

## CO-INOCULAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO E NODULAÇÃO DE PLÂNTULAS DE SOJA SUBMETIDAS À CALAGEM, FERTILIZAÇÃO NITROGENADA E APLICAÇÃO DE MICRONUTRIENTES

LIBÓRIO, Paloma Helena da Silva<sup>1</sup>  
BÁRBARO, Ivana Marino<sup>2</sup>  
NOBILE, Fábio Olivieri de<sup>3</sup>

Recebido em: 2015.06.15

Aprovado em: 2015.11.12

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.1504

**RESUMO:** Com o objetivo de avaliar a co-inoculação de soja, ou seja, inoculação mista com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*, em detrimento da inoculação tradicional com *Bradyrhizobium* foram instalados dois experimentos em outubro de 2014, em casa de vegetação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com oito tratamentos e oito repetições sob rodízio diário dos vasos. Os tratamentos envolveram diferentes combinações quanto a formulações comerciais de adubo, com ou sem aplicação de inoculante (s) e micronutrientes cobalto e molibdênio (Co-Mo) nas sementes, sendo: 0-20-20; 4-20-20; 0-20-20 + inoculante (s); 4-20-20 + inoculante (s); 0-20-20 + inoculante (s) + Co-Mo; 4-20-20 + inoculante (s) + Co-Mo e 0-20-20 + Co-Mo e 4-20-20 + Co-Mo. As avaliações constituíram-se na % de plântulas normais, número e massa seca de nódulos/planta, massa seca da parte aérea e raiz/planta. Na calagem realizada com apenas 30 dias de antecedência da semeadura, o calcário não teve tempo suficiente de reagir com o solo, que mostrou deficiência em cálcio, além de toxicidade de alumínio e manganês, reduzindo a % de plântulas normais nos vasos, cujo lote de sementes já se encontrava com baixa qualidade fisiológica determinada nos testes de germinação e emergência. Apesar disso, a prática de co-inoculação combinada ao uso de formulação (0-20-20) e sem Co-Mo nas sementes destacou-se em relação aos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** *Glycine max.* Calagem. Adubação nitrogenada. Bactérias promotoras de crescimento. Micronutrientes.

## CO-INOCULATION ON VEGETATIVE GROWTH AND SOYBEAN SEEDLINGS NODULATION SUBJECTED TO LIMING, NITROGEN FERTILIZATION AND APPLICATION OF MICRONUTRIENTS

**SUMMARY:** In order to evaluate the co-inoculation of soybeans, or mixed inoculation with bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and *Azospirillum brasilense*, at the expense of traditional inoculation with *Bradyrhizobium*, two experiments were installed in October 2014, in a greenhouse. The experimental design was completely randomized with eight treatments and eight replications in pots rotation system. Treatments involving different combinations as commercial fertilizer formulations, with or without inoculant application (s) and micronutrients cobalt and molybdenum (Co-Mo) in the seeds, being: 0-20-20; 4-20-20; 0-20-20 + inoculant (s); 4-20-20 + inoculant (s); 0-20-20 + inoculant (s) + Co-Mo; 4-20-20 + inoculant (s) + Co-Mo; 0-20-20 + Co-Mo and 4-20-20 + Co-Mo. Evaluations constituted the % of normal seedlings, number and dry weight of nodules / plant, dry weight of shoot and root / plant. In liming performed with only 30 days before sowing, limestone has not had sufficient time to react with soil, which showed deficiency in calcium, in addition to aluminum and manganese toxicity, reducing the % normal seedlings in the pots, which batch seed was already low in certain physiological quality of germination and emergence tests. Nevertheless, the practice of co-inoculation combined with the formulation (0-20-20) and without Co-Mo in the seeds stood out in relation to the evaluated parameters.

**Keywords:** *Glycine max.* Liming. Nitrogen fertilization. Growth promoting bacteria. Micronutrients.

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia Agrônômica - UNIFEB

<sup>2</sup> Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA. Secretaria da Agricultura e Abastecimento

<sup>3</sup> Departamento de Agronomia – Fertilidade do Solo e Adubos e Adubação - UNIFEB

## INTRODUÇÃO

A soja *Glycine max* (L.) Merrill é a oleaginosa de maior importância econômica no mundo. O Brasil se destaca como o segundo maior produtor e primeiro em exportação. De acordo com o oitavo levantamento de grãos da Companhia Nacional de Abastecimento Agrícola – CONAB, o desempenho da cultura nas diversas regiões produtoras do país aponta para uma expectativa de produção na safra 2014/15 de 95.070,2 mil toneladas, representando um incremento de 10,4% em relação ao produzido na safra anterior (CONAB, 2015). Por meio da fixação biológica do nitrogênio (FBN), o país economiza anualmente cerca de R\$ 14 bilhões que seriam gastos na compra de fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA et al., 2013a). Sendo assim, pode-se afirmar que a competitividade econômica da soja brasileira no mercado mundial se deve em grande parte aos benefícios proporcionados pela FBN (GELAIN et al., 2011).

Em diversos estudos fica evidente que além de desnecessária a adubação nitrogenada para a cultura da soja pode ser prejudicial ao processo de FBN (DIEHL E JUNQUETTI, 2006). Desta forma, não se recomenda a adubação nitrogenada para a cultura, ou quando realizadas não devem exceder o limite usualmente recomendado de 20 kg. ha<sup>-1</sup> (EMPRAPA, 2014a). Em condições de campo, a formação de nódulos em plantas inoculadas, pode ser visualizada a partir da emergência (VE), entretanto somente nos estádios de desenvolvimento V2 e V3 é que a fixação de nitrogênio torna-se mais ativa (POTAFOS, 2006).

Destaca-se também, a atenção especial que deve ser conferida aos micronutrientes Cobalto (Co) e Molibdênio (Mo), que participam diretamente no processo de FBN (TAIZ ; ZEIGER, 2004; BROCH; RANNO, 2005). Contudo, muitos problemas têm sido detectados com a aplicação direta nas sementes de produtos contendo esses micronutrientes, devido a formulações salinas, ou com pH baixo, afetando drasticamente a sobrevivência da bactéria, a nodulação e a eficiência do processo de FBN (BÁRBARO et al., 2009a; EMBRAPA, 2014a).

Hungria et al. (2013b) relataram alguns fatores que podem reduzir os benefícios da FBN, tais como: mudanças climáticas globais atuantes, representadas por crescentes períodos de seca e de altas temperaturas, além da incompatibilidade da inoculação com agrotóxicos aplicados diretamente nas sementes, trabalhos estes já bastante respaldados pela literatura.

Os inoculantes consistem em produtos que fornecem à cultura no caso específico da soja, bactérias que se associam simbioticamente com as plantas, formando os nódulos radiculares, onde ocorre a FBN. Historicamente, os inoculantes mais utilizados eram os do tipo turfoso constituídos pela combinação de duas das quatro estirpes: *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (29w) e, *B. japonicum* SEMIA 5079 (CPAC-15) e SEMIA 5080 (CPAC-7) (ZILLI et al., 2006; SANTANA et al., 2011). Na última década foram lançados inoculantes líquidos, e os mesmos, têm sido utilizados também em aplicações via sulco de semeadura, como forma de evitar seu contato com outros produtos aplicados via sementes, que podem reduzir a eficiência da inoculação padrão (SANTANA et al., 2011; ZILLI et al., 2008).

Deste modo, produtos à base de *Azospirillum brasilense* tem sido preconizados para co-inoculação de soja, juntamente com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tanto na Argentina quanto na África do Sul (REIS, 2007) e mais recentemente no Brasil (BÁRBARO et al., 2008; BÁRBARO et al., 2009b; BÁRBARO et al., 2011; HUNGRIA et al. 2013b; EMBRAPA, 2014b), visando atender as demandas atuais numa abordagem que visa a sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental, e também contribuir com as principais limitações atuais da FBN com a soja. O gênero *Azospirillum* está incluído

dentro do grupo de bactérias denominadas “Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal” (BPCP).

Objetivou-se avaliar os efeitos da co-inoculação em detrimento da inoculação tradicional no desenvolvimento vegetativo e formação de nódulos em plântulas de soja, associadas a adubação mineral nitrogenada e micronutrientes nas sementes.

## MATERIAL E MÉTODO

Os experimentos de inoculação padrão ou tradicional e co-inoculação, foram conduzidos em vasos mantidos em condições de casa de vegetação no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, Barretos, SP, no período de agosto de 2014 a fevereiro de 2015.

Utilizou-se a cultivar AS 3810 IPRO por se destacar e apresentar as seguintes características diferenciais como: superprecocidade, elevado potencial produtivo, além da possibilidade de utilização em safrinha de milho e de sorgo (AGROESTE, 2015) bem como, em áreas de renovação de canaviais da região de Barretos, SP.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado representado por 8 tratamentos, 8 repetições, totalizando 64 vasos por experimento, sendo realizado diariamente o rodízio dos vasos. Cada vaso correspondeu a uma parcela experimental composta pela semeadura de 15 sementes. Os tratamentos foram semelhantes para ambos os experimentos e envolveram diferentes combinações quanto a formulações comerciais de adubo, com ou sem aplicação de inoculante (s) e micronutrientes cobalto e molibdênio (Co-Mo) nas sementes, sendo: 0-20-20; 4-20-20; 0-20-20 + inoculante (s); 4-20-20 + inoculante (s); 0-20-20 + inoculante (s) + Co-Mo; 4-20-20 + inoculante (s) + Co-Mo; 0-20-20 + Co-Mo e 4-20-20 + Co-Mo.

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho distrófico, cuja análise química caracterizou um pH em  $\text{CaCl}_2 = 4,0$ ; M.O. =  $12 \text{ g dm}^{-3}$ ; P =  $3 \text{ mg dm}^{-3}$ ; K =  $1,9 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Ca =  $4,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Mg =  $1,7 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; H + Al =  $48,58 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; SB =  $7,6 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; CTC =  $56,2 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$  e V = 14%. Desta forma, procedeu-se a calagem com 30 dias de antecedência da semeadura, onde foram aplicados  $3,4 \text{ t ha}^{-1}$  de calcário dolomítico (MgO 18%, PRNT = 110%), e em relação a adubação de semeadura testou-se as formulações comerciais de adubo já supracitadas, na dose de  $500 \text{ kg ha}^{-1}$ .

Para o experimento de inoculação tradicional utilizou-se inoculante comercial líquido, contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*: estirpes SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) e SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*). Já, para a co-inoculação foram utilizados os inoculantes contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, anteriormente descrito e outro também do tipo líquido contendo a bactéria *Azospirillum brasilense*: estirpes AbV5 e AbV6 nas doses recomendadas pelos fabricantes. Ressalta-se que para a co-inoculação foi utilizada apenas metade da dose de cada um dos inoculantes. A aplicação do produto contendo 1,5% de Co e 15% de Mo foi realizada via sementes na dose de  $100 \text{ mL ha}^{-1}$ . As sementes não receberam previamente o tratamento de sementes com mistura pronta de inseticida/fungicidas, somente (Co-Mo) em alguns tratamentos, sendo os inoculantes aplicados por último nas sementes, aproximadamente uma hora antes da semeadura. Os procedimentos referentes ao controle de insetos e doenças das plântulas cultivadas nos vasos foram efetuados conforme necessidade e seguiram as recomendações técnicas para a cultura da soja da Embrapa (2014a).

As variáveis analisadas foram: porcentagem de plântulas normais avaliadas aos 7, 10, 15, 30 e 35 dias após a semeadura (DAS), considerando-se para cálculo da porcentagem que a semeadura de 15 sementes/vaso originariam 100% de plântulas normais; número (número/planta) e massa seca ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de nódulos por planta, sendo sua massa determinada através da secagem em estufa com ventilação forçada

a 65°C por 48 horas, até atingir massa constante; além de massa seca (g planta<sup>-1</sup>) de raiz e parte aérea, sendo suas massas determinadas através da secagem em estufa com ventilação forçada a 65°C por 72 horas, até atingir massa constante.

Para um melhor embasamento dos resultados obtidos avaliou-se também a qualidade fisiológica das sementes da cultivar utilizada nos experimentos. Para isso, foram realizados os testes de germinação e emergência, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Vale ressaltar, que as sementes utilizadas nesses testes não receberam nenhum tipo de tratamento.

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente por meio do programa estatístico ASSISTAT (SILVA, 2009). A comparação entre as médias foi realizada por meio do Teste de Tukey, com nível de significância de 0,05.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Verificou-se que na média geral dos experimentos (Tabelas 1 e 2) ocorreu baixa porcentagem de plântulas normais. Para o experimento de inoculação tradicional nas sementes as médias foram 24,69 %, 35,31 %, 33,95 %, 21,56 % e 21,35 %, e para o experimento de co-inoculação foram de 28,65 %, 34,06 %, 27,61 %, 16,04 % e 12,80 %, respectivamente, aos 7, 10, 15, 30 e 35 dias após a semeadura (DAS).

**Tabela 1.** Porcentagem de plântulas normais de soja, respectivamente aos 7, 10, 15, 30 e 35 dias após semeadura em relação aos diferentes tratamentos testados envolvendo formulações comerciais de adubo (N-P-K), inoculação tradicional com *Bradyrhizobium* e aplicação de Co-Mo na semente. UNIFEB, Barretos. 2014/15.

Tratamentos	Avaliações em dias após a semeadura (DAS)				
	7 DAS	10 DAS	15 DAS	30 DAS	35 DAS
0-20-20	19,17 a	28,33 ab	35,83 ab	25,83 abc	25,00 abc
4-20-20	25,00 a	37,50 ab	34,17 ab	11,67 bc	11,68 c
0-20-20 + inoculante	25,00 a	27,50 ab	26,67 b	23,34 abc	23,34 abc
4-20-20 + inoculante	19,17 a	21,66 b	20,00 b	3,33 c	3,33c
0-20-20 + inoculante +Co-Mo	25,83 a	39,16 ab	43,33 ab	36,67 ab	36,68 ab
4-20-20 + inoculante +Co-Mo	22,50 a	35,00 ab	32,50 ab	10,83 c	10,83 c
0-20-20 + Co-Mo	29,16 a	50,83 a	55,00 a	46,67 a	45,83 a
4-20-20 + Co-Mo	31,67 a	42,50 ab	24,17 b	14,17 bc	14,17 bc
F tratamentos	0,67 33ns	2,6238*	3,4728**	3,9015**	6,5522**
CV (%)	61,55	46,10	50,12	86,96	74,01
Média geral	24,69%	35,31%	33,95%	21,56%	21,35%

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, \*\* e \* não significativo, significativo a 1% e a 5% pelo teste F, respectivamente.

**Tabela 2.** Porcentagem de plântulas normais de soja, respectivamente aos 7, 10, 15, 30 e 35 dias após semeadura em relação aos diferentes tratamentos testados envolvendo formulações comerciais de adubo (N-P-K), co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* e aplicação de Co-Mo na semente. UNIFEB, Barretos. 2014/15.

Tratamentos	Avaliações em dias após a semeadura (DAS)				
	7 DAS	10 DAS	15 DAS	30 DAS	35 DAS
0-20-20	30,00 a	34,17 a	29,17 ab	28,25 a	26,63 ab
4-20-20	25,75 a	35,00 a	21,68 ab	05,75 b	05,75 c
0-20-20 + inoculantes	36,75 a	43,33 a	38,33 a	36,63 a	32,50 a
4-20-20 + inoculantes	18,25 a	21,68 a	14,17 b	00,88 b	00,00 c
0-20-20 + inoculantes + Co-Mo	28,25 a	39,17 a	35,00 ab	26,75 a	23,38 ab
4-20-20 + inoculantes + Co-Mo	29,13 a	29,16 a	15,83 ab	02,50 b	00,88 c
0-20-20 + Co-Mo	34,25 a	31,67 a	30,00 ab	22,50 a	13,25 bc
4-20-20 + Co-Mo	26,63 a	38,34 a	36,67 ab	05,13 b	00,00 c
F tratamentos	1,2366ns	1,3255ns	3,1934**	14,4368**	20,5565**
CV (%)	49,24	48,34	53,72	65,88	50,29
Média geral %	28,65	34,06	27,61	16,04	12,80

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, \*\* e \* não significativo, significativo a 1% e a 5% pelo teste F, respectivamente.

No teste de germinação das sementes obteve-se média de 77,5% de plântulas normais aos 8 DAS, valor este muito superior quando comparado aos valores médios encontrados de 30% e 31,36%, respectivamente, para os experimentos de inoculação tradicional e co-inoculação considerando a média das avaliações com datas mais próximas de 7 e 10 DAS. Já, no teste de emergência das plântulas em areia valores de 9,0% foram observados, sendo por outro lado, numericamente muito inferiores quando comparados com as médias encontradas nos experimentos em vasos.

Ressalta-se também que o lote das sementes de uso comum nos experimentos não tinha sido previamente tratado com mistura pronta de inseticida/fungicidas. Libório et al. (2015) avaliaram o efeito de mistura pronta de inseticida/fungicidas via tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de cultivares de soja e verificaram a importância desse procedimento de tratamento na germinação das sementes e no desenvolvimento inicial da soja. Assim, pode-se inferir que a baixa % plântulas normais avaliadas em vasos nos primeiros dias após a semeadura (7 e 10 DAS), ocorreu em parte devido à baixa qualidade fisiológica (vigor) do lote das sementes da cultivar AS 3810 IPRO utilizada. Quando se dispõe de sementes de boa qualidade fisiológica e de boa sanidade e for possível realizar a semeadura em condições ideais de umidade do solo para a rápida germinação, pode-se dispensar a utilização de fungicida no tratamento de sementes no intuito de favorecer a sobrevivência das bactérias do inoculante. De tal modo, utilizando-se de sementes de boa qualidade e a semeadura realizada em condições ideais a

probabilidade de ganho decorrente da maior sobrevivência das bactérias do inoculante sobrepõe as possíveis consequências da ausência do fungicida na semente (BROCH; RANNO, 2011).

Outro fator que contribuiu na média geral para a baixa % de plântulas normais nos experimentos pode estar associado ao solo ácido utilizado para preenchimento dos vasos, cuja calagem foi feita com antecedência de apenas 30 dias da data de semeadura. A literatura recomenda a aplicação do calcário com antecedência mínima de 60 dias da semeadura. O ideal seria aplicar o calcário no mínimo seis meses antes do plantio (BROCH; RANNO, 2011). Segundo os mesmos autores, uma dica importante é que quanto maior for a acidez do solo maior tem que ser o intervalo entre a aplicação do calcário e o plantio da cultura. Deste modo, os resultados obtidos mostram que ocorreu deficiência de cálcio, mesmo com a aplicação do calcário, que não teve tempo suficiente de reagir no solo.

Potafós (2015) descrevem a deficiência de cálcio caracterizada pela redução de crescimento do tecido meristemático no caule, na folha e na ponta da raiz. A deficiência normalmente aparece primeiramente nas folhas novas e nos pontos de crescimento (meristema apical), provavelmente como consequência da imobilidade do cálcio na planta. A emergência das folhas primárias da soja deficiente em cálcio é retardada e quando as folhas emergem, elas já crescem deformadas (folhas encarquilhadas). Os botões terminais das folhas primárias tornam-se necróticos, faixas cloróticas estreitas desenvolvem-se em volta das porções das folhas remanescentes e o tecido entre as nervuras tende a enrugar. Os botões terminais deterioram e ocorre o colapso dos pecíolos. As folhas primárias tornam-se moles e flexíveis e caem da planta. A deficiência de cálcio é observada em soja cultivada em solos ácidos, condição semelhante à ocorrida no presente trabalho (solo utilizado com pH= 4,0) que não receberam calcário ou que o mesmo não teve tempo de reagir no solo, e estes sintomas, com certeza, resultam de uma combinação da deficiência de cálcio com toxicidade de alumínio e manganês.

Diferenças estatísticas significativas, respectivamente ao nível de 5% e 1% foram notadas somente nas avaliações realizadas no décimo DAS para a inoculação tradicional e décimo quinto DAS para a co-inoculação (Tabelas 1 e 2).

Em relação ao experimento de inoculação tradicional, nota-se na Tabela 1, que aos 10 DAS, o tratamento que se destacou com maior porcentagem de plântulas normais foi o 0-20-20 + Co-Mo, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos testados com exceção do 4-20-20 + inoculante que apresentou resultado inferior. Nas demais avaliações realizadas aos 15, 30 e 35 DAS, nota-se que os resultados seguiram a mesma tendência, ou seja, o tratamento 0-20-20 + Co-Mo foi o melhor em termos de médias de porcentagem de plântulas normais de soja.

Por outro lado, para o experimento de co-inoculação (Tabela 2), aos 15 DAS, nota-se que o destaque foi o tratamento que utilizou 0-20-20 + inoculantes, que não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos testados, exceto do 4-20-20 + inoculantes, que apresentou um desempenho inferior. Entretanto, aos 30 e 35 DAS nota-se a divisão dos tratamentos em dois grupos, ou seja, um representado pelos tratamentos que receberam a formulação comercial de adubo (N-P-K) sem nitrogênio 0-20-20 com melhores resultados de porcentagem de plântulas normais e o outro grupo que receberam 4-20-20 de formulação comercial, com nitrogênio, mostraram resultados inferiores estatisticamente.

Nas condições do presente trabalho, deve-se proceder a utilização de formulações comerciais de adubo (N-P-K) não contendo nitrogênio em soja mesmo que as que apresentem sejam mais econômicas e tragam menos de 20 kg ha<sup>-1</sup>, em casos onde a cultura é instalada sob solos ácidos com deficiência em cálcio por calagem indevida e/ou na sua ausência combinada a toxicidade de alumínio e manganês. Em diversos estudos fica evidente que além de desnecessária a adubação nitrogenada para a cultura da soja pode ser até prejudicial ao processo de FBN (DIEHL; JUNQUETTI, 2006).

Os coeficientes de variação (CV%) para os parâmetros NNOD, MNOD, MFOL e MRAIZ foram considerados bastante elevados concordando com Bohrer ; Hungria (1998), Hungria ; Bohrer, (2000) e Nicolás et al. (2002) que verificaram valores de CV% superiores a 30% principalmente para os parâmetros de nodulação (Tabela 3 e 4).

Quando se analisa os parâmetros número e massa seca de nódulos ( $\text{g planta}^{-1}$ ) no experimento de inoculação tradicional, nota-se que os resultados foram superiores para os tratamentos envolvendo 0-20-20 + inoculante + Co-Mo e 0-20-20 + inoculante. Fato já esperado, corroborando com inúmeros trabalhos de pesquisa, confirma-se a informação de que a inoculação padrão com *Bradyrhizobium* com ou sem aplicação de Co-Mo via sementes na ausência de formulação de adubo contendo nitrogênio (0-20-20) é a forma mais eficiente para nodulação em soja. Quanto ao parâmetro massa seca da parte aérea não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos testados. Entretanto, para massa da raiz, considerando o mesmo experimento, resultados superiores foram encontrados no tratamento com 0-20-20 + Co-Mo (Tabela 3).

**Tabela 3-** Avaliação da nodulação (número e massa seca nodular) e da produção da matéria seca da parte aérea e raiz de soja (*Glycine max*) cultivar AS 3810 IPRO em relação aos diferentes tratamentos no experimento envolvendo formulações comerciais de adubo (N-P-K), inoculação com *Bradyrhizobium* e aplicação de Co-Mo via sementes. UNIFEB, Barretos. 2014/2015.

Tratamentos	Variáveis			
	NNOD	MSNOD	MSFOL	MSR
	$\text{g planta}^{-1}$	$\text{g planta}^{-1}$	$\text{g planta}^{-1}$	$\text{g planta}^{-1}$
0-20-20	0,041 b	0,067 ab	1,353 a	0,433 ab
0-20-20 + inoculante	2,456 a	0,073 a	1,808 a	0,440 ab
0-20-20 + inoculante + Co-Mo	1,936 a	0,070 a	1,738 a	0,553 ab
0-20-20 + Co-Mo	0,088 b	0,008 b	1,878 a	0,664 a
4-20-20	0,000 b	0,000 b	2,199 a	0,346 ab
4-20-20 + inoculante	0,000 b	0,000 b	0,941 a	0,216 b
4-20-20 + inoculante + Co-Mo	0,063 b	0,000 b	1,545 a	0,445 ab
T8- 4-20-20 + Co-Mo	0,000 b	0,000 b	1,430 a	0,268 b
F	8,7773 **	6,0044 **	0,9078 ns	2,7820 *
CV (%)	154,18	162,24	70,45	58,71

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ns, \*\*, \* = respectivamente, não significativo e significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade. NNOD = número de nódulos/planta, MSNOD = massa seca nodular; MSFOL = massa seca da parte aérea; MSR = massa seca da raiz.

Por outro lado, quanto aos efeitos da co-inoculação, em relação aos parâmetros avaliados: número de nódulos e massas secas de nódulos, parte aérea e radicular (Tabela 4), observou-se que o melhor tratamento foi o 0-20-20 + inoculantes. O segundo melhor tratamento testado foi com 0-20-20 +

inoculantes + Co-Mo, ou seja, apenas se diferenciando do anterior quanto a aplicação de Co-Mo nas sementes.

**Tabela 4-** Avaliação da nodulação (número e massa seca nodular) e da produção da matéria seca da parte aérea e raiz de soja (*Glycine max*) cultivar AS 3810 IPRO em relação aos diferentes tratamentos testados no experimento envolvendo formulações comerciais de adubo (N-P-K), co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* e aplicação de Co-Mo via sementes. UNIFEB, Barretos. 2014/2015.

Tratamentos	Variáveis			
	NNOD	MSNOD	MSFOL	MSR
	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>
0-20-20	0,000 c	0,000 b	1,233 b	0,231 b
0-20-20 + inoculantes	2,758 a	0,066 a	2,070 a	0,464 a
0-20-20 + inoculantes + Co-Mo	1,470 b	0,049 a	1,778 a	0,325 ab
0-20-20 + Co-Mo	0,000 c	0,000 b	0,820 b	0,191 bc
4-20-20	0,000 c	0,000 b	0,289 c	0,046 cd
4-20-20 + inoculantes	0,000 c	0,000 b	0,038 c	0,006 d
4-20-20 + inoculantes + Co-Mo	0,000 c	0,000 b	0,200 c	0,019 cd
T8- 4-20-20 + Co-Mo	0,000 c	0,000 b	0,000 c	0,000 d
F	16,8457 **	29,0200 **	47,4068 **	19,5018 **
CV (%)	135,26	98,71	41,46	68,89

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade; \*\* significativo ao nível de 1% probabilidade. NNOD = número de nódulos/planta; MSNOD = massa seca nodular; MSFOL = massa seca da parte aérea; MSR = massa seca da raiz.

Burdmann et al. (2000), verificaram que a estimulação da nodulação posterior pela inoculação de leguminosas com *A. brasilense* pode estar relacionada com o incremento na indução da produção de genes Nod, responsáveis pelo acréscimo de raízes laterais, da densidade de pêlos radiculares e das ramificações dos seus pêlos.

Em condições laboratoriais, Molla et al. (2001) analisaram o potencial de melhoria de crescimento das raízes e nodulação em soja co-inoculada com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, sendo verificado que *Azospirillum* tem potencial para estimular significativamente o crescimento radicular até mesmo em plantas com raízes cortadas, o que implica em influência positiva sobre o crescimento e desenvolvimento radicular. Ainda, esses mesmos autores concluíram que *Azospirillum* não apenas influencia o crescimento radicular, mas também pode melhorar a iniciação e o desenvolvimento de nódulos em plantas de soja por co-inoculação com *Bradyrhizobium*.

Benintende et al. (2010) notaram que a co-inoculação na condição de déficit hídrico aumentou de forma significativa o peso dos nódulos em relação a inoculação com apenas *B. japonicum*, porém na

condição sem déficit hídrico não houve diferenças estatísticas significativas.

Cassán et al. (2009) relataram que o número de nódulos e a porcentagem de plantas noduladas foram superiores em plantas de soja co-inoculadas com *B. japonicum* e *A. brasilense*, e afirmaram que pode ser devido a excreção de produtos metabólicos por *A. brasilense*. Esses autores verificaram que *A. brasilense* produz compostos reguladores de crescimento de raiz (AIA).

Bulegon et al. (2014) com o propósito de avaliarem o desempenho de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, de forma isolada e co-inoculada na germinação e desenvolvimento inicial de diferentes cultivares de soja cultivadas na região oeste do Paraná, concluíram em seus estudos em condições laboratoriais que a co-inoculação não se mostrou eficiente frente à inoculação isolada das respectivas bactérias, em relação as cultivares testadas.

Os resultados obtidos com a co-inoculação podem, no entanto, mostrar respostas contraditórias, ou seja, tanto estimular como inibir a formação de nódulos e o crescimento radicular em um sistema simbiótico, variando em função do nível de concentração do inóculo e do tipo e forma de inoculação (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2009b).

## CONCLUSÃO

A calagem em solos ácidos com apenas 30 dias de antecedência da semeadura de cultivares com baixa qualidade fisiológica das sementes é prejudicial para o desenvolvimento vegetativo e nodulação de soja.

A co-inoculação nessas condições, combinada ao uso de formulação comercial de adubo sem nitrogênio mineral e sem aplicação de micronutrientes nas sementes destacou-se em relação aos parâmetros avaliados em soja.

Épocas de aplicação dos micronutrientes (Co-Mo) devem ser estudadas visando melhoria do desenvolvimento vegetativo e nodulação de plântulas de soja co-inoculadas.

## REFERÊNCIAS

AGROESTE. AS 3810 IPRO. INTACTA RR2 PRO™, 2015. Disponível em: <[http://www.agroeste.com.br/intactarr2pro/variedades\\_mostra.php?tipo=as\\_3810](http://www.agroeste.com.br/intactarr2pro/variedades_mostra.php?tipo=as_3810)> Acesso em: 13 mar. 2015.

BÁRBARO, I.M.et al. Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Pesquisa ; Tecnologia**, Campinas, v.8, n. 2, jul-dez de 2011. ISSN: 2316-5146.

BÁRBARO, I.M.et al. Análise de cultivares de soja em resposta à inoculação e aplicação de cobalto e molibdênio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n.3, p. 342-349, 2009 a.

BÁRBARO, I.M.et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 5, n.1, Jan-Jun. 2009 b, p. 01-07.

BÁRBARO, I.M.et al. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**. 2008. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_4/coinoculacao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm)>. Acesso em: 1 abr. 2015.

BENINTENDE, S. et al. 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**, Córdoba, v.37, p.71-77, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009.

BOHRER, T. R. J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, p. 937-952, 1998.

BROCH, D.L.; RANNO, S.K. **Tecnologia e produção**: soja e milho fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja. p.39. 2011/2012. Disponível em: <[http://www.fundacaoms.org.br/base/www/fundacaoms.org.br/media/attachments/15/15/5385dbdd42bd6c653952352ab872eed8dd643a607266e\\_02-fertilidade-do-solo-adubacao-e-nutricao-da-cultura-de-soja\\_543353833.pdf](http://www.fundacaoms.org.br/base/www/fundacaoms.org.br/media/attachments/15/15/5385dbdd42bd6c653952352ab872eed8dd643a607266e_02-fertilidade-do-solo-adubacao-e-nutricao-da-cultura-de-soja_543353833.pdf)>. Acesso em: 27 maio 2015.

BULEGON, L.G. et al. Desenvolvimento inicial de plântulas de soja inoculadas e co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n.1, p.26-37, 2014.

BURDMANN, S.; HAMAOU, B. Y OKON, Y. Improvement of legume crop yields by co-inoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*. The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. **The Hebrew University of Jerusalem**, Israel, 2000.

CASSÁN, F. et al. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combinati promote seed germination and early seedling gron corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of soil biology**, Braunschweig, v. 45, n. 5, p. 28–35, 2009.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Oitavo Levantamento da Safra de Grãos 2014/2015**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_05\\_13\\_08\\_46\\_55\\_boletim\\_graos\\_mai\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_13_08_46_55_boletim_graos_mai_2015.pdf)> Acesso em: 21 maio 2015.

DIEHL, S. R. L.; JUNQUETTI, M.T.G. **Soja**. Disponível em: <<http://www.agrobyte.com.br/soja.htm>>. Acesso em: 01 maio 2014.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil**. – Londrina: Embrapa Soja, 2013. Sistemas de Produção / Embrapa Soja, ISSN 2176-2902; n.16. 265p. 2014a

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia de coinoculação combina alto rendimento com sustentabilidade na produção de soja e do feijoeiro**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1580416/tecnologia-de-coinoculacao-combina-alto-rendimento-com-sustentabilidade-na-producao-de-soja-e-do-feijoeiro>>. Acesso em 12 de outubro de 2014b.

FERLINI, H.A. Co-inoculación en soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Santa Fé, **Engormix** [online], 2006. 6p.

GELAIN, E. et al. Fixação biológica de nitrogênio e teores foliares de nutrientes na soja em função de doses de molibdênio e gesso agrícola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. 2011, v.35, n.2, pp. 259-269. ISSN 1413-7054. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000200005>>. Acesso em: 13 mar.2015.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T.R.J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.31, p.45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C.; MERCANTE, F.M. **A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2013a. 24p. (Documentos Embrapa/Soja, ISSN 1516-781, n.337).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability.2013 (online). **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, v. 49 p.791-801, 2013b. DOI: 10.1007/s00374-012-0771-5

LIBÓRIO, P. H. da S.; BÁRBARO-TORNELI, I. M; NÓBILE, F.O. Efeito de mistura pronta de inseticida/fungicidas via tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de cultivares de soja. In: **Anais... SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE BARRETOS**, 8. Barretos, SP. v.8. p. 24-24. 2015.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; SAUD, H. M. Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense*. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 32, p. 2177–2187, 2001. DOI: 10.1081/CSS-120000276

NICOLÁS, M. F; AREIAS, C.A.A.; HUNGRIA, M. Genetics of nodulation and nitrogen fixation in Brazilian soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, Berlim, v.36, p.109-117, 2002.

POTAFOS. **Como a planta de soja se desenvolve**. Disponível em: <[http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/\\$FILE/Desenvolve.pdf](http://www.potafos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/$FILE/Desenvolve.pdf)> p. 1-23. Acesso em: 02/05/2014.

POTAFOS. Seja o doutor da sua soja. **Informações Agronômicas**. n. 66, jun. 94 1. Disponível em: <[http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/1A183CA9FE55F39883257AA0003B5C23/\\$FILE/Seja%20Soja.pdf](http://brasil.ipni.net/ipniweb/region/brasil.nsf/0/1A183CA9FE55F39883257AA0003B5C23/$FILE/Seja%20Soja.pdf)>\_Acesso em: 23 jan. 2015.

REIS, V.M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22p.

SANTANA, M.J.et al. Aplicação de cobalto, molibdênio e inoculante na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 04, n. 02, p.01 – 08, 2011.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assisat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7,**Anais...** Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3 ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 792 p. 2004.

ZILLI, J.E.et al. **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Roraima. 9p. 2006. (Comunicado Técnico, 20).

ZILLI, J.E.et al. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 541-544, 2008.

