

**Diferentes inoculantes, formas de inoculação e seus efeitos sobre as características
agronômicas da cultura da soja**

**Different inoculating, forms of inoculation and their effects on the agronomic
characteristics of soy culture**

**Diferentes inoculantes, formas de inoculación y sus efectos sobre las características
agronómicas de la soja**

Recebido: 15/09/2020 | Revisado: 23/09/2020 | Aceito: 25/09/2020 | Publicado: 26/09/2020

Leandro Meert

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2037-8898>

Centro Universitário Integrado, Brasil

E-mail: leandromeert@yahoo.com.br

Marcelo Marques Lopes Müller

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5466-2398>

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

E-mail: mmuller@unicentro.br

Aline Marques Genú

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7179-0244>

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

E-mail: amgenu@gmail.com

Jhone de Souza Espíndola

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0163-9071>

Centro Universitário Integrado, Brasil

E-mail: jhone.souza@grupointegrado.br

Gabriela Neves Aragão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1386-9907>

Centro Universitário Integrado, Brasil

E-mail: gabrielanevesaragao@hotmail.com

Alex Sandro Torre Figueiredo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3738-4100>

Sakata Seed Sudamerica, Brasil

E-mail: alexstfigueiredo@gmail.com

Resumo

A fixação biológica de nitrogênio substitui, ao menos em parte, a adubação nitrogenada e reduz os custos de produção. Normalmente, as sementes são inoculadas com bactérias, mas existe tecnologia para aplicar inoculantes também no sulco de semeadura, o que permite ampliar as possibilidades de inoculação. Neste trabalho, avaliou-se a inoculação de diferentes bactérias, aplicadas de forma isolada ou conjunta, via sulco ou semente sobre as características agronômicas e sobre a extração de N da soja, em área com histórico de produção da cultura. O experimento foi em delineamento de blocos ao acaso em esquema fatorial 2x3+2: aplicação na semente ou no sulco; somente de *Bradyrhizobium*, somente de *Azospirillum brasilense* e coinoculação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*; mais duas testemunhas (sem inoculação). Com a inoculação via semente, as menores alturas de inserção da primeira vagem foram verificadas com *Bradyrhizobium* e com a coinoculação, no sulco a testemunha apresentou o maior resultado. A coinoculação na semente apresentou a maior quantidade de vagens por planta, quando a aplicação foi no sulco a inoculação com *Bradyrhizobium* e a coinoculação se sobressaíram. A maior quantidade de grãos por vagem foi obtida com a inoculação com *Bradyrhizobium* e com a coinoculação na semente, no sulco não foram verificadas diferenças. A maior massa de mil grãos e produtividade foram obtidas com a inoculação com *Bradyrhizobium* e com a coinoculação independente da forma de aplicação. O tratamento com *Bradyrhizobium* e a coinoculação extraíram mais nitrogênio na aplicação via semente, para o sulco o melhor resultado foi com a coinoculação.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*; *Bradyrhizobium*; Coinoculação; Nitrogênio; Sulco.

Abstract

Biological nitrogen fixation replaces, at least in part, nitrogen fertilization and reduces production costs. Normally seeds are inoculated with bacteria, but there is technology to apply inoculants also in the sowing furrow, which allows increasing the possibilities of inoculation. In this work, it was evaluated the inoculation of different bacteria, applied alone or jointly, via furrow or seed on agronomic characteristics and soybean nitrogen extraction, in an area with a history of crop production. The experiment was a randomized block design in a 2x3 + 2 factorial scheme: seed or furrow application; *Bradyrhizobium* only, *Azospirillum brasilense* only and co-inoculation *Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*; two more witnesses (no inoculation). With seed inoculation, the lowest insertion heights of the first pod were verified with *Bradyrhizobium* and with co-inoculation, in furrow the control showed the highest result. Co-inoculation in seed presented the largest amount of pods per plant, when the

application was in furrow the inoculation with *Bradyrhizobium* and co-inoculation stood out. The largest amount of grains per pod was obtained by inoculation with *Bradyrhizobium* and co-inoculation in seed, no differences were found in furrow. The largest mass of one thousand grains and productivity were obtained by inoculation with *Bradyrhizobium* and co-inoculation, regardless of the application form. *Bradyrhizobium* treatment and co-inoculation extracted more nitrogen in seed application, for the furrow the best result was with co-inoculation.

Keywords: *Azospirillum brasilense*; *Bradyrhizobium*; Co-inoculation; Nitrogen; Furrow.

Resumen

La fijación biológica de nitrógeno reduce la dependencia de los fertilizantes nitrogenados y los costes de producción. La inoculación de bacterias fijadoras suele darse vía semillas, pero existe tecnología para aplicar inoculantes también en el surco de siembra, lo que aumenta las posibilidades de inoculación. En este trabajo se evaluó la inoculación de diferentes bacterias, aplicadas solas o juntas, vía semillas o surcos sobre características agronómicas, productividad y sobre la acumulación de N en los granos de soja, en una zona con historia de cultivo de la soja. El experimento se realizó en un diseño de bloques al azar, en un esquema factorial 2x3+2, siendo: inoculación vía semilla o surco; de la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* solamente, *Azospirillum brasilense* solamente, y coinoculación de *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*; además de dos testigos, sin inoculación vía semillas y surco. Con la inoculación de semillas se verificaron las menores alturas de inserción de la primera vaina con *Bradyrhizobium* y coinoculación, ya través del surco el control fue superior en este atributo. Por semilla, la cantidad de vainas por planta fue mayor con la coinoculación, y por inoculación en surco con *Bradyrhizobium* y la coinoculación fue mejor. La mayor cantidad de granos por vaina se obtuvo con *Bradyrhizobium* y con coinoculación vía aplicación en las semillas, mientras que vía surco no hubo diferencias. Se obtuvo mayor masa de mil granos y productividad con la inoculación de *Bradyrhizobium* y con la coinoculación, independientemente de la forma de aplicación. El *bradyrhizobium* y la coinoculación dieron como resultado una mayor extracción de nitrógeno por parte de la soja cuando los inoculantes se aplicaron a través de semillas, y para la aplicación por surco el mejor resultado fue la coinoculación.

Palabras clave: *Azospirillum brasilense*; *Bradyrhizobium japonicum*; Coinoculación; Nitrógeno; Surco.

1. Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma *commodity* de grande importância mundial, sendo o Brasil o maior produtor. Na safra 2018/2019, a cultura ocupou, no Brasil, uma área de 35,80 milhões de hectares, totalizando uma produção de 114 milhões de toneladas. A produtividade foi de 3,1 toneladas por hectare, o estado do Mato Grosso foi o principal produtor com 28%, seguido por Rio Grande do Sul (16 %) e Paraná (14%) respectivamente (Conab, 2019).

O grão de soja possui de 18-22% de óleo, 40-42% de proteína e oito aminoácidos essenciais, e devido à sua flexibilidade, pode ser utilizado tanto *in natura* como industrializado em farinhas, biscoitos, óleos, doces e queijos (Masciarelli et al., 2013). Devido à alta concentração de proteína nos grãos, a soja extrai grande quantidade de nitrogênio (N), cerca de 64,8 kg de N para cada 1000 kg de grãos, mais 15,5 Kg de N extraídos para a formação de raízes, caules e folhas (Hungria, Campo & Mendes, 2007).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo natural realizado por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que, em simbiose com as raízes, captam o nitrogênio do ar (N₂) e transformam-no em NH₃⁺ (forma assimilável pelas plantas). A FBN é, dentre todas as fontes de N para a cultura da soja, a que apresenta o melhor custo-benefício. Sem a inoculação com *Bradyrhizobium*, os custos com adubação nitrogenada na soja, no Brasil, seriam de aproximadamente R\$ 906,00 ha⁻¹ para uma produtividade de 2.450 kg ha⁻¹, podendo atingir R\$ 24,9 bilhões de reais para a área plantada no Brasil (Embrapa, 2013).

Recentemente, surgiu uma técnica denominada coinoculação (Chibeba et al., 2015), que consiste na associação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, sendo as últimas denominadas bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), cujo principal efeito se dá nas raízes da soja, pela síntese de hormônios de plantas, que promove maior alongação do sistema radicular e estimula um maior desenvolvimento dos pelos radiculares, além disso, aportam N por meio da fixação biológica (Bashan & Bashan, 2010; Souza; Ambrosini; Passaglia, 2015; Hungria, Nogueira & Araújo, 2015a).

Hungria et al. (2013) obtiveram aumento de produtividade de 16,1% com a coinoculação em soja na comparação a áreas não inoculadas, e 7,7% em comparação à áreas com plantas que receberam somente a inoculação com *Bradyrhizobium*.

No entanto, existem indícios de que em áreas onde já se tem histórico de semeadura de soja não há efeito da aplicação dos inoculantes no sulco, quando comparada a aplicação dos

inoculantes na semente, devido as bactérias que já estão presentes no solo presentes no solo (Campo et al., 2009).

Outra questão amplamente discutida é forma de aplicação dos inoculantes: tradicionalmente, a aplicação dos inoculantes ocorre diretamente sobre as sementes que, no caso da soja, já encontram-se tratadas com produtos químicos, majoritariamente fungicidas e inseticidas, os quais podem apresentar incompatibilidade com os microrganismos inoculados, levando à reduções de até 80% na eficiência da nodulação e da FBN (Zilli et al., 2009). Uma alternativa consiste na aplicação dos inoculantes diretamente no sulco de semeadura por meio de jato dirigido, já que esta técnica evita o contato direto das bactérias com os produtos utilizados no tratamento de sementes.

Neste contexto o objetivo do trabalho foi avaliar os componentes de rendimento, produtividade e produção de proteína na cultura da soja sob efeito dos tratamentos de inoculação e coinoculação realizadas tanto no sulco de semeadura como diretamente na semente em área com histórico de produção de soja.

2. Metodologia

O presente trabalho foi de caráter quantitativo, que é caracterizada por ser uma pesquisa experimental (Pereira, et al., 2018). O trabalho foi conduzido na Fazenda experimental do Centro Universitário Integrado, localizada nas margens da rodovia BR 158 no município de Campo Mourão-PR (Brasil) (52°22'40" O e 24°02'38" S), com altitude de 530 metros.

O clima da região é classificado como subtropical úmido mesotérmico (Cfa), com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida, de acordo com a escala de Koppen (Iapar, 2012).

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico de textura muito argilosa (Bhering et al., 2007). As características químicas na camada de 0-20 cm antes da implantação do experimento eram: pH CaCl₂ = 5,7; H + Al (SMP) = 3,86 cmol_c dm⁻³; Matéria orgânica = 3,56%; P (Mehlich 1) = 6,0 mg dm⁻³; Ca = 5,32 cmol_c dm⁻³; Mg = 2,41 cmol_c dm⁻³; K = 0,73 cmol_c dm⁻³ e V% = 68. O local está sob sistema de semeadura direta há aproximadamente 30 anos, com soja ou milho no verão e aveia ou trigo no inverno. Para o experimento utilizou-se o modelo matemático estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + b_k + A_i + B_j + \eta_A * B_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Com:

Aplicações = $i = 1, 2 \dots I$. Microrganismo = $j = 1, 2 \dots J$.

No qual:

Y_{ijk} = é o valor observado do nível i do fator A combinado com o nível j do fator B no k -ésimo bloco;

μ = é uma constante associada a todas as observações;

A_i = é o efeito fixo do i -ésimo nível do fator A;

B_j = é o efeito fixo do j -ésimo nível do fator B;

η = é o efeito fixo da interação entre o i -ésimo nível do fator A e o j -ésimo nível do fator B;

b_k = é o efeito fixo do bloco k , sendo $k = 1, 2, \dots, 4$

ϵ_{ijk} = é o erro experimental associado à observação Y_{ijk} considerado como uma variável aleatória idêntica e independentemente distribuída com média zero e variância constante.

Para as testemunhas adicionais um modelo complementar foi proposto: $Y_{ik} = \mu + A_i + \epsilon_{ik}$

Com:

Aplicações = $i = 1, 2 \dots I$.

No qual:

Y_{ik} = é o valor observado do nível i do fator A no bloco k ;

μ = é uma constante associada a todas as observações;

A_i = é o efeito fixo do i -ésimo nível do fator A;

ϵ_{ik} = é o erro experimental associado à observação Y_{ik} considerado como uma variável aleatória idêntica e independentemente distribuída com média zero e variância constante.

O delineamento experimental adotado foi de blocos completos com tratamentos casualizados, com quatro repetições e unidades experimentais de 12 m² (2m x 6m). Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial (2x4), considerando a forma de aplicação do inoculante (semente ou sulco), o microrganismo utilizado (*Bradyrhizobium* spp., *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium* spp. + *Azospirillum brasilense* e ausência de inoculante (testemunha)), A semeadura da soja (cv. Monsoy 6210 RR) foi feita sobre palhada de aveia, no dia 22 de novembro de 2016 utilizando uma semeadora de parcelas com 4 linhas espaçadas 0,50 m entre si, e população final de plantas de 320.000 plantas ha⁻¹ (16 plantas m⁻¹). As sementes foram tratadas com o produto Standak Top® (25 g L Piraclostrobina +

Tiofanato metílico 225 g L + Fipronil 250 g L) na dose de 0,2 L para cada 100 kg de semente, a adubação foi feita com base na análise de solo e seguindo as recomendações da Embrapa (2013), onde aplicou-se 80 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 50 kg ha⁻¹ de K₂O.

A inoculação e a coinoculação nas sementes foram feitas meia hora antes da semeadura, enquanto que no sulco foi feito com um pulverizador de jato dirigido, aplicando volume de 45 L ha⁻¹, acoplado na semeadora. O *Bradyrhizobium* spp. foi inoculado nas sementes por meio do produto comercial Masterfix Soja[®] líquido, que contém as estirpes SEMIA 5019 (*B. ekanii*) e SEMIA 5079 (*B. japonicum*), cuja dose recomendada para aplicação diretamente nas sementes é de 0,1 L ha⁻¹ e de 0,2 L ha⁻¹ para aplicação no sulco. O *Azospirillum brasilense* foi o inoculado nas sementes por meio do produto Masterfix Gramíneas[®] líquido, que possui as estirpes Abv5 e Abv6, cuja dose recomendada para o tratamento de sementes e aplicação no sulco é de 0,1 L ha⁻¹.

Quando as plantas atingiram maturação fisiológica foram amostradas na área central de cada parcela 15 plantas, as quais foram utilizadas para determinação das variáveis: altura de inserção da primeira vagem, diâmetro do caule, número de nós reprodutivos, número de vagens por planta e número de grãos por vagem.

A avaliação da produtividade foi feita com uma colhedora de parcelas, em uma área útil de 5 m² em cada unidade experimental. As amostras foram armazenadas em sacos de papel e, após a determinação do teor de umidade, foram pesadas, sendo os valores corrigidos para a umidade de 14%. A massa de mil grãos foi realizada seguindo-se a metodologia proposta por Brasil (2009).

O teor de nitrogênio nos grãos foi determinado seguindo-se a metodologia de Kjeldahl (Aoac, 2016). A extração de nitrogênio nos grãos de soja foi obtida pela multiplicação entre os teores de N nos grãos e as respectivas produtividades.

Após verificação dos pressupostos básicos para a análise, de variância, os dados foram submetidos às análises obedecendo ao delineamento experimental de blocos completos com tratamentos casualizados. No caso de efeito significativo dos tratamentos pelo teste de F a $p \leq 0,05$, a comparação das médias foi realizada pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott a $p \leq 0,05$ com o auxílio do pacote estatístico RBio (Bhering, 2017).

3. Resultados e Discussão

Na tabela 1 são apresentados os resultados dos testes de Bartlett e Shapiro-Wilk para todas as variáveis resposta avaliadas no experimento, observa-se que todas as variáveis

apresentaram homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros, e, portanto, os pressupostos para a análise de variância foram atendidos.

Tabela 1 - Teste de Bartlett para homogeneidade de variâncias e teste de Shapiro-Wilk para a normalidade dos erros para as variáveis resposta número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), número de nós reprodutivos (NNR), diâmetro do caule (DC), altura de inserção da primeira vagem (AIPV), massa de mil grãos (MMG), produtividade (PROD) e quantidade de nitrogênio extraída pelos grãos (QNE).

Variável resposta	Bartlett	Shapiro-Wilk
NVP	0,41 ^{ns}	0,37 ^{ns}
NGV	0,09 ^{ns}	0,66 ^{ns}
NNR	0,68 ^{ns}	0,90 ^{ns}
DC	0,24 ^{ns}	0,68 ^{ns}
AIPV	0,15 ^{ns}	0,51 ^{ns}
MMG	0,30 ^{ns}	0,20 ^{ns}
PROD	0,97 ^{ns}	0,61 ^{ns}
QNE	0,16 ^{ns}	0,54 ^{ns}

^{ns} Não significativo (p-valor $\leq 0,05$). Fonte: Autores.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados das variáveis resposta altura de inserção da primeira vagem, diâmetro do caule e número de nós reprodutivos. O diâmetro do caule e o número de nós reprodutivos não apresentaram diferença nos tipos de bactérias e nem na forma de aplicação.

Estes resultados indicam que a maior quantidade de N aportada pelas bactérias não influenciou o crescimento da planta, seu grande efeito residiu sobre os componentes produtivos, resultados divergentes foram observados por Rengel et al. (2018) que ao testarem inoculação e coinoculação na soja verificaram que as plantas que foram coinoculadas cresceram mais e apresentaram caules com diâmetro maior, contudo, a exemplo do que ocorreu neste trabalho, os autores não observaram diferença entre a aplicação na semente e no sulco.

Na variável altura de inserção da primeira vagem, pode-se notar que quando os inoculantes foram aplicados na semente os menores valores foram obtidos na inoculação com *Bradyrhizobium* e com a coinoculação, já quando os inoculantes foram aplicados no sulco, a inoculação e a coinoculação apresentaram valores inferiores a testemunha.

Quando se compara as formas de aplicação dos inoculantes, pode-se notar que quando o *A. brasilense* foi aplicado no sulco a altura de inserção da primeira vagem foi 3,85 cm menor quando comparada a aplicação na semente.

Esta variável é muito importante do ponto de vista produtivo, pois quanto menor a altura de inserção da primeira vagem, maior a quantidade de vagens por planta, como pode ser observado na Tabela 2, isso pode indicar que o tratamento de sementes pode ter afetado o *A. brasilense*, pois o tratamento com aplicação no sulco apresentou 18% a mais de vagens que a aplicação na semente.

Tabela 2 - Valores médios da altura de inserção da primeira vagem (cm), diâmetro do caule (mm) e número de nós reprodutivos de soja em função de diferentes inoculantes e formas de inoculação.

Inoculante	Semente	Sulco
Altura de inserção da primeira vagem (cm)		
Sem inoculante	23,41 aA	23,16 aA
<i>Azospirillum brasilense</i>	24,37 aA	20,52 bB
<i>Bradyrhizobium</i>	21,10 aB	20,10 aB
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	20,10 bB	21,91 aB
C.V. %		6,56
Diâmetro do caule (mm)		
Sem inoculante	7,71 aA	7,91 aA
<i>Azospirillum brasilense</i>	7,94 aA	7,24 aA
<i>Bradyrhizobium</i>	7,86 aA	7,91 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	8,29 aA	8,05 aA
C.V. %		6,26
Número de nós reprodutivos		
Sem inoculante	13,54 aA	13,14 aA
<i>Azospirillum brasilense</i>	11,62 aA	12,25 aA
<i>Bradyrhizobium</i>	12,66 aA	12,37 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	13,45 aA	13,58 aA
C.V. %		8,44

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a $p \leq 0,05$. Fonte: Autores.

Quando fez-se a aplicação dos inoculantes na semente a maior quantidade de vagens foi obtida com a coinoculação, a inoculação com *Bradyrhizobium* não se diferiu da testemunha e a inoculação com *A. brasilense* apresentou o pior resultado para esta variável, em contrapartida quando a aplicação foi feita no sulco não observou-se diferença entre a coinoculação e a inoculação com *Bradyrhizobium*, que por sua vez foram superiores a inoculação com *A. brasilense* e a testemunha, na aplicação via sulco, ao contrário do que

ocorreu na aplicação via semente, não observou-se diferença entre a testemunha e o *A. brasilense*.

Segundo Thomas & Costa (2010) esse componente de rendimento é o mais maleável, e, portanto, o que mais pode ser alterado em função das condições do meio, Bárbaro et al. (2006) comentam que este caráter é um dos mais importantes e que mais afetam a produtividade da cultura da soja, Dalchiavon & Carvalho (2012) observaram em seu trabalho que o número de vagens por planta apresentou a maior correlação linear com a produtividade (0,65).

Para o número de grãos por vagem não foram observadas diferenças entre as bactérias quando a aplicação foi feita no sulco, porém, quando ela foi feita na semente os melhores resultados foram obtidos com o *Bradyrhizobium* e com a coinoculação. Ao contrário do verificado neste trabalho, Fipke et al. (2016) não observaram efeito da coinoculação em detrimento da inoculação para esta variável.

Para a variável massa de mil grãos os melhores resultados foram obtidos com a inoculação com *Bradyrhizobium* e com a coinoculação independente da forma de aplicação. Esses resultados se repetiram para a produtividade, demonstrando que para este trabalho a variável que melhor explica a produtividade é a massa de mil grãos.

Schneider et al. (2017) trabalhando com inoculação e coinoculação em diferentes dosagens observaram que a coinoculação com 200 mL ha⁻¹ de cada inoculante apresentou produtividade 14% a testemunha, contudo, não foram encontradas diferenças entre a inoculação e a coinoculação nem entre as diferentes dosagens e para a massa de mil grãos todos os tratamentos foram iguais.

Diferente deste trabalho, Vieira Neto et al. (2008) obtiveram maior massa de mil grãos quando a inoculação com *Bradyrhizobium* foi realizada na semente em detrimento do sulco, porém os autores não encontraram diferenças na produtividade.

Hungria, Nogueira & Araújo (2015b) trabalhando em diferentes locais com diversas doses de inoculantes a base de *Bradyrhizobium* e *A. brasilense* aplicadas no sulco e na semente não observaram diferenças na produtividade no local onde já havia histórico de produção de soja e com população de *Bradyrhizobium* no solo, Zuffo et al. (2016) não observaram ganhos de produtividade quando fizeram a coinoculação e a compararam com a inoculação, resultados similares foram verificados por Benintende et al. (2010).concordando com os resultados do presente trabalho que também não observou diferenças entre inoculação e coinoculação.

Tabela 3 - Valores médios do número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa de mil grãos (g), produtividade de soja (kg ha⁻¹) e extração de nitrogênio (kg ha⁻¹) em função de diferentes inoculantes e formas de inoculação.

Inoculante	Semente	Sulco
Número de vagens por planta		
Sem inoculante	84,08 aB	84,83 aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	66,75 bC	81,83 aB
<i>Bradyrhizobium</i>	87,62 aB	92,45 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	97,91 aA	92,20 aA
C.V. %	10,34	
Número de grãos por vagem		
Sem inoculante	2,39 aB	2,42 aA
<i>Azospirillum brasilense</i>	2,23 aB	2,41 aA
<i>Bradyrhizobium</i>	2,48 aA	2,57 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	2,57 aA	2,52 aA
C.V. %	6,28	
Massa de mil grãos (g)		
Sem inoculante	171,75 aB	170,80 aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	169,50 aB	169,75 aB
<i>Bradyrhizobium</i>	181,00 aA	178,25 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	177,00 aA	181,50 aA
C.V. %	2,88	
Produtividade (kg ha ⁻¹)		
Sem inoculante	3540 aB	3500 aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	3606 aB	3636 aB
<i>Bradyrhizobium</i>	3961 aA	3849 aA
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	4130 aA	4062 aA
C.V. %	6,92	
Extração de nitrogênio (kg ha ⁻¹)		
Sem inoculante	189,82aB	190,58aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	197,03aB	193,45aB
<i>Bradyrhizobium</i>	207,32aA	200,74aB
<i>A. brasilense</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	215,33aA	215,99aA
C.V. %	5,26	

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a $p \leq 0,05$. Fonte: Autores.

Grande parte dos benefícios da coinoculação está associada as alterações morfológicas que o *A. brasilense* causa no sistema radicular, devido ao aumento na densidade de pelos radiculares das plantas de soja, resultando em mais absorção de água e nutrientes, além de tornar a planta mais tolerante a seca, dessa forma o desempenho da cultura é melhor resultando em ganhos na produtividade (Saharan & Nehra, 2011; Souza et al., 2015; Hungria, Nogueira & Araújo, 2015b). Além disso a presença do *A. brasilense* faz com que a nodulação

seja mais precoce, o número e a massa dos nódulos seja maior (Chibeba et al. 2015; Aung et al., 2013; Cerezini et al., 2016).

Hungria et al. (2013) testando inoculação e coinoculação durante dois anos agrícolas no estado do Paraná verificaram que a coinoculação foi o melhor tratamento, aumentando na média 7,1% a produtividade quando comparada a inoculação.

Meert et al. (2020) testando a inoculação e a coinoculação associadas ou não com adubação nitrogenada na base, obtiveram 12% a mais com a coinoculação em detrimento da inoculação, além disso, os autores observaram que a coinoculação proporcionou maior acúmulo de nitrogênio nos grãos de soja, sendo esse, um dos motivos para a maior produtividade.

Quando os inoculantes foram aplicados na semente houve maior extração de N com o *Bradyrhizobium* e com a coinoculação, e quando os inoculantes foram aplicados no sulco somente a coinoculação extraiu mais N que os demais tratamentos. Estes resultados demonstram que a coinoculação aumenta o aporte de N para a cultura.

Devido a grande quantidade de proteína nos grãos, a demanda de N é altíssima, desse modo se a planta tiver maior aporte de N ela poderá sintetizar mais proteínas o que pode acarretar em maior enchimento de grãos, aumentando a sua massa e com isso gerar ganhos na produtividade.

Braccini et al. (2016) trabalhando com inoculação e coinoculação aplicadas na semente e no sulco, quando houve a coinoculação com três doses de *Bradyrhizobium* e duas de *A. brasilense* o teor de N nos grãos de soja foi maior que os outros tratamentos. Diferente do presente trabalho, eles verificaram que a inoculação no sulco com *Bradyrhizobium* se diferenciou da testemunha (sem inoculação).

Benintende et al. (2010) trabalhando com inoculação e coinoculação na semente em condições normais e de déficit hídrico encontraram teores de N foliar 26 e 30% maiores que a testemunha quando houve déficit hídrico e 41 e 47% maiores que a testemunha quando não houve.

Vieira Neto et al. (2008) concluíram em seu trabalho que a forma de inoculação não afeta a teor de N dos grãos em áreas com histórico de cultivo de soja. Os autores ainda colocam que apesar das semelhanças dos resultados entre as formas de inoculação, as praticidades operacionais fazem com que a inoculação via sulco seja uma prática viável.

A justificativa para fazer a aplicação dos inoculantes no sulco reside no fato de que o tratamento de sementes pode ter efeito deletério sobre as bactérias, Kintschev et al. (2014) fizeram um trabalho com a cultura do feijoeiro inoculada com *Rhizobium tropici* testando

diferentes ingredientes ativos no tratamento de sementes, os autores verificaram que o tratamento à base de Piraclostrobina + Tiofanato metílico + Fipronil, o mesmo usado no presente trabalho, reduziu em 58% a quantidade de nódulos e em 59% a massa dos nódulos, isso fez com que a quantidade de N nas folhas fosse 4,6% menor, contudo não houve efeito sobre a produtividade.

Campo et al. (2010) trabalhando com um tratamento de sementes contendo Tiofanato metílico verificaram alteração na nodulação e na produtividade somente em áreas sem histórico de cultivo da soja, indicando que em solos onde cultiva-se soja todo ano tem-se uma população de bactérias estabelecidas e estas podem compensar o dano causado pelo tratamento.

Zilli et al. (2010) comentam que em áreas sem histórico de cultivo de soja e com baixa quantidade de matéria orgânica a aplicação dos inoculantes no sulco é uma alternativa viável economicamente, pois a maior produtividade compensa o maior custo de produção. Porém, em locais onde tem-se histórico de produção de soja, e, portanto, o solo já possui uma população estabelecida de *Bradyrhizobium* não se tem encontrado diferenças entre a aplicação na semente ou no sulco, conforme demonstrado neste trabalho e em outros citados na revisão, nessa situação a aplicação no sulco torna-se inviável devido ao custo de aquisição do equipamento.

Outro ponto importante é o momento de realização da inoculação, no presente trabalho, foi feita momentos antes da semeadura, e isso minimiza o efeito negativo do tratamento de sementes, contudo, quando as sementes vêm inoculadas (tratamento industrial), o resultado pode ser diferente do observado no presente trabalho, devido ao maior tempo de contato entre as bactérias e os tratamentos de sementes, porém, novas tecnologias que protegem as bactérias do contato com os demais produtos (agrotóxicos e fertilizantes líquidos) tem demonstrado boa capacidade de manter viáveis as bactérias por mais tempo (Araújo et al., 2017; Machineski et al., 2018) e com isso tornando mais eficiente o processo de inoculação.

4. Considerações Finais

A aplicação no sulco de *Bradyrhizobium* e a coinoculação proporcionam maior quantidade de vagens por planta e maior produtividade. A coinoculação na semente aumenta a quantidade de vagens por planta.

A inoculação com *Bradyrhizobium* e a coinoculação feitas na semente aumentam o número de vagens por planta e a produtividade.

Plantas inoculadas com *Bradyrhizobium* ou coinoculadas extraem mais nitrogênio que plantas não inoculadas ou inoculadas com *A. brasilense*.

Referências

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. (2016). (20 ed.), Aoac International, Arlington 3100p.

Araújo, R. S., P., Cruz, E. L., Souchie, T. N., Martin, A. S., Nakatani, M. A., Nogueira & M. Hungria. (2017). Preinoculation of Soybean Seeds Treated with Agrichemicals up to 30 Days before Sowing: Technological Innovation for Large-Scale Agriculture. *International Journal of Microbiology*, 4, 1-11.

Aung, T. T., P. Tittabutr, N. Boonker, D. Herridge & N. Teaumroong. (2013). Co-Inoculation Effects of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum* sp. on Competitive Nodulation and Rhizosphere Eubacterial Community Structures of Soybean under Rhizobia-Established Soil Conditions. *African Journal of Biotechnology*, 12, 2850-2862.

Bárbaro, I. M., M. A. P. C., Centurion, A. O. Di Mauro, S. H. Unêda-Trevisoli, N. H. C. Arriel & M. M. Costa. (2006). Path analysis and expected response in indirect selection for grain yield in soybean. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6, 151-159.

Bashan, Y. & Bashan, L. E. (2010). How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. *Advances in agronomy*, 108, 77-136.

Bhering, S. B., Santos, H. G. dos, Manzatto, C. V., Bognola, I. A., Fasolo, P. J., Carvalho, A. P. de, Potter, R. O.; Curcio, G. R. (2007). *Mapa de Solos do Estado do Paraná*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2007, 73p. (Documentos, 96).

Bhering, L. L. (2017). Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17, 187-190.

Braccini, A. L., G. E. G., Mariucci, A. K., Suzukawa, L. H. da S., Lima & G. G. Piccinin. (2016). Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum*

brasilense e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15, 27-35.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009). *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Mapa/ACS, Brasília, 395p.

Benintende, S., W. Urich, M. Herrera, F. Gangge, M. Sterren & B. Benintende. (2010). Comparación entre Coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e Inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la Nodulación, Crecimiento y Acumulación de N en el Cultivo de Soja. *Agriscientia*, 27, 71-77.

Campo, R. J., Araujo, R. S. & M. Hungria. (2009). Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. *Symbiosis*, 48, 154-163.

Campo, R. J., Araujo, R.S., F. L. Mostasso, & M. Hungria. (2010). In-furrow inoculation of soybean as alternative to fungicide and micronutrient seed treatment. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 103-1112.

Chibeba, A. M., Guimarães, M. F.; Brito, O.R., Nogueira, M.A., Araujo, R.S. & M. Hungria. (2015). Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. *American Journal of Plant Science*, 6,1641-1649.

Conab, Companhia Nacional de Abastecimento. (2019). *Acompanhamento da safra brasileira de grãos: nono levantamento*. Brasília: CONAB, 47p.

Dalchiavon, F. C. & M. P. Carvalho. (2012). Correlação linear e espacial dos componentes de produção e produtividade da soja. *Semina: Ciências Agrárias*, 33, 541-552.

Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2013). *Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014*. Londrina: Embrapa Soja. 259 p.

Fipke, G. M., Conceição, G.M., Grando, L.F.T., Ludwig, R. L., Nunes, U. R. & T. N. Martin. (2016). Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. *Ciência e Agrotecnologia*, 40, 522-533.

Hungria, M., Campo, R. J. & I. C. Mendes. (2007). *A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro*. Londrina: Embrapa soja.80p. (Documentos 283).

Hungria, M., Nogueira, M.A. & R. S. Araújo. (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, 49, 791-801.

Hungria, M.; Nogueira, M. A. & R.S. Araújo. (2015a). Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 811-817.

Hungria, M., Nogueira M.A. & R.S. Araujo. (2015b). Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. *African Journal of Agricultural Research*, 23, 2329-2338.

Iapar, Instituto Agrônomo do Paraná. *Cartas climáticas do Paraná*. 2012. Recuperado de <http://www.iapar.br./modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=597>

Kintschev, M. R., Goulart, A. C. P. & F. M. Mercante. (2014). Compatibilidade entre a inoculação de rizóbios e fungicidas aplicados em sementes de feijoeiro-comum. *Summa Phytopathologica*, 40, 338-346.

Machineski, G. S., Scaramal, A.S., Matos, M. A. de, Machineski, O. & A. Colozzi Filho. (2018). Efficiency of pre-inoculation of soybeans with *Bradyrhizobium* up to 60 days before sowing. *African Journal of Agricultural Research*, 13, 1233-1242.

Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, (3 ed.), Academic press, 672p.

Masciarelli, O., Urbani, L., Reinoso, H. & V. Luna. (2013). Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. *Journal of microbiology*, 51, 590-597.

Meert, L., Fernandes, F. B., Müller, M. M. L., Rizzardi, D. A., Espindola, J. de S. (2020). Inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. *Cultura Agronômica*, 29, 118-129.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. Brasil. Recuperado de <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/15824>

Saharan, B. & V. Nehra. (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Science and Medical Research*, 21, 1-30.

Schneider, F., Panizzon, L.C., Sordi, A., Lajú, C.R., Cericato, A. & C. Klein. (2017). Eficiência agrônômica da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida a coinoculação. *Revista scientia agraria*, 18, 72-79.

Souza, R. de, Ambrosini, A. & L. M. P. Passaglia. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, 38, 401-419.

Thomas, A. L. & J. A. Costa. (2010). Desenvolvimento da planta de soja e potencial de rendimento de grãos. In: Thomas, A. L., Costa, J. A. (Org.). *Soja: manejo para alta produtividade de grãos*. Porto Alegre: Evangraf.

Vieira Neto, S. A., Pires, F. R., Menezes, C. C. E., Menezes, J. F. S., Silva, A. G., Silva, G. P. & R. L. Assis. (2008). Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32, 861-870.

Zilli, J. E., K. G. Ribeiro, R. J. Campo, & M. Hungria. (2009). Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33, 917-923.

Zilli, J. E., V. Gianluppi, R. J. Campo, J. R. C. Rouws & M. Hungria. (2010). Inoculação da soja com *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34,1875-1881.

Zuffo, A. M., A. T. Bruzi, P. M. de Rezende, M. C. Bianchi, E. V. Zambiazzi, I. O. Soares, A. B. M. Ribeiro & G. L. D. Vilela. (2016). Morphoagronomic and productive traits of RR[®] soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. *African Journal of Microbiology Research*,10, 438-444.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Leandro Meert – 40%

Marcelo Marques Lopes Müller – 15%

Aline Marques Genú 10%

Jhone de Souza Espíndola 15%

Gabriela Neves Aragão 05%

Alex Sandro Torre Figueiredo 15%