

# AVALIAÇÃO DA CO-INOCULAÇÃO DAS SEMENTES DA SOJA1

Luan Dorigon<sup>2</sup>
Marciano Balbinot<sup>3</sup>
Neuri Antônio Feldmann<sup>4</sup>
Fabiana Raquel Mühl <sup>5</sup>

#### Resumo

A soja (Glycine max L. Merrill), é considerada a maior fonte de proteína utilizada na formulação de ração animal e produção de alimentos, tornando-se assim o seu cultivo, uma das principais atividades agrícolas do país, repercutindo grandemente no cenário alimentar, social e econômico brasileiro. Sabe-se também que a demanda mundial pela soja e seus derivados está aumentando, e para atender esse fator, é necessário que se produza mais. Todavia, a maneira mais adequada é ocupando a mesma área que a cultura já está inserida, portanto, trabalhar em cima de fatores que possam aumentar a produtividade é inevitável, sendo um desses fatores as questões nutricionais, onde o nitrogênio ganha destaque por se tratar do nutriente mais demandado pela cultura. Para fornecer este elemento essencial de forma mais sustentável, com economia financeira e sem agressões ao meio ambiente, destaca-se a fixação biológica de nitrogênio (FBN), onde por meio de simbiose entre plantas e bactérias do gênero Bradyrhizobium, ocorre a formação de nódulos nas raízes que, consequentemente, resultam no aproveitamento do nitrogênio atmosférico, reduzindo, ou até evitando a utilização de adubos guímicos no cultivo da soja. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os resultados da co-inoculação das sementes de soja através da utilização das bactérias do gênero Bradyrhizobium e Azospirillum. A pesquisa foi desenvolvida a campo em área de lavoura no município de Riqueza-SC, na cultura da soja, com parcela de testemunha e outra com o uso de bactérias para co-inoculação das sementes. As variáveis analisadas foram desenvolvimento das raízes, quantidade, peso e tamanho dos nódulos, aos 19 dias após a semeadura e a última análise foi feita no estádio R1. A co-inoculação das sementes de soja por meio da utilização das bactérias do gênero Bradyrhizobium e Azospirillum possibilitou o entendimento e diferenciação das sementes que não receberam co-inoculação, houve o desenvolvimento de raízes secundárias, formação de nódulos e peso dos nódulos, altura e peso das plantas superior para a soja co-inoculada, isso possivelmente impactará no aumento da produtividade.

Palavras-chave: bactéria; Glycine max; nutriente.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Pré-requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Centro Universitário FAI - UCEFF. Acadêmico do Curso de Agronomia.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Centro Universitário FAI – UCEFF. Professor de Agronomia. E-mail: marcianobalbinot@gmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Centro Universitário FAI – UCEFF. Me. em Fitotecnia. E-mail: neu\_neuri@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Centro Universitário FAI – UCEFF. Bióloga. Doutora em Agronomia. E-mail: fabiana@uceff.edu.br



#### Introdução

A cultura da soja é uma das mais importantes do mundo, por se tratar de uma planta oleaginosa, a qual contém 40% de proteína e 20% de óleo, podendo chegar a alta produtividade facilmente (Lopes *et al.*, 2002). Na safra 2022/2023 o Brasil alcançou o primeiro lugar como o maior produtor de soja do mundo, a cultura ocupou uma área de 44.062,60 milhões de hectares, totalizando em uma produção de 154.566,30 milhões de toneladas (Conab, 2023).

Para obter alto rendimento nas culturas vários fatores precisam estar de acordo com as necessidades da planta, como as condições edafoclimáticas e manejo adequado de adubação. Na soja o nutriente de maior exigência é o nitrogênio, pois é utilizado para fazer as funções básicas, sendo metabolizado e usado para formação de aminoácidos, proteínas e lipídeos (Bahry, 2011).

Para uma produção normal de 60 sc/ha de soja, há uma extração de aproximadamente 300 kg/ha de nitrogênio, cerca de 12 kg de nitrogênio para cada saco produzido de soja, sendo que mais de 60% do nitrogênio total é destinado para o grão (Carreson, 2021). E quando se busca alta produtividade a extração vai ser ainda maior, e é nesse momento que a co-inoculação entra na produção, pois ela contribui com o aumento do sistema radicular e os números de nódulos por planta (Hungria; Campo; Mendes, 2007; Stecca, 2020).

A co-inoculação nada mais é do que a combinação de *Bradyrhizobium* juntamente com a bactéria *Azospirillum brasilense*, essa junção de bactérias vem mostrando bons resultados na produção de soja. A bactéria do gênero *Bradyrhizobium* faz a parte de fixação de nitrogênio que a planta necessita por meio de nódulos das raízes. Já a bactéria *Azospirillum brasilense* estimula o desenvolvimento de hormônios, fazendo com que o sistema radicular da planta fique maior, facilitando a absorção de água e nutrientes (Embrapa, 2019; Hungria; Nogueira; Araujo, 2015).



Aplicando a co-inoculação na cultura da soja, proporcionou uma produtividade maior em relação a fazer a inoculação padrão onde é colocando somente a bactéria do gênero *Bradyrhizobium*. Portanto, percebe-se que a técnica de co-inoculação é viável, pois ela acaba proporcionando um potencial de produtividade maior sem adição de fertilizantes nitrogenados, diminuindo os custos de produção (Hungria; Nogueira; Araujo, 2015; Jaborrova *et al.*, 2021).

Diante deste contexto, o trabalho foi desenvolvido, com o objetivo de avaliar os resultados da co-inoculação das sementes de soja através da utilização das bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Assim, a pesquisa aborda sobre as recomendações técnicas da atividade da co-inoculação, desenvolvimento radicular e vegetativo das plantas, comportamento das plantas a partir da semeadura, quantidade de nódulos estabelecidos na planta e peso de nódulos totais por planta.

#### Fundamentação Teórica

### Fixação Biológica De Nitrogênio (FBN)

A fixação biológica de nitrogênio nada mais é do que uma tecnologia usada para aumentar a produtividade e minimizar as perdas do nitrogênio pelo ambiente nas culturas agropecuárias. Essa técnica foi iniciada no Brasil no ano de 1950 realizado pelos Agrônomos Ruy Jardim Freire (1923-2015) e Johanna Döbereiner (1924-2000). Após vários estudos, na década seguinte os inoculantes produzidos a base de bactérias capazes de retirar o nitrogênio do ar e fornecer a plantas, começaram a serem usados em larga escala no país (Jones, 2019).

Aproximadamente 80% do ar é composto por nitrogênio, sendo considerado o elemento mais abundante da atmosfera, mas as plantas não são capazes de metabolizar esse elemento diretamente do ar (Embrapa, 2023).

É sabido que a soja exige uma alta demanda de nitrogênio, no Brasil, seria



economicamente inviabilizado o cultivo, caso fosse aplicar todo o nitrogênio que a planta necessita. Sabendo disso foram desenvolvidas pesquisas pensando no objetivo de maximizar o processo de fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja (Alves; Aguila, 2020).

FBN que é um processo biológico feito por bactérias que possuem um complexo de enzimas conhecidas como nitrogenase. No qual, essas transformam o nitrogênio do ar em uma forma assimilável para a planta, nesse quesito, a cultura apresenta baixo custo de produção, sendo de grande interesse para os agricultores, por dispensar a aplicação de fertilizantes nitrogenados (Embrapa, 2023).

A FBN já vem sendo explorada há séculos, mas o seu domínio se deu há poucas décadas e hoje essa se encontra facilmente para comercialização, podendo ser fornecida em diversas culturas, mas ganha destaque para a cultura de soja (Embrapa, 2023).

Dentre os diversos organismos fixadores de nitrogênio, pode-se destacar as bactérias popularmente conhecidas como rizóbio onde se associam com plantas leguminosas. A junção entre os rizóbios e as leguminosas é a fonte mais importante de nitrogênio fixado por bactéria em sistemas agrícolas. Essa junção se destaca das outras devido a sua eficiência no processo de fixação, decorrente de uma parceria mais evoluída entre macro e microssimbiontes conhecida como simbiose (Moreira; Siqueira, 2006).

A eficiência em uma associação leguminosa e rizóbio é alvo de muitos estudos pelo mundo, onde o principal objetivo é suprir totalmente as necessidades da planta por nitrogênio pela FBN (Moreira, Siqueira, 2006). Mas para se ter uma fixação eficiente, existem diversos fatores como a temperatura, umidade, características químicas e físicas do solo, os quais influenciam tanto na bactéria como na planta. Outro fator que se pode destacar é a compatibilidade entre a planta hospedeira e o rizóbio (Herridge; Rose, 2000) pois sejam quais forem as condições do ambiente, deixará ou não que o processo se estabeleça de maneira que ambos os organismos sejam favorecidos.



A nitrogenase é um complexo enzimáticos onde realiza a redução do N<sub>2</sub> atmosférico em amônia, esse complexo é composto por duas proteínas, a dinitrogenase (Mo-Fe proteína) e dinitrogenase- redutase (Fe-proteína). Esse composto enzimático é bastante sensível ao oxigênio, pois provoca a desnaturação irreversível de ambos compostos proteicos. Portanto os microrganismos fixadores de nitrogênio apresentam um mecanismo de proteção contra a ação do oxigênio na nitrogenase (Drozdowicz; Hungria; Vargas, 1997).

A necessidade de adubação nitrogenada, o alto custo de produção, a perda de nitrogênio pelo ambiente e o grande risco de aplicação de nitrogênio, esses são alguns dos fatores que justificam as conduções de estudos voltados a utilização de bactérias que fixam o nitrogênio, reduzindo as perdas para o ambiente, diminuindo a poluição das águas, solos e custo de produção (Embrapa, 2023).

Jones (2019) afirma que das novas práticas da tecnologia de aplicação de microrganismo, a simbiose com a soja chega a dispensar totalmente o uso de fertilizante nitrogenados. O autor afirma que competitividade da soja cultivada no Brasil se deve ao uso de inoculantes eficientes.

Para que ocorra a fixação biológica do nitrogênio na soja se fazem necessários dois micronutrientes, o cobalto (Co) e o molibdênio (Mo), pois assumem funções fundamentais. O cobalto realiza o processo metabólico no interior do nódulo e é importante para a formação da le-ghemoglobina, que é uma substância que regula a quantidade de O<sub>2</sub> no nódulo. Já o molibdênio faz a parte do complexo da enzima nitrogenase, quando apresenta pouca quantidade ou na falta, compromete a capacidade de transformação do nitrogênio em amônia, diminuindo drasticamente a produtividade (Araujo, 2013).

A inoculação das sementes de soja com as espécies de bactéria *B. japonicum* e/ou *B. elkanii*, onde através de enzimas dinitrogenase transformam o N<sub>2</sub> da atmosfera em NH<sub>3</sub> (amônia) fornecendo para utilização da planta, em troca disso a planta fornece energia obtida pela fotossíntese para a bactéria (Gonzaga *et al.*, 2020).



Essa fixação representa um dos fatores de competitividade na cultura da soja, no Brasil essa prática é utilizada pela grande maioria dos produtores de soja, estima-se que a demanda dessa tecnologia representa uma economia de fertilizantes nitrogenados entre 13 bilhões de dólares anuais (Embrapa, 2023).

#### Gênero Bradyrhizobium

De acordo com Jordan (1982), os rizóbios são divididos em dois, os de multiplicação lenta (*Bradyrhizobium*) e os de multiplicação rápida (*Rhizobium*), então sugeriu-se uma separação taxonômica baseada em curvas de crescimento. O gênero de multiplicação lenta era composto por apenas uma espécie, *B. japonicum*, isolado a partir dos nódulos das raízes da soja. Contudo o termo rizóbio inicialmente era utilizado para designar bactérias pertencentes ao gênero *Rhizobium* mas vem sendo utilizado para todas as bactérias capazes de fixar nitrogênio em associação com leguminosas, capazes de formar nódulos nas raízes e que pertencem a um dos gêneros relatados (Willems, 2007).

pertencentes As bactérias ao gênero *Bradyrhizobium* apresentam crescimento lento, tempo de geração de 7 a 13 horas e alcalinização do meio de cultivo levedura-manitol, contendo azul de bromotimol como indicador de pH. São Gram-negativos e possuem a forma de bastonete, sendo a sua mobilidade dada por um flagelo polar ou subpolar. A temperatura para o seu crescimento ocorre entre 25 e 30°C e em meio de cultivo levedura-manitol apresentam colônias brancas, circulares, convexas e opacas, raramente translúcidas, tendendo a ser granulares na textura e seu tamanho não excede a um milímetro de diâmetro para um período de incubação de 5 a 7 dias. As bactérias pertencentes ao gênero Bradyrhizobium são capazes de induzir a nodulação em leguminosas tropicais e temperadas (Santos, 2013).

Vários trabalhos começaram a surgir na década de 80 e no início da década 90 demonstrando que existe grande variabilidade fisiológica e genética entre as



classes de *B. japonicum* (Hollis; Kloos; Elkan. 1981; Stanley *et al.*, 1985). Com os resultados dos estudos já levantados Kuykendall *et al.* (1992) tiveram a ideia de fazer uma subdivisão de *B. japonicum* em duas espécies: *B. japonicum* como do grupo 1 e *B. elkanii*, como do grupo 2 sendo assim essa nomenclatura teve validade pelo International Journal of Systematic Bacteriology a partir de 1993.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda para a inoculação das sementes de soja quatros variedades de rizóbios: duas são pertencentes a espécies *B. elkanii* (SEMIA 587 e a SEMIA 5019), uma de *B.japonicum* (SEMIA 5079) e a outra de *B. diazoefficiens* (SEMIA 5079) (Brasil, 2011).

Os nódulos são resultados da infecção provocada por bactérias fixadoras de nitrogênio nas raízes de plantas leguminosas, como mostrado na Figura 1. As leguminosas são principalmente infectadas, pelas bactérias diazotróficas dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (Hungria; Vargas, 2007). O processo de formação de nódulos nas raízes começa com a adaptação da bactéria na planta, a formação dos nódulos começa aproximadamente 2 horas após o contato da bactéria com as raízes. Os primeiros nódulos que vão aparecer são desenvolvidos nas regiões alongadas e nas zonas de formação dos pelos radiculares são consideradas as regiões preferenciais para a infecção das bactérias (Bhuvaneswari; Turgeon; Bauer, 1980).

As células hospedeiras como as bactérias estão sempre em mudanças, e nas bactérias visam principalmente o recebimento de fonte de carbono da planta, para assim fornecer a ATP e junto o poder redutor que é necessário para o processo da FBN. As mudanças da planta destinam-se a assimilar a amônia que é produzida e fornecida pelas bactérias (Hungria; Campo; Mendes, 1994).

Para a FBN e a sobrevivência do rizóbio, o estresse hídrico e temperaturas muito elevadas podem ser fatores negativos, fazendo com que seja limitado o bom funcionamento da bactéria (Hungria; Campo; Mendes, 2007). Segundo estudos a semeadura deve ser realizada em uma temperatura média de 20 a 30 °C, caso for



Revista Inovação – Centro Universitário Fai Vol 3, 2024 ISSN 2764-9199

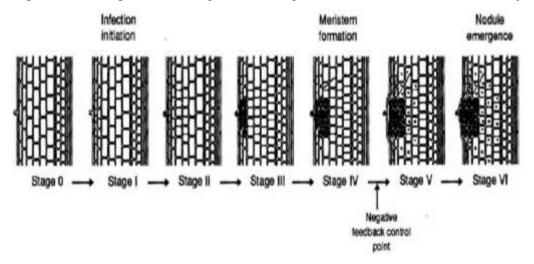
acima desse patamar ocorre a diminuição do número de bactérias que fazem a nodulação, prejudicando a colonização nas raízes e a germinação uniforme da planta (Embrapa, 2006).

O processo de infecção da bactéria se inicia com a exsudação da planta hospedeira pelas raízes, de compostos flavonoides, facilitando a colonização da rizosfera e outros compostos de ação quimiotáticos, possibilitando que a bactéria chegue até as raízes da planta onde se aderem com facilidade. Com a liberação dos flavonoides pela planta, faz com que a bactéria desencadeia a produção de nodulação (fatores Nod). Esses fatores Nod são lipooligossacarídeos quitinos específicos que interagem com a planta, demonstrando o seu início do efeito a curvatura dos pelos radiculares, logo após desencadeia divisão das células corticais e promovem a forma dos nódulos (Hungria; Vargas, 2007; Stacey et al., 2006).

Após a infecção da bactéria na planta de soja acontece as alterações anatômicas nas raízes, Gerahty et al. (1992) explica como ocorre esse crescimento e o desenvolvimento dos nódulos de uma forma cronológica. Para entender como acontece as alterações após a infecção, no início das divisões celulares dentro e fora do córtex radicular formando os nódulos meristemáticos ocorrendo assim inúmeras divisões mitóticas. O estágio 0 - são raízes que não foram infectadas, estágio I - é o início da infecção da bactéria, estágio II - começando a dividir as células corticais externas, estágio III - a divisão é notável no córtex interno e algumas células do córtex externo, estágio IV – apresenta algumas divisões oblíquas internamente e externamente no córtex e formação de um meristema nodular, estágio V – o tamanho do meristema é aumentado, estágio VI – o nódulo é emergido.



Figura 1 - Estágios de infecção e formação de nódulos em raízes de soja.



Fonte: Geraghty et al. (1992).

Para haver uma boa fixação de nitrogênio é de extrema importância que a nitrogenase se encontre em condições anaeróbicas. O interior dos nódulos apresenta uma coloração rosácea em função a presença da leghemoglobina, sua principal função é no transporte de oxigênio, então os nódulos que contêm a coloração rosácea mais intensa no seu interior podem se afirmar que estão saudáveis. A planta produz a porção globina conforme a infecção da bactéria. A leghemoglobina e a barreira de difusão de oxigênio são reguladores muito importante na tensão de oxigênio nos nódulos, protegendo os complexos enzima nitrogenase que na presença do oxigênio é inativada (Mylona; Pawlowski; Blssellng, 1995).

Segundo Hungria, Campo e Mendes (2001) para termos uma boa FBN e alta produtividade é necessário ter uma quantidade adequada de nódulos por planta e massa de nódulos, esses fatores estão interligados com a FBN e com o fornecimento de nutrientes à planta. Sendo que os nódulos de tamanho ideal se encontram igual ou superior a 2 mm, já no número de nódulos em época de florescimento da planta tem que ter entre 15 a 30 nódulos ou 100 a 200 mg de nódulos por planta. Hungria e Vargas (2007) afirma que, com uma boa FBN, pode



atingir taxas de fixação de nitrogênio superiores a 300 kg/ha, suprindo assim totalmente a necessidade desse nutriente demandado pela planta.

### Gênero Azospirillum

A partir do ano 2000 começou a ser fornecida como inoculaste uma nova classe de microrganismo, que são as bactérias promotoras de crescimento de plantas. A mais utilizada é a *Azospirillum brasilense*, que são capazes de produzir fitos-hormônios e podendo também fixar o nitrogênio, mas com uma eficiência menor que a Bradyrhizobium (Jones, 2019).

O gênero azospirillum são mundialmente conhecidas como as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), sendo de vida livre no solo e encontrada em quase toda parte do planeta. Sabe-se que essas bactérias são capazes de produzir hormônios de crescimento como auxinas, giberelinas e citocinina, verificou-se que a liberação destes fito hormônios estimulam a formação de pelos radiculares, aumento da taxa de raízes secundárias e de superfície radiculares, quando as plantas são colonizadas pela bactéria, possibilitando maior captação de água e nutrientes para a planta (Hungria, 2016).

Essa bactéria pode ser encontrada no mucigel que está presente na rizosfera das plantas, com isso pode-se dizer que caracteriza numa colonização externa das raízes, já na colonização internas a bactéria azospirillum penetra nos espaços intercelulares das raízes fazendo a sua colonização (Silva; Rodrigues, 2019).

Quando essa bactéria infecta raízes de plantas leguminosas resulta numa maior nodulação, tem sido atribuído uma movimentação mais expressiva no solo do que o rizóbio, ocupando assim as raízes das leguminosas por primeiro, e promovendo um condicionamento melhor para a entrada e colonização das bactérias formadoras de nódulos (Rodelas *et al.*, 1999).



#### Co-Inoculação

A tecnologia de co-inoculação foi lançada pela Embrapa em 2014, que consiste em utilizar dois tipos de bactérias aplicadas ao mesmo tempo nas sementes antes da semeadura. De acordo com a Embrapa, a utilização dessa tecnologia pode aumentar a produtividade da soja em até 16% (Jones, 2019).

Essas tecnologias consistem em adicionar mais de um microrganismo numa técnica já difundida a tempo pelos agricultores que consiste na inoculação onde temos a bactéria fixadoras de nitrogênio, conhecida como *Bradyrhizobium* junto com a bactéria que promove hormônios de crescimento em gramíneas conhecida como *Azospirillum*. Essa técnica permite aumentar a capacidade de fixação de nitrogênio e, assim, conseguir diminuir a necessidade de aplicação de fertilizantes nitrogenados, reduzindo bastante o custo de produção e os impactos ambientais (Embrapa, 2023).

A técnica de co-inoculação estimular o crescimento das raízes das plantas por meio de hormônios, com o aumento das raízes as plantas têm mais resistência das plantas às doenças e ao estresse causada por algum fator adverso, deixando uma planta mais vigorosa e sadia, resultando em uma maior produtividade e qualidade do grão. A co-inoculação é uma ferramenta muito promissora para os agricultores que desejam alcançar uma agricultura mais sustentável e produtiva, sem comprometer o meio ambiente (Embrapa, 2023).

A co-inoculação é uma tecnologia que condiz com a abordagem da agricultura atual, respeitando a demanda de alto rendimento, mas com sustentabilidade agrícola, econômico, social e ambiental. As associações com o gênero *Azospirillum* junto com o *Bradyrhizobium*, tem uma taxa de sucesso mais elevada em planta, simplesmente pelo fato de melhorar o equilíbrio metabólico, a nutrição pela absorção mais eficaz de NPK, S e entre outros micronutrientes importante para o desenvolvimento das plantas estimula a nodulação e potencialização da atividade



dos nódulos, massa e números total de nódulos, área da superfície radicular, diferenciação das células epidérmicas em pelos radiculares, resultando em uma planta mais vigorosa e sadia, em virtude disso há um aumento de produtividade (Brasil, 2023).

Essa técnica pode ser usada tanto na semente antes da semeadura, com um método de pulverização e podendo ser usado via sulco, onde esse vai acoplando um reservatório na máquina que fazer a semeadura, e o produto é direcionado por mangueiras até no sulco (Hungria, 2016).

Os produtos que contém o *Azospirillum brasilense* têm sido destinados para o uso de inoculação em plantas de soja, acompanhado com as bactérias fixadoras de nitrogênio, esse método é usado tanto na Argentina como na África do Sul. Pode-se destacar que, quando essas duas bactérias são posicionadas juntas, ocorre a potencialização da nodulação, ou seja, nodulação mais eficaz, ocorre também o aumento das raízes, fazendo com que a planta busque mais água e nutriente para seu desenvolvimento e produção de grão (Ferlini, 2006).

#### Metodologia

O estudo foi realizado em área de campo, em lavoura de soja, a propriedade escolhida é localizada no município de Riqueza - SC coordenadas 26°58'30"S 53°23'41"W a variedade de soja é da marca Pioneer 95R40 com tratamento de semente industrial Demarcor, Fipronil alta e rancona T, população 240 mil sementes/ha. Antes do plantio, foi realizado a aplicação da co-inoculação, usando uma máquina desenvolvida pela própria empresa Figura 2. Através de um produto comercial com concentração de 200 milhões de unidades formadoras de colônias de *Azospirillum brasilense* por ml, o outro produto, com concentração de 5 bilhões de unidades formadoras de colônia de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii* por ml, a dosagem a ser usada é de 100 ml a cada 50kg de semente.

O estudo contou com a participação do produtor, do Engenheiro Agrônomo



responsável (supervisor), no qual antes de dar início no plantio foi realizado a aplicação dos produtos para co-inocular.



Figura 2 - Máquina de inocular/co-inocular sementes.

Fonte: Do autor (2023).

A recomendação da adubação foi baseada na análise de solo, no qual foi recomendado 250 kg de adubo formulado por hectare. A dessecação da área foi feia 20 dias antes do plantio, com 2,4D e glifosato. Uma porção de semente foi coinoculado no dia do plantio e outra porção foi deixada sem co-inoculação a fim de servir de testemunha, logo após o plantio foi aplicado herbicida pré-emergente, em toda a área.

O método de coleta das raízes da soja foi realizado com uma picareta, a qual corta o solo perto da planta, removendo uma porção de solo junto com a planta. Feito isso, a amostra foi alocada cuidadosamente em uma embalagem plástica para posteriormente em local adequado ser lavada a porção de solo afim de realizar as análises. Depois das raízes estarem secas foi realizada a retirada dos nódulos para a contagem e colocada um em recipiente referente a cada planta.

Para realizar a medição dos nódulos foi utilizado um paquímetro Figura 3, já a contagem foi de modo manual e a pesagem foi utilizado uma balança de precisão



Figura 4. Após a coleta de dados, estes foram tabulados em planilha utilizando o Software Microsoft Office Excel.

Figura 3 – Medição dos nódulos com paquímetro.



Fonte: Do autor (2023).

Figura 4 – Pesagem dos nódulos.



Fonte: Do autor (2023).



# Apresentação e Discussão Dos Dados

O plantio iniciou-se no dia 3 de novembro de 2023, após quatro dias foi retornado para o local a fim observar a lavoura, e foi contatado que grande parte das plântulas já estavam emergidas conforme pode-se observar na Figura 5. Vale ressaltar que apesar da região apresentar níveis pluviométricos acima da média da região, houve uma germinação homogênea da soja. No sétimo dia a soja apresentou alguns danos nas primeiras folhas em desenvolvimento, por ataque de inseto conhecido como vaquinha-patriota (*Diabrotica speciosa*), neste momento o Agrônomo responsável indicou fazer o controle químico, a base de lambdacialotrina.

Figura 5 – Avaliação da soja na lavoura.

Fonte: Do autor (2023).

Na Figura 6 pode-se observar as raízes tortas devido a compactação do solo que foi observado, esse fator dificulta o desenvolvimento das raízes e



consequentemente o desenvolvimento da cultura.



Figura 6 – Avaliação das raízes da soja.

Fonte: Do autor (2023).

Na Figura 7 observa-se a retiradas das plantas no estádio V3 a V4 para realizar as primeiras análises dos nódulos. Devido a compactação do solo usou-se uma fermenta (picareta) para a retirada a soja do solo, foi coletada 4 plantas co-inoculadas e 4 plantas da testemunha.



Figura 7 – Coleta de plantas de soja para análise.



Fonte: Do autor (2023).

A partir da Figura 8, pode-se observar as diferenças entre os desenvolvimentos das raízes das sementes co-inoculadas (lado A) e da testemunha (lado B). O lado A possui mais raízes secundárias do que o lado B, possivelmente ocorreu devido a co-inoculação pois a mesma estimula o aumento do crescimento da raiz, elevando a capacidade da planta de absorver nutrientes e água.

O aumento do crescimento da raiz ocorre devido à produção de um fitormônio, que estimula o alongamento das raízes. Assim, um sistema radicular maior é capaz de desenvolver a sua capacidade de resistência e de penetração em camadas mais profundas (Hungria, 2016)



Figura 8 – Comparativo de plantas de soja, lado A: plantas co-inoculadas e lado B: plantas testemunhas.



Fonte: Do autor (2023).

A realização da pesagem e medição dos nódulos de cada planta coletada resultou em uma quantidade de dados, que foram tabulados e os resultados obtidos estão demonstrados no Quadro 1, na qual é possível a observação dos resultados das contagens, do peso e da média do tamanho dos nódulos.



Quadro 1- Quantidade de nódulos, peso dos nódulos por planta (PNP) e a média do tamanho dos nódulos (MTN).

Amostra	Quantidade de nódulos	Copo com nódulos (mg)	Copo sem nódulos (mg)	PNP (mg)	MTN (mm)		
TESTEMUNHA							
1	10	2737	2697	40	2,5		
2	17	2896	2818	78	2,8		
3	14	2766	2696	70	2,6		
4	16	2803	2748	50	2,2		
CO-INOCULADA							
1	37	2808	2642	166	3,3		
2	28	2742	2639	103	2,3		
3	34	2783	2631	152	2,8		
4	25	2749	2600	149	2,4		

Fonte: Do autor (2023).

A média do peso médio por planta ficou em 59,50 mg para a testemunha, já a média das plantas co-inoculadas foi de 142,50 mg, havendo uma diferença de 83 mg a mais de peso de nódulos para as plantas co-inoculadas. Desse modo, foi observado um ganho médio de 2,4 vezes com a co-inoculação da semente da soja em relação a testemunha.

Destaca-se aqui que houve um aumento no crescimento radicular da soja coinoculada, e isso resultou em maior nodulação e, portanto, ocorrerá um estimulo maior da fixação biológica de nitrogênio pelo rizóbio.

Na Figura 9 foram retiradas as últimas plantas para análise dos dados, a soja se



encontrava do estádio R1, onde foram retiradas 20 plantas co-inoculadas e 20 plantas da testemunha, na figura podemos observar uma diferença no tamanho das plantas.

Figura 8 – Comparativo de plantas de soja, lado A: plantas co-inoculadas e lado B: plantas testemunhas.



Fonte: Do autor (2023).

Logo após foram feitas as seguintes analise, altura das plantas, massa verde e massa seca das plantas, quantidade de nódulos por planta e peso de nódulos por plantas. Esses dados foram tabelados e os resultados estão no Quadro 2.

Quadro 2 - Quantidade de nódulos, altura da planta, massa verde e seca das plantas peso dos nódulos por planta (PNP) e a média do tamanho dos nódulos (MTN).

Amostra	Quantidade de nódulos	Altura (cm)	Massa verde das plantas (g)	Massa seca das plantas (g)	PNP (mg)	MTN (mm)
TESTEMUNHA						



1	20	38	27	06	90	2,5
2	18	34	30	07		
					63	2,8
3	22	32	24	04	95	2,6
4	16	34	22	04	100	2,2
5	17	36	26	05	92	2,5
6	21	38	28	06	98	2,3
7	20	38	23	04	81	2,8
8	18	38	22	04	56	2,1
9	21	32	20	03	80	1,8
10	16	34	20	04	54	2,6
11	15	38	22	05	108	2,3
12	12	34	21	05	102	2,5
13	15	36	23	06	58	2,1
14	17	34	18	03	94	2,8
15	16	38	24	04	90	2,3
16	14	32	18	03	86	2,6
17	12	36	23	05	63	1,6
18	13	34	20	04	58	2,4
19	16	38	24	05	68	2,6
20	17	34	21	04	64	2,5
		C	D-INOCULAD	A		
1	45	58	68	15	335	3,3
2	30	50	60	12	183	2,3
3	42	53	62	12	215	2,8
4	38	48	64	13	210	2,4
5	34	51	58	10	347	3,2
6	37	52	55	10	253	2,8
7	46	55	61	14	218	2,6



Revista Inovação – Centro Universitário Fai Vol 3, 2024 ISSN 2764-9199

8	40	55	57	12	275	3,2
9	35	50	52	10	174	2,7
10	43	54	64	14	282	3,5
11	37	53	68	15	210	3,2
12	42	54	61	12	246	2,8
13	41	51	58	10	185	2,5
14	38	52	57	10	176	2,5
15	45	50	68	16	284	3,2
16	42	50	64	14	275	3,4
17	38	52	58	10	242	3,4
18	44	58	62	12	228	3,3
19	42	53	58	10	261	3,4
20	37	51	56	10	184	2,8

Fonte: Do autor (2023).

Segundo Seixas et al. (2020) próximo ao estádio V1 da planta é quando ocorre o começo da infecção da bactéria Bradyrhizobium nas raízes da planta e formação dos nódulos, entre cinco e doze dias após a emergência da plântula podese observar os primeiros nódulos, e se a planta não apresentar 10 nódulos no estádio V3, será necessário fazer uma complementação de inoculante via foliar.

Sabe-se que no estádio R1 ocorre um ligeiro aumento na taxa de fixação do nitrogênio, sendo assim, uma planta bem nodulada que visa suprir demanda de nitrogênio da soja, deve apresentar diâmetro igual ou superior a 2 mm, já no número de nódulos tem que ter entre 15 a 30 nódulos ou 100 a 200 mg de nódulos por planta durante esse período (Hungria; Campo; Mendes, 2001). Hungria, Campo e Mendes (2007) afirmam que, com uma boa FBN, pode atingir taxas de fixação de nitrogênio superiores a 300 kg/ha, suprindo assim totalmente a necessidade desse nutriente demandado pela planta.



## Considerações Finais

A co-inoculação das sementes de soja por meio da utilização das bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* possibilitou o entendimento e diferenciação das sementes que não receberam co-inoculação. As plantas que emergiram de onde receberam a co-inoculação tiveram um desenvolvimento melhor do que as demais. A partir da análise dos dados e desenvolvimento da planta, principalmente as raízes, tivemos uma melhora comparada as plantas que não foram co-inoculadas, foi observado que mesmo em solos compactados a co-inoculação obteve desempenho satisfatório. Também houve o desenvolvimento de raízes secundárias, formação de nódulos e peso dos nódulos altura e peso das plantas superior para a soja co-inoculada, isso possivelmente impactará no aumento da produtividade.

Estudos mais recentes localizaram outra bactéria do gênero *Azospirillum*, que ficou conhecida mundialmente pela sua capacidade de estimular a formação dos hormônios de crescimento como auxinas, giberelinas e citocinina. Essa bactéria associada com *Bradyrhizobium* tem uma taxa de sucesso mais elevada, simplesmente pelo fato de melhorar o equilíbrio metabólico resultando numa maior nodulação e melhor absorção de NPK, S e entre outros micronutrientes importantes.

#### Referências Bibliográficas

ARAUJO, C. S; **Fixação Biológica do Nitrogênio – importância de dois micronutrientes.** 2013. Disponível em: http://www.anpii.org.br/fixacao-biologica-do-nitrogenio-importancia-de-dois-micronutrientes/. Acesso em: 11 jul. 2023.

ALVES, A. C. O.; AGUILA; L. S. H. **A importância da fixação biológica para a cultura da soja**. XXIX Congresso de Iniciação Científica. Semana Integrada Universidade Federal de Pelotas (UFPel) 2020. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2020/CA 01038.pdf. Acesso em: 14 set. 2023.



BRASIL. **Programa ABC.** Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. 2023. Disponível em:

https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/sustentabilidade/planoabc/arquivo-publicacoes-plano-abc/fixacao-biologica-do-nitrogenio.pdf . Acesso 24 set. 2023.

BRASIL. Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011. Aprova as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no brasil, na forma dos Anexos I, II e III, desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, ano 2011, n. 58, 25 mar. 2011. Disponível em: <a href="https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumosagropecuarios/insumosagricolas/fertilizantes/legislacao/insda-13-de-24-03-2011-inoculantes.pdf">https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumosagropecuarios/insumosagricolas/fertilizantes/legislacao/insda-13-de-24-03-2011-inoculantes.pdf</a>. Acesso em: 8 jul. 2023.

BHUVANESWARI, T. V; TURGEON, B. G; BAUER, W. D. Early events in the infection of soybean by *Rhizobium japonicum*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 66, p. 1027-1031, 1980.

BAHRY, C. A. Desempenho agronômico da soja em função da adubação nitrogenada em diferentes estádios reprodutivos. Pelotas: UFPEL, 2011.

CARRESON, D. **Adubação nitrogenada e a produtividade da soja.** 2021. Disponível em: <a href="https://agron.com.br/pt\_br/informacoes/artigos-cientificos/2021/10/01/adubacao-nitrogenada-e-a-produtividade-da-soja/">https://agron.com.br/pt\_br/informacoes/artigos-cientificos/2021/10/01/adubacao-nitrogenada-e-a-produtividade-da-soja/</a>. Acesso em: 05 out. 2023.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Quadro de oferta e demanda da soja no Brasil**. Disponível em: <a href="https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/oferta-e-demanda-de-graos">https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/oferta-e-demanda-de-graos</a>. Acesso em: 12 set. 2023.



DROZDOWICZ, A.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. **Biologia dos solos dos cerrados.** Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 17-67. 1997.

EMBRAPA - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias De Produção de Soja – região central do Brasil 2007**. (Sistemas de Produção 11)
Londrina: Embrapa Soja. 2006.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **História da soja**. 2023. Disponível em: <a href="https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia">https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia</a> . Acesso em: 14 set. 2023.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Fixação Biológica de Nitrogênio.** 2023. Disponível em: <a href="https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/fixacao-biologicadenitrogenio#:~:text=Mas%2C%20considerando%20os%20impactos%20ambientais,e%20de%20outros%20componentes%20ambientais . Acesso em: 15 set. 2023.

EMBRAPA- Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. **Técnicas de inoculação de bactérias aumentam a produtividade da soja**. 2019. Disponível em: <a href="https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/42282400/tecnicas-de-inoculacao-de-bacterias-aumentam-produtividade-da-soja. Acesso em: 05 out. 2023.</a>

FERLINI, H. A. Co-inoculacion em soja (*Glicyne max*) com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Santa Fé, Engormix, 2006.

GERAHTY, N; ANOLLÉS, G. C; JOSHI, P. A; GRESHOFF, P. M. Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. **Plant Science**, v.85, p.1-7. 1992.

GONZAGA, T. O. D; VILAR, C. C; SILVA FILHO, A. S; SILVA, V. L. Interação bradyrhizobium e azospirllum em cultivares de soja (*Glycine max* (I.) Merrill) e seus efeitos na produtividade. **Scientific Electronic Archives,** V. 13, n. 1, p. 1-7, 2020. Disponível em: file:///C:/Users/Luan/Downloads/GONZAGA,%202020.pdf . Acesso



em: 11 set. 2023.

HERRIDGE, D.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.65, n.2, p.229-248, 2000.

HUNGRIA, M. **Azospirillum:** um velho novo aliado. Fertbio, 2016. Disponível em: https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1057259/azospirillum-um-velho-novo-aliado. Acesso em: 11 jul. 2023.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja; Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. (Embrapa Soja. **Circular Técnica, 35**; Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 13).

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. **Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro.** Edição Biologia dos Solos dos Cerrados. Embrapa-CPAC, Planaltina. p.189-295. 2007.

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, 2007.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio em soja.** Microrganismos de importância agrícola. Brasília: Embrapa,1994. p. 9-90. 1994.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plaint Sciences**, v. 6, p. 811-817, 2015.

HOLLIS, A. B; KLOOS, W. E; ELKAN, G. E. DNA: DNA hybridization studies of *Rhizobium japononicum* and related Rhizobiaceae. **Journal of General Microbiology**, New York, v.123, n.2, p.215-222, 1981.

JONES, F. Os primeiros inoculantes: Produtos feitos com bactérias que captam nitrogênio na lavoura de soja remontam aos anos 1960. **Revista pesquisa FARESP,** 



nº 285. 2019. Disponível em:

https://revistapesquisa.fapesp.br/osprimeirosinoculantes/#:~:text=O%20sucesso%20 comercial%20alcan%C3%A7ado%20pela,Freire%20(1923%2D2015) . Acesso em: 23 mai. 2023.

JORDAN, D. C. Transfer of Rhizobium *Japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. Nov., a genus of slow growing root nodule bactéria from leguminous plants.

International Journal os Systematic Bacteriology, v. 32, p. 136-139, 1982.

JABORROVA, D.; KANNEPALLI, A.; DAVRANOV, K.; NARIMANOV, A.; ENAKIEV, Y.; SYED, A.; ELGORBAN, A. M.; BAHKLI, A. H.; WIRTH, S. Co-inoculation of rhizobacteria promotes growth, yield, and nutrient contents in soybean and improves soil enzymes and nutrients under drought conditions. **Sci Rep 11**, 22081 (2021). Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-021-01337-9">https://doi.org/10.1038/s41598-021-01337-9</a> . Acesso em: 05 out. 2023.

KUYKENDALL, L. D.; SAXENA, B; DEVINE, T. E.; UDELL, S. E. Genetic diversity in *Bradyrhizobium Japonicum* Jorda (1982) and a proposal for *Bradyrhizobium Elkanii* sp. Nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 501-505, 1992.

LOPES, A. C. A.; VELLO, N. A.; PANDINI, F.; ROCHA, M. M.; TSUTSUMI, C. Y. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 2, p. 241-348, abr/ jun. 2002.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: ed. UFLA, 2006.

MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K.; BLSSELLNG, T. Symbiotic Nitrogen Fixation. The **Plant Cell,** v. 7, p. 869-885, julho de 1995.

RODELAS, B.; TOLEDO, M.; LOPEZ, J. G; POZO, C. Influence of Rhizobium/ Azotobacter and Rhizobium/ Azospirillum combined inoculation on mineral composition of faba bean (*Vicia faba* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 29, n. 2, p. 167-169, 1999.



STANLEY, J. S.; BROWN, G. G.; VERMA, D. P. S. Slow-growing Rhizobium japonicum comprises two highly divergent symbiotic types. **Journal of Bacteriology,** Washington, v.163, p.148-154, 1985.

SILVA, M. B.; RODRIGUES, L. F. O. *Azospirillum* e suas vantagens para a canade-açúcar. Campo e Negócios. 2019. Disponível em:

https://revistacampoenegocios.com.br/azospirillum-e-suas-vantagens-para-a-canade-acucar. Acesso em: 11 jul. 2023.

STACEY, M. G; OSAWA, H.; PATEL, A.; GASSMANN, W.; STACEY, G. Expression analyses of *Arabidopsis oligopeptide* transporters during seed germination, vegetative growth and reproduction. **Planta** 223: 291 – 305. 2006.

SANTOS, A. D. Viabilidade da Inoculação de Sementes de Soja com Produtos Comerciais a Base de *Bradyrhizobium japonicum* antes da Semeadura. 2013. Universidade Federal do Paraná (Curso Superior de Tecnologia em Biotecnologia-Área: Microbiologia Agrícola) – Palotina, PR, 2013.

STECCA, J. D. L. **Co-inoculação, osmoproteção e aplicação de cobalto e molibidenio na cultura da soja**. 2020. Tese de doutorado em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS). 2020.

SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT, A. A. J.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. **Tecnologia de produção de soja**. Embrapa, Sistema de Produção, n. 17, 2020. Disponível em:

https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1123928/1/SP-17-2020-online-1.pdf. *Acesso em: 24 nov. 2021.* 

WILLEMS. A. **The taxonomy of rhizobia:** Na overview. First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization Springer, pp 3-14. 2007.