

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS RELACIONADOS A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM SOJA cv. TMG 2165 IPRO PRÉ-COINOCULADA EM DIFERENTES MOMENTOS ANTES DA SEMEADURA

FRANÇA, Matheus Queiroz de Souza¹; BÁRBARO-TORNELLI, Ivana Marino²;
FINOTO, Everton Luis³; GONÇALVES, Elaine Cristine Piffer²;
SILVA, José Antônio Alberto da⁴; MIGUEL, Fernando Bergantini⁴

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.4127

RESUMO: Objetivou-se avaliar parâmetros de fixação biológica de nitrogênio em soja submetida a diferentes tratamentos sendo: T1 - controle sem uso de inoculante comercial, T2 - fertilização química nitrogenada, T3 - inoculante comercial a base de *Bradyrhizobium* aplicado nas sementes no dia da semeadura, uso de inoculante comercial contendo as bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* aplicado a 0, 7 e 15 dias antes da semeadura (DAS), respectivamente tratamentos T4, T5 e T6. Em R2 foram avaliados os parâmetros: número de nódulos e de massa seca na raiz principal, nas raízes secundárias e total, massa seca radicular, da parte aérea e total e teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA). Em R8, mensurou-se o teor de nitrogênio acumulado nos grãos (NTG). Pelos resultados obtidos nota-se que para os parâmetros de nodulação (número e massa seca nodular), os tratamentos que se destacaram estiveram relacionados à coinoculação (T4, T5 e T6) sem diferenças estatísticas quanto ao período de aplicação do inoculante. Em relação ao TNPA verificou-se maior incremento nos tratamentos T4 e T2 que não se diferenciaram entre si e apresentaram valores médios de respectivamente 33,84 e 33,23 kg ha⁻¹. Para NTG, T4 destacou-se com 58,43 kg ha⁻¹, apesar de ter tido semelhança estatística aos tratamentos que utilizaram do mesmo inoculante aplicado aos 7 (T5) e 15 (T6) DAS, bem como, T2 e T3. Pode-se concluir que os parâmetros relacionados à fixação biológica de nitrogênio não sofreram influência negativa em razão da aplicação da coinoculação antecipada em até 15 dias antes da semeadura da soja.

Palavras-chave: Inoculação mista. *Glycine max*. Antecipação do tratamento de sementes.

EVALUATION OF PARAMETER RELATED TO BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION IN SOYBEAN cv. TMG 2165 IPRO PRE-COINOCULATED AT DIFFERENT TIMES BEFORE SEEDING

SUMMARY: The objective was to evaluate parameters of biological nitrogen fixation in soybean subjected to different treatments: T1 - control without the use of commercial inoculant; T2 - chemical nitrogen fertilization; T3 - commercial inoculant based *Bradyrhizobium* applied to the seeds on the sowing day; use of commercial inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* bacteria applied at 0, 7 and 15 days before sowing (DBS), treatments T4, T5 e T6, respectively. In R2, the following parameters were evaluated: number of nodules and dry mass in the main root, secondary roots and total; shoot and total dry mass and nitrogen content in the shoot (NCS). In R8, the accumulated nitrogen content in the grains (NCG) was measured. From the results obtained, it can be noted that for the nodulation parameters (nodular number and dry mass) the treatments that stood out were related to co-inoculation (T4, T5 e T6) without statistical difference regarding the period of application of the inoculant. With regard to NCS, there was a greater increase in treatments T4 and T2, which did not differ from each other and presented mean values of 33.84 and 33.23 kg ha⁻¹, respectively. For NCG, T4 stood out with 58.43 kg ha⁻¹, despite having statistical similarity to treatments that used the same inoculant applied to 7 (T5) and (T6) DBS, as well as T2 and T3. It can be concluded that the parameters to biological nitrogen fixation did not suffer a negative influence due to the application of early co-inoculation up to 15 days before soybean sowing.

Keywords: Mixed inoculation. *Glycine max*. Anticipation of seed treatment.

¹ Estudante de Agronomia, Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, Barretos/SP;

² Pesquisadora Científica, Dra. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) Regional - Unidade de Pesquisa de Colina, Colina/SP;

³ Pesquisador Científico, Dr. - APTA Regional - Unidade de Pesquisa de Pindorama, Pindorama/SP;

⁴ Pesquisador Científico, Dr. - APTA Regional - Unidade de Pesquisa de Colina, Colina/SP.

INTRODUÇÃO

+Em soja, a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN) pelas bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* é muito modesta, quando comparada a do *Bradyrhizobium*; entretanto, a principal vantagem do *Azospirillum* consiste na síntese de fitormônios que promovem o crescimento vegetal, principalmente do sistema radicular, o que favorece a nodulação e a FBN realizada pelo *Bradyrhizobium*, além de trazer outros benefícios, como ampliação do sistema de raízes, o que aumenta o volume de solo explorado (Prando *et al.*, 2020).

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

Por outro lado, poucas pesquisas foram elucidadas com o propósito de se avaliar a associação da pré-inoculação e tratamento de sementes industriais (Anghinoni *et al.*, 2017; Machineski *et al.*, 2018), e escassas informações se sabe a respeito do período máximo de tempo antes de se semear que a semente poderia ser tratada sem comprometimento da viabilidade das bactérias contidas nos inoculantes, nodulação de plantas e rendimento da soja (Pereira *et al.*, 2010; Zilli *et al.*, 2010). Enquanto autores como Machineski *et al.* (2018) relatam que, se associado a um protetor, pode ser ampliado para 60 dias.

Bárbaro-Torneli *et al.* (2021) com o intuito de avaliar o desempenho de três cultivares de soja, quanto a caracteres fisiológicos e de FBN e caracteres agrônômicos quando submetidas a pré-coinoculação com três dias de antecedência a semeadura, comparando com a resposta a inoculação padrão realizada no dia da semeadura e controle sem adição de bactérias, observaram que em termos de produtividade de grãos e para a maioria das características e parâmetros avaliados, a coinoculação antecipada pode ser recomendada para uso com até três dias de antecedência à semeadura.

Objetivou-se avaliar parâmetros relacionados à fixação biológica de nitrogênio em soja por meio de diferentes tratamentos via sementes: aplicação de inoculante comercial com *Bradyrhizobium* no dia da semeadura e inoculante comercial contendo as bactérias: *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* no mesmo produto em 0, 7 e 15 dias anteriores a data de semeadura.

MATERIAL E MÉTODO

Local de condução dos experimentos

O experimento foi instalado em condições de campo, em 22 de novembro de 2022 na Unidade Regional de Pesquisa e Desenvolvimento, vinculado a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizada no município de Pindorama/SP. O relevo da região é ondulado com altitudes que variam de 498 a 594 m, cujas coordenadas geográficas são 21° 13' de latitude sul e 48° 55' de longitude oeste.

Devido à sua localização, Köeppen (1948) classificou o clima da região do município de Pindorama como um clima quente com inverno seco (Cwa) com temperaturas máximas e mínimas entre 37° e 10° C, tendo como época normal de chuva os meses de setembro a março, com uma precipitação média anual de 1255 mm.

Pindorama tem como solo predominante o Argissolo eutrófico, considerado profundo, com horizonte A arenoso e horizonte B textural com alta fertilidade e topografia plana.

Tratamentos e delineamento experimental

Os tratamentos testados nos dois experimentos estão descritos na Tabela 1.

A parcela experimental foi de 4 linhas de 15 m de comprimento, e como área útil foi considerada as duas linhas centrais de 15 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 0,5 m (15 m²). Desta forma, o delineamento experimental foi o de blocos ao acaso composto pelos seis tratamentos acima citados com 5 repetições, num total de 30 parcelas experimentais.

Tabela 1. Tratamentos e doses dos inoculantes utilizados no ensaio de avaliação de parâmetros de fixação biológica de nitrogênio de soja submetida a pré-coinoculação, via tratamento de semente, em diferentes momentos antes da semeadura. Ano Agrícola 2022/23. Unidade Regional de Pesquisa e Desenvolvimento de Pindorama/SP.

Tratamento	Descrição
T1	Controle (sem inoculante e sem adubação nitrogenada)
T2	Adubação nitrogenada (200 kg de N ha ⁻¹) ^(a) (sem inoculante)
T3	Inoculante comercial A ^(b) : a base de <i>Bradyrhizobium</i> (2 mL kg ⁻¹ de semente) - 0 DAS ^(c)
T4	Inoculante comercial B ^(d) : a base de <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> (4 mL kg ⁻¹ de semente) - 0 DAS
T5	Inoculante comercial B: (4 mL kg ⁻¹ de semente) - 7 DAS
T6	Inoculante comercial B: (4 mL kg ⁻¹ semente) - 15 DAS

^(a) no T2, foi realizada a aplicação de 50% da adubação nitrogenada no momento da semeadura e 50% na floração ou 35 dias após a emergência. ^(b) Masterfix L Soja[®]. ^(c) dias antes da semeadura. ^(d) Masterfix L Dual Force[®]; Tratamentos T3 a T6 aplicados via tratamento de sementes.

A descrição dos inoculantes utilizados no experimento segue abaixo:

A) Masterfix L Soja[®] (inoculante padrão): inoculante líquido para soja registrado e produzido pela Stoller do Brasil Ltda., tendo como garantia uma concentração mínima de 5×10^9 UFC mL⁻¹ de *Bradyrhizobium elkanii* (Cepa Semia 5019) e *Bradyrhizobium japonicum* (Cepa Semia 5079).

B) Masterfix L Dual Force[®]: inoculante líquido para a cultura da soja, registrado (Registro MAPA - N° SP 003718-4.000002) e produzido pela Stoller do Brasil Ltda., tendo como garantia a presença de duas espécies de bactérias, sendo elas: *Bradyrhizobium japonicum* (cepa Semia 5079), na concentração de 1×10^9 UFC mL⁻¹ e *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na concentração de 1×10^7 UFC mL⁻¹.

Condução do experimento

Antes da instalação foram coletadas amostras de solo da área experimental para posterior análise química e granulométrica, além da contagem de bactérias *Bradyrhizobium* e bactérias diazotróficas associativas do solo antes da semeadura. A contagem das bactérias foi realizada no Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP, câmpus de Jaboticabal/SP de acordo com as recomendações de Dobereiner *et al.* (1995).

Amostras de solo para caracterização química (van Raij *et al.*, 2001) e granulométrica (DAY, 1965) foram coletadas em outubro de 2022, na camada de 0-0,2 m de profundidade, e os resultados obtidos foram: pH (CaCl₂) = 5,59; M.O. = 15,62 g dm⁻³; CO = 9,08 g dm⁻³; P = 10,29 mg dm⁻³; K = 3,40 mmol_c dm⁻³; Ca = 14,35 mmol_c dm⁻³; Mg = 4,57 mmol_c dm⁻³; S = 5,46 mg dm⁻³; H + Al = 10,76 mmol_c dm⁻³; V = 67,48%; Areia Total = 892 g kg⁻¹ de solo; Argila = 72 g kg⁻¹ de solo e Silte = 36 g kg⁻¹ de solo, sendo o preparo do solo convencional. A adubação de semeadura foi realizada com adubo formulado 0-20-20, na dose de (350 kg ha⁻¹).

Apenas no Tratamento T2 (200 kg ha⁻¹ de Nitrogênio) foram aplicados manualmente a dose de N, sendo metade na base e metade em cobertura com o uso da fonte ureia, aos 35 dias após a emergência.

A cultivar de soja utilizada foi a TMG 2165 IPRO, sendo que a mesma apresenta como principais características ciclo de maturação relativa 6.5, tipo de crescimento indeterminado, cor da flor branca, cor da pubescência cinza, cor do hilo marrom claro, exigência em fertilidade média/alta, moderadamente resistente ao acamamento e com peso de mil grãos de 170 g. Apresenta resistência a várias doenças como: cancro da haste, podridão radicular de fitóftora e pústula bactéria. Além disso, cita-se sua estabilidade, rusticidade, adaptação para regiões baixas e quentes e tolerância ao encharcamento (várzea) (TMG, 2023).

Para isso, foram semeadas 26 sementes m⁻¹, com uso de semeadora de parcelas experimentais, com a finalidade de se obter 14 a 16 plantas por metro linear. O desbaste foi realizado visando obter a população média final de 320000 plantas ha⁻¹.

As sementes da cultivar já estavam tratadas com Standak[®] Top que oferece proteção do potencial genético das sementes de soja. O produto tem funções múltiplas e complementares no seu efeito inseticida e fungicida, blindando as sementes contra o ataque de pragas e doenças de solo que interferem no processo de germinação e de plântulas em desenvolvimento na lavoura de soja. A solução possui três princípios ativos distintos, e conferem alta eficiência para o manejo de pragas como lagarta-elasma, coró e tamanduá-da-soja. Standak[®] Top também oferece maior tolerância ao estresse hídrico e a ocorrência de nematoides.

Posteriormente, para compor os diferentes tratamentos quando ao uso de insumos biológicos da Empresa Stoller do Brasil Ltda. em laboratório foram preparados apenas os tratamentos T3, T4, T5 e T6 conforme procedimentos descritos na Tabela 1, sendo que os tratamentos T1 e T2 não possuíram a adição de inoculantes biológicos.

Foram adotados alguns cuidados para se garantir uma maior eficiência dos inoculantes, como acondicionamento das sementes tratadas com os insumos biológicos em períodos que antecederam a semeadura, em local com ar condicionado a 16°C, até o momento da semeadura, sendo que no ato da semeadura, a inoculação das sementes envolvendo os tratamentos T3 e T4 foi realizada à sombra. Para todos os tratamentos com aplicação de inoculantes nas sementes foi feita a distribuição uniforme dos mesmos.

Foi aplicado fertilizante contendo os micronutrientes cobalto e molibdênio, via pulverização foliar com o produto CoMo Platinum (150 mL ha⁻¹); no estágio fenológico V₄ (FEHR; CAVINESS, 1977), em todos os tratamentos incluindo a testemunha. Também foi efetuado o controle de doenças e pragas por meio de fungicidas e inseticidas quando necessário.

Todas as técnicas de cultivo da soja, como escolha de cultivar, época de semeadura, população de plantas, controle de plantas daninhas, insetos e doenças seguiram as recomendações técnicas para a cultura da soja da EMBRAPA (2013).

Avaliações

Avaliações no estágio fenológico R2 e R8

Em R2 para cada experimento foram coletadas amostras de plantas com sistema radicular o mais intacto possível, composta por 5 plantas seguidas por parcela experimental. Deste modo, considerando os parâmetros avaliados foram: número de nódulos sendo: número de nódulos na raiz principal (NNODP), nas raízes secundárias (NNODS) e total (NNODT), massa seca de nódulos na raiz principal (MSNOP), nas raízes secundárias (MSNOS) e total (MSNOT), massa seca radicular (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST) e teor de nitrogênio na parte aérea (TNPA) em g kg⁻¹ (Bataglia, 1978).

Em R8 após colheita das parcelas experimentais e trilhagem dos grãos uma amostra de cada parcela foi devidamente separada e identificada para que em laboratório URPD de Colina semelhante ao TNPA fosse realizada a mensuração do teor de nitrogênio acumulado nos grãos (NTG) em g kg⁻¹ determinada pela metodologia descrita por Bataglia *et al.* (1978).

Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância simples (ANAVA). Havendo diferença entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de ao nível

de Tukey com significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, encontram-se os resultados médios obtidos nos parâmetros avaliados no estágio fenológico R2 considerando a cv. TMG 2165 IPRO. Pelo teste F foram detectadas significâncias estatísticas altamente significativas para quase todas as variáveis analisadas, com exceção a MSR que foi significativa a ($p \leq 0,05$).

Quando se analisa o NNODP verifica-se que o tratamento T6, que utilizou do inoculante para coinoculação aplicado aos 15 dias de antecedência à semeadura, destacou-se com a maior média de nódulos na raiz principal (4,32 unidades planta⁻¹), em relação aos demais tratamentos testados. Os tratamentos que fizeram uso do mesmo inoculante só que aplicado no dia (T4) ou com 7 dias de antecedência à data de semeadura (T5), bem como, o uso do tradicional inoculante a base de *Bradyrhizobium* aplicado no dia da semeadura (T3) e também a fertilização química nitrogenada (T2) não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram valores médios de NNODP intermediários de respectivamente (2,92, 3,04, 2,80 e 3,32 unidades planta⁻¹). Já, produzindo menor quantidade de NNODP ficou o tratamento T1 (controle sem utilização de insumos biológicos) que deteve 1,24 nódulos planta⁻¹. Para NNODS os tratamentos T4 e T6 que corresponderam ao uso do inoculante comercial para coinoculação respectivamente aplicado no momento da semeadura e aos 15 dias de antecedência à semeadura se destacaram e apresentaram, respectivamente, as maiores produções médias de número de nódulos nas raízes secundárias de respectivamente 9,60 e 11,48 nódulos secundários. Com valores médios intermediários se posicionaram os tratamentos T3 (que utilizou do inoculante com apenas *Bradyrhizobium* aplicado no dia da semeadura), bem como, o tratamento T5 com (inoculante contendo *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*) aplicado aos 7 dias antes da semeadura sendo que os mesmos foram semelhantes estatisticamente entre si e mostraram valores médios de respectivamente 8,76 e 9,32 nódulos planta⁻¹. Já os tratamentos controle não inoculado (T1) e fertilização química nitrogenada (T2) proporcionaram os piores incrementos em quantidade de nódulos nas raízes secundárias, com respectivamente 5,12 e 4,92 nódulos planta⁻¹.

Tabela 2. Parâmetros relacionados a fixação biológica de nitrogênio mensurados em experimento de avaliação da pré-coinoculação, em diferentes momentos antes da semeadura da soja TMG 2165 IPRO. Ano Agrícola 2022/23.

Tratamento ^(a)	TNPA ^(b)	NTG ^(c)	NNODP ^(d)	NNODS ^(e)	NNODT ^(f)	MSR ^(g)	MSPA ^(h)	MST ⁽ⁱ⁾	MSNOP ^(j)	MSNOS ^(k)	MSNOT ^(l)
	----- g kg ⁻¹ -----		----- unidades planta ⁻¹ -----			----- g planta ⁻¹ -----			----- mg planta ⁻¹ -----		
T1	30,38 c ⁽ⁿ⁾	55,70 b	1,24 c	5,12 c	6,36 c	2,56 b	4,12 c	6,68 c	29,48 c	143,35 c	172,83 c
T2	33,23 ab	57,77 ab	3,32 b	4,92 c	8,24 c	2,88 a	5,82 a	8,70 a	22,90 c	99,46 d	122,37 d
T3	30,81 c	57,50 ab	2,80 b	8,76 b	11,53 b	2,90 a	4,46 bc	7,36 bc	53,92 b	226,00 b	279,92 b
T4	33,84 a	58,43 a	2,92 b	9,60 ab	12,52 b	2,92 a	4,40 bc	7,32 bc	90,86 a	267,66 a	358,52 a
T5	31,27 bc	56,97 ab	3,04 b	9,32 b	12,36 b	2,88 a	4,98 b	7,86 ab	84,20 a	267,44 a	351,64 a
T6	31,25 bc	56,23 ab	4,32 a	11,48 a	15,80 a	2,80 ab	4,64 bc	7,44 bc	94,80 a	258,50 a	353,29 a
F	6,85**	3,45*	21,28**	38,54**	46,79**	4,15*	10,19**	12,55**	61,27**	226,60**	269,44**
CV (%)	3,76	2,13	16,43	11,54	9,87	5,26	8,90	5,63	14,48	5,08	5,12
Média	31,80	57,10	2,94	8,20	11,14	2,82	4,74	7,56	62,69	210,40	273,09

^(a) T1: controle (sem adição de insumos biológicos); T2: adubação nitrogenada (200 kg de N ha⁻¹); T3: Masterfix L Soja[®] (2 mL kg⁻¹ de semente) – 0 dias após semeadura (DAS) (dias antes da semeadura); T4= Masterfix L Dual Force[®] (4 mL kg⁻¹) – 0 DAS² (dias); T5= Masterfix L Dual Force[®] (4 mL kg⁻¹) – 7 DAS; T6= Masterfix L Dual Force[®] (4 mL kg⁻¹) – 15 DAS; ^(b) teor de nitrogênio na parte aérea; ^(c) nitrogênio total nos grãos; ^(d) número de nódulos na raiz principal; ^(e) número de nódulos nas raízes secundárias; ^(f) número de nódulos totais; ^(g) massa seca da raiz; ^(h) massa seca da parte aérea; ⁽ⁱ⁾ massa seca total; ^(j) massa seca de nódulos na raiz principal; ^(k) massa seca de nódulos nas raízes secundárias; ^(l) massa seca de nódulos total (MSNOP + MSNOS); ¹ Média de cinco plantas por repetição para cada tratamento. ⁽ⁿ⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** significativo a 1%; * significativo a 5%.

Quanto ao NNODT, verificou-se que T6, cuja coinoculação foi com antecedência de 15 dias da semeadura, destacou-se apresentando maior valor médio de número de nódulos totais 15,80 nódulos planta⁻¹. Os tratamentos que fizeram uso da inoculação e coinoculação no dia da semeadura ou com coinoculação aos 7 dias de antecedência da semeadura se posicionaram com valores médios intermediários, sendo T3 (inoculante padrão aplicado no dia da semeadura) com 11,53 nódulos planta⁻¹ e os tratamentos T4 e T5, que utilizaram da prática da coinoculação antecipada em diferentes momentos antes da semeadura, com respectivamente 12,52 e 12,36 nódulos totais planta⁻¹. Semelhante ao ocorrido para NNDOS os tratamentos que envolveram o controle não inoculado (T1) e o uso de fertilização química nitrogenada (T2) foram semelhantes estatisticamente e proporcionaram os piores resultados em termos de número de nódulos totais com respectivamente 6,36 e 8,24 nódulos planta⁻¹.

Em relação a MSNOP nota-se que os tratamentos que fizeram uso do inoculante para coinoculação tanto no momento da semeadura (T4), bem como, aplicado nas sementes com antecedência de 7 (T5) ou 15 dias (T6), não diferiram estatisticamente entre si e se destacaram em relação aos demais tratamentos testados com valores médios de 90,84, 84,20 e 94,80 mg planta⁻¹. Em seguida posicionou-se o tratamento onde foi realizada a inoculação com apenas *Bradyrhizobium* a 0 DAS com média de 53,92 mg planta⁻¹. Já, os piores tratamentos em termos de incrementos em MSNOP foram o controle não inoculado (T1) e tratamento (T2) que fez uso da adubação química nitrogenada com respectivamente 29,48 e 22,90 mg planta⁻¹. Para MSNOS, novamente os tratamentos T4 (coinoculação no dia da semeadura), T5 (7 dias) e T6 (15 dias de antecedência a semeadura) não diferiram estatisticamente entre si destacando-se e produzindo maior massa seca nodular de respectivamente 267,66, 267,44 e 258,50 mg planta⁻¹ diferindo estatisticamente dos outros tratamentos testados. Logo em seguida, posicionou-se pelo teste de médias o tratamento T3 (inoculação padrão no dia da semeadura) com 226,00 mg planta⁻¹ sendo superior estatisticamente ao T1 controle não inoculado com (143,35 mg) que por sua vez foi superior ao T2 (fertilização química nitrogenada com o pior valor médio entre os 99,46 mg planta⁻¹).

Quanto a MSNOT, foram obtidos os mesmos resultados estatísticos quanto a avaliação de MSNOS.

Ainda na Tabela 2, outra ocorrência importante de ser mencionada foi a presença de nódulos no tratamento T2 que utilizou fertilização química nitrogenada, sendo que para nodulação os tratamentos T1 e T2 não se diferenciaram estatisticamente entre si. Por outro lado, quando se analisou a biomassa seca nodular o T2 mostrou-se inferior estatisticamente ao tratamento controle não inoculado. Araújo e Carvalho (2006) comentaram que em algumas situações, como em áreas de primeiro cultivo de soja, onde não existem populações de rizóbio no

solo, a aplicação de baixas doses de N na semeadura (20 a 30 kg ha⁻¹ de N) deve ser recomendada com a finalidade de disponibilizar N às plantas até o início da nodulação. Fato que diverge das condições da área onde os experimentos no caso do presente trabalho foram instalados. Portanto, tem-se disseminado, no Brasil, que a soja necessita de uma adubação nitrogenada de “arranque”, para suprir uma eventual deficiência de N durante a fase inicial da cultura, que ainda não foi infeccionada pelas bactérias *Bradyrhizobium* (Almeida, 2015).

Em relação a MSR, nota-se na Tabela 2, que os tratamentos que utilizaram inoculantes no momento da semeadura, ou em até 7 dias de antecedência à semeadura da soja, (T3, T4 e T5) e o tratamento que fez uso de fertilização química nitrogenada (T2) foram estatisticamente semelhantes com respectivamente 2,90, 2,92, 288 e 2,88 g planta⁻¹ de biomassa seca radicular, apesar de não diferenciarem estatisticamente do tratamento T6 (coinoculação aos 15 dias de antecedência ao plantio) com valor médio de 2,80 g planta⁻¹. Em outras palavras, os tratamentos que fizeram uso da coinoculação tanto no dia da semeadura ou com antecedência de até 15 dias do plantio foram equivalentes à aplicação de adubo químico nitrogenado bem como, à inoculação com somente *Bradyrhizobium* realizada no dia da semeadura. O (T1) controle não inoculado apresentou o menor valor médio de MSR diferindo dos demais tratamentos testados com exceção do T6 ao qual teve semelhança estatística. Bárbaro-Torneli *et al.* (2021) verificaram em sua pesquisa que a prática da coinoculação antecipada proporcionou a melhor resposta para MSR e teor de nitrogênio na parte aérea, sendo superior a inoculação no dia da semeadura, que por sua vez foi superior ao controle não inoculado.

Para MSPA, verificou-se que T2 que consistiu no uso de fertilização química nitrogenada produziu a maior biomassa seca da parte aérea (5,82 g planta⁻¹), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos testados. O tratamento T5 posicionou-se estatisticamente de maneira intermediária com 4,98 g planta⁻¹, não diferindo estatisticamente dos tratamentos T3, T4 e T6 os quais fizeram uso de inoculantes tanto para inoculação quanto para coinoculação aplicados em 0 e até 15 dias de antecedência ao plantio. O pior valor médio entre os tratamentos testados foi o T1 controle sem adição de insumos biológicos com valor médio de 4,12 g. Zuffo *et al.* (2019) em estudo cujo objetivo foi o de avaliar o efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio associada à inoculação de bactérias *Bradyrhizobium japonicum*, na nodulação e no crescimento inicial de duas cultivares de soja verificaram que a fertilização química nitrogenada independente da época de aplicação e da cultivar não proporcionaram incremento na matéria seca da parte aérea e nem do sistema radicular.

Considerando a MST, nota-se que os tratamentos T5 e T2 que consistiram na aplicação de inoculante biológico para coinoculação com 7 dias de antecedência e fertilização química

nitrogenada foram responsáveis pelos maiores valores médios de massa seca total de planta. Assim, esses tratamentos obtiveram médias de respectivamente 7,86 e 8,70 g planta⁻¹. Em seguida, posicionaram-se os tratamentos que fizeram uso da inoculação no momento da semeadura (T3) e coinoculação no dia (T4) e aos 15 dias de antecedência da semeadura (T6) com médias de respectivamente 7,36, 7,32 e 7,44 g planta⁻¹, não diferindo entre si bem como, do controle não inoculado (T1), com valor médio 6,68 g planta⁻¹.

Quanto ao TNPA nota-se que o tratamento T4 (aplicação de inoculante para coinoculação no dia da semeadura) e T2 (adubação química nitrogenada) se destacaram sendo equivalentes estatisticamente e apresentando os maiores valores médios de TNPA, de respectivamente 33,84 e 33,23 g kg⁻¹. Com valores médios intermediários posicionaram os tratamentos que utilizaram do mesmo inoculante para coinoculação T5 e T6 respectivamente aplicados aos 7 e 15 dias antes do semeio da soja, com médias de 31,27 e 31,25 g kg⁻¹. Os demais tratamentos representados pelo controle (T1) e inoculação com somente *Bradyrhizobium* na data de semeadura (T3) mostram semelhanças estatísticas e menores incrementos no parâmetro em questão (Tabela 2). Em relação ao NTG, verificou-se que o tratamento com uso da prática da coinoculação no dia do semeio da soja, sobressaiu-se com valor médio de 58,43 g kg⁻¹, apesar de ter tido semelhança estatística com os tratamentos que fizeram uso do mesmo inoculante para coinoculação aplicados aos 7 e 15 dias de antecedência (T5 e T6), bem como, ao T2 (fertilização química nitrogenada) e T3 que fez uso da inoculação padrão no dia da semeadura. O pior tratamento foi o controle não inoculado (T1) que diferiu apenas do T4 teve valor médio de 55,70 g kg⁻¹ considerando a cultivar TMG 2165 IPRO.

Resultados em parte semelhantes foram verificados por Zuffo *et al.* (2015), que observaram que a coinoculação não afetou a massa seca da parte aérea, massa seca de raiz e de nódulos, volume radicular, teor de clorofila e de nitrogênio foliar. Bullegon *et al.* (2016) verificaram respostas distintas entre cultivares, onde a inoculação com bactérias diazotróficas elevou a altura de plantas, massa seca e o nitrogênio foliar na cultivar BMX Turbo, enquanto que na cultivar CD 250 houve redução na massa seca da parte aérea quando inoculada com bactérias diazotróficas. Bárbaro *et al.* (2009), em trabalho avaliando a inoculação padrão com *B. japonicum* e a coinoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* na cultura da soja, não observaram efeitos significativos na nodulação, massa seca da parte aérea, massa seca radicular em soja. Suss (2020) verificou em sua pesquisa que apesar da massa seca total da soja apresentar incremento significativo em função da coinoculação, a parte aérea das mesmas não foi significativo, onde o aumento da massa seca total das plantas de soja em função da coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* está atrelado ao maior desenvolvimento do sistema radicular. Segundo o mesmo autor, o maior desenvolvimento do sistema radicular que resulta em maior matéria seca total de

plantas, em função da coinoculação se deve ao sinergismo da utilização de ambas as bactérias, onde ocorre maior desenvolvimento radicular e fixação de nitrogênio em comparação à testemunha, resultado dos efeitos benéficos da coinoculação de *A. brasilense* e *B. japonicum* no tratamento das sementes.

CONCLUSÃO

Nas condições em que o experimento foi conduzido pode-se concluir que os parâmetros relacionados à fixação biológica de nitrogênio em soja não foram prejudicados com a pré-coinoculação de até 15 dias de antecedência a data de semeadura.

AGRADECIMENTOS

À Empresa Stoller do Brasil Ltda. pelo aporte financeiro e parceria via FUNDAG.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. V. de. **A polêmica do uso de nitrogênio em soja**. 3. ed. 2015. Disponível em: <http://www.doutoresdaterra.com.br/plantas/a-polemica-do-uso-de-nitrogenio-em-soja>
- ANGHINONI, F. B. G.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ANGHINON, I. G.; FERRI, G. C.; SUZUKAWA, A. K.; TELMO, A. T. Pre-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. in industrially treated soybean seeds. **Agricultural Sciences**, v. 8, n. 7, p. 582-590. 2017.
- ARAÚJO, A. S. F.; CARVALHO, E. M. S. **Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Teresina: UFPI, 2006. p. 1-4.
- BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e coinoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 1- 7, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.5747/ca.2009.v05.n1.a0040>
- BARBARO-TORNELI, I. M.; FINOTO, E. L.; LIBÓRIO, P. H. S.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; NOBILE, F. O.; MIGUEL, F. B. Comportamento de cultivares de soja submetidas a coinoculação antecipada. **Agronomia: Jornadas Científicas**. Capítulo 22. v.1, p. 195-204, 2021.
- BATAGLIA, O. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; FURLANI, A. M. C.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: IAC, 1978. 48 p.
- BULEGON, L. G.; RAMPIM, L.; KLEIN, J.; KESTRING, D.; GUIMARÃES, V. F.; BATTISTUS, A. G.; MITIO INAGAKI, A. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 34, n. 2, p. 169-176, 2016.
- DAY, P. R. Particle fractionation and particle-size analysis. In: BLAKE, C. A. *et al.* (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 1. Physical and mineralogical properties, including statistics of

measurement and sampling. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p. 545-567. (Part.1).

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Distrito Federal: Embrapa SPI, 1995. 60 p.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja. Região Central do Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p.

FEHR, W. R.; CAVINESS, J. A. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University. 1977. 11 p. (Special Report, 80)

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M., BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J., NOGUEIRA, L. M., LUDKIEWICZ, M. G. Z., ANDREOTTI, M., BELLOTTE, J. L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, n. e0150364, p. 1-18, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20150364>

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M., BUZETTI, S., RODRIGUES, W. L., BOLETA, E. H. M.; ROSA, P. A. L.; GASPARETO, R. N.; BIAGINI, A. L. C.; BARATELLA, E. B., PEREIRA, I. T. Technical and economic viability of corn with *Azospirillum brasilense* associated with acidity correctives and nitrogen. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 3. p. 213-227, 2018.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**. v. 49, p.791-801. 2013.

KOOPEN, W. **Climatologia**. Buenos Aires: Gráfica Panamericana. 1948. 478 p.

MACHINESKI, G. S.; SCARAMAL, A. S.; MATOS, M. A.; MACHINESKI, O.; COLOZZI FILHO, A. Efficiency of pre- inoculation of soybeans with *Bradyrhizobium* up to 60 days before sowing. **African Journal of Agricultural Research**. v.13, n.24, p.1233-1242. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2018.13108>

MAZZUCHELLI, R. D. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. D. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrarie**, v.10, n.2, p.40-47. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5747/ca.2014.v10.n2.a106>

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C. M.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 907-919, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.12777>

PEREIRA, C. E.; MOREIRA, F. M. S.; OLIVEIRA, J. A.; CALDEIRA, C. M. Compatibility among fungicide treatments on soybean seeds through film coating and inoculation with *Bradyrhizobium* strains. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 4. p. 585-589, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i4.5756>

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; CONTE, O. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2019/2020 no Paraná**. Circular Técnica 166, Londrina, PR. 2020. ISSN:2176-2864.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. DEL C.; M. GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 22, n. 8, p. 855-872, 2012.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 16, p. 1265-1277, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7914>

SUSS, A. D. **Características biométricas, produtivas e fisiológicas da soja submetida a inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense***. 2020. 78 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Candido Rondon, 2020.

TMG. **SOJA TMG 2165 IPRO**. 2023. Disponível em: <https://www.tmg.agr.br/cultivar/tmg-2165-ipro/>.

van RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Eds). **Análise química para avaliação da fertilidade do solo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

ZILLI, J. E.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 3, p. 335-338, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000300015>

ZUFFO, A. M.; REZENDE, P. M.; BRUZI, A. T.; OLIVEIRA, N. T.; SOARES, I. O.; NETO G. F. G.; CARDILLO, B. E. S.; SILVA, L. O. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.19084/rca.16873>