

Coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasiliense* na cultura da soja (*Glycine max L. Merril*) como agentes de fixação biológica de nitrogênio e promotor de crescimento

Co-inoculation with Bradyrhizobium japonicum and Azospirillum brasiliense in soybean culture (Glycine max L. Merril) as nitrogen biological fixation agents and growth promoter



Paulo Henrique Ferreira Ribeiro

Graduando do curso de Agronomia do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM).
e-mail: paulohfr10@hotmail.com

Rodrigo Mendes de Oliveira

Especialista em Manejo Integrado de Pragas, Doenças e Plantas Daninhas.
Docente do curso de Agronomia do UNIPAM. e-mail: rodrigomo@unipam.edu.br

RESUMO: A associação simbiótica entre as raízes de soja e as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* é utilizada mundialmente com a finalidade de fornecer todo o nitrogênio para o ciclo da planta. Entretanto, apesar do sucesso dessa simbiose, tornam-se de grande importância novas pesquisas, mantendo a funcionalidade de todo o processo. Este trabalho objetivou avaliar a eficiência da coinoculação na semente de soja com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasiliense*. O presente experimento foi realizado em casa de vegetação, localizada no Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), as sementes foram tratadas com doses iguais de *Bradyrhizobium japonicum* (3 ml.kg⁻¹ de sementes) e diferentes doses de *Azospirillum brasiliense*, sendo: 0; 2; 4; 6 e 8 ml.kg⁻¹ de sementes, cultivadas em vasos de 5 litros, totalizando 5 tratamentos. As plantas foram avaliadas no estágio fenológico R1. A parte aérea e a raiz foram avaliadas quanto à massa seca e comprimento. Avaliou-se também o número de nódulos. Os dados foram submetidos a teste estatístico de regressão. Observou-se um acréscimo no tamanho e peso do sistema radicular e da parte aérea na medida em que se aumentava a dose *Azospirillum brasiliense*. Portanto, a coinoculação se mostrou eficiente no processo de desenvolvimento da planta.

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria. Simbiose. Hormônio vegetal.

ABSTRACT: The symbiotic association between soybean roots and bacteria of the genus *Bradyrhizobium* is used worldwide for the purpose of supplying all nitrogen to the plant cycle. However, despite the success of this symbiosis, new research becomes of great importance, maintaining the functionality of the whole process. The objective of this work was to evaluate the efficiency of co-inoculation in soybean seeds with *Bradyrhizobium ja-*

ponicum and *Azospirillum brasiliense*. The seeds were treated with equal doses of *Bradyrhizobium japonicum* and different doses of *Azospirillum brasiliense*, being 3 ml.kg⁻¹ and 0 - 2 - 1, respectively. The experiment was carried out in a greenhouse located at the University Center of Patos de Minas, 4 - 6 - 8 ml.kg⁻¹ respectively, grown in 5-liter pots, totaling 5 treatments. The plants were evaluated at the R1 phenological stage. It was evaluated dry mass and shoot size and root system, root nodule count. Data were submitted to statistical regression test. There was an increase in the size and weight of the root system and the airy part as the *Azospirillum brasiliense* dose increased. Therefore, co-inoculation was efficient in the process of plant development.

KEYWORDS: Bacteria. Symbiosis. Vegetable hormone.

1. INTRODUÇÃO

Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial de soja (EMBRAPA, 2018). Na safra de 2017/2018, segundo dados levantados pela CONAB em setembro de 2018, o país produziu cerca de 119,281 milhões de toneladas de soja, podendo ter uma variância de 4,6%, destinando uma área total de 35,149 milhões de hectares para a cultura (CONAB, 2018).

A partir de 1970, a produção dessa cultura passou a ser de grande importância para o agronegócio brasileiro, levando à expansão das áreas cultivadas, à elevação da produtividade e à busca de novas tecnologias (SILVA et al., 2011), como melhoramento genético, novas formas de manejo e melhorias nas formas de conduzir a fixação biológica de nitrogênio (FBN).

O nitrogênio (N) é o nutriente de maior demanda na cultura da soja, por ser uma oleaginosa com grãos ricos em proteínas, os quais apresentam um teor de 6,5% de N. Para produção em larga escala e de forma economicamente viável, a soja se torna a cultura que mais necessita da fixação biológica de nitrogênio (FBN), processo que consiste em fixar nitrogênio atmosférico (N₂), por meio de alguns gêneros de bactérias em simbiose com as raízes das plantas, transformando-o em N assimilável para as plantas. No caso da soja, as bactérias mais utilizadas para a FBN pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*. Com isso, é importante ressaltar que se torna economicamente inviável a aplicação de fertilizantes nitrogenados, devido ao alto valor destes produtos no mercado (HUNGRIA et al., 2001).

A associação simbiótica entre as raízes de soja e as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* é capaz de contribuir com todo o N necessário para o ciclo da planta, que possui uma produtividade média de 3.600 Kg.ha⁻¹. E ainda é capaz de fornecer valores de 20 a 30 Kg.ha⁻¹ de N para as próximas culturas a serem implantadas no local (GITTI, 2015).

Entretanto, apesar do sucesso da FBN das bactérias do gênero *Bradyrhizobium* com a soja, tornam-se de grande importância novas pesquisas, mantendo a funcionalidade dessa simbiose, para que a contribuição das bactérias não seja ameaçada por fatores como mudanças climáticas, longos períodos de seca, dentre outros (HUNGRIA et al., 2013).

Outros micro-organismos que também são utilizados mundialmente como bactérias capazes de exercer a FBN em outras culturas pertencem ao gênero *Azospirillum* (HUNGRIA *et al.*, 2010), que são capazes de promover ainda o crescimento da planta com o aumento da produção de hormônios do crescimento, tais como auxinas, citocininas, giberlinas e outros (HUNGRIA *et al.*, 2013).

Acredita-se que a coinoculação destes dois gêneros de bactérias pode vir a acrescentar melhores rendimentos e aproveitamentos de nitrogênio para a cultura da soja.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da coinoculação da *Bradyrhizobium japonicum* com *Azospirillum brasiliense* no desenvolvimento da soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), em Patos de Minas, MG (18° 36' 38,2" latitude Sul, 46° 29' 12,3" longitude Oeste, em uma altitude média de 832 metros).

Foram realizados cinco tratamentos com quatro repetições cada, adotando o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). A cultivar utilizada foi a NS 6909 IPRO de soja, as sementes foram tratadas de acordo com a tabela 1:

TABELA 1: Tratamento das sementes de soja com doses variadas de *Azospirillum brasiliense* e dose recomendada pelo produto comercial de *Bradyrhizobium japonicum*. Patos de Minas-MG.

Tratamentos	Dose de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> (ml.kg ⁻¹ de sementes)	Doses de <i>Azospirillum brasiliense</i> (ml.kg ⁻¹ de sementes)
T ₁	3	0
T ₂	3	2
T ₃	3	4
T ₄	3	6
T ₅	3	8

Foram cultivadas 10 sementes em 4 vasos de 5 litros contendo areia, sendo irrigadas diariamente com a quantidade de água exigida pela cultura. Quando as plantas chegaram ao estágio V2, foi realizado o desbaste, mantendo quatro plantas por vaso, sendo elas nutridas com solução nutritiva, segundo metodologia descrita por Johnson *et al.* (1957), em intervalos de 4 dias. No início do estágio R1, as plantas foram retiradas para as seguintes avaliações:

- Altura de parte aérea (cm), determinada a partir da superfície do solo ao meristema apical da planta, com uma fita métrica.
- Comprimento da raiz (cm), determinada do colo da planta ao fim da raiz principal.

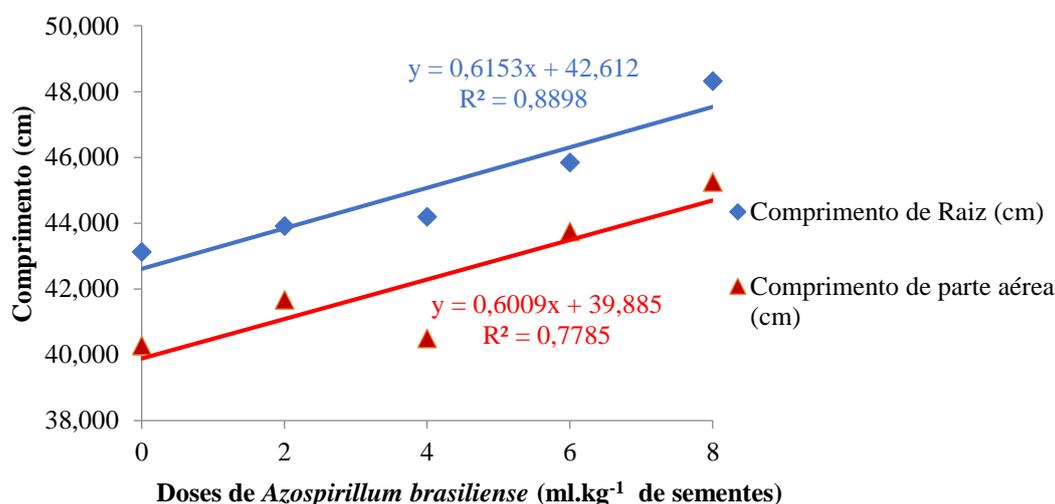
- Contagem de nódulos no sistema radicular, utilizando a média após três contagens em cada raiz.
- Peso de massa seca (M.S.) da parte aérea, e da raiz (g), deixando o material secar em estufa elétrica por 72 horas, pesando assim em balança de precisão.

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA), aplicando-se o teste F, com nível de 5% de probabilidade estatística, e quando significativo, aplicado à Análise de Regressão, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento radicular e de parte aérea, juntamente com seu peso, mostraram-se significativos a 5% de probabilidade estatística pela análise de variância (ANAVA). Aplicando-se a análise de regressão, observou-se comportamento linear com pontos de máxima e de mínima nos dados supracitados, conforme apresentado nas figuras 1 e 2.

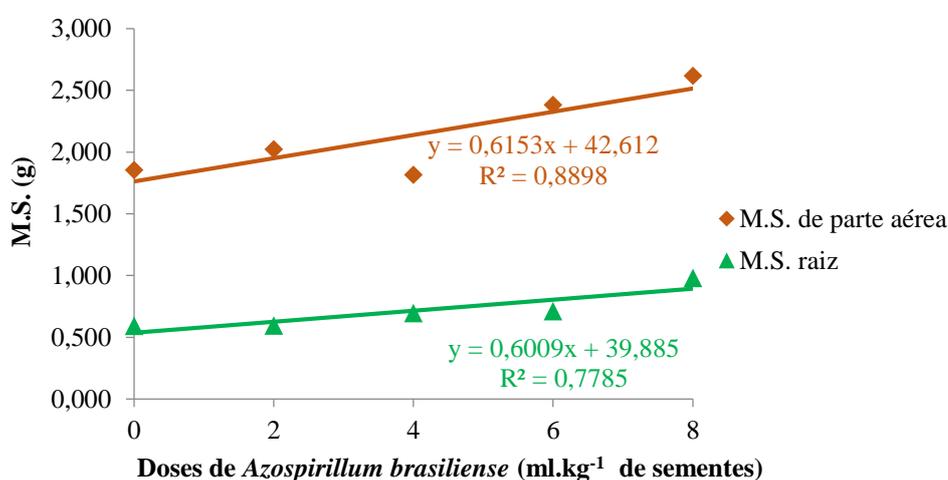
FIGURA 1. Crescimento de parte aérea da soja e sistema radicular da soja, cultivar NS6909IPRO, submetida a diferentes dosagens de *Azospirillum brasilense* coinoculado com dose recomendada de *Bradyrhizobium japonicum*.



De acordo com a figura 1, os comprimentos de parte aérea e do sistema radicular das plantas obtiveram melhor resultado no tratamento 5, onde as sementes foram tratadas com 3 ml.kg⁻¹ de *Bradyrhizobium japonicum* e 8 ml.kg⁻¹ de *Azospirillum brasilense*. Segundo Mariangela Hungria (2011), pesquisadora da EMBRAPA

SOJA, muitos estudos têm demonstrado que o *Azospirillum* é capaz de produzir fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes e da parte aérea de diversas espécies de plantas, sendo muitas delas com grande relevância agrônômica e ecológica. Tien *et al.* (1979), por exemplo, verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento morfológico da planta liberados pelo *Azospirillum brasiliense* eram o ácido indol-acético (AIA), giberilinas e citocininas. Diante disso, podemos verificar que a soja responde positivamente à coinoculação dessa bactéria quanto ao seu crescimento morfológico de parte aérea e sistema radicular.

FIGURA 2. Massa Seca (M.S.) da parte aérea e do sistema radicular da soja, cultivar NS6909IPRO, submetida a diferentes dosagens de *Azospirillum brasiliense* coinoculado com dose recomendada de *Bradyrhizobium japonicum*



De acordo com a figura 2, a massa seca (M.S.) do sistema radicular e da parte aérea das plantas obteve melhor resultado no tratamento 5, onde as sementes foram tratadas com 3 ml.kg⁻¹ de *Bradyrhizobium japonicum* e 8 ml.kg⁻¹ de *Azospirillum brasiliense*. Segundo estudo realizado por Costa *et al.* (2014), a soja, quando coinoculada com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, apresentou incremento na M.S. das plantas, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular. Gitti (2015) efetuou diversos estudos em diferentes cidades para inoculação e coinoculação da soja com os mesmos gêneros de bactérias do presente estudo, e destacou que se observou um aumento da M.S. das raízes e da parte aérea das plantas coinoculadas quando comparadas ao controle e outros tratamentos no experimento realizado em Maracaju-MS, porém, em alguns experimentos realizados em outras cidades, houve um estresse hídrico de 21 dias, o que, segundo o autor, pode ter afetado o resultado final dos experimentos que não obtiveram diferença estatística entre os tratamentos utilizados.

Ainda de acordo com Mariangela Hungria (2011), as plantas de soja, uma

vez que respondem positivamente a essas bactérias, podem agregar reserva vegetal e de energia em seus caules e raízes, devido ao aumento de crescimento de ambas as partes provenientes da maior taxa de fitohormônios. Em virtude do que foi mencionado, podemos observar um acréscimo do desenvolvimento vegetal da soja quando submetida a doses crescentes de *Azospirillum brasiliense*, quando coinoculado com *Bradyrhizobium japonicum*. Existem vários estudos e trabalhos quanto a essa associação de bactérias e seus benefícios para as plantas, porém, ainda não se tem uma dose recomendada para o tratamento de sementes de soja com *Azospirillum brasiliense*, fazendo-se necessários mais estudos e comparações quanto a dose, viabilidade econômica, acréscimo de produtividade e influências sobre o desenvolvimento da planta.

É importante ainda ressaltar que neste trabalho não houve acréscimo significativo na nodulação, o que pode ser encontrado em outros experimentos realizados por Costa *et al.* (2014) e Gitti (2015), em cujos trabalhos esse acréscimo é estatisticamente significativo.

Alguns autores, como Hungria *et al.* (2013) e Gitti (2015), em trabalhos com a mesma linha de pesquisa, relataram um acréscimo significativo na produção por hectare.

4. CONCLUSÃO

A cultivar de soja NS6909IPRO apresentou repostas em seu crescimento e desenvolvimento vegetal quando submetida a coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasiliense*, tendo seu melhor resultado estatístico quando a dosagem foi de 3 ml.kg⁻¹ e 8 ml.kg⁻¹, respectivamente, e podendo ser uma tecnologia promissora na produção de sementes e grãos de soja.

REFERÊNCIAS

CONAB. *Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Safra 2017/2018*, Brasília, v. 5, n. 12, p. 1-148, set. 2018.

COSTA, Elaine Martins da et al. Resposta da soja a inoculação e co-inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal e *Bradyrhizobium*. *Enciclopédia Biosfera: Centro Científico Conhecer*, Goiânia, 10(19): 1678-1689, 2014.

EMBRAPA SOJA (Londrina). *Soja em números (safra 2017/2018)*. 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 20 out. 2018.

FERREIRA, D. F. *Sistema de análises de variância para dados balanceados*. Lavras: UFLA, 2000. (SISVAR 4. 1. pacote computacional).

GITTI, Douglas de Castilho. *Inoculação e coinoculação na cultura da soja*. Tecnologia e Produção: Soja 2014/2015, Maracaju, p. 15-28, jan. 2015. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/tecnologia-producao-soja-2014-2015>>. Acesso em: 13 fev. 2018.

HUNGRIA, Mariangela. *Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo*. *Embrapa Soja*, 1(21): 1-38, 2011. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>. Acesso em: 17 fev. 2018.

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.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331(2010): 413-425.

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: *Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil*, 33, 2013, Londrina.

JOHNSON, C.M. *et al.* Comparative chlorine requirements of different plant species. *Plant Soil*, 8 (1957):337-353.

SILVA, A. C.; LIMA, É. P. C.; BATISTA, H. R. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação, in: *Encontro de Economia Catarinense*, 5. 2011, Florianópolis, Santa Catarina. 2011.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 37(1979): 1016-1024.