P	K				
	Acúmulo nos grãos			Acúmulo na palhada						
Bloco	384,6	0,95	9,65	3,67	0,07	0,03	806,6	26,25	624,9	0,0004
Nível (N)	52935**	404,5**	5093**	800,1**	10,27**	1339**	3654 ^{ns}	595,9**	45630**	0,03 ^{ns}
Coinoc (C)	75906**	434,1**	2110**	2233**	53,93**	5827**	293273**	6519**	572479**	0,77**
N*C	2642**	32,09**	251,9**	579,2**	8,22**	1742**	54897**	556,1**	32229**	0,11**
Resíduo	767,6	4,53	68,23	14,19	0,12	95,68	1841	13,12	833,2	0,008
CV (%)	10,57	9,63	10,28	8,57	7,40	15,74	9,76	9,03	10,06	8,07
F.V.	gs	EUA	NOD	MNOD	NVAG	NGRAO	M100	ALT	MSPA	PROD
Bloco	0,0001	2,79	1,68	15,94	0,10	0,03	0,22	8,87	46495	37633
Nível (N)	0,01**	110,35**	7,48 ^{ns}	1867**	408,2**	0,08*	0,52 ^{ns}	102,4*	69002 ^{ns}	6782271**
Coinoc. (C)	0,003**	485,1**	322,6**	2944**	282,8**	0,06*	0,95*	90,28**	7423075**	4877971**
N*C	0,002**	66,12**	162,8**	588,5**	68,99**	0,05*	5,17**	87,84**	497415**	779053*
Resíduo	0,0002	2,48	5,76	64,91	4,11	0,02	0,25	17,46	21857	297553
CV (%)	5,87	9,18	9,88	11,54	8,68	9,19	8,54	8,65	10,95	10,81

* e ** significativo a 5 e 1% de probabilidade respectivamente, ns – não significativo, F.V. – fonte de variação, CV – coeficiente de variação, ALT – altura de plantas, M100 – massa de 100 grãos, NVAG – número de vagens por planta, NGRAO – número de grãos por vagem, NOD – número de nódulos por planta, MNOD – massa de nódulos por planta, EUA – eficiência do uso da água, MSPA – massa seca da palhada, PROD – produtividade de grãos, PAR – radiação fotossinteticamente ativa, A – fotossíntese líquida, Ci – concentração subestomática de CO₂, E – transpiração foliar, gs – condutância estomática

O maior acúmulo de P, tanto nos grãos quanto na palhada ocorreu com a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense*, independentemente do nível de adubação (Figuras 6C e 6D). Com relação ao acúmulo de K nos grãos, no maior nível de adubação, as coinoculações apresentaram os melhores resultados em relação a inoculação e não inoculado. No menor nível de adubação, *B. Japonicum* + *A. brasilense* promoveram maior acúmulo de K nos grãos (Figura 6E). Com relação a palhada, verificou-se que a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense* promoveu maior acúmulo de K, independentemente do nível de adubação (Figura 6F).

O maior acúmulo de N nos grãos ocorreu com a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense* no maior nível de adubação e com a coinoculação com *B. Japonicum* + *A. brasilense* no menor nível de adubação (Figura 6A). Na palhada, verificou-se que a coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* em ambos os níveis de adubação promoveu maior acúmulo de N (Figura 6B).

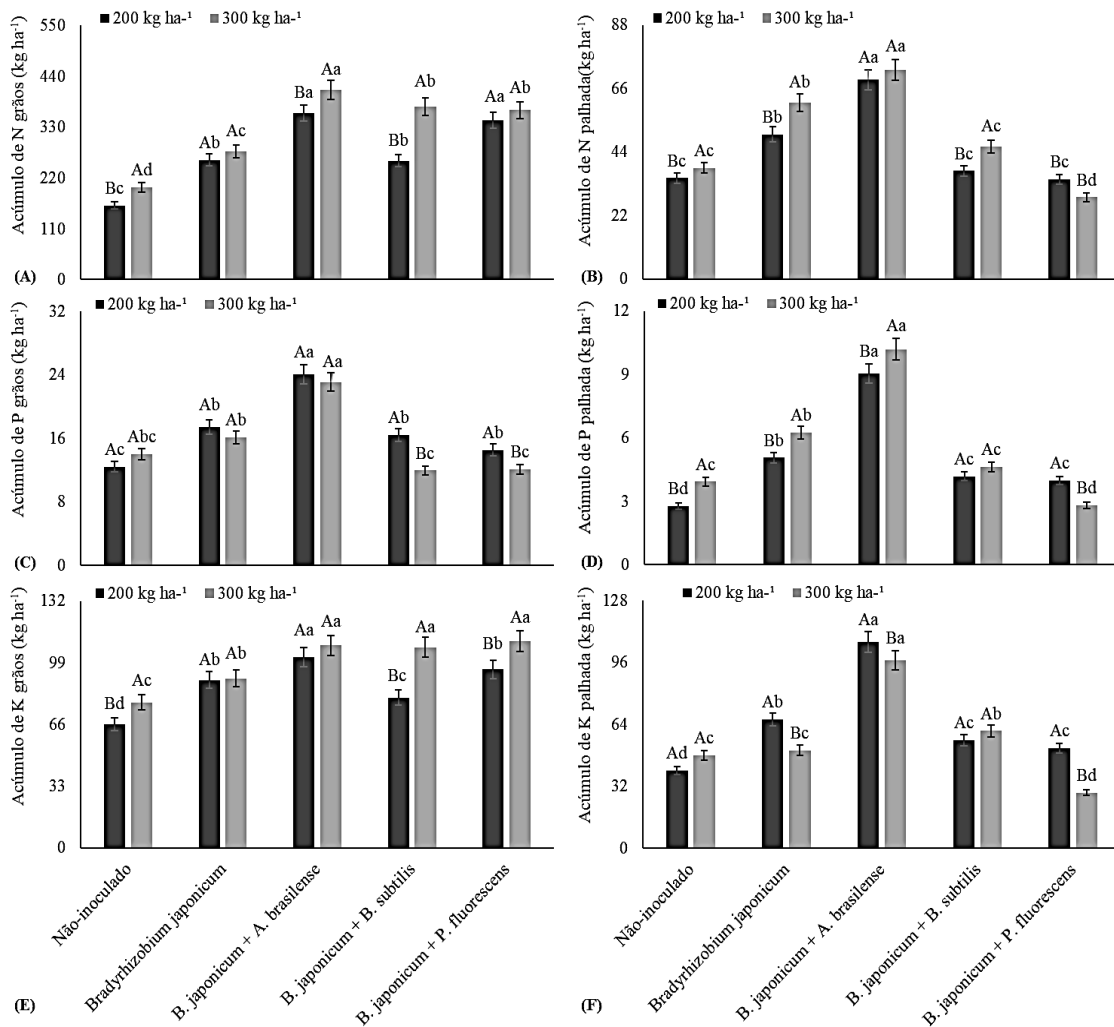


Figura 6. Acúmulo de N nos grãos (A), na palhada (B), acúmulo de P nos grãos (C), na palhada (D), acúmulo de K nos grãos (E) e na palhada (F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação a (Figura 7) o maior nível de adubação, houve maior radiação fotossinteticamente ativa (PAR) nas plantas que foram inoculadas *B. Japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7A). Já no menor nível de adubação, a maior radiação fotossinteticamente ativa foi verificada nas coinoculações com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7A).

A maior taxa de fotossíntese líquida foi verificada nas plantas inoculada com *B. japonicum* no maior nível de adubação (Figura 7B). No menor nível de adubação, a maior

taxa de fotossíntese líquida foi verificada na inoculação com *B. japonicum* e na coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7B).

Com relação a concentração subestomática de carbono, os maiores valores foram verificados na inoculação com *B. japonicum* no maior nível de adubação (Figura 7C). No menor nível de adubação, os maiores valores de condutância estomática foram verificados na inoculação com *B. japonicum* e na coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7C). Os maiores valores de transpiração foram verificados nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *P. fluorescens*, no maior nível de adubação (Figura 7D). No menor nível de adubação, os maiores valores de transpiração foram verificados nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7D).

Com relação a condutância estomática, no menor nível de adubação, os tratamentos apresentaram resultados similares, exceto para a coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens*, que apresentou resultado inferior aos demais tratamentos (Figura 7E). No maior nível de adubação, os resultados dos tratamentos também foram similares, com exceção para a inoculação *B. japonicum* e a coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7E).

Com relação a eficiência do uso da água, no maior nível de adubação, resultados superiores foram verificados para os tratamentos com a plantas não inoculadas, inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 7F). Já no menor nível de adubação, a maior eficiência do uso da água ocorreu nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 7F).

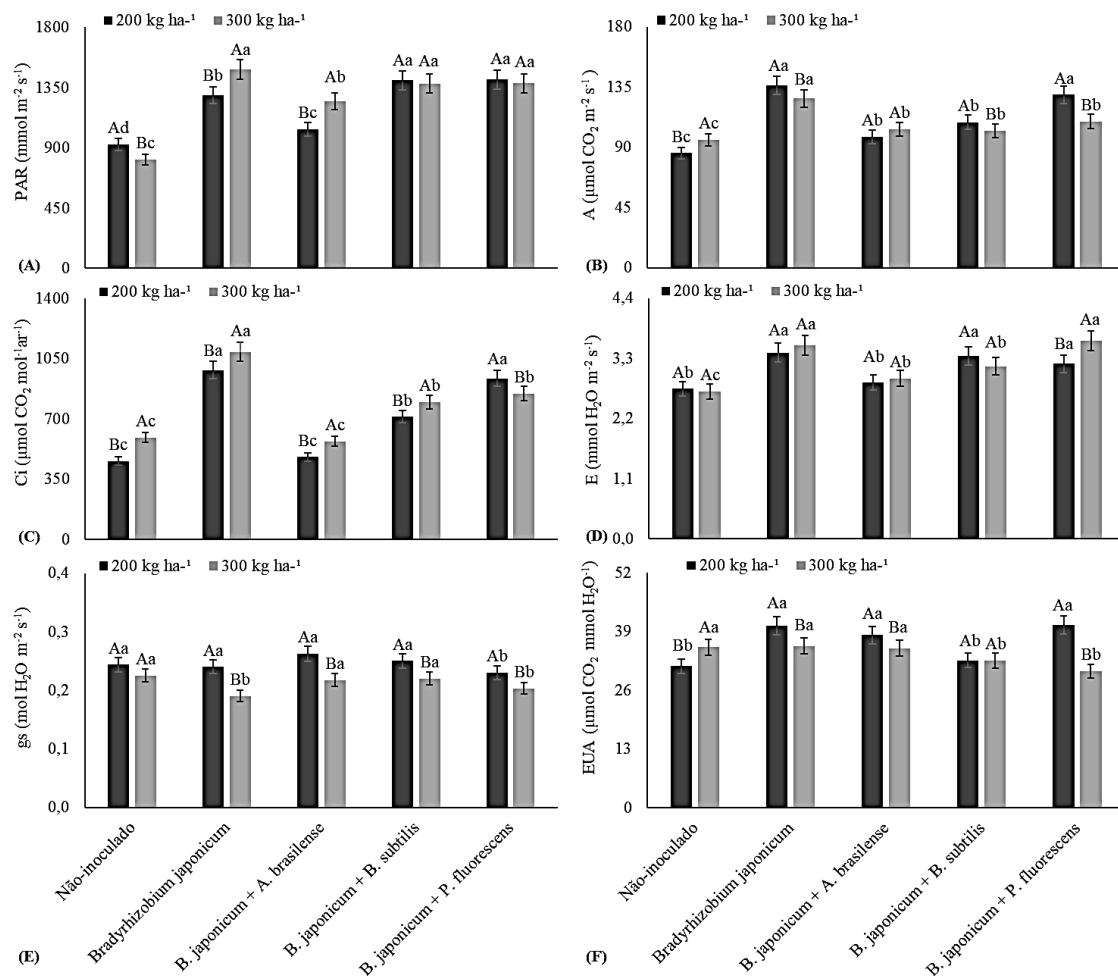


Figura 7. Radiação fotossinteticamente ativa (PAR-A), taxa de fotossíntese líquida (A-B), concentração subestomática de carbono (Ci-C), transpiração (E-D), condutância estomática (gs-E) e eficiência do uso da água (EUA-F) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Quando analisado a (figura 8) o maior nível de adubação, o maior número de nódulos foi verificado nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 8A). No menor nível de adubação, o maior número de nódulos foi constatado nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 8A). A maior massa seca

de nódulos foi verificada nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense*, independentemente do nível de adubação (Figura 8B).

No maior nível de adubação, o maior número de vagens foi contatado nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 8C). No menor nível de adubação, o maior número de vagens foi verificado nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 8C).

Com relação a massa de 100 grãos, as maiores médias foram verificadas nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens*, no menor nível de adubação (Figura 8D). No maior nível de adubação, as maiores médias de massa de 100 grãos foram verificadas nas plantas inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 8D).

No menor nível de adubação, o maior número de grãos por vagem foi verificado nas plantas não inoculadas, inoculadas com *B. japonicum* e coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 8E). No maior nível de adubação, as plantas não inoculadas apresentaram massa de 100 grãos inferior aos demais tratamentos, e estes não diferiram entre si (Figura 8E).

As plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* apresentaram maior altura de planta no menor nível de adubação (Figura 8F). No maior nível de adubação, as plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *B. subtilis* apresentaram maior altura de planta (Figura 8F). As plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* apresentaram maior massa seca de palhada em relação aos demais tratamentos, independentemente do nível de adubação (Figura 8G).

No maior nível de adubação, as coinoculações promoveram maiores produtividades de grãos (Figura 8H). No menor nível de adubação, as maiores produtividades de grãos foram verificadas nas plantas coinoculadas com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 8H).

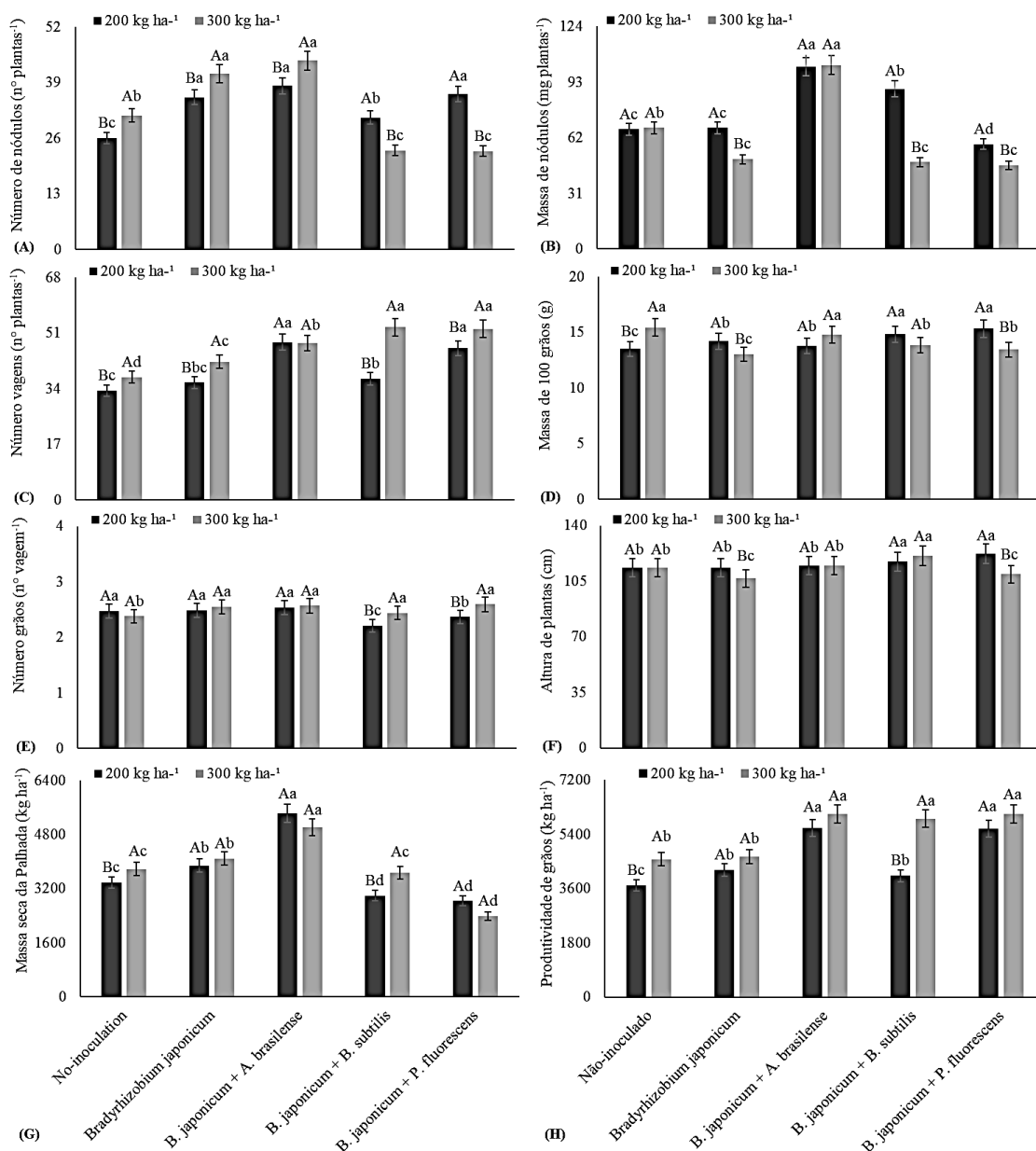


Figura 8. Número de nódulos (A), massa de nódulos (B), número de vagens (C), massa de 100 grãos (D), número de grãos (E), altura de plantas (F), massa seca da palhada (G) e produtividade de grãos (H) de plantas de soja em função do nível de adubação e inoculações e coinoculações em Maripá-PR, 2020/2021. Barras com letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Barras com letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

Na agricultura moderna e sustentável recomenda-se o uso de microrganismo que realizem simbioses para suprir as exigências nutricionais da cultura da soja (MATTOS, 2020). As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* via FBN realizam simbiose e suprem a

demanda de nitrogênio na cultura da soja (DE MEDEIROS et al., 2020). A *Bradyrhizobium* sp. é morfológicamente a única bactéria que forma nódulos por indução das células corticais das raízes (LINDSTRÖM et al. 2020).

Essas bactérias fixam o nitrogênio em troca de carboidratos, podendo se associar com outros microrganismos, como as bactérias promotoras de crescimento. Uma das formas é a infecção e a simbiose, podendo ser verificadas através da massa seca e número de nódulos, com a coloração vermelha no interior do nódulo, causada pela atividade leg-hemoglobina mostrando a eficiência do processo (LEDERMANN et al. 2021).

Ao avaliar o comportamento dos parâmetros nutricionais de NPK nos grãos e na palhada das plantas de soja, observa-se que *B. japonicum* + *B. subtilis* apresentaram efeitos significativos em relação aos demais tratamentos (Figura 3 e 5). Outrora, o *Bacillus subtilis* atua sobre vários mecanismos além da produção de ácido cianídrico, enzimas, fitormônios, eles disponibilização nutrientes como N e P (SANTOS et. al. 2021). Segundo, Miranda et al. (2020), a bactéria *Bacillus subtilis* além de promover resistência aos patógenos, quando aplicadas durante a semeadura influenciam na produtividade, crescimento e na germinação das plantas, solubilizando os nutrientes como o nitrogênio e o fosfato.

Para as características fisiológicas avaliadas e suas respectivas correlações, pode-se observar para as variáveis de troca gasosas como radiação fotossintética ativa (PAR), os melhores resultados foram quando inoculado com *B. japonicum* e coinoculado e *B. japonicum* + *B. subtilis*. Para a variável taxa de fotossíntese líquida (A) os tratamentos com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* foram os que mais se destacaram, favorecendo a melhor taxa em relação ao não inoculado (Figuras 4 e 7). Segundo, Kod et al. (2017), quando se tem uma maior taxa de fotossíntese nas plantas com a bactéria, atribui-se ao processo de fixação de N e a função hormonal secretora reguladora de crescimento. Barassi et al (2008) estudando a cultura do milho inoculado com *Azospirillum* apresentam benefícios nos parâmetros fotossintéticos, em face disso avaliando a concentração subestomática de carbono (Ci) a Coinoculação com *B. japonicum* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* (Figura 4 e 7).

Não houve interação significativa entre os tratamentos e a cultura da soja para a taxa de transpiração (E) (Figura 4). Uma das possíveis explicações é que quando a cultura da soja se encontra sob déficit hídrico (DH) ela reduz a transpiração através da redução da condução estomática (SANTOS, 2018). Em contrapartida, observa-se que quando coinoculado com *B. Japonicum* + *P. fluorescens* se mostrou eficiente (Figura 7).

A melhor eficiência em relação à condutância estomática (gs), para as plantas de soja foram observadas com inoculação com *B. japonicum* e coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* que apresentaram as melhores taxas (Figura 4 e 7). Corroborando com os resultados deste trabalho, Jadoski et al. (2016) diz que o aumento da condutância estomática pode estar relacionado uma maior translocação dos fotoassimilados promovidos pelo aumento da fotossíntese, por exemplo em estudos com a cultura do milho inoculados com *Azospirillum brasilense* relacionaram que o aumento da condutância estomática concentração de CO₂ nos espaços intercelulares e na taxa de transpiração foliar (RODRIGUES et al. 2014).

Em relação a eficiência do uso de água (EUA) quando coinoculado com *B. japonicum* + *A. brasilense* e *B. japonicum* + *P. fluorescens* obtiveram os melhores resultados (Figura 4 e 7). As plantas apresentam adaptações frente as condições estressantes que as permitem fazer o melhor uso da água (SANTOS et al., 2020), estudos indicam que o uso de microrganismos aumenta a eficiência do uso da água em plantas sob DH (SCUDELETTI et al., 2021).

Analisando os dados das variáveis número e massa de nódulos, o tratamento com a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* apresentou os melhores resultados 130,35%; 86,67% respectivamente (Figura 5). A inoculação com bactérias *B. japonicum* promove o aumento do número de vagens, o número e peso dos nódulos, beneficiando altas produtividades dos grãos, tornando-se imprescindíveis para o sucesso da FBN (JARECKI et al., 2019).

A produtividade dos grãos em ambos os experimentos apresentou o melhor resultado quando coinoculado com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 5 e 8). Alguns autores afirmam que devido a interação biológica entre as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* podem substituir eficientemente a adubação mineral nitrogenada na soja (BRACCINI et al. 2016). Uma das causas para o aumento da produtividade, de acordo com Chibeba et. al. (2015), é a nodulação precoce, pois o *Azospirillum* coloniza as raízes antes do *Rhizobium* spp. e produz flavonoides que atraem o *Rhizobium* spp., além do aumento no número de nódulos (COSTA et al. 2014).

Não houve efeito significativo para número de vagens, número de grãos e altura da planta (Figura 5). Uma possível causa, poderia estar atrelada ao déficit hídrico que pode comprometer a produtividade da cultura da soja, principalmente nos períodos de semeadura,

a emergência e no enchimento dos grãos, ou seja, a disponibilidade hídrica e as condições climáticas contribuem para eficiência produtiva (SILVA et al. 2020).

Os resultados obtidos na pesquisa evidenciaram que a coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* (Figura 8) foram positivos, pois aumentaram o número de nódulos, massa de nódulos e número de vagens. Como já foi constatado em outros estudos, que além da produtividade, a coinoculação de *Bradyrhizobium* spp. com *Azospirillum* spp., vem proporcionando em diversos estudos o aumento da nodulação na cultura da soja (BARBOSA et al. 2021). Para o número de grãos houve interação significativa para todos os tratamentos (Figura 8). Para a variável massa de 100 grãos só não houve interação significativa para o tratamento controle com *Bradyrhizobium japonicum*, os demais foram positivos.

Para a massa seca da palhada e altura da planta a coinoculação com *B. japonicum* + *P. fluorescences* (Figura 5 e 8) foi superior aos demais. O crescimento da massa seca, altura da planta e área foliar, podem estar relacionadas com a capacidade de solubilização de fósforo pelas bactérias do gênero *Pseudomonas*, assim como afirma (FERREIRA et al., 2022). Todavia, estudos afirmam que cepas de *P. fluorescens* tem a capacidade de estimular o crescimento de plantas devido à produção de 2,4-DAPG (MENDONÇA et al. 2020).

5. CONCLUSÃO

A coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens* tem potencial para elevar a produtividade de grãos da soja se comparada com a inoculação com *B. japonicum*.

Nas condições experimentais em solos trabalhados por longos períodos em sistemas conservacionistas a coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* e *P. fluorescens* é capaz de compensar a redução da adubação e manter produtividades de grãos da soja similares as plantas que recebem a adubação adequada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, F. R.; NOBREGA, J. C. A.; ZUFFO, A. M.; MARTINS JUNIOR, V. P.; RAMBO, T. P., SANTOS, A. S. Características agronômicas e produtivas da soja cultivada em plantio convencional e cruzado. **Revista de agricultura**, São Paulo, Piracicaba, v.91, n.1, p. 81 - 91, 2016.

BARASSI CA, RJ SUELDO, CM CREUS, LE CARROZZI, WM CASANOVAS, MA PEREYRA. Potencialidad de Azospirillum en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: Azospirillum sp.: Cell Physiology, Plant Interactions and Agronomic Research in Argentina, pp:49–59. Cassán FD, I Garcia de Salamone (Eds.). Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008.

BARBOSA, J. Z.; HUNGRIA, M.; SENA, J. V. C.; POGGERE, G.; REIS, A. R.; CORRÊA, R. S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with Azospirillum brasilense and Bradyrhizobium spp. in Brazil, **Applied Soil Ecology**, v. 163, 103913, 2021.

BRAGA JUNIOR, G.M.; CHAGAS, L.F.B.; AMARAL, L.R.O.; MILLER, L.O. & CHAGAS JUNIOR, A.F. Efficiency of inoculation by Bacillus subtilis on soybean biomass and productivity. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 13, n. 4, 2018. art. e5571. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v13i4a5571>.

CASSÁN F. ET AL. Everything you must know about Azospirillum and its impact on agriculture and beyond. *Biol. Fertil. Soils*, 56, 461-479, 2020 doi.org/10.1007/s00374-020-01463-y.

COSTA, E.M.; CARVALHO F.; ESTEVES, J.A.; NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S. Resposta da soja a inoculação e co-inoculação com bactérias promotoras do Crescimento vegetal e Bradyrhizobium. *Enciclopédia Biosfera*, 10:1678-1689, 2014.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Custos Grãos, 2020.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with Bradyrhizobium and Azospirillum promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 1641-1649, 2015
COS

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. Brasília, v. 8, safra 2020/21, n. 9, nono levantamento, junho. 2021.

DE MEDEIROS, C.; AGUIAR PEREIRA, G.; SILVA DE FREITAS, J.; DE OLIVEIRA FILHO, O.; SILVEIRA DO VALLE, J.; LINDE, G.; PACCOLA-MEIRELLES, L.; BARROS, N.; GOMES, F. Gene characterization of Bradyrhizobium spp. strains contrasting in biological nitrogen fixation efficiency in soybean. **Semina: Ciência Agraristas**, v. 46, n. 6, 2021.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In: Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. p. 145-170, 2007. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/1-4020-3546-2>.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Árvore do conhecimento – milho*, 2018.

FERREIRA, T. C.; LAGO, L.; SILVA, L. G.; PACIFICO, M.G.; FARIA, M. R.; BETTIOL, W. Potential of Bacillus spp. for growth promotion and Fusarium verticillioides control in corn. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 4, p. 195–203, 2022.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with Azospirillum brasilense. **AMB Express**, v. 6, n.1, 2018.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis In: Bruijn, F. J. (Ed.). Biological nitrogen fixations, p. 1009-1021, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, 811-817, 2015.

HUNGRIA, M.; RONDINA, A. B. L.; NUNES, A. L. P.; ARAUJO, R. S.; NOGUEIRA, M. N. Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in Brachiaria (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status, **Plant Soil**, 2021.

JARECKI, W.; BOBRECKA-JAMRO, D. Influence of Seed Inoculation with Commercial Bacterial Inoculants (*Bradyrhizobium Japonicum*) on Growth and Yield of Soybean

Legume, **Research-An International Journal**, v.42, n. 5, p.688-693, 2019
<http://doi.org/10.18805/LR-485>.

JUNIOR, C. F. A.; BORBA, E.; MARTINS, L. L. A.; SOUZA, C. M.; GOMES, L. F.; OLIVEIRA DE, S. R.; CHAGAS, B. F. L. Bacillus sp. como promotor de crescimento em soja Bacillus sp. as a growth promoter in soy, **Revista de ciências agrárias**, v 44, n. 2-3, p. 170-179, 2021 <https://doi.org/10.19084/rca.22557>.

KUNDAN, RISHI ET AL. Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. **Journal of Fertilizers and Pesticides**, v. 6, n.2, p. 1-9, 2015.

LANDAU, E. C.; SILVA, G. A.; MOURA, L.; HIRSCH, A.; GUIMARÃES, D. P. Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: produtos de origem vegetal. 2. ed. Brasília: Embrapa, cap. 37. p. 1215–1239, 2020.

LINDSTRÖM, K.; MOUSAVI, S. A. Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia, **Microbial Biotechnology**, Finland, v. 13, n. 5, p. 1314-1335, 2020.
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>.

MENDONÇA, J. J.; JUNIOR LIRA, A. M.; CARVALHO, X. E.; FRACETTO, M. G. G.; FRACETTO, C. J. F.; ALVES, G. J. M.; OLIVEIRA, P. J. Diversidade, mecanismos de atuação e potencial agrícola de bactérias promotoras de crescimento de plantas, usando milho como cultura exemplo, **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 25, n. 2, 2020.

MORETTI L, G.; CRUSCIOL, C.A.; KURAMAE, E.E.; BOSSOLANI, J.W.; MOREIRA, A.; COSTA, N. R.; ALVES ,C.J.; PASCOALOTO, I.M.; RONDINA, A.B.L.; HUNGRIA, M. Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield, **Agronomy journal** v.112, p. 418–428, 2020 <https://doi.org/10.1002/agj2.20010>.

MORETTI, L.G.; LAZARINI, E., BOSSOLANI, J.W.; PARENTE, T.L.; CAIONI, S.; ARAUJO, R.S. & HUNGRIA, M. Can additional inoculations increase soybean nodulation and grain yield, **Agronomy Journal**, vol. 110, n. 2, p. 1, 2018.

NETO, D. D.; DARIO, G. J. A.; MARTIN, T. N.; SILVA, M. R. S.; PAVINATO, P. S.; HABITZREITER, T. L. Adubação mineral com cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 1, p. 2741-2752, 2012.

NONATO, J. J. Nutrição, fisiologia e produtividade de soja inoculada com *Azospirillum brasilense* e reguladores vegetais. 2016. 79p. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) Faculdade de Agronomia, Universidade estadual do Centro-Oeste, Guarapuava –PR.

PACENTCHUK, F.; GOMES, J. M.; LIMA, V. A.; MENDES, M. C.; SANDINI, I. E.; SADOSK, S. O. Efeito da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento na cultura da soja. **Society and Development: Agrarian and Biological Sciences**, v.9, p.12, 2020.

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; DA SILVA, M. B.; PINTO JUNIOR, A.S.; KLEIN, J.; DA COSTA, C.P.R. Agronomic characteristics of wheat as a function of *Azospirillum brasilense*, humic acids and nitrogen in a greenhouse. **Rev Bras Engenharia Agríc Ambiental**, v.18, n.1, p. 31–37, 2014.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial, **AMB Expr**, v. 9, n. 205, 2019.

SCUDELETTI, et al. *Trichoderma asperellum* Inoculation as a Tool for Attenuating SILVA, L. P.; BATTISTI, R.; KNAPP, F. M.; SANTOS, T. G.; JUNIOR, J. A. Estimativa da produtividade de soja usando irrigação na época das chuvas no bioma Cerrado. **Agrometeoros, Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 887-896, 2020.

SOUZA, P. T. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em *Brachiaria brizantha* cv. marandu**. 2014. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás – UFG, Regional Jataí, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: 349 Artmed, 2017.