

CO-INOCULAÇÃO DE SOJA COM *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*

Ricardo Sanches Dalolio¹, Eduardo Borin¹, Rayane Monique Sete da Cruz² e Odair Alberton³

¹Discentes do curso em Engenharia Agrônômica da Universidade Paranaense – UNIPAR, Umuarama – PR. E-mail: ricardinhosanche@hotmail.com, eduardo_borin@hotmail.com

²Discente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura – UNIPAR, Umuarama – PR. E-mail: rayanesete@hotmail.com

³Docente Programa de Pós-graduação em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica – UNIPAR, Umuarama – PR. E-mail: odair@prof.unipar.br

RESUMO: *A soja é uma grande cultura, cultivada anualmente, de grande interesse comercial que devido seu alto consumo necessita de investimentos e pesquisas que aprimorem sua produção. Visando obter de maneira sustentável e rentável para o produtor, é muito comum a utilização de Bradyrhizobium e Azospirillum, na tentativa de substituir a adubação nitrogenada. Portanto o presente trabalho teve como objetivo demonstrar a viabilidade da co-inoculação de Bradyrhizobium elkanii e Azospirillum brasilense na produção vegetal e rendimento da soja. Realizou o experimento em canteiros, divididos em seis tratamentos sendo eles: controle, Bradyrhizobium, Bradyrhizobium + Azospirillum, Bradyrhizobium + Azospirillum + P, Azospirillum, Azospirillum + P, após um ciclo vegetativo de 120 dias a soja foi avaliada quanto aos parâmetros número de vagens, número de grãos e peso de mil grãos. Através de análise estatística notou-se que os tratamentos foram significativos ($p \leq 0,05$). Conclui-se que o método de co-inoculação na soja tem grande eficiência diminuindo o uso de fertilizantes químicos. Sendo o melhor resultado obtido através do uso combinado de Bradyrhizobium + Azospirillum + P.*

PALAVRAS-CHAVE: *fixação biológica, simbiose, bactérias.*

CO-INOCULATION OF SOY WITH *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*

ABSTRACT: *Soybean is a great crop, grown annually, of great commercial interest that due to its high consumption needs investments and research that improve its production. In order to obtain in a sustainable and profitable way for the producer, it's very common to use Bradyrhizobium and Azospirillum, in an attempt to substitute nitrogen fertilization. Therefore, the present work had as objective to demonstrate the viability of the co-inoculation of Bradyrhizobium elkanii and Azospirillum brasilense in the vegetal production and yield of the soybean. The experiment was carried out in six different treatments: Bradyrhizobium, Bradyrhizobium + Azospirillum, Bradyrhizobium + Azospirillum + P, Azospirillum + Azospirillum + P, after a 120 day vegetative cycle the soybean was evaluated for the number of pods, number of grains and weight of a thousand grains. Statistical analysis showed that the treatments were significant ($p \leq 0.05$) and it was concluded that the co-inoculation method in soybean has great efficiency helping or ending the use of chemicals. The best result obtained through the combined use of Bradyrhizobium + Azospirillum + P.*

KEYWORDS: *biological fixation, symbiosis, bacteria.*

INTRODUÇÃO

A soja é de grande importância para a economia brasileira sendo o Brasil, segundo maior produtor mundial na produção de soja com 113,923 milhões de toneladas, em 33,890 milhões de hectares plantados (CONAB, 2016). Esse fato está relacionado a uma vantagem competitiva associada aos avanços científicos e à disponibilidade de tecnologias para o setor produtivo. A inoculação das sementes com rizóbios é uma prática sustentável que dispensa a adubação nitrogenada na cultura da soja. É uma prática que deve ser feita anualmente, para garantir a maximização dos benefícios.

Para uma produtividade de 3.600 kg ha⁻¹ de soja, a uma extração de aproximadamente 300 kg ha⁻¹ de nitrogênio (Fagan et al., 2007). Para patamares acima desse valor, a co-inoculação de sementes pode contribuir, tendo em vista o potencial de aumentar o sistema radicular da soja e o número de nódulos por planta (Hungria et al., 2007). Neste contexto, a introdução de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que age na fixação biológica de nitrogênio (FBN), foi uma das grandes forças motrizes para o cultivo de soja em grande escala no Brasil.

O uso de inoculantes contendo estirpes de *Bradyrhizobium spp.* levou a uma economia anual aproximada de US\$ 3,2 bilhões em fertilizantes nitrogenados. As quantidades de nitrogênio fixadas pela soja através da FBN foram reportadas até 300 kg N ha⁻¹, fornecendo até 94% das necessidades da safra (CONAB, 2016).

Tecnologias alternativas foram pesquisadas com vista a melhores resultados produtivos para a cultura da soja, por exemplo, co-inoculação. Ferlini (2006) e Bárbaro et al. (2008) relata que isto consiste no uso de diferentes combinações de micro-organismos que produzem um efeito sinérgico, isto é, quando usado, ultrapassam os resultados produtivos obtidos de forma isolada.

O uso combinado de *Bradyrhizobium elkanii* e *Azospirillum brasilense* mostrou bons resultados na soja (Benintende et al., 2010). As bactérias do gênero *Azospirillum* proporcionam efeitos benéficos para as plantas devido à sua capacidade de estimular a produção de hormonas vegetais em quantidades expressivas, o que resulta em crescimento de plantas. Estudos têm demonstrado a capacidade de *Azospirillum brasilense* na produção de auxinas, giberelinas e citoquininas em condições in vitro (Masciarelli et al., 2013).

No entanto, os resultados obtidos a partir da inoculação combinada em plantas leguminosas podem mostrar respostas contraditórias, ou seja, podem estimular e inibir a formação de nódulos e crescimento radicular em um sistema simbiótico, variando em função do nível de concentração do inóculo e do tipo de inoculação (Barbaro et al., 2008).

Assim, o uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas, como o *Azospirillum*, que busca aumentar a eficiência do uso de fertilizantes, e também a entrada de nitrogênio através de fixação biológica, representa uma estratégia economicamente viável, além dos benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes. Assim, contribuem para satisfazer as exigências modernas da agricultura através da sustentabilidade econômica, social e ambiental.

Com o objetivo de demonstrar a viabilidade da co-inoculação, foi avaliado o efeito da co-inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* e *Azospirillum brasilense* na produção vegetal e rendimento da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em canteiros de 1 x 1 metros no município de Tamboara – PR, com coordenadas geográficas 23° 12' 01" S, 52° 28' 07" W. O clima é subtropical, com altitude de 340 metros, o solo da região é classificado como Latossolo Vermelho distrófico de textura média conforme Tabela 1.

Tabela 1. Características químicas do solo na área experimental – Tamboara.

	pH (CaCl ₂)	P mg dm ⁻³	C g dm ⁻³	Al ³⁺	H ⁺ +Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	V
					-----Cmol _c dm ⁻³ -----						%
Solo	5,3	5,93	1,40	0,00	3,97	25,04	2,86	1,07	1,62	5,59	28,98
Ref ¹	3,8-6,6	16-24	0,8-15,9	-	0,6-5,0	0,3-7,2	0,3-3,3	0,1-0,7	-	2,2-12,5	-

*Extrator Melich: K - P - Fe - Mn - Cu e Zn, Extrator KCl: Ca - Mg - Al, Extrator HCl 0,05 N: B, Extrator Fosfato de Cálcio: S, Extrator Dicromato de sódio: Carbono

CTC = Capacidade de trocas de cátions; SB = Soma de bases; V = Saturação por bases.

¹Fonte: (Sambatti et al., 2003).

Dados: Laboratório Solanálise – Cascavel –PR.

A semeadura da soja (M-6210 IPRO[®]) tratada com Standak TOP[®] foi realizada no dia 9 de novembro de 2016, conduzida no sistema de plantio direto sobre a palhada de milho (*Zea mays* L.). Conforme a necessidade de cada tratamentos realizou-se a adição de 100 g de fósforo na forma de dióxido de fosforo (P₂O₅) TIMAC Agro[®] para cada canteiro, realizou-se a inoculação das sementes antes do plantio com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* através de em pré emergência em tambor e realizou-se pulverização foliar com bactérias *Azospirillum* 45 dias após emergência das plântulas entre os estádios V4 e V5.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizados com seis repetições (Tabela 2).

Tabela 2. Tratamentos.

Tratamento 1	Controle (isenta de tratamento)
Tratamento 2	<i>Bradyrhizobium</i>
Tratamento 3	<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>
Tratamento 4	<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + P
Tratamento 5	<i>Azospirillum</i>
Tratamento 6	<i>Azospirillum</i> + P

Após o ciclo vegetativo de 120 dias, foram realizados a contagem manual das vagens, o número de grãos e mensurado o peso de mil grãos através de balança semi-analítica.

Os resultados foram testados quanto à equidade das variâncias com o teste de Levene, e quanto à normalidade os dados discrepantes foram identificados por gráficos em caixa (box-plot), utilizando o programa estatístico SPSS 22.0 para o Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Realizou-se análise de variância (ANOVA), empregou-se o teste de Duncan a 5% de probabilidade para testar as diferenças estatísticas entre as médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o parâmetro NDV (Tabela 3), o melhor resultado encontrado foi no tratamento ocorrendo a interação de *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + P (136,40 unidade planta⁻¹), tendo um declínio para 66,80 unidade planta⁻¹, no tratamento controle (isento totalmente de tratamentos).

Tabela 3. Valores de *p* da análise de variância (ANOVA) referente a número de vagens (NDV) (unidade planta⁻¹), número de grãos (NGP) (unidade planta⁻¹) e peso de mil grãos (g).

Tratamento	NDV	NGP	Peso
Controle	66,80 ± 0,58e	118,00 ± 0,70e	91,20 ± 0,66e
<i>Bradyrhizobium</i>	80,20 ± 1,39c	175,80 ± 0,86c	115,00 ± 1,64c
<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	118,40 ± 1,03b	216,00 ± 4,39b	151,20 ± 6,12a
<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + P	136,40 ± 1,07a	237,00 ± 3,08a	157,40 ± 3,04a
<i>Azospirillum</i>	70,40 ± 1,36d	126,60 ± 3,95d	102,20 ± 1,88d
<i>Azospirillum</i> + P	81,00 ± 1,00c	182,60 ± 2,24c	125,20 ± 1,35b

Média ± erro padrão. Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Os mecanismos de ação do *Bradyrhizobium* e do *Azospirillum* são diferentes. No caso do último, os benefícios também advêm da produção de fito hormônios, com grande impacto no crescimento das raízes. Desta forma, um sistema radicular maior e mais volumoso, propicia maior absorção e/ou aproveitamento de água e nutrientes. Considerando-se a água, têm-se como resultados menor suscetibilidade a estresses hídricos. Em relação aos nutrientes, observa-se maior vigor das plantas, além de equilíbrio nutricional dado o melhor aproveitamento dos nutrientes contidos no solo e por meio das fertilizações. Além disso, vale ressaltar, que o maior desenvolvimento do sistema radicular com *Azospirillum* também potencializa a nodulação e consequentemente maior contribuição da fixação biológica do nitrogênio e assim incremento da produtividade tanto de vagens e sementes (Hungria; Nogueira, 2014).

O NGP (Tabela 3) obteve 237 unidade planta⁻¹ para a interação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + P, decaindo para aproximadamente metade quando não há tratamentos 118,00 unidade planta⁻¹.

Braccini et al. (2016) verificaram que a inoculação via tratamento de sementes e a utilização da associação do *Bradyrhizobium japonicum* com *Azospirillum brasilense*, via sulco de semeadura, proporcionou incrementos nos caracteres fisiológicos, bem como promoveu acréscimos na produtividade de grãos da soja, quando comparado com a testemunha.

O peso de mil grãos (Tabela 3) não diferiu estatisticamente entre os tratamentos *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + P (157,40 g) e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* (151,20 g), entretanto corroborando com os demais parâmetros analisados e com o esperado o controle obteve o pior resultado (91,20 g).

Segundo Hungria et al. (2013) na safra 2009/2010, em Londrina a inoculação com *Bradyrhizobium* resultou em ganhos no rendimento de 214 kg ha⁻¹ (8%) em relação a testemunha não inoculada, e incremento de 11% com a co-inoculação.

Em fundamentação ao presente trabalho, Pardinho e Primiere (2015) na safra 14/15 em Ubitatã PR avaliando a produção em resposta a co-inoculação e a inoculação padrão o tratamento com *Bradyrhizobium* teve a melhor produtividade, 3354 kg ha⁻¹, sendo significativo estatisticamente. Já os tratamentos com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*, não apresentaram diferença significativa.

Devido ao alto custo da adubação nitrogenada, e na tentativa de manter uma maior sustentabilidade com a diminuição de fertilizantes químicos, a inoculação com *Bradyrhizobium* que estimula a nodulação da soja e aumenta a fixação de nitrogênio para a planta juntamente com o *Azospirillum* uma bactéria de grande importância no estímulo do crescimento radicular pela presença de importantes fito hormônios, o presente trabalho visa apresentar resultados para

incrementar a pesquisa de grandes culturas como a soja, tanto qual aumentar o rendimento para o produtor através de uma maneira ambientalmente correta.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o método de co-inoculação na soja tem grande eficiência, e ajuda na diminuição do uso de químicos. Sendo o melhor resultado obtido através do uso combinado de *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + P.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Paranaense – UNIPAR pelo apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BÁRBARO, I. M. et al. Avaliação de soja (*Glycine max*) cultivar IAC-23 quanto a eficiência na fixação biológica de nitrogênio, em área de reforma de pastagem em Colina-SP. **Revista Unimar Ciências**, Marília, v. 15, n. 1-2, p. 63-70, 2006.
- BÁRBARO, I. M. et al. Técnica alternativa: coinoculação com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade da cultura da soja no Norte do Estado de São Paulo. **Informações Tecnológicas**, Campinas, 2008.
- BENINTENDE, S. et al., Comparación entre coinoculación com *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. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.
- CAMARA, G. M. S. Fixação Biológica de nitrogênio em soja. **Informações agronômicas**, n. 7, 2014.
- CONAB - COMPANHIA BRASILEIRA DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, v. 3 – Safra 2015/16, n. 7 – **Sétimo Levantamento**, Brasília, p.1-158, abr. 2016.
- FAGAN, E. B.; et al., Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja - Revisão. **Revista da FZVA**, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.
- FERLINI, H.A. et al., Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. **Artículos Técnicos – Agricultura**, 2006.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. **Tecnologia de coinoculação: rizobium e *Azospirillum* em soja e feijoeiro**. Embrapa soja, 2014.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **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. 2007.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C., CAMPO, R.J. AND GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: Werner, D. and Newton, W.E, (Ed.). *Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p. 25-42, 2005.

HUNGRIA, M. et al., Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, vol. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

HUNGRIA, M. et al., **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja, 2011.

HUNDRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. **Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo**. In: Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil, 33, 2013.

MASCIARELLI O, URBANI L, REINOSO H, LUNA V. 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**, v. 51, p. 590-597, 2013.

PARDINHO. J. P; PRIMIERI. C. Produtividade da soja em relação a inoculação e co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Revista Cultivando o Saber**, Paraná, edição especial, p. 109-114, 2015.