

**INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO DA SOJA COM
Bradyrhizobium japonicum, *Azospirillum brasilense* E
MICRORGANISMOS EFICAZES**

**SOYBEAN CO-INOCULATION WITH *Bradyrhizobium*
japonicum, *Azospirillum brasilense* AND EFFECTIVE
MICRORGANISMS**

LARISSA DANIELE DA SILVA MAGALHÃES RIBEIRO

Licenciada em Ciências Biológicas, Especialista em Cultura, Diversidade e Meio Ambiente pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Sudoeste, Quirinópolis / GO
larissadannyelly@hotmail.com

LUCAS SILVEIRA PORTO

Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Sudoeste, Quirinópolis / GO
lucassilveiraporto92@gmail.com

ANA FLÁVIA DE SOUZA ROCHA

Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Goiás, Campus Sudoeste, Quirinópolis / GO e Mestre em Biodiversidade e Conservação, Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde - GO
anaflaviadesouza_2012@hotmail.com

RAONI RIBEIRO GUEDES FONSECA COSTA

Licenciado em Ciências Biológicas pela UNIRV- Universidade Rio Verde, Rio Verde (GO), Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas pela UFLA- Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG), Doutor em Ciências Agrárias pelo Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde (GO) e Docente da Universidade Estadual de Goiás, Campus Sudoeste, Quirinópolis / GO
raoniueg@hotmail.com

Resumo: A coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* com *Azospirillum brasilense* tem apresentado resultados importantes para a produção vegetal, mas são escassos os estudos que avaliam coinoculação com microrganismos eficazes (EM). Objetivou-se com esta pesquisa avaliar o efeito da coinoculação de *B. japonicum*, *A. brasilense* e micro-organismos eficazes nas características de crescimento e produtividade da soja. A produção do formulado contendo os microrganismos eficazes foi obtido por meio de isca de arroz. Os tratamentos foram coinoculações: *B. japonicum* + EM; *B. japonicum* + *A. brasilense*, *B. japonicum* + *A. brasilense* + EM e o controle sementes inoculadas apenas com *B. japonicum*. Observou-se que a coinoculação tripla apresentou as maiores médias 83,2 cm (11%) para

altura de plantas; 5,9 mm (20%) para diâmetro do colmo; 24 cm (14%) altura de inserção da primeira vagem quando comparado ao controle. Para os caracteres de produtividade, a coinoculação de *B. japonicum* + E.M promoveram os melhores resultados, com médias de 46,5 (118,18%) para número de vagens por planta e 54,38 (101%) para número de grãos por planta, seguida pela coinoculação tripla, quando comparado ao controle. A inoculação combinada *B. japonicum* + *A. brasilense* (T1) e coinoculação tripla *B. japonicum* + *A. brasilense* + Microrganismos eficazes (T3) são os mais indicados para promover o incremento médio nas características de crescimento e de rendimento de grãos em soja. Estes tratamentos apresentaram maiores médias para os números de vagens por planta e de grãos por planta e a coinoculação tripla (T3) promoveu as melhores características de altura e diâmetro do caule. Logo, o uso de microrganismos eficazes em conjunto com os inoculantes comerciais pode ser viável para o incremento na produtividade agrícola, de maneira mais sustentável.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill. Microrganismos de regeneração. PGPR. Sustentabilidade.

Abstract: The coinoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with *Azospirillum brasilense* has shown important results for vegetal production, but there are few studies that evaluate coinoculation with effective microorganisms (EM). The objective of this research is evaluating the effect of the coinoculation of *B. japonicum*, *A. brasilense* and effective microorganisms in the characteristics of soy growth and productive. The production of the formulated containing effective microorganisms was obtained by rice bait. The treatments were: *B. japonicum* + EM; *B. japonicum* + *A. brasilense*, *B. japonicum* + *A. brasilense* + EM and the control inoculated seeds only with *B. japonicum*. Was observed that the triple coinoculation presented the highest average 83,2 cm (11%) for plants height; 5,9 mm (20%) for stem's diameter; 24 cm (14%) first pod insertion height when compared to the control. For productivity characters, the coinoculation of *B. japonicum* + E.M promoted the best results, with average of 46,5 (118,18%) for pod numbers per plants and 54,38 (101%) for grain number per plant, followed by the triple coinoculation, when compared to the control. The combined inoculation of *B. japonicum* + *A. brasilense* (T1) and soy grains income. These treatments presented highest average for pod number per plant and grain per plant and the triple coinoculation (T3) promoted the best characteristics of height, diameter and stem. Therefore, the use of effective microorganisms combined with the commercial inoculants can be viable for incrementing the agrarian productivity in a sustainable way.

Keywords: *Glycine max* L, Regeneration microorganisms, Sustainability, PGPR

INTRODUÇÃO

A agricultura atualmente tem enfrentado o desafio de aumentar a sua produtividade, porém, visando a sustentabilidade ambiental. O melhoramento genético vegetal tornou as variedades das plantas cultivadas mais produtivas e responsivas ao uso de fertilizantes industrializados e mais dependentes dos agroquímicos (ROEL, 2002). Apesar da sua importância na produção vegetal, os fertilizantes industrializados, principalmente os nitrogenados elevam o custo de produção para o produtor rural e podem causar impactos ambientais importantes (CARVALHO; ZABOT, 2012; RODRIGUES *et al.*, 2017), como por exemplo a contaminação do lençol freático por nitrato de amônio .

Dentre os fertilizantes industrializados mais utilizados destacam-se os nitrogenados. O nitrogênio é altamente requerido pelas plantas cultivadas, uma vez que constitui as moléculas de clorofila, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos e componentes estruturais da célula vegetal (CARVALHO; ZABOT, 2012). Em leguminosas como a soja, praticamente todo o nitrogênio requerido é suprido pela associação simbiótica entre suas raízes e as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, contribuindo para uma fixação média de 300 kg ha⁻¹ de N, podendo ainda disponibilizar para a cultura em sucessão 20 a 30 kg ha⁻¹ de N (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015). Apesar da comprovada eficiência de *Bradyrhizobium* na soja, alguns estudos têm buscado avaliar o efeito da coinoculação desta bactéria diazotrófica com as bactérias promotoras do crescimento vegetal do gênero *Azospirillum*.

As *Azospirillum* são bactérias associativas e capazes de promover o crescimento das plantas por meio da produção de hormônios de crescimento (como auxinas, giberelinas, citocininas e etileno) (MASCIARELLI *et al.*, 2013), pela indução de resistência sistêmica às doenças e estresses ambientais, pela capacidade de solubilizar fosfato além de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Estes benefícios para a planta reduzem os custos com fertilização química industrializada e reduz os impactos ambientais.

Entretanto, os resultados obtidos em pesquisas que avaliaram a inoculação combinada destas bactérias em leguminosas têm apresentado resultados contraditórios; em alguns estudos a coinoculação estimulou e em outros inibiu a formação de nódulos e o crescimento radicular em sistema simbiótico. Alguns estudos demonstraram que a resposta à inoculação variou em função do nível de concentração do inóculo e do tipo de inoculação (BÁRBARO *et al.*, 2009). A resposta da coinoculação pode ter efeitos distintos para diferentes cultivares de soja (BULEGON *et al.*, 2016). Resultados favoráveis da coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* foram observados nos estudos de Benintende *et al.*, (2010), Hungria, Nogueira e Araujo (2013) e Bulegon *et al.*, (2016).

Além destes microrganismos comerciais já testados em leguminosas (*B. japonicum*) e gramíneas (*A. brasilense*), outra opção para a realização de uma agricultura sustentável, principalmente para agricultura familiar, é o uso de microrganismos eficazes (EM). EM consistem na comunidade de microrganismos encontrados naturalmente em solos férteis e em plantas que coexistem, e quando em meio líquido podem apresentar: leveduras (*Saccharomyces*) que produzem hormônios e enzimas que provocam atividade celular nas raízes; *Actinomicetos* que sintetizam antibióticos e controlam fungos e bactérias patogênicas, aumentando a resistência das plantas; bactérias (*Lactobacillus* e *Pediococcus*) que produzem ácido lático que controlam alguns microrganismos nocivos como o *Fusarium*; e, por fim, bactérias que estão associadas ao estímulo do crescimento vegetal (BONFIM *et al.*, 2011).

Alguns estudos demonstram a eficiência dos EM na melhoria das condições dos solos (PUGAS *et al.*, 2013) e promoção de maior eficiência das plantas na utilização da adubação orgânica (OLIVEIRA, 2011). Entretanto poucos estudos têm avaliado o efeito dos EM no crescimento agrônomico e produtividade de leguminosas como a soja, principalmente em coinoculação com outros gêneros de bactérias já testadas.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da inoculação e coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* e E.M. nos parâmetros de crescimento e produtividade da soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo na fazenda Fazendinha, localizada no município de Quirinópolis, GO, Brasil (18° 24' 27" S, 50° 23' 49" O, altitude média de 832 m), em um Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2013), entre 2 de dezembro de 2018 a 8 de fevereiro de 2019. Antes da instalação do experimento, a área havia sido cultivada no sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP) São Francisco, este sistema foi validado pela Embrapa Cerrados (DF) em 2016 e consiste na sobressemeadura de forrageira do gênero *Panicum* (capim-mombaça) sobre lavoura de

milho em final de ciclo. Isto proporcionou, após sua dessecação, incremento na matéria orgânica do solo justificando os valores verificados na análise de solos.

Antes da implantação do experimento foram determinadas as características químicas e físicas do solo. Para isso, coletou-se amostras do solo antes da semeadura na camada de 0–10 cm. A caracterização foi de 570; 130; 300 g kg⁻¹ de argila, silte e areia, respectivamente; pH em CaCl₂ : 5,36; Ca: 1,7 cmolc dm⁻³; Mg: 0,5 cmolc dm⁻³ ; Al: 0,05 cmolc dm⁻³; Al+H: 4,9 cmolc dm⁻³; K: 1,53 cmolc dm⁻³; CTC: 8,6 cmolc dm⁻³; P: 0,5 mg dm⁻³; Cu: 48,8 mg dm⁻³; Zn: 5,2 mg dm⁻³; Fe: 51, mg dm⁻³; M.O.: 32,7 dm⁻³.

O preparo da área foi realizado com a dessecação das plantas daninhas com uso do herbicida glifosato 4,5 L ha⁻¹ (480 g L⁻¹ equivalente ácido) com volume de calda de 150 L ha⁻¹. Os sulcos para semeadura da soja, foram abertos manualmente com uso de enxadas, na profundidade de 3 cm. Como adubação utilizou-se 400 kg por hectare do formulado NPK 8-20-20. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados, com quatro tratamentos e três repetições. As parcelas experimentais eram constituídas de seis linhas de 2,5 m de comprimento, distanciadas entre si por 0,50 m tendo uma área experimental por parcela de 12 m².

Preparo do meio com Microrganismos eficazes (EM)

Para a captura dos microrganismos foram preparadas “iscas”, as quais foram feitas com 700 gramas de arroz cozido sem sal. O arroz cozido foi colocado sobre uma tábua de madeira na proporção 15×20 cm. As tábuas, num total de cinco, foram, então cobertas com tela fina visando proteger, a ação direta da chuva. Em seguida, foram colocadas em mata de reserva legal (na borda e interior da mata) da propriedade (18° 24' 22" S, 50° 23' 34" O, a 924 m de elevação). Depois de colocadas as iscas, a serapilheira que havia sido afastada, foi colocada de volta, cobrindo a tábua. Após 15 dias, os microrganismos já haviam colonizado o arroz. A seleção das colônias foi feita mantendo nas iscas partes do arroz que ficaram com as colorações rosada, azulada, amarelada e alaranjada, e descartadas as partes com coloração cinza, marrom e preta (BONFIM *et al.*, 2011).

Para a ativação dos EM as colônias de microrganismos selecionados foram colocadas em tambor plástico de 70 litros, sendo colocados 7 litros de melão de cana em 60 litros de água sem cloro. O recipiente foi fechado e deixado em descanso à sombra por 25 dias. Para reduzir a pressão do processo fermentativo no recipiente a cada 2 dias o tambor foi aberto, para o desprendimento dos gases. Aos 25 dias o formulado ficou pronto.

Preparo das sementes (inoculação)

A cultivar de soja usada no experimento foi a Brasmax Desafio RR – 8473RSF da empresa ATTO® Sementes Adriana. Esta variedade possui hábito de crescimento indeterminado, alta exigência quanto à fertilidade dos solos. É resistente ao acamamento, ao cancro da haste, mancha do olho de rã e susceptível a nematoides, de acordo com informações da empresa. A inoculação das sementes foi realizada com auxílio de uma seringa de 50 mL e um saco plástico, onde as sementes e EM foram misturadas e secas a sombra minutos antes da semeadura. Não foram realizados outros tratamentos nas sementes.

Os tratamentos foram compostos por sementes inoculadas apenas com *Bradyrhizobium japonicum* controle (C) cepas Semia 5079 e 5080 em uma concentração de $5,0 \times 10^9$ UFC/mL, registro no MAPA n.º SP-90837 10028-7 Marca ATMO® da empresa Microquímica, sendo a dose utilizada correspondente a 100 mL para cada 50 kg de semente, conforme fabricante.

A coinoculação entre *Bradyrhizobium japonicum* (ATMO) com *Azospirillum brasilense* – isolado AbV5 tratamento 1 (T1), marca AZOS do Laboratório Farroupilha, registro no MAPA n.º MG-90399 10002-0 concentração 1×10^8 UFC/mL (113 mL para cada 50 kg de semente). Coinoculação entre *Bradyrhizobium japonicum* com E.M. tratamento 2 (T2) a concentração deste último era de $1,1 \times 10^9$ UFC/ mL de meio. E a coinoculação tripla de entre *Bradyrhizobium japonicum* cepas Semia 5079 e 5080 (ATMO), *Azospirillum brasilense* – isolado AbV5 (AZOS) com o EM tratamento 3 (T3). As doses de inóculo para os quatro tratamentos são apresentados na Tabela 01

Tabela 01: Doses utilizadas do inoculante para cada cinco quilos de sementes para cada tratamento avaliado: soja inoculada somente com *Bradyrhizobium japonicum*, soja coinoculada com *Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*, soja coinoculada com *Bradyrhizobium japonicum* + Microrganismos Eficazes (E.M.) e coinoculação tripla com *Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense* + Microrganismos Eficazes (E.M.), Quirinópolis, GO, safra 2018/2019..

Tratamentos	Doses mL/kg de semente
C <i>B. japonicum</i>	20 mL 5kg ⁻¹
T1 <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	20 mL 5kg ⁻¹ + 12 mL 5kg ⁻¹
T2 <i>B. japonicum</i> + E.M.	20 mL 5kg ⁻¹ + 17 mL 5kg ⁻¹
T3 <i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + E.M.	20 mL 5kg ⁻¹ + 12 mL 5kg ⁻¹ + 17 mL kg ⁻¹

Fonte: Autores, 2019.

Após o tratamento das sementes, a semeadura foi realizada no dia 02 de dezembro de 2018. Para o controle de fungos utilizou-se Abacus HC, equivale a 260 g de Piraclostrobina e 160 g de Epoxiconazol (300 ml ha⁻¹).

Aos 30 (estádio fenológico V5), 60 (estádio R5.4) e 90 (estádio R6) dias após a semeadura (DAS), foram avaliados: altura das plantas (mensurada a distância compreendida entre a superfície do solo até extremidade apical); altura de inserção da primeira vagem (mensurada a distância compreendida entre a superfície do solo e a extremidade apical e entre a superfície do solo e a inserção da primeira vagem) (avaliada somente aos 60 dias); número de vagens por planta (contagem das vagens com grãos em 10 plantas na área útil da parcela, calculando-se a média de vagens por planta) e número de grãos por planta (contagem dos grãos em 10 plantas na área útil da parcela) (avaliada somente aos 90 dias).

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SISVAR 5.7 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura média das plantas e diâmetro do caule de soja foram influenciados (P<0,05) pela inoculação e coinoculações das sementes com *B. japonicum*, EM e *A. brasilense*. As maiores médias foram verificadas nas plantas que receberam os tratamentos T2 e T3 com superioridade em média 17% e 10% para a altura de plantas e

8,74% e 3,33% para o diâmetro do caule em comparação com controle (somente *B. japonicum*) respectivamente, aos 30 dias após a semeadura (DAS) onde a cultivar estava no estágio fenológico V5. Aos 60 e 90 DAS (estádios fenológicos R5.4 e R6, respectivamente) apresentou as maiores médias sendo 10% e 16,3% superior a C para a altura e 14,19% e 11,63% para diâmetro respectivamente (Tabelas 02 e 03).

Tabela 02: Médias para características agrônômicas da soja Brasmax Desafio RR – 8473RSF aos 30 e 60 DAS, em sementes inoculadas com *B. japonicum* (Brad), sementes com inoculação combinada: *Bradyrhizobium japonicum* + microrganismos eficazes (Brad+E.M.), sementes com inoculação combinada: *B. japonicum* + *A. brasilense* (Brad+Azo), e sementes com inoculação tripla *B. japonicum* + *A. brasilense* + microrganismos eficazes (Brad+Azo+ E.M.), Quirinópolis, GO, safra 2018/2019.

Tratamento	Altura dos indivíduos (cm)	Diâmetro do caule (mm)	Altura de Inserção da 1ª vagem (cm)	Massa da Matéria Fresca aérea (g)	Massa da Matéria Seca aérea (g)
Avaliação da Soja 30 DAS					
C Brad	28,07 B	4,97 A			
T1 Brad+E.M.	28,23 B	5,13 A	-	-	-
T2 Brad+Azo	32,93 A	5,40 A	-	-	-
T3 Brad+Azo+E.M.	30,93 A	5,13 A	-	-	-
Média Geral	30,04	5,16	-	-	-
CV %	11,27	23,50	-	-	-
Desvio Padrão	4,92	1,75			
Pr>Fc	0,004	0.8051			
DMS	4,802	0,88			
Avaliação da Soja 60 DAS					
C Brad	74,933 C	5,167 B	20,167 BC	34,920 A	7,747 A
T1 Brad+E.M.	77,627 BC	4,900 B	18,000 C	38,878 A	8,113 A
T2 Brad+AZO	81,667 AB	5,467 AB	21,566 AB	37,493 A	8,346 A
T3 Brad+AZO+E.M.	83,200 A	5,900 A	24,100 A	45,429 A	10,053 A
Média Geral	79,356	5,358	20,958	39,180	8,565
CV %	8,27	18,39	19,72	36,02	36,50
Desvio Padrão	9,58	2,96	6,03	20,61	4,56
Pr>Fc	0,018	0,004	0,001	0,328	0,313
DMS	7,40	0,721	0,98	15,48	3,47

Médias seguidos pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Autores, 2019.

O efeito benéfico na altura das plantas das inoculações envolvendo os EM possivelmente se deve à presença de fungos e bactérias envolvidos na promoção do crescimento vegetal. Teixeira *et al.*, (2017), ao utilizar inoculado com diferentes doses de EM na cultura do milho, verificaram que a altura das plantas foi influenciada pelo

consórcio microbiano, tendo como resultado um aumento médio da altura das plantas em relação ao tratamento controle num percentual de 25,84% e 38,25%.

Santos (2016), em pesquisa com inoculação de EM em capim-marandu, (sendo 3 tipos de EM, 1 comercial e 2 produzidos na pesquisa), foi observado o maior crescimento nas plantas quando usado o esterco como complemento do que quando não usado, e também foi observado melhora em algumas características das plantas, incluindo comprimento da parte aérea e diâmetro do colmo quando inoculadas com o EM por ela produzido. Segundo Bonfim *et al.*, (2011) os EM conseguem melhorar o metabolismo das plantas, ativar o crescimento radicular, aumentar a porcentagem de germinação, florescimento e frutificação e a produtividade agrícola.

Embora pesquisas que avaliam o efeito de EM em soja sejam escassas algumas pesquisas têm demonstrado que o uso de formulados de EM tem efeito benéfico no crescimento vegetal, Santos (2016) avaliando a composição do EM por ela produzido, verificou a presença dos Filos Firmicutes e Proteobacteria, sendo identificadas bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Bacillus* e da ordem Burkholderiales. Estes microrganismos estão relacionados à síntese de fitormônios e com reguladores de crescimento como ácido indol acético (AIA) (MOHITE, 2013; BARKA *et al.*, 2016).

Tabela 03: Médias para características agrônômicas da soja Brasmax Desafio RR – 8473RSF aos 90 DAS, em sementes inoculadas com *B. japonicum* (Brad), sementes com inoculação combinada: *B. japonicum* + microrganismos eficazes (Brad+E.M.), sementes com inoculação combinada: *B. japonicum* + *A. brasilense* (Brad+Azo), e sementes com inoculação tripla *B. japonicum* + *A. brasilense* + Microrganismos eficazes (Brad+Azo+ E.M.), Quirinópolis, GO, safra 2018/2019.

Avaliação da Soja aos 90DAS					
Tratamento		Altura dos indivíduos (cm)	Diâmetro do caule (mm)	Número de vagens por indivíduos	Número de grãos por indivíduos
C	Brad	62,00 B	5,38 A	11,00 B	27,00 B
T1	Brad+E.M	67,00AB	6,38 A	24,00 A	54,38 A
T2	Brad+Azo	63,13 B	5,63 A	19,63 A	41,38 AB
T3	Brad+Azo+E.M	72,13 A	6,00 A	20,75 A	46,50 A
Média Geral		66,06	5,84	18,84	42,31
CV %		10,23	13,58	24,01	26,12
Desvio Padrão		13,50	1,58	9,05	22,12
Pr>Fc		0.0240	0.08	0.000	0.000
DMS		9,22	1,08	6,18	15,11

Médias seguidos pela mesma letra maiúscula na coluna diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Fonte: Autores, 2019.

E nas pesquisas de Zuffo *et al.*, (2015), Mundim *et al.*, (2018) e Maurício Filho *et al.*, (2019) as coinoculações via semente não promoveram incremento nas características de indivíduos de soja. Segundo estes autores isso pode ser devido à competição entre *Azospirillum* com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* ou até mesmo microrganismos nativos, podendo inibir o efeito do primeiro sobre o desenvolvimento e a nodulação de soja, principalmente em condições em que a cultura da soja esteja estabelecida (PAVANELI; ARAUJO, 2009).

Os benefícios da interação entre plantas leguminosas e bactérias fixadoras de nitrogênio dependerão da bactéria inoculada formar nódulos na raiz da planta após o contato das sementes com o solo (HUNGRIA *et al.*, 2017). A competitividade dessas bactérias com os microrganismos do solo afeta seu desempenho e a falta de competição pode gerar baixo desempenho na formação de nódulos (GRAHAM, 2008; HUNGRIA *et al.*, 2017), deste modo observa-se que o uso do EM em coinoculação dupla ou tripla não interferiu na eficiência dos inoculantes comerciais, pelo contrário, contribuiu para o aumento percentual nas médias das características do crescimento vegetal.

O T3 apresentou a maior média, quanto à altura de inserção da primeira vagem, com uma diferença de 19,5% comparado com C. Já o T1 apresentou média inferior a 15 % quando comparado ao C. A altura de inserção da primeira vagem é uma característica agrônômica importante para a colheita mecanizada, na qual recomenda-se que essa altura seja de no mínimo 13 cm para evitar perdas de produção durante a colheita. Nesse sentido, todos os tratamentos apresentaram médias acima do adequado e não condicionariam em altas perdas de produção durante a colheita.

A massa da matéria fresca (MF) e seca (MS) das plantas amostradas em R5.4 não foram influenciadas pelas inoculações (Tabela 02). Fipke *et al.*, (2016), comparando efeito a inoculação convencional (somente *Bradyrhizobium*) com a coinoculação *Bradyrhizobium* spp+*Azospirillum* spp e diferentemente do observado no presente

trabalho verificaram efeito positivo da coinoculação no incremento médio da massa da matéria seca em plantas de soja, em comparação com a inoculação convencional, de acordo com estes autores a síntese de fitormônios podem ter contribuído para o maior número de ramos laterais bem como aumentado a massa seca das raízes.

Hungria, Nogueira e Araújo (2015) verificaram que a coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, gerou efeito benéfico no rendimento da concentração de nitrogênio nos grãos, na massa da parte aérea e no número e massa de nódulos, indicando que a coinoculação é uma boa alternativa para o aumento da produtividade em soja. Entretanto, os autores enfatizam a importância de suplementação mineral com molibdênio e cobalto.

O número de vagens por planta de soja foi maior para T1 e T3 com um incremento de 118,18% e 88,64%, respectivamente em relação ao C. Essa é uma das características agrônomicas de produção mais importantes da soja, pois, afeta diretamente o número de grãos por planta e quanto maior o número de vagens por planta, maior será a produção (Tabela 03), a síntese de AIA, pelos microrganismos utilizados podem ter proporcionado um maior número de ramos laterais e portanto também maior número de vagens. .

As médias para o número de grãos por planta (Tabela 3) foram superiores para T1 e T3 sendo 101,39% e 72,22%, respectivamente superiores ao C. Diferentemente, Bulegon *et al.*, (2016) em estudo com os genótipos de soja BMX Turbo e Coodetec 250 (CD250), verificaram que o número de grãos por vagens não apresentou diferença significativa para os tratamentos com *B. japonicum* e *B. japonicum* + *A. brasilense*. Segundo eles, tal resultado se deu devido a esta característica da soja ser constante e semelhante para a maioria dos cultivares, devido à padronização decorrente do melhoramento genético. A inoculação (*B. japonicum*) e a coinoculação (*B. japonicum* + *A. brasilense*) são tecnologias que suprem a necessidade de nitrogênio da soja a um baixo custo em relação às fontes nitrogenadas minerais (GITTI, 2016).

Braccini *et al.*, (2016) constataram que a inoculação de *B. japonicum* em sementes e a coinoculação de *B. japonicum* + *A. brasilense* no sulco de semeadura

proporcionaram aumento no rendimento de grãos e caracteres fisiológicos da soja. Da mesma forma Fipke et al., (2016), observaram que a coinoculação (*Bradyrhizobium* spp + *Azospirillum* spp.) aumentou o rendimento em comparação à inoculação isolada de *Bradyrhizobium* spp, com incrementos percentuais variando de 6 a 12% dependendo da cultivar de soja, estes resultado corroboram com o presente estudo e evidenciam o efeito benéficos da coicoculação na promoção do crescimento e produção vegetal.

A diferença de resultados em trabalhos que estudam a inoculação e coinoculação de bactérias diazotróficas para o melhoramento vegetal pode ser explicada pelas diferenças das doses de inoculante aplicados na semente (HUNGRIA *et al.*, 2017). Para melhores resultados da fixação biológica de N, Hungria *et al.*, (2017) recomendam no mínimo uma dose de 1.2×10^6 UFC de *Bradyrhizobium* por semente⁻¹.

Já com relação a utilização dos EM, segundo o trabalho de Bonfim (2011) é uma tecnologia totalmente sustentável, barata, fácil de usar e produzir e de alta qualidade. Ao contrário dos fertilizantes químicos industrializados, os EM não degradam o solo e nem fazem mal à saúde. Além disso, os EM auxiliam na decomposição de matéria orgânica e conseqüentemente, na ciclagem biogeoquímica.

Devido ao anseio social por uma agricultura mais sustentável, o uso de EM pode ser benéfico para os pequenos produtores que podem de forma simples produzir inoculante eficiente na promoção do crescimento e produtividade vegetal, com baixo custo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inoculação combinada: *B. japonicum* + *A. brasilense* (T1) e coinoculação tripla *B. japonicum* + *A. brasilense* + Microrganismos eficazes (T3) são os mais indicados para promover o incremento médio nas características de crescimento e de rendimento de grãos em soja.

Estes tratamento apresentaram maiores médias para os números de vagens por planta e de grãos por planta e a coinoculação tripla (T3) promoveu as melhores características de altura, diâmetro do caule. Logo, o uso de microrganismos eficazes em

conjunto com os inoculantes comerciais pode ser viável para o incremento na produtividade agrícola, de maneira mais sustentável.

REFERÊNCIAS

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e coinoculação. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente-SP, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.

BARKA, E. A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENT, H.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; VAN WEZEL, G. P. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-43, 2016.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculação simple com *Bradyrhizobium japonicum* em la nodulación, crecimiento y acumulación de N em el cultivo de soja. **Agriscientia**, Córdoba, v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.

BONFIM, G. P. F.; HONÓRIO, I. C. G.; REIS, I. L.; PEREIRA, A. J.; SOUZA, D. B. **Caderno dos microrganismos eficientes (E.M.)**: instruções práticas sobre uso ecológico e social do E.M. Viçosa: Univ. Fed. de Viçosa, 32 p., 2011.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWAET, A. K.; LIMA, L. H. S.; PICCININ, G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 1, jan. /mar., p. 27-35, 2016.

BULEGON, L. G. L.; RAMPIM, J.; KLEIN, D.; KESTRING, V. F.; GUIMARÃES, A. G.; BATTISTUS, E. A. INAGAKI, M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**. México, v.34, p.169-176, 2016.

CARVALHO, N.L.D.; ZABOT, V. Nitrogênio: nutriente ou poluente?. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental** (e-ISSN: 2236-1170), v (6), nº 6, p. 960 – 974, 2012.

EMBRAPA SOLOS - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Embrapa CNPS, 3 ed. Rio de Janeiro, 2013. 353p.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FIPKE, GLAUBER MONÇON, CONCEIÇÃO, GERUSA MASSUQUINI, GRANDO, LUIZ FERNANDO TELEKEN, LUDWIG, RODRIGO LUIZ, NUNES, UBIRAJARA RUSSI, & MARTIN, THOMAS NEWTON. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. *Ciência e Agrotecnologia*, 40(5), 522-533, 2016.

GITTI, D. C. Inoculação e Coinoculação na Soja. **Tecnologia e Produção: Soja 2014/2015**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 15–28, 2016.

GRAHAM, P. H. Ecology of root-nodule bacteria of legumes. In: DILWORTH, M. J.; JAMES, E. K. *et al.* (Ed.). **Nitrogen-fixing leguminous symbioses**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, v.7, cap. 2, p. 23–58, 2008.

HUNGRIA, 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: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: **Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil**, 33., 2013, Londrina. Resumos expandidos... Brasília, DF: Embrapa, 2013, 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, p. 2329-2338, 2015.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; JÚNIOR, E. B. S.; ZILLI, J. É. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 109, n. 3, p. 1106–1112, 2017.

SANTOS, L. F. **Micro-organismos Eficientes: diversidade microbiana e efeito na germinação, crescimento e composição química de capim-marandu**. 2016. 44f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2016.

MASCIARELLI, O.; URBANI, L.; REINOSO, H.; LUNA, V. Alternative mechanism for the evaluation of indoleacetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 590–597, out. 2013.

MAURÍCIO FILHO, J.; SILVA, C. H. S.; SOUZA, J. E. B. de. Desempenho agrônomico e produtividade da cultura da soja com a co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*. **Ipê Agronomic Journal**, Goianésia, v. 2, n. 2, p.48-59, 2019.

MOHITE, B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. **J Soil Sci Plant Nutr**, 13: 638- 649, 2013.

MUNDIM, L. M. F.; ROCHA, D. K.; REIS, F. C.; CARVALHO, E. R. Coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium* via sementes de soja no Cerrado. **Gl. Sci Technol**, Rio Verde, v.11, n.03, p.10-19, set/dez. 2018.

OLIVEIRA, S. A. S.; STARK, E. M. L. M. ; FREITAS, J. A. E. ; BERBARA, LOURO, R. L.; SOUZA, S. R. . Partição de nitrogênio em Variedades de milho (*Zea mays* L.) com a aplicação foliar de microorganismo Eficazes e Nitrato. **Revista de Ciências da Vida**, v. 31, p. 57-69, 2011.

PAVANELLI, L. E; ARAÚJO, F. F. Fixação biológica de nitrogênio em soja em solos cultivados com pastagens e culturas anuais no oeste paulista. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n.1, p. 21-29, 2009.

PUGAS, A. S.; GOMES, S. S.; DUARTE, A. P. R.; SANTOS, T. E. M.; ROCHA, F. C. Efeito dos Microrganismos Eficientes na taxa de germinação e no crescimento da Abobrinha (*Curcubita Pepo* L.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, p. 1-5, 2013.

RODRIGUES, R. A. R.; DE MELLO, W. Z.; DA CONCEIÇÃO, M. C. G.; DE SOUZA, P. A.; SILVA, J. J. N. Dinâmica do Nitrogênio em Sistemas Agrícolas e Florestais Tropicais e seu Impacto na Mudança do Clima **Rev. Virtual Quim.**, 2017, 9 (5), 1868-1886. 28 de agosto de 2017.

ROEL, A. R.. Agricultura Orgânica ou Ecológica e a sustentabilidade da Agricultura. **Interações (UCDB)**, Campo Grande, MS, v. 3, p. 57-62, 2002.

TEIXEIRA, N.; WITTI, L. De; FILHO, P. S. MICRORGANISMOS DE REGENERAÇÃO NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS DO SOLO, DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DE MILHO. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 14, n. 2 (jul-dez), p. 72–80, 2017.

ZUFFO, A. M.; REZENDE, P. M.; BRUZI, A. T.; OLIVEIRA, N. T.; SOARES, I. O.; NETO, G. F. G.; CARDILLO, B. E. S.; SILVA, L. O. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 1, p. 87–93, 2015.