



Efeito da inoculação e coinoculação de bactérias (*Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*) na cultura da soja (*Glycine max*)

Effect of inoculation and co-inoculation of bacteria (*Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*) on soybean crop (*Glycine max*)

Fabio Olivieri de Nobile¹; Maria Gabriela Anunciação²; Eduardo José Tarralo Duarte³; Ivana Marino Bárbaro Torneli⁴

¹ Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB);

² Universidade Federal de Uberlândia;

³ Instituto Agrônomo de Campinas;

⁴ Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA. Secretaria da Agricultura e Abastecimento

Resumo

O estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da coinoculação e inoculação da soja no sulco de semeadura da mistura de inoculantes (*Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*) nos parâmetros morfofisiológicos e componentes de produção. Adotou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, composto por sete tratamentos (T1 – Controle, T2 – *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹), T3 – *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹) + *Azospirillum* (200 mL ha⁻¹), T4 – Mix *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹), T5 – (1000 mL ha⁻¹), T6 – (1200 mL ha⁻¹) e T7 – (1500 mL ha⁻¹) e com cinco repetições, totalizando 35 parcelas. Os seguintes parâmetros foram avaliados: número de nódulos na raiz principal, nas raízes secundárias e totais, massa seca de nódulos na raiz principal, nas raízes secundárias e totais, massa seca radicular, massa seca da parte aérea e massa seca total e porcentagem de nódulos viáveis das raízes principal e secundária e nódulos viáveis totais, estande final, altura de planta na maturação, altura de inserção da primeira vagem, produtividade dos grãos, número de vagens por metro quadrado, número médio de grãos por vagem, massa de mil grãos, teor de nitrogênio acumulado nos grãos. As maiores doses de 1200 mL ha⁻¹ e 1500 mL ha⁻¹ aplicadas via sulco para coinoculação da soja proporcionaram maiores valores de produtividade de grãos, havendo um incremento de 40 sacas ha⁻¹ em comparação ao controle não inoculado (T1). Deve-se adotar para áreas sem histórico de coinoculação o tratamento de maior dose (T6 e T7).

Palavras-Chave: Fixação biológica; Características agrônomicas; produtividade; simbiose.

Abstract

This study aimed to assess the efficiency of co-inoculation and inoculation in soybean in the sowing furrow of mixed inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*) based on its morphophysiological parameters and production components. We used a randomized block experimental design with seven treatments (T1 - Control, T2 - *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹), T3 - *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹) + *Azospirillum* (200 mL ha⁻¹), T4 - Mix *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* (800 mL ha⁻¹), T5 – (1000 mL ha⁻¹), T6 – (1200 mL ha⁻¹), and T7 – (1500 mL ha⁻¹), with five replications and 35 plots in total. We assessed the following parameters: number of nodules in the main root and the secondary and total roots, dry mass of nodules in the main root and the secondary and total roots, root dry mass, dry mass of the aerial part, total dry mass and percentage of viable nodules of the main and secondary roots, total

Autor para correspondência: Prof. Dr. Fábio Olivieri de Nobile, E-mail: fabio.nobile@unifeb.edu.br

Recebido em: 10 de maio de 2022

Aceito para publicação em: 16 de novembro de 2022

viable nodules, final stand, plant height at maturation, first pod insertion height, grain yield, number of pods per square meter, average number of grains per pod, mass of one thousand grains, and accumulated nitrogen content in the grains. The highest doses of 1200 mL ha⁻¹ and 1500 mL ha⁻¹ applied through the furrow for co-inoculation in soybean provided higher grain yield values, with an increase of 40 bags h⁻¹ compared to the non-inoculated control (T1). For areas without a history of co-inoculation, we recommend to use higher-dose treatments (T6 and T7).

Keywords: Biological fixation; Agronomic characteristics; productivity; symbiosis

Introdução

A soja se destaca como uma das culturas de maior expressão mundial na safra 2019/20, o Brasil produziu cerca de 124 milhões de toneladas, tornando-se o maior produtor mundial do grão. Por outro lado, a cana-de-açúcar também é uma das principais culturas brasileiras, sendo o estado de São Paulo o principal produtor, com 51,05% (5.172,5 mil hectares) de área produtiva (Companhia Nacional do Abastecimento, 2021). Desde a década de 1980, a rotação de culturas tem sido uma opção vantajosa e sustentável, sobretudo quando realizada com adubos verdes ou culturas de leguminosas (Soares, 2014). Visando aperfeiçoar o uso da terra no intervalo entre os plantios de cana, algumas culturas podem ser utilizadas em rotação, não somente incrementando a fertilidade do solo, como gerando renda em épocas em que a terra não esteja sendo utilizada (Chiaradia et al., 2009).

Dentre as espécies mais requeridas nesse sistema de rotação, citam-se as culturas produtoras de grãos. Destas, as mais utilizadas são soja, girassol, feijão e amendoim. A soja representa uma ótima opção devido ao seu ciclo curto (até 130 dias), podendo ocupar a área em períodos que coincidem com as épocas de chuva na região, geralmente outubro a março em se tratando do estado de São Paulo, garantindo uma boa produtividade e possibilidade de lucro com a venda dos grãos (Lima et al., 2019).

Na cultura da cana-de-açúcar, o uso de oleaginosas como a soja se destaca pela rápida decomposição dos resíduos vegetais, devido a uma menor relação C/N. Dessa maneira, são disponibilizados nutrientes para a cultura principal, como, por exemplo, o fornecimento de nitrogênio, já que possui a capacidade de fixar no seu sistema radicular o nitrogênio atmosférico por meio da simbiose estabelecida com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (Aita et al., 2004). Tanimoto & Bolonhezi (2002) confirmaram a viabilidade desse sistema para rotação com a cultura da soja, apresentando, rendimentos superiores ao sistema

convencional para média de seis safras, além de uma redução de 30% nos custos de produção.

Por outro lado, pesquisas brasileiras buscam novas tecnologias para maximizar os ganhos obtidos com a inoculação em soja, uma vez que as cultivares comerciais lançadas anualmente tendem a ser cada vez mais produtivas, exigindo assim uma maior quantidade de nutrientes, dentre os quais o nitrogênio é um dos mais demandados. Desse modo, há atualmente a possibilidade de se utilizar a coinoculação ou inoculação mista em soja. A prática consiste na junção entre um inoculante contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e um inoculante para gramíneas à base de bactérias *Azospirillum brasilense*. Para que tal prática seja realizada, o sojicultor aplica os dois inoculantes, cada um contendo um gênero das bactérias supracitadas.

É importante salientar que não existe ainda no mercado um insumo biológico registrado pelo MAPA que contenha esses dois gêneros de bactérias no mesmo produto. Portanto, justifica-se a importância deste estudo, uma vez que possibilita unir os dois gêneros de bactérias em um único inoculante, oferecendo assim uma maior facilidade de uso por parte do sojicultor.

Bradyrhizobium e *Azospirillum* têm diferentes mecanismos de ação. No caso do último, os benefícios abrangem, além da fixação biológica de nitrogênio, a síntese de fitohormônios de crescimento vegetal (Spaepen & Vanderleyden, 2015). Sendo assim, a atuação dessa bactéria proporciona um sistema radicular mais volumoso, consequentemente auxiliando na produção de uma maior quantidade de nódulos, o que, por sua vez, propicia melhor absorção e/ou aproveitamento de água e nutrientes, além de maior resistência ao estresse hídrico (Fukami et al., 2017). Em relação aos nutrientes, observa-se maior vigor das plantas (Ardakani et al., 2011).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar em condições de campo, sob semeadura direta

em palhada de cana-de-açúcar, a eficiência da coinoculação da soja no sulco de semeadura, por meio da mistura de inoculantes em doses do produto, de acordo com os parâmetros morfofisiológicos e nos componentes de produção.

Material e métodos

Local de condução do experimento

O experimento foi instalado no campo em 04 de dezembro de 2020, em uma área de renovação de canavial pertencente à Usina Colombo, localizada no município de Ariranha – SP. Localiza-se a uma latitude 21°11'16" Sul e a uma longitude 48°47'13" Oeste, a uma altitude de 595 metros.

O clima da região do município de Ariranha é classificado como um quente com inverno seco (Cwa), atingindo temperaturas máximas e mínimas entre 37° e 10 C. A época usual de chuva abrange os meses de setembro a março, com uma precipitação média anual de 1.255 mm e uma altitude variável entre 500 a 600 metros.

O Argisolo Vermelho Amarelo eutrófico é o tipo predominante de solo em Ariranha, classificado como argila de atividade baixa, abrupto, moderado, textura arenosa/ média e relevo suavemente ondulado (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013a).

Tratamentos e delineamento experimental

A Tabela 1 descreve os tratamentos testados e as doses dos inoculantes utilizados, que foram aplicados no sulco de plantio.

Segue abaixo a descrição dos inoculantes utilizados nesse experimento:

- a) ***Azospirillum***: inoculante líquido para gramíneas, registrado (Reg. MAPA - N° SP 003718-4.000082), tendo como garantia a bactéria *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na

concentração de 2 x 10⁸ UFC/mL.

- b) **Mix *Azospirillum* e *Bradyrhizobium***: inoculante líquido para a cultura da soja, registrado (Registro MAPA - N° SP 003718-4.000002), tendo como garantia a presença de duas espécies de bactérias, sendo elas: *Bradyrhizobium japonicum* (cepa Semia 5079), na concentração de 1 x 10⁹ UFC/mL e *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na concentração de 1 x 10⁷ UFC/mL.

- c) ***Bradyrhizobium***: inoculante líquido para soja registrado, tendo como garantia uma concentração mínima de 5 x 10⁹ UFC/mL de *Bradyrhizobium elkanii* (Cepa Semia 5019) e *Bradyrhizobium japonicum* (Cepa Semia 5079).

A parcela experimental foi constituída por sete linhas de 15 m de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,45 m. Adotou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, composto por sete tratamentos e cinco repetições, num total de 35 parcelas experimentais.

Condução do experimento

Antes da instalação do experimento, foram coletadas amostras de solo da área experimental para posterior análise química e granulométrica, de acordo com Van Raij (2001) e Day (1965), em uma camada de 0-0,25 m de profundidade. Os seguintes resultados foram obtidos: pH (CaCl₂) = 5,60; M.O. = 8,00 g dm⁻³; CO = 5,8 g dm⁻³; P = 21,00 mg dm⁻³; K = 1,7 mmol_c dm⁻³; Ca = 20,80 mmol_c dm⁻³; Mg = 5,80 mmol_c dm⁻³; H + Al = 13,00 mmol_c dm⁻³; V = 68,52%, Areia Total = 892 g kg⁻¹ de solo; Argila = 72 g kg⁻¹ de solo e Silte = 36 g kg⁻¹ de solo. O ensaio foi instalado em semeadura direta sob palhada de cana. A adubação de semeadura foi realizada com adubo formulado 0-20-20, em uma dose de (350 kg ha⁻¹).

Tabela 1. Tratamentos e doses dos inoculantes utilizados de coinoculação da soja instalados em área de renovação de canavial. Ano agrícola 2020/21. Usina Colombo. Ariranha-SP.

Tratamentos
T1 – Controle (sem adubação mineral nitrogenada e sem inoculação)
T2 – <i>Bradyrhizobium</i> (800 mL ha ⁻¹)
T3 – <i>Bradyrhizobium</i> (800 mL ha ⁻¹) + <i>Azospirillum</i> (200 mL ha ⁻¹)
T4 – Mix <i>Azospirillum</i> e <i>Bradyrhizobium</i> (800 mL ha ⁻¹)
T5 – Mix <i>Azospirillum</i> e <i>Bradyrhizobium</i> (1000 mL ha ⁻¹)
T6 – Mix <i>Azospirillum</i> e <i>Bradyrhizobium</i> (1200 mL ha ⁻¹)
T7 – Mix <i>Azospirillum</i> e <i>Bradyrhizobium</i> (1500 mL ha ⁻¹)

Utilizou-se a cultivar de soja HO IGUAÇU (64HO133) IPRO, sendo semeadas 20 sementes m^{-1} , com uso de semeadora-adubadora composta por sete linhas. O objetivo foi se obterem de 14 a 15 plantas por metro linear, visando a uma população média final de 320.000 plantas ha^{-1} .

A aplicação dos inoculantes para inoculação e coinoculação foi realizada por meio de pulverizador acoplado a semeadora-adubadora. Os seguintes cuidados foram adotados para garantir uma maior eficiência dos tratamentos: preparo da calda a sombra, averiguação do pH da calda e calibração adequada dos bicos de pulverização para distribuição uniforme dos inoculantes.

Foram aplicados também em todos os tratamentos, incluindo a testemunha, os micronutrientes cobalto e molibdênio, via pulverização foliar no estágio fenológico V4. Quando necessário, efetuou-se ainda o controle de doenças e pragas por meio de fungicidas e inseticidas.

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 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2013b).

Realizou-se uma coleta no estágio fenológico V5, sendo a amostra constituída por cinco plantas cujo sistema radicular estivesse o mais intacto possível, com o auxílio de uma vanga. O objetivo foi avaliar o número de nódulos na raiz principal (NNODP), nas raízes secundárias (NNODS) e totais (NNODT), massa seca de nódulos na raiz principal (MSNODP), nas raízes secundárias (MSNODS) e totais (MSNODT).

Já em R2 foi coletada mais uma amostra de plantas com sistema radicular, composta por 5 plantas seguidas por parcela experimental. Considerando a primeira amostragem, os seguintes parâmetros foram avaliados: número de nódulos na raiz principal (NNODP), nas raízes secundárias (NNODS) e total (NNODT), massa seca de nódulos na raiz principal (MSNODP), nas raízes secundárias (MSNODS) e total (MSNODT), massa seca radicular (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST),

Ainda em R2 foram avaliadas as porcentagens de nódulos viáveis da raiz principal (% NVRP) e secundária (% NVRS) e nódulos viáveis totais (% NVT). Para tanto, realizaram-se o quartejamento

da amostra de nódulos e visualização da coloração interna em quartos – mínimo de 20 nódulos.

Antes da colheita das parcelas úteis para a estimativa da produtividade dos grãos (R8), foram mensuradas as seguintes características de interesse agrônomo:

- Estande final (EF) = contagem do número de plantas obtidas em 5 metros lineares, em plantas m^{-1} .
- Altura de planta na maturação (APM) = dada pela distância do colo da planta até a extremidade da haste principal, em cm.
- Altura de inserção da primeira vagem (AIV) = dada pela distância do colo da planta até a extremidade inferior da primeira vagem, em cm.

Após a colheita das parcelas experimentais, foram determinadas as seguintes características:

- Produtividade dos grãos (PG) = colhidas manualmente nas duas fileiras centrais de 15 m de comprimento e espaçamento entre fileiras de 0,45 m. A partir dos valores médios referentes à produção das parcelas de cada tratamento, foi estimada a produtividade por extrapolação, sendo expressa em $kg\ ha^{-1}$ (valores corrigidos para 13% de umidade).
- Número de vagens por metro quadrado (NV) – contagem do número de vagens cheias obtidas em um metro quadrado.
- Número médio de grãos por vagem (NMGV) = determinado pela soma do número médio de grãos obtido em três repetições de 10 vagens por parcela experimental dividido pelo número médio dessas dez vagens por parcela experimental.
- Massa de mil grãos (MMG) = determinada por meio da aferição da massa de três subamostras de 100 grãos, por repetição, multiplicando-se os resultados por 10.
- Teor de nitrogênio acumulado nos grãos (NTG) = em $g\ kg^{-1}$ determinada de acordo com a metodologia descrita por Bataglia et al. (1983).

Para os parâmetros e caracteres, foram realizadas as transformações *Box-Cox*, estimadas e aplicadas como proposto por Hawkins & Weisberg (2017), sendo os valores das médias mantidos na escala original. Já as variâncias, desvios padrões, coeficientes de variação, DMS, análises de variância e comparações de médias foram calculados com

base nos dados transformados. Posteriormente, verificou-se a normalidade dos resíduos por meio do teste de Shapiro-Wilk, a 5% de probabilidade (Royston, 1995), e a homoscedasticidade por meio da homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene a 5% de probabilidade (Gastwirth et al., 2009). Ao se detectarem diferenças significativas na análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os resultados médios obtidos para nodulação (número e massa seca) avaliados no estágio fenológico V5. Por meio do teste F, foram detectadas significâncias estatísticas ($p \leq 0,01$) para todas as variáveis analisadas. Presume-se que os tratamentos se diferenciaram entre si quanto aos parâmetros testados.

Na Tabela 2, para NNODP, observa-se que os tratamentos T4, T5 e T6 não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Portanto, destacaram-se com os maiores valores médios em relação ao número de nódulos encontrados na raiz principal, sendo 15,20, 14,76 e 14,88 nódulos planta⁻¹, respectivamente. Por sua vez, o tratamento T5 apresentou igualdade estatística com o T7, que obteve 13,56 nódulos planta⁻¹.

O tratamento T1 (controle sem adição de bactérias), conforme se esperava, foi responsável pelo menor valor médio de nódulos planta⁻¹ (5,20), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos

testados. Ainda em relação a esse parâmetro, nota-se que foi obtido um incremento em relação a T1 de 9,75 nódulos na raiz principal ao se considerar a média dos três melhores tratamentos, além de 8,36 nódulos em se tratando do tratamento T7. Claramente, demonstra-se que a aplicação via sulco de semeadura com *mix* de inoculante contendo os dois gêneros de bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, em qualquer dose de aplicação, proporcionou um significativo incremento no NNODP em relação ao controle não inoculado (T1).

Já quando se analisa o tratamento T2, utilizando apenas a inoculação no sulco à base de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, verifica-se que apesar da equivalência estatística em relação ao tratamento T3, que consistiu na coinoculação com dois inoculantes nas doses de 800 e 200 mL ha⁻¹, respectivamente, eles produziram uma menor quantidade de nódulos na raiz principal em relação aos tratamentos que fizeram uso do *mix* de inoculantes para coinoculação.

Por outro lado, diferentemente do ocorrido na avaliação de NNODP, para NNODS, o tratamento T7, utilizando o *mix* de inoculantes na maior dose, propiciou o maior valor médio de número de nódulos nas raízes secundárias (21,72 nódulos planta⁻¹), apesar de não diferir do tratamento T2, que utilizou a inoculação com apenas *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura. Em relação aos demais tratamentos, o T7 se mostrou estatisticamente superior.

Tabela 2. Nodulação avaliada no estágio V5.

TRAT	NNODP	NNODS	NNODT	MSNODP	MSNODS	MSNODT
	-----unidades.planta ⁻¹ -----			-----mg.planta ⁻¹ -----		
T1	5,20 d	16,64 e	21,84 d	75,60 d	114,80 d	190,40 d
T2	12,04 c	19,92 ab	31,96 b	186,80 ab	148,00 b	334,80 bc
T3	11,16 c	17,20 cde	28,36 c	149,60 c	109,00 d	258,80 bc
T4	15,20 a	18,68 bcd	33,88 ab	195,40 ab	122,00 cd	317,40 bc
T5	14,76 ab	16,68 de	31,44 b	203,40 a	136,20 bc	339,8 abc
T6	14,88 a	18,92 bc	33,80 ab	206,20 a	153,20 b	359,40 ab
T7	13,56 b	21,72 a	35,28 a	166,60 bc	200,60 a	367,00 a
F	140,78**	18,00**	58,59**	74,57**	35,89**	86,77**
CV (%)	3,32	6,04	6,16	4,65	4,36	2,28
Média	12,40	18,54	30,94	169,10	140,50	309,70

Média de cinco repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** = significância a 5% de probabilidade; F = teste F; CV = Coeficiente de variação; NNODP = número de nódulos na raiz principal; NNODS = número de nódulos nas raízes secundárias; NNODT = número de nódulos total (NNODP + NNODS); MSNODP = massa seca de nódulos na raiz principal; MSNODS = massa seca de nódulos nas raízes secundárias e MSNODT = massa seca de nódulos totais.

Quanto ao NNODT, que consiste no somatório do NNODP + NNODS, verificou-se novamente que o T7 contribuiu produzindo a maior quantidade de nódulos totais com valor médio de 35,28 nódulos, apesar de não diferir estatisticamente dos tratamentos contendo esse inoculante em outras doses (T4 e T6). Em seguida, foram posicionados os tratamentos T5 e T2, que apresentaram semelhança estatística com 31,44 e 31,96 nódulos totais por planta, respectivamente, quando avaliados em V5. É importante ressaltar que o T5 obteve igualdade estatística em relação aos tratamentos T4 e T6. Observou-se, ainda, para a nodulação que nos três parâmetros de FBN avaliados, o tratamento T1 sempre obteve as menores médias de nódulos em comparação aos demais tratamentos.

Ainda em relação à Tabela 2, observando a massa seca nodular avaliada no estágio fenológico V5, verificou-se que para MSNODP, os tratamentos T4, T5, T6, que consistiram na coinoculação com o *mix* de inoculantes (nas doses de 800, 1000 e 1200 mL ha⁻¹, respectivamente) proporcionaram as maiores médias de massa seca de nódulos na raiz principal. A média dos três tratamentos foi de 201,67 mg, não diferindo da inoculação com apenas *Bradyrhizobium* (T2), que obteve 186,80 mg planta⁻¹.

Em seguida, posicionou-se o T7, que consistiu na aplicação do *mix* de inoculantes na maior dose, sendo estatisticamente igual à coinoculação com o uso de dois insumos biológicos (T3). Por outro lado, a análise da MSNODS demonstra que o T7 se sobressaiu estatisticamente dos demais tratamentos testados, apresentando maior média de massa seca nodular encontrada nas raízes secundárias (200,60 mg planta⁻¹). Logo em seguida, os tratamentos T2, T5 e T6 apresentaram semelhança estatística para esse parâmetro e foram superiores aos tratamentos T3, T4 e T1. Em relação ao MSNODT, a Tabela 2 mostra que os melhores tratamentos foram aqueles que se relacionaram ao uso do *mix* de inoculantes nas maiores doses, ou seja, T7, T6 e T5. Já os tratamentos T4, T3 e T2 se posicionaram intermediariamente quanto ao MSNODT.

Ainda em relação à massa seca nodular, se esperava para MSNODP, MSNODS e MSNODT, o tratamento sem adição de microrganismos representou os menores incrementos encontrados neste estudo. Embora a coinoculação e a inoculação tenham trazido o benefício de aumentarem o número e a massa seca nodular no V5, é fundamental considerar que a interação adequada entre genótipos,

bactérias e ambiente é a chave para o sucesso na melhoria da FBN em soja (Galindo et al., 2017).

A Tabela 3 apresenta os resultados médios obtidos para os parâmetros avaliados no estágio fenológico R2. O teste F detectou valores estatísticos altamente significativos ($p \leq 0,01$) para todas as variáveis analisadas.

Os resultados para o estágio fenológico R2, diferentemente do V5, mostram que para o número de nódulos em NNODP, todos os tratamentos que utilizaram coinoculação, fosse usando o *mix* de inoculantes, em qualquer dose de aplicação, no sulco de semeadura ou dois inoculantes, foram estatisticamente iguais e superiores ao controle (T1), sem adição de insumos biológicos, que obteve 5,88 nódulos. Ainda, a inoculação com somente *Bradyrhizobium* na dose de 800 mL ha⁻¹ deteve 8,92 nódulos por planta na raiz principal.

Ainda em relação a esse parâmetro, verificou-se um valor médio de 12,29 nódulos nos cinco tratamentos com coinoculação, ou seja, houve um incremento de 6,41 e 3,37 nódulos em relação aos tratamentos T1 e T2. Evidenciando-se a importância do uso e a eficiência de microrganismos fixadores de nitrogênio e promotores de crescimento vegetal, por meio de inoculantes comerciais, para o incremento de nódulos na raiz principal. Para NNODS, com exceção do tratamento T4, com uso da coinoculação com *mix* de inoculantes na menor dose de aplicação no sulco de semeadura, os tratamentos T5, T6, T7 e T3, que utilizaram as maiores doses do inoculante DFR (T5, T6 e T7), e T3, cuja coinoculação foi realizada com os dois inoculantes da empresa, nota-se que houve equivalência estatística entre si e superioridade aos demais testados, com uma média de 25,59 nódulos nas raízes secundárias.

Logo em seguida, os tratamentos T2 e T4 foram estatisticamente semelhantes, com 21,44 e 21,68 nódulos planta⁻¹, respectivamente. Já o tratamento controle obteve o menor resultado, com uma média de 19,80 nódulos. Já para NNODT, identificou-se uma situação semelhante à de NNODS, com a exceção de que o T1 e T2 não diferiram estatisticamente entre si. Particularmente nesse caso, verifica-se que em área de renovação de canavial, a aplicação de inoculante contendo apenas *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura foi equivalente ao tratamento T4, que utilizou coinoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum*) com o *mix* de inoculantes, com uma aplicação em dose reduzida (800 mL ha⁻¹). Esse resultado evidencia que doses elevadas de inoculantes

Tabela 3. Parâmetros avaliados no estágio R2.

TRAT	NNODP	NNODS	NNODT	MSODT	MSPA	MST	MSNOP	MSNOS	MNODT
	-----unidades.planta ⁻¹ -----			-----g.planta ⁻¹ -----			-----mg planta ⁻¹ -----		
T1	5,88 c	19,80 c	25,68 c	2,69 b	9,90 c	12,58 c	134,90 c	238,90 c	373,80 c
T2	8,92 b	21,44 bc	30,36 bc	2,74 b	12,27 b	15,01 b	228,30 b	272,30 bc	500,07 b
T3	12,32 a	25,88 a	38,20 a	3,82 a	15,25 a	19,07 a	302,90 a	306,90 ab	609,80 a
T4	11,16 a	21,68 bc	32,84 b	2,87 b	12,37 b	15,24 b	280,00 a	304,00 ab	583,90 a
T5	12,20 a	25,76 a	37,96 a	3,19 ab	14,69 a	17,88 a	304,20 a	289,90 ab	594,20 a
T6	12,68 a	26,12 a	38,80 a	3,58 a	15,15 a	18,72 a	305,00 a	329,00 a	634,10 a
T7	13,08 a	24,60 ab	37,68 a	3,18 ab	15,60 a	18,78 a	315,80 a	299,80 ab	615,50 a
F	54,61**	9,27**	20,43**	8,15**	22,56**	23,85**	38,42**	10,14**	51,90**
CV (%)	1,38	21,61	12,21	6,17	8,21	5,17	3,95	3,88	10,45
Média	10,89	23,61	34,50	3,15	13,60	16,76	267,30	291,60	558,90

Média de cinco repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** = significância a 5% de probabilidade; F = teste F; CV = Coeficiente de variação; NNODP = número de nódulos na raiz principal; NNODS = número de nódulos nas raízes secundárias; NNODT = número de nódulos totais; MSNOP = massa seca de nódulos na raiz principal; MSNOS = massa seca de nódulos nas raízes secundárias; MSNODT = massa seca de nódulos total (MSNODP + MSNODS); MSR = massa seca da raiz; MSPA = massa seca da parte aérea e MST = massa seca total.

devem ser aplicadas em sulco de semeadura para que a produção de nódulos seja eficiente.

Quanto a MSNODP, MSNNODS e MSNNODT, os tratamentos que utilizaram a coinoculação independente dos inoculantes, as doses adotadas não diferiram estatisticamente entre si e se destacaram em relação à inoculação somente com *Bradyrhizobium*. Por sua vez, o controle não inoculado obteve uma menor média de massa seca nodular na raiz principal.

Os resultados obtidos para todos os tratamentos corroboram os estudos que reportam uma nodulação adequada na faixa de 15 e 30 nódulos totais e massa entre 100 a 200 mg, sendo o suficiente para garantir o fornecimento de N requerido por uma planta de soja para seu desenvolvimento normal (Bárbaro et al., 2009).

Quanto a MSR, a Tabela 3 mostra que os tratamentos T5, T6, T7 e T3 se destacaram com os maiores valores médios para massa seca de raiz, sendo 3,82, 3,19, 3,58, 3,18 e 3,82 g planta⁻¹, respectivamente, apesar de T5 e T7 não terem apresentado diferenças estatísticas significativas em relação aos tratamentos T1, T2 e T4. Para MSPA, os tratamentos T3, T5, T6 e T7 não diferiram entre si e proporcionaram os maiores valores médios quanto a esse parâmetro, sendo 14,69, 15,15, 15,60 e 15,25 g planta⁻¹, respectivamente,

estatisticamente superiores aos demais tratamentos testados. O tratamento T1 mostrou o menor valor médio quanto a MSPA com média de 9,90 g planta⁻¹.

Em relação a MST, observa-se que os tratamentos T3, T5, T6 e T7 se destacaram novamente e produziram a maior biomassa seca total da planta, com valores médios de 19,07, 17,88, 18,72 e 18,78 g planta⁻¹, respectivamente. Por sua vez, o tratamento (T2), que utilizou a inoculação no sulco com apenas *Bradyrhizobium* (15,01 g), foi estatisticamente inferior aos tratamentos supracitados e superior ao controle, sem adição de insumos biológicos (T1), cujo valor médio foi de 12,58 g planta⁻¹.

Na Tabela 4 estão discriminadas as % de nódulos viáveis na raiz principal (NVRP) e nas raízes secundárias (NVRS) dentre os 20 avaliados por repetição em R2.

Em relação ao NVRP, observou-se que os tratamentos não se diferenciaram de acordo com o teste de média aplicado. Já a análise de NVRS revela que o tratamento T7 se destacou produzindo o maior número médio de nódulos nas raízes secundárias viáveis por planta, não diferindo estatisticamente dos tratamentos T2, T5 e T6. Em seguida, os tratamentos T1, T3 e T4 detiveram os piores resultados quanto à viabilidade de nódulos.

Ao se analisar a porcentagem de NVT, verificou-se que os tratamentos T7 e T6, que utilizaram o

mix de inoculantes nas maiores doses de aplicação no sulco de semeadura, destacaram-se entre os tratamentos testados, apesar de não diferirem dos tratamentos T2, T3 e T5. Os menores valores foram encontrados nos tratamentos T1 e T4, que consistiram no tratamento controle e no *mix* de inoculantes na menor dose de aplicação, respectivamente. Em termos numéricos, o T7 obteve mais da metade dos nódulos viáveis totais (57%) ao se comparar a quantidade total de nódulos avaliados.

Na Tabela 5 estão descritos os resultados médios obtidos nos caracteres agrônômicos e componentes de produção. O teste F detectou valores estatísticos altamente significativos ($p \leq 0,01$) para MMG e PG.

Para EF, os tratamentos não se diferenciaram pelo teste de médias, portanto, a média geral do experimento foi de 15,20 plantas por metro linear, valor próximo ao recomendado pelos obtentores da cultivar utilizada neste trabalho (Tabela 5).

Considerando a APM, a média geral do experimento esteve acima de 60 cm (73,96 cm), dentro da faixa recomendada por Sedyama et al. (2005). Ainda nesse sentido, os tratamentos T5, T6 e T7 apresentaram maior estatura média de planta, sendo 77,00, 75,70 e 75,60 cm, respectivamente, apesar de os tratamentos T6 e T7 não terem diferido estatisticamente dos tratamentos T2, T3 e T4, com uma média de 73,53 cm entre os três tratamentos.

Conforme esperado, o T1 apresentou o menor valor médio de estatura de plantas (68,80 cm). De acordo com Torres et al. (2015), uma altura de planta maior é uma característica importante na cultura da soja, pois possibilita que a planta

tenha um maior número de nós, influenciando diretamente a produção da cultura.

Para AIV, os tratamentos também se diferenciaram de acordo com o teste de média, sendo a média geral do experimento de 11,50 cm. O tratamento cuja altura de inserção do primeiro legume foi mais elevada esteve relacionado ao tratamento T7, com um valor médio de 12,80 cm, apesar de sua equivalência estatística com os tratamentos T5 e T6, sendo que os três utilizaram o *mix* de inoculantes nas maiores doses de aplicação no sulco de semeadura.

Em relação ao NTG, os tratamentos que se destacaram foram os que utilizaram as maiores doses *mix* de inoculantes, ou seja, o T6 e T7, com 46,80 e 43,58 g kg⁻¹, respectivamente, apesar de não terem diferido estatisticamente pelo teste de médias aplicado ao tratamento T3, que utilizou a coinoculação contendo os dois inoculantes. Quanto ao incremento em termos de NTG, verificou-se que os tratamentos T6 e T7 produziram nos grãos 21,2 e 17,98 g kg⁻¹ a mais, respectivamente, em comparação ao controle não inoculado (Tabela 5).

Ao se analisar o NV, o tratamento T7, que utilizou o *mix* de inoculante na maior dose de aplicação, sobressaiu-se estatisticamente, com 2298,00 vagens, apenas de diferir estatisticamente apenas do controle não inoculado (T1), com uma média de 2045,60 vagens por metro quadrado. Em termos de incremento relacionado a esse componente de produção, o T7 proporcionou um acréscimo de 252,40 vagens por metro quadrado a mais em comparação ao controle T1.

Tabela 4. Avaliação da % de nodulação viável avaliada no estágio R2.

TRAT	NVRP	NVRS %	NVT
T1	15,00 a	10,00 b	25,00 b
T2	17,00 a	21,00 ab	38,00 ab
T3	16,00 a	16,00 b	32,00 ab
T4	11,00 a	13,00 b	24,00 b
T5	28,00 a	18,00 ab	46,00 ab
T6	24,00 a	26,00 ab	50,00 a
T7	21,00 a	36,00 a	57,00a
F	2,06ns	4,17**	5,58**
CV (%)	9,39	14,96	13,64
Média	18,86	20,00	38,86

Média de cinco repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** = significância a 5%; F = teste F; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo; NVRP = porcentagem de nódulos viáveis na raiz principal; NVRS = porcentagem de nódulos viáveis nas raízes secundárias; NVT = porcentagem de nódulos viáveis totais.

Tabela 5. Caracteres agrônômicos e componentes de produção avaliados no estágio R8.

TRAT	EF plantas/m	APM -----cm-----	AIV -----	NV m ²	NTG g kg ⁻¹	NMGV unidades	MMG g	PG kg ha ⁻¹
T1	14,60 a	68,80 c	9,60 d	2045,60 b	25,60 d	2,20 d	153,31 e	3098,70 d
T2	14,40 a	73,00 b	10,50 cd	2088,80 ab	31,84 cd	2,33 bc	159,16 cd	4482,20 c
T3	15,60 a	73,80 b	11,40 bc	2185,60 ab	41,02 ab	2,39 bc	160,38 c	5072,90 b
T4	15,60 a	73,80 b	11,50 bc	2131,20 ab	30,78 cd	2,31 c	157,92 d	4246,20 c
T5	15,60 a	77,00 a	12,50 ab	2217,20 ab	36,06 bc	2,37 bc	162,91 b	5285,80 ab
T6	15,20 a	75,70 ab	12,20 ab	2252,40 ab	46,80 a	2,42 ab	166,53 a	5541,30 a
T7	15,40 a	75,60 ab	12,80 a	2298,00 a	43,58 a	2,51 a	165,27 a	5488,00 a
F	3,03 NS	14,73**	13,67**	3,78**	20,33**	17,95**	129,25**	200,00**
CV (%)	12,49	2,60	9,84	1,00	10,74	6,80	0,11	3,91
Média	15,20	73,96	11,50	2174,10	36,53	2,36	160,78	4745,00

Média de cinco repetições seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** = significância a 5%; F = teste F; CV = coeficiente de variação; EF = estande final; APM = altura de planta na maturação; AIV = altura de inserção da primeira vagem; NV = número de vagens obtida em um metro quadrado; NTG = Teor de nitrogênio nos grãos; NMGV = número médio de grãos por vagem; MMG = massa de mil grãos; PG = produtividade de grãos.¹média de três repetições de 10 vagens por parcela experimental.

Em relação ao NMGV, os resultados mostraram que a média geral do experimento foi de 2,36 grãos por vagem. Já para os tratamentos testados, o T7 e T6 também proporcionaram as maiores médias de grãos por vagem, com 2,51 e 2,42, respectivamente.

Quanto a MMG, os resultados mostraram que a média geral do experimento foi de 160,78 g. Já para os tratamentos testados, os tratamentos T6 e T7 produziram os maiores valores médios de massa de mil grãos, 166,53 e 165,27 g, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos analisados.

Quanto à produtividade de grãos (PG), (Tabela 5) a média geral dos tratamentos foi de 4745,00 kg ha⁻¹, demonstrando um excelente desempenho da cultura da soja no ano agrícola 2020/21, considerando a área de renovação de canavial. Segundo estimativas da Companhia Nacional do Abastecimento (2021), no estado de São Paulo, a oleaginosa foi altamente beneficiada pelas condições climáticas durante todo o desenvolvimento vegetativo, com uma produtividade estimada em 3.650 kg ha⁻¹, registrada como recorde estadual e com um incremento de 20,5% em relação à safra passada.

Os tratamentos T6 e T7 não diferiram estatisticamente entre si e se destacaram com os maiores valores de PG, com 5541,30 e 5488,00 kg ha⁻¹, respectivamente. O tratamento

T1 (controle não inoculado) obteve o menor valor médio, com 3098,70 kg ha⁻¹. Considerando o valor médio dos dois melhores tratamentos (T6 e T7), 5514,65 kg ha⁻¹, houve um aumento em termos de PG, ou seja, de 2415,95 kg ha⁻¹, ou 40 sacas ha⁻¹ em comparação ao controle não inoculado (T1).

Conclusão

A utilização do *mix* de inoculantes nas maiores doses, aplicado via sulco de semeadura para coinoculação da soja, proporcionou maiores valores de produtividade de grãos.

Agradecimentos

À Empresa Stoller do Brasil Ltda, por fornecer todo o material biológico para a condução dos trabalhos.

Referências

- Aita, C., Giacomini, S. J., Hubner, A. P., Chiapinotto, I. C., & Fries, M. R. (2004). Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. I – dinâmica de nitrogênio no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 28(4), 739-749.
- Ardakani, M. R., Mazaheri, D., Mafakheri, S., & Moghaddam, A. (2011). Absorption efficiency

of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 17, 181-192.

Bárbaro, I. M., Machado, P. C., Barbaro Junior, L. S., Ticelli, M., Miguel, F. B., & Silva, J. A. A. (2009). Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. *Colloquium Agrariae*, 5(1), 1-7.

Bataglia, O. C., Teixeira, J. P. F., Furlani, P. R., Furlani, A. M. C., & Gallo, J. R. (1983). Métodos de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas.

Chiaradia, J. J., Chiba, M. K., Andrade, C. A. D., Oliveira, C. D., & Lavoretti, A. (2009). Produtividade e nutrição de mamona cultivada em área de reforma de canavial tratada com lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33(3), 701-709.

Companhia Nacional do Abastecimento – CONAB. (2021). *Safra brasileira de grãos*. Recuperado em 15 de abril de 2022, de <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>

Day, P. R. (1965). *Particle fractionation and particle-size analysis*. In C. A. Blake (Ed.), *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling* (pp. 545-567). Madison: American Society of Agronomy.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. (2013a). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. (2013b). *Tecnologias de produção de soja. Região Central do Brasil*. Londrina: Embrapa Soja.

Fukami, J., Ollero, F. J., Megías, M., & Hungria, M. (2017). Fitohormônios e indução de genes de tolerância ao estresse vegetal e defesa por inoculação de sementes e foliar com células azospirillum brasilienses e metabólitos promovem o crescimento do milho. *AMB Express*, 7, 153.

Galindo, F. S., Teixeira Filho, M. C. M., Tarsitano, M. A. A., Buzetti, S., Santini, J. M. K., Ludkiewicz, M. G. Z., Alves, C. J., Nogueira, L. M., & Arf, O.

(2017). Economic analysis of corn inoculated with *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen sources and doses. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(4), 1749-1764.

Gastwirth, J. L., Gel, Y. R., & Miao, W. (2009). The impact of Levene's test of equality of variances on statistical theory and practice. *Statistical Science*, 24(3), 343-360.

Hawkins, D. M., & Weisberg, S. (2017). Combining the box-cox power and generalised log transformations to accommodate nonpositive responses in linear and mixed-effects linear models. *South African Statistical Journal*, 51(2), 317-328.

Lima, D. L. S., Bott, R., Bello, R. D., Nemoto, M. C. M., & Faria, F. A. (2019). Desempenho produtivo de soja em áreas de rotação com cana-de-açúcar. *Ciência & Tecnologia*, 11(1), 31-40.

Royston, P. (1995). Remark AS R94: a remark on algorithm AS 181: the W-test for normality. *Journal of the Royal Statistical Society*, 44(4), 547-551.

Sediyama, T., Teixeira, R. C., & Reis, M. S. (2005). Melhoramento da soja. In A. Borém (Ed.), *Melhoramento de espécies cultivadas* (pp. 553-603). Viçosa: Editora UFV.

Soares, M. B. B. (2014). *Sistemas de cultivo em área de reforma de cana-de-açúcar e a sucessão de culturas na composição da comunidade infestante* (Dissertação de mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal.

Spaepen, S., & Vanderleyden, J. (2015). Auxin signaling in *Azospirillum brasilense*: a proteome analysis. In F. J. Bruijn (Ed.), *Biological nitrogen fixation* (pp. 937-940). Hoboken: Wiley Blackwell.

Tanimoto, O. S., & Bolonhezi, D. (2002). *Plantio direto de soja sobre a palhada de cana-de-açúcar*. Campinas: CATI.

Torres, J. L. R., Kersul, P. A. P., Orioli Júnior, V., & Silveira, B. S. (2015) Inoculação e coinoculação da semente com bactérias diazotróficas e o desempenho agrônomo da soja. *Cadernos de Agroecologia*, 5(1), 1-11.

Van Raij, B. (2001). *Análise química para avaliação da fertilidade do solo*. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas.