Revista Perquirere, vol. 23, n. 2: 35-44, 2026
© Centro Universitário de Patos de Minas
https://revistas.unipam.edu.br/index.php/perquirere

Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*

Soybean Inoculation with different formulations of Bradyrhizobium japonicum

AMANDA MOREIRA DA COSTA
Discente de Agronomia (UNIPAM)
eaamandamcosta@unipam.edu.br

LUIS HENRIQUE SOARES
Professor orientador (UNIPAM)
luishs@unipam.edu.br

AURÉLIO CARNEIRO SOARES MOREIRA
Bacharel em Agronomia
aureliocarneiro@hotmail.com

Resumo: A soja destaca-se como a principal oleaginosa produzida no mundo. Durante seu ciclo de desenvolvimento, o nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade, o que evidencia a importância da fixação biológica de nitrogênio (FBN) para a cultura. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação na soja com diferentes formulações comerciais de *Bradyrhizobium japonicum* na fixação biológica de nitrogênio. O experimento foi instalado na casa de vegetação do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), localizado em Patos de Minas (MG), composto por seis tratamentos (T_1: Controle; T_2: Formulação 1; T_3: Formulação 2; T_4: Formulação 3; T_5: Formulação 4; T_6: Formulação 5) e oito repetições, em DBC. A cultivar de soja utilizada foi a TEC 7022 IPRO e as aplicações foram realizadas via tratamento de sementes. As avaliações se dividiram em duas etapas, sendo 24 unidades experimentais no estágio V_4 e o restante no estágio R_2. As análises de nitrato redutase e de ureídeos foram executadas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (5%). Os resultados demonstraram que as diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum* não promoveram diferenças significativas para o número de nódulos, massa seca de raiz e atividade de nitrato redutase. Entretanto, houve diferença significativa para os teores de ureídeos nas folhas, com incremento de 83% na formulação 4, o que indica melhor eficiência na assimilação e transporte do nitrogênio fixado.
Palavras-chave: FBN; *Glycine max*; nódulos; nitrato redutase; ureídeos.

Abstract: Soybean stands out as the main oilseed crop produced worldwide. During its development cycle, nitrogen (N) is the nutrient required in the greatest amount, which highlights the importance of biological nitrogen fixation (BNF) for this crop. This study aimed to evaluate the effect of soybean inoculation with different commercial formulations of *Bradyrhizobium japonicum* on biological nitrogen fixation. The experiment was conducted in the greenhouse of the University Center of Patos de Minas (UNIPAM), located in Patos de Minas, Minas Gerais, Brazil, and consisted of six treatments (T1: control; T2: Formulation 1; T3: Formulation 2; T4: Formulation

3; T5: Formulation 4; T6: Formulation 5) and eight replications, in a randomized block design. The soybean cultivar used was TEC 7022 IPRO, and the applications were performed through seed treatment. The evaluations were divided into two stages, with 24 experimental units assessed at the V4 stage and the remaining units at the R2 stage. Nitrate reductase and ureide analyses were performed at the Center for Research in Plant Physiology and Stress (NUFEP). The data were subjected to analysis of variance, and the means were compared using the Scott–Knott test at 5% significance. The results showed that the different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* did not promote significant differences in the number of nodules, root dry matter, or nitrate reductase activity. However, there was a significant difference in leaf ureide contents, with an 83% increase in Formulation 4, indicating greater efficiency in the assimilation and transport of fixed nitrogen.
Keywords: BNF; *Glycine max*; nodules; nitrate reductase; ureides.

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a principal leguminosa produzida no mundo, sendo ela responsável por um a cada quatro dólares exportados pelo complexo agroindustrial brasileiro (EMBRAPA, 2021). A relevância do setor de soja para o Brasil é evidente tanto pelo notável aumento na produção quanto pelos ganhos obtidos com as exportações e seus derivados, como óleo e farelo. A soja, além de ser a principal fonte de óleo para a produção nacional de biodiesel, é utilizada como alimento, tanto para atender o mercado interno quanto o externo, em estado natural ou por meio dos seus produtos processados.

A soja é uma cultura anual que apresenta elevada demanda por nitrogênio (N), considerado o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura. Estima-se que, para cada 1.000 kg de grãos produzidos, sejam necessários aproximadamente 80 kg de N (Campo; Hungria, 2000). As fontes de fornecimento desse N são o solo, pela decomposição da matéria orgânica, a fixação não biológica, resultante de descargas elétricas, os fertilizantes nitrogenados e o processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (Hungria *et al*., 2001). A inoculação de bactérias no tratamento de sementes de soja é indispensável para a FBN, por meio da associação simbiótica das plantas da família Leguminosae com bactérias pertencentes a diversos gêneros como *Rhyzobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorizhobium*, *Photorizhobium*, *Sinorizhobium*, comumente denominadas como rizóbios (Hungria *et al*., 2001).

A partir da falta de N no solo, exsudações são emitidas pelas raízes da soja, atraindo bactérias do gênero *Bradyrhizobium japonicum* que auxiliam no processo de fixação, as quais infectam os pelos radiculares e formam nódulos responsáveis pela FBN. O nitrogênio atmosférico (N_2) é captado e transformado em amônio (NH_4^+) devido à presença da enzima nitrogenase e faz com que esse N_2 seja assimilável para a planta. Todavia, a FBN é um processo metabólico de elevado gasto energético para a célula, com o consumo de 16 ATP's para produzir duas moléculas de amônia (NH_3) a partir de uma molécula de N_2 atmosférico (Taiz; Zeiger, 2004).

A FBN é importante, pois consegue suprir a demanda de nitrogênio de que a planta necessita, logo proporciona uma economia na utilização de adubos e fertilizantes. Segundo Alves, Boddey e Urquiaga (2003), quando feita a inoculação corretamente, a

simbiose promove uma alta eficiência e dificilmente a fertilização nitrogenada resulta em acréscimos na produtividade. Entretanto, em condições de alta disponibilidade de N no solo, a planta prioriza a absorção desse mineral e a atividade dos rizóbios diminui, uma vez que o nutriente está numa forma prontamente disponível para a soja, com menor gasto energético em relação à FBN (Hungria; Campo; Mendes, 2007).

Apesar da ampla utilização de inoculantes na cultura da soja, as formulações comerciais podem apresentar variações na capacidade de sobrevivência bacteriana, nodulação e fixação de nitrogênio. Dessa forma, torna-se importante avaliar o desempenho fisiológico dessas formulações em condições controladas. Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação na soja com diferentes formulações comerciais de *Bradyrhizobium japonicum*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO

O experimento foi instalado na casa de vegetação do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), localizado em Patos de Minas (MG). O local tem as seguintes coordenadas geográficas: 18°34' S (latitude Sul), 46°31' W (longitude Oeste) e 815 m de altitude. Segundo a classificação de Köppen, apresenta clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1400 mm (Souza *et al*., 2005), sendo a temperatura média anual igual a 21,1 ºC; a máxima anual, 27,8 ºC; e a mínima anual, 16,3 ºC, conforme dados da Estação Meteorológica de Sertãozinho (EPAMIG) localizada no município de Patos de Minas (MG).

Foi utilizado o delineamento de blocos casualizados (DBC), composto por seis tratamentos e oito blocos, totalizando 48 unidades experimentais (Tabela 1). O experimento foi montado em vasos plásticos com capacidade de cinco litros. Realizou-se a mistura de solo e areia autoclavado, na proporção de 9:1, respectivamente. A adubação foi realizada conforme a análise de solo e exigência da cultura. No momento do plantio, não foi usada nenhuma fonte de N, para que não se tivesse interferência na formação de nódulos.

Tabela 1: Descrição dos tratamentos utilizados no trabalho intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025

Tratamento	Formulações	UFC/ml
T1	Controle	0
T2	Formulação 1*	$1{,}0\times10^{9}$
T3	Formulação 2*	$7{,}0\times10^{9}$
T4	Formulação 3*	$6{,}0\times10^{9}$
T5	Formulação 4*	$7{,}2\times10^{9}$
T6	Formulação 5*	$1{,}0\times10^{10}$

*Produtos comerciais.

A bactéria contida nos produtos inoculantes do presente trabalho foram do gênero *Bradyrhizobium japonicum*, que possui as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080. O número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de cada produto foi uniformizado de acordo com a recomendação técnica da EMBRAPA de 1,2 milhões de células por semente (Ferreira *et al*., 2011), aplicadas via tratamento de sementes (TS). A variedade implantada no experimento foi a TEC 7022 IPRO.

2.2 AVALIAÇÕES

As avaliações foram divididas em duas etapas, sendo: 24 unidades experimentais submetidas à avaliação no estágio V_4 e o restante no estágio R_2. Foram quantificados os nódulos totais, os nódulos ativos, a massa seca de raízes, além das quantificações da enzima nitrato redutase e dos ureídeos no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) em Patos de Minas (MG).

Para quantificar os nódulos totais foram considerados todos os nódulos da raiz no estágio V_4 e R_2. Para quantificar os nódulos ativos, foram considerados apenas os nódulos com a coloração avermelhada em seu interior no estágio R_2.

Para avaliação da massa seca de raízes, realizadas no estágio R_2, elas foram inseridas em sacos de papel para a secagem em estufa de ventilação forçada a 75ºC até atingirem peso constante. Após a secagem, as raízes foram pesadas em balança de precisão para obter os resultados da matéria seca de raízes.

Para quantificação da atividade da enzima nitrato redutase, foram retirados 200 mg de folhas frescas ao acaso na forma de disco com 0,8 cm de diâmetro, no estágio V_4 da planta, os quais foram colocados em tubos de ensaio de 15 mL com tampas contendo 4 mL de KNO_3 (0,25 M) em tampão fosfato. Os tubos de ensaio foram envolvidos em papel alumínio e mantidos em banho Maria a 35ºC durante 2 h, agitados de 5 em 5 minutos. Logo após, foi pipetado 1 mL da solução de cada tubo de ensaio para balão volumétrico de 50 mL para cada um dos respectivos tratamentos, evitando partículas de folhas. Em seguida, foi colocado H_2O destilada até completar 25 mL do balão e a seguir 1 mL de ácido sulfanílico. Essa solução foi mantida em repouso de 5 a 10 min. Posteriormente foi adicionado 1 mL de alfanaftalamina e 1 mL do tampão de acetato de sódio e foi completado volume a 50 mL com H_2O destilada. A leitura foi realizada depois de 10 e antes de 30 minutos no Espectrofotômetro, o qual foi ajustado ao valor zero com água destilada, a uma leitura de 540 nm. A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida por meio da curva padrão de nitrito (NO_2^-), ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^-. A partir das absorbâncias, foi ajustado o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear. Logo após, de acordo com esses dados, foi realizado o cálculo da atividade da enzima nitrato redutase, expressos em μg de $N\text{-}NO_2$ por g de fitomassa verde por hora.

Para a determinação de ureídeos, 200 mg de material vegetal no estágio R_2 foram transferidos para tubo falcon e adicionados 10 mL de água Milliq. Após esse procedimento, o material foi incubado a 45 ºC durante uma hora e, posteriormente centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos, ao final, o sobrenadante foi separado e armazenado em freezer para posterior avaliação. O teor de ureídeos (N-Ureídeos) foi

determinado com base no método proposto por Young e Conway (1942); utiliza-se 1 mL da amostra, que foi adicionada a tubo de ensaio, depois foram adicionados 200 uL de NaOH 0,5 N. Posteriormente, a solução foi colocada em banho-maria 100 ºC durante 10 minutos. Após esse procedimento, foram adicionados 400 uL de solução contendo HCl 0,65N + Cloridrato de Funil-hidrazina 0,33%, a solução homogeneizada foi levada novamente para banho-maria a 100 ºC durante dois minutos. Após, foram colocados em banho de gelo por 15 minutos, ao final foi adicionado 1 mL de solução contendo ferrocianeto de potássio 1,67% + HCl 10N. Após 10 minutos, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 525 nm. Os teores de ureídeos foram obtidos a partir de curva padrão de alantoína 1 mM, e os dados expressos em mM [ureídeos] g^{-1} [MS].

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

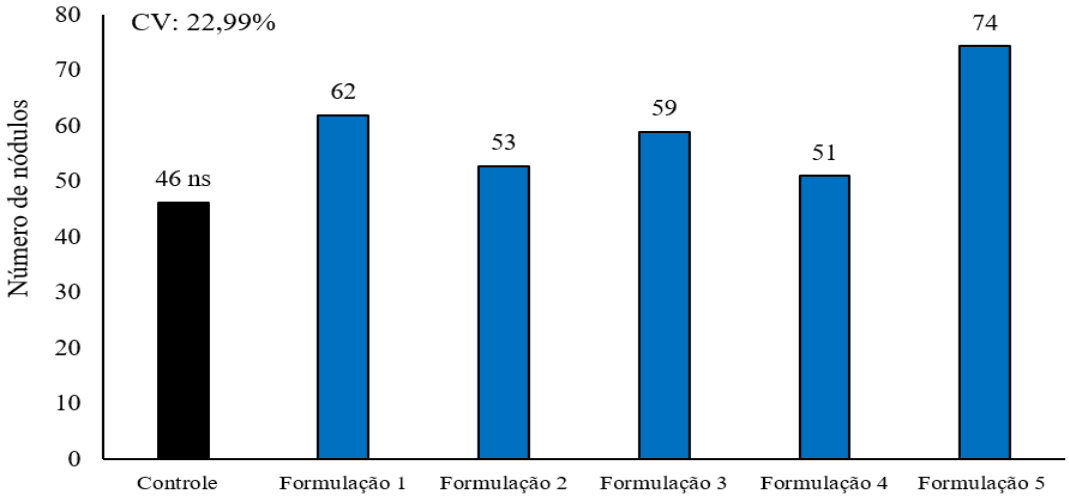
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 NÚMERO DE NÓDULOS

A contagem de nódulos da primeira avaliação (estágio V_4) não revelou diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle, evidenciando que as formulações resultaram em uma nodulação coincidente (Gráfico 1).

Estratégias complementares, como a utilização de formulações ou veículos que favoreçam a viabilidade e a sobrevivência das bactérias, bem como a suplementação com fontes específicas de nutrientes, poderiam ser utilizadas para contribuir na maximização da eficiência do inoculante e promover uma fixação biológica de nitrogênio mais consistente ao longo de todo o ciclo fenológico da cultura (Damasio *et al*., 2025).

Gráfico 1: Número de nódulos totais na 1ª avaliação - V_4 no ensaio intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025

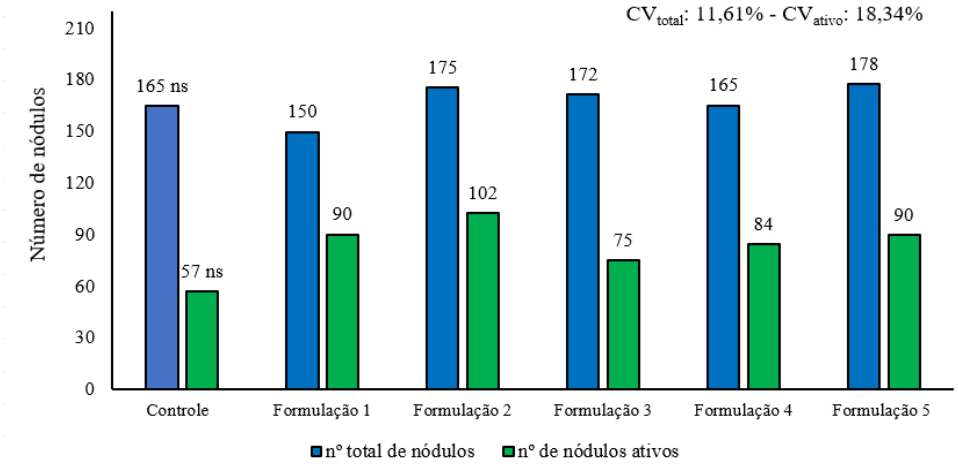


*ns: não significativo

Na segunda avaliação (estágio R_2), também não houve diferença significativa entre os tratamentos na contagem de nódulos totais e de nódulos ativos (Gráfico 2). Esse comportamento pode estar relacionado com algum tipo de estresse submetido durante a condução do trabalho, mesmo que em ambiente de estufa, como a influência da temperatura.

De acordo com Hungria e Nogueira *et al*. (2020), a avaliação do número de nódulos apresenta melhores resultados em aplicação de inoculante turfoso, comparado com inoculante líquido. Essa representatividade da turfa pode ser explicada por sua aptidão de proporcionar proteção física aos rizóbios, além da alta capacidade de reter água e nutrientes (Balatti; Freire, 1996). Por assim ser, pode ser considerado o uso de inoculante turfoso em oposição do inoculante líquido.

Gráfico 2: Número de nódulos totais e ativos na 2ª avaliação - R_2 no ensaio intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025

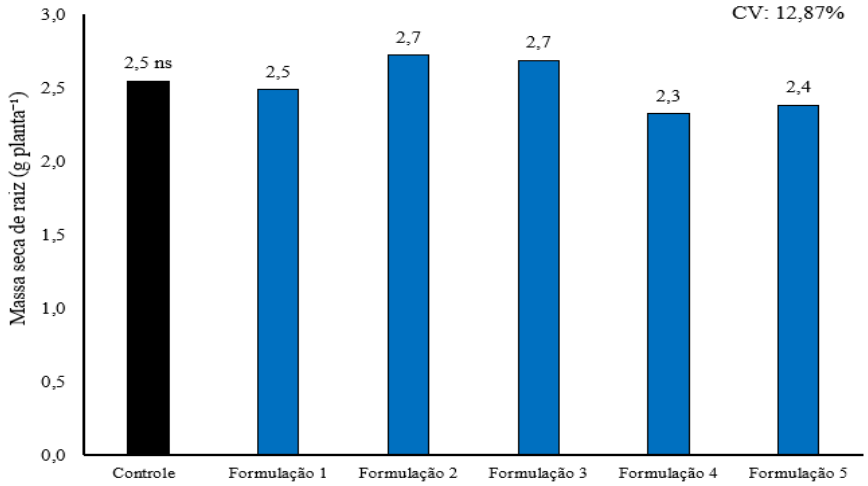


*ns: não significativo

3.2 MATÉRIA SECA DE RAIZ

A massa da matéria seca da raiz não se diferenciou estatisticamente do controle nem dos tratamentos entre si (Gráfico 3). Nesse sentido, é relevante destacar que a resposta da massa seca na soja a diferentes formulações de inoculantes pode variar, uma vez que está condicionada a vários fatores que envolvem as interações estabelecidas com as estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Além disso, a área radicular está ligada à formação dos nódulos (Fagan *et al*., 2015), destacando neste trabalho que os resultados obtidos na massa de matéria seca de raiz possuem relação com a contagem dos nódulos.

Gráfico 3: Massa de matéria seca de raiz no estágio R_2 no ensaio intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025



*ns: não significativo

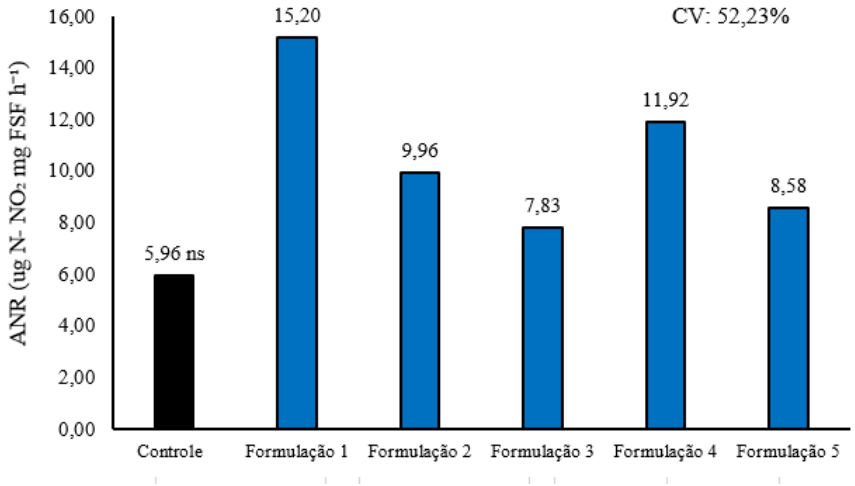
3.3. NITRATO REDUTASE

No Gráfico 4, observa-se que os tratamentos não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle, apesar da assimilação de nitrato ter tido um incremento de 155% na primeira formulação testada, em comparação ao controle. Isso pode ser explicado, pois, nesse estágio (V_4), a assimilação de nitrogênio via nitrato é fundamental, já que a maior parte do N assimilado é oriunda do solo, sem causar prejuízos à FBN (Soares, 2013).

É relevante considerar que, no presente trabalho, não foi realizada a adubação nitrogenada do solo no momento do plantio. Todavia, houve a atividade da enzima nitrato redutase, e isso pode ser correlacionado com o N residual proveniente do solo coletado, uma vez que solo foi retirado de área agricultável e apresenta nutrientes na análise de fertilidade.

A nitrato redutase, por ser a primeira enzima da via de redução do nitrato, controla a sua taxa de assimilação do nitrato, constituindo um fator importante na regulação do crescimento, desenvolvimento e produção de proteínas. A assimilação dessa enzima é o principal processo pelo qual o nitrogênio atmosférico é convertido em amônia (NH_3) e nitrato (NO_3^-) (Solomonson; Barber, 1990). O nitrato pode ser reduzido a nitrito (NO_2^-) e depois a amônia (NH_3) dentro da planta (EMBRAPA, 2022).

Gráfico 4: Nitrato redutase no estágio V_4 no ensaio intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025

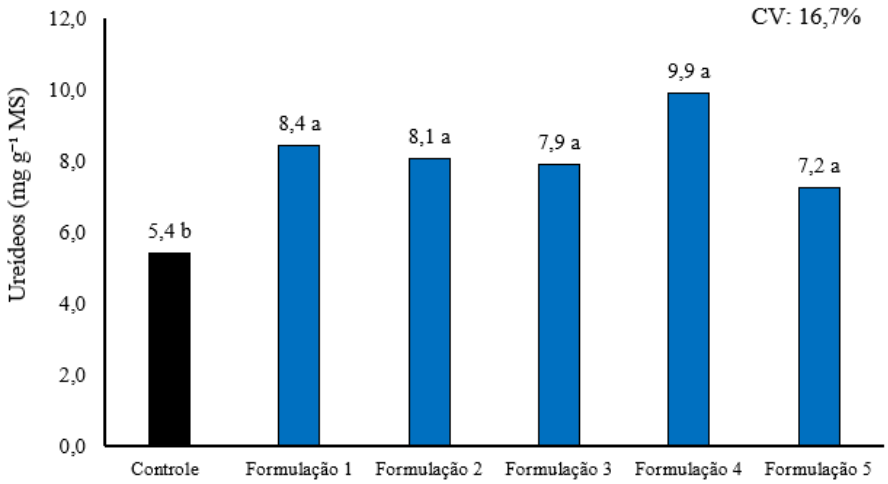


*ns: não significativo

3.4 UREÍDEOS

A análise de ureídeos revelou diferenças estatisticamente significativas dos tratamentos em relação ao controle (Gráfico 5). Em soja, a principal forma de transportar nitrogênio são os ureídeos, o que indica que o tratamento com a quarta formulação apresentou um incremento de 83% em relação ao controle, sendo mais eficiente na assimilação e transporte do nitrogênio fixado, em seguida da primeira formulação, segunda, terceira e quinta, que promoveram um aumento de 55%, 50%, 46% e 33%, respectivamente.

Gráfico 5: Ureídeos no estágio R_2 no ensaio intitulado "Inoculação na soja com diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum*", 2025



*Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4 CONCLUSÃO

As diferentes formulações de *Bradyrhizobium japonicum* não promoveram diferenças significativas para número de nódulos, massa seca de raiz e atividade de nitrato redutase. Entretanto, houve diferença significativa para os teores de ureídeos nas folhas, com incremento de 83% na formulação 4, o que indica melhor eficiência na assimilação e transporte do nitrogênio fixado.

REFERÊNCIAS

ALVES, B. J. R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 1-9, 2003.

BALATTI, A. P.; FREIRE, J. R. J. Inoculantes de leguminosas. **Seleção e caracterização de cepas: produção, uso e manejo**. La Plata, Argentina: Editorial Kinggraf, 1996.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Características da soja**. Brasília, DF: Embrapa, [s. d.].

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade do uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 12 - safra 2023/24, nº 11 - Décimo primeiro levantamento. Janeiro, 2025.

DAMASIO, A. B. N.; CUNHA, C. E. S.; SANTANA, G. G.; SILVA, L. M.; LOBATO, D. T. C. Efeito de diferentes doses de inoculante à base de *Bradyrhizobium* spp. na cultura da soja. **Revista Novos Desafios**, [*S. l.*], v. 5, n. 2, p. 65-76, 2025.

FAGAN, E. B.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; CHALFUN JUNIOR, A.; DOURADO NETO, D. **Fisiologia vegetal**: reguladores vegetais. São Paulo: Andrei, 2015.

FERREIRA, D.; F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [*S. l.*], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FERREIRA, E.; NOGUEIRA, M. A.; FUKAMI, J.; CONCEIÇÃO, R. B.; HUNGRIA, M. **Nova legislação, recomendação de doses de inoculantes e pré-inoculação**: riscos ao sucesso da contribuição da fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja. p. 325-327, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. D. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa, 2001.

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, 2007.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CAMPOS, L. J. M.; MENNA, P.; BRANDI, F.; RAMOS, Y. G. Seed pre-inoculation with *Bradyrhizobium* as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. **Agronomy Journal**, 112(6), 5222-5236, 2020.

SOARES, L. H. **Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SOLOMONSON, L. P.; BARBER, M. J. Assimilatory Nitrate Reductase: Functional Properties and Regulation. **Annual Review Plant Biology**. 41:225-253, 1990.

SOUZA, D. D.; CABRAL, J. B. P. de; LOPES, R. M.; REIS, M. A. S.; OLIVEIRA, S. F. Análise pluviométrica da carta topográfica de Patos de Minas referente ao período de 1978 a 2003. **Reunião Anual da SBPC**, 57, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2006.