

Boletim Técnico

10

Pesquisa e Desenvolvimento

2023
ISSN 2674-8177

Gerusa Pauli Kist Steffen
Ricardo Bemfica Steffen
Adriane Luiza Schú
Thaynam Cristina da Silva Sousa
Madalena Boeni
Ionara Fátima Conterato
Joseila Maldaner
Jackson Freitas Brilhante de São José
Liege Camargo da Costa



Imagem: Gerusa Steffen

**Benefícios da coinoculação de bactérias
fixadoras de nitrogênio na cultura da soja**



**GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL**
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA,
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO



Departamento de Diagnóstico
e Pesquisa Agropecuária



GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA,
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO

**GOVERNO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA,
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO
DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E PESQUISA
AGROPECUÁRIA**

BOLETIM TÉCNICO: Pesquisa e desenvolvimento

**BENEFÍCIOS DA COINOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS
FIXADORAS DE NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA**

Gerusa Pauli Kist Steffen
Ricardo Bemfica Steffen
Adriane Luiza Schú
Thaynam Cristina da Silva Sousa
Madalena Boeni
Ionara Fátima Conterato
Joseila Maldaner
Jackson Freitas Brilhante de São José
Liege Camargo da Costa

Porto Alegre, RS

2023

Governador do Estado do Rio Grande do Sul: Eduardo Figueiredo Cavalheiro Leite.

Secretário da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação: Giovani Feltes

Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Rua Gonçalves Dias, 570 – Bairro Menino Deus

Porto Alegre | RS – CEP: 90130-060

Telefone: (51) 3288.8000

<https://www.agricultura.rs.gov.br/ddpa>

Diretor: Caio Fábio Stoffel Efrom

Comissão Editorial:

Loana Silveira Cardoso; Lia Rosane Rodrigues; Bruno Brito Lisboa; Larissa Bueno Ambrosini; Flávio Nunes; Raquel Paz da Silva.

Arte: Rodrigo Nolte Martins

Catálogo e normalização:

B464 Benefícios da coinoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio na cultura da soja / Gerusa Pauli Kist Steffen ... [et al.]. – Porto Alegre: SEAPI/DDPA, 2023.

31 p. : il. – (Boletim técnico : pesquisa e desenvolvimento, 2675-1348 ; n. 10)

Continuação de: Circular técnica, 1995-2016.

1. Bioinsumos. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. *Bradyrhizobium elkanii*. 4. *Azospirillum brasilense*. 5. Inoculação. I. Steffen, Gerusa Pauli Kist. II. Série.

CDU 635.3

REFERÊNCIA

STEFFEN, Gerusa Pauli Kist *et al.* **Benefícios da coinoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio na cultura da soja.** 31 p. (Boletim técnico: pesquisa e desenvolvimento, n. 10).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	14
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4 CONCLUSÕES.....	27
REFERÊNCIAS	28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Número de nódulos radiculares por planta nas raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.17
- Figura 2.** Massa fresca de nódulos fixadores de nitrogênio por planta nas raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.....17
- Figura 3.** Corte longitudinal dos nódulos fixadores de nitrogênio nos diferentes tratamentos: controle sem inoculação (A), inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 (B) e coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (C).....19
- Figura 4.** Concentração de leg-hemoglobina nos nódulos fixadores de nitrogênio das raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.20
- Figura 5.** Massa fresca da parte aérea de plantas de soja em estágio R1 nos diferentes tratamentos.....22
- Figura 6.** Massa fresca das raízes de plantas de soja em estágio R1 nos diferentes tratamentos.....23
- Figura 7.** Comparativo entre plantas de soja submetidas aos diferentes tratamentos: controle sem inoculação (A), inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 (B) e coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (C).....24

Benefícios da coinoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio na cultura da soja

Gerusa Pauli Kist Steffen¹, Ricardo Bemfica Steffen², Adriane Luiza Schú³, Thaynam Cristina da Silva Sousa⁴, Madalena Boeni⁵, Ionara Fátima Conterato⁶, Joseila Maldaner⁷, Jackson Freitas Brilhante de São José⁸, Liege Camargo da Costa⁹

¹ Pesquisadora, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: gerusa-steffen@agricultura.rs.gov.br

² Pesquisador, Doutor, Biomonte Pesquisa e Desenvolvimento. E-mail: agronomors@gmail.com

³ Analista Agropecuário e Florestal, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: adriane-schu@agricultura.rs.gov.br

⁴ Analista Agropecuário e Florestal, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: thaynam-sousa@agricultura.rs.gov.br

⁵ Pesquisadora, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: madalena-boeni@agricultura.rs.gov.br

⁶ Pesquisadora, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: ionara-conterato@agricultura.rs.gov.br

⁷ Pesquisadora, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: joseila-maldaner@agricultura.rs.gov.br

⁸ Pesquisador, Doutor, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: jackson-jose@agricultura.rs.gov.br

⁹ Pesquisadora, Doutora, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI). E-mail: liege-costa@agricultura.rs.gov.br

RESUMO

O suprimento de nitrogênio (N) para a cultura da soja pode se dar através de associações das plantas com bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. O uso desses microrganismos é benéfico para a agricultura, sendo a coinoculação uma prática que merece destaque e maior investigação, visando a recomendação de práticas eficientes, rentáveis e sustentáveis para a agricultura. O objetivo do trabalho foi determinar os benefícios da inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* e da coinoculação com *Azospirillum brasilense* sobre parâmetros de crescimento vegetal e nodulação na cultura da soja. O ensaio foi conduzido em condições de casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos avaliados foram: 1. Controle sem inoculação, 2. Inoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019, e 3. Coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *A. brasilense* Ab-V5. A inoculação de *B. elkanii* ocorreu na forma de tratamento de sementes na dose de 300 g de inoculante turfoso por 250 kg de sementes. O inóculo de *A. brasilense* foi adicionado no solo, aos sete dias após a emergência das plântulas na dose equivalente a 200 mL por hectare. Avaliações foram realizadas no início do florescimento da soja, sendo determinados os parâmetros: massa fresca de parte aérea e raízes (g), número de nódulos, massa fresca (g) de nódulos e atividade de nódulos fixadores de N por planta. A inoculação de *B. elkanii* e a coinoculação com *A. brasilense* elevaram significativamente o número, a massa fresca e a atividade dos nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes, bem como a massa fresca radicular e da parte aérea da soja, em comparação às plantas não inoculadas. A inoculação de

Bradyrhizobium nas sementes incrementou o número médio (1500%) e a massa fresca média (679,3%) de nódulos fixadores de N por planta de soja. Enquanto a coinoculação com *Azospirillum* incrementou significativamente a nodulação (2000%) e a massa fresca média de nódulos (562%) das plantas de soja em relação ao tratamento controle. Maior concentração de leg-hemoglobina (662%) foi observada nos nódulos fixadores de N das plantas inoculadas com *B. elkanii* e coinoculadas com *A. brasilense* (772%), em relação ao controle, indicando maior atividade e eficiência na fixação biológica de N. As práticas de inoculação e coinoculação representam ferramentas tecnicamente viáveis a fim de potencializar a eficiência produtiva da cultura da soja, com maior sustentabilidade econômica e ambiental.

Palavras-chave: Bioinsumos, fixação biológica de nitrogênio, *Bradyrhizobium elkanii*, *Azospirillum brasilense*, inoculação.

Benefits of nitrogen-fixing bacteria coinoculation in soybean crops

ABSTRACT

The supply of nitrogen (N) to soybean crops can occur through associations of plants with bacteria of the genera *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*. Using these microorganisms is beneficial for agriculture, with coinoculation being a practice that deserves attention and further investigation, aiming to recommend efficient, profitable and sustainable agricultural practices. The work aimed to determine the benefits of inoculation with *Bradyrhizobium elkanii* and coinoculation with *Azospirillum brasilense* on plant growth parameters and nodulation in soybean crops. The study was conducted under greenhouse conditions in a completely randomized design with three treatments and four replications. The treatments evaluated were: 1. Control without inoculation, 2. Inoculation of *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019, and 3. Coinoculation of *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 and *A. brasilense* Ab-V5. Inoculation of *B. elkanii* occurred in seed treatment at a dose of 300 g of peat inoculant per 250 kg of seeds. The *A. brasilense* inoculum was added to the soil seven days after seedling emergence at a dose equivalent to 200 mL per hectare. Assessments were carried out at the beginning of soybean flowering, determining the following parameters: fresh mass of shoots and roots (g), number, fresh mass (g) and activity of N-fixing nodules per plant. Inoculation with *B. elkanii* and co-inoculation with *A. brasilense* significantly increased the number, fresh mass, and activity of nitrogen-fixing nodules on the roots, as well as the fresh mass of roots and shoots of

soybean, compared to plants not inoculated. *Bradyrhizobium* inoculation in seeds increased the average number (1500%) and average fresh mass (679.3%) of N-fixing nodules per soybean plant. Coinoculation with *Azospirillum* significantly increased nodulation (2000%) and the average fresh mass of nodules (562%) of soybean plants concerning the control treatment. A higher concentration of Leghemoglobin (662%) was observed in the N-fixing nodules of plants inoculated with *B. elkanii* and co-inoculated with *A. brasilense* (772%), concerning the control, indicating more significant activity and efficiency in biological N fixation. Inoculation and coinoculation practices represent technically viable tools to enhance the productive efficiency of soybean cultivation with greater economic and environmental sustainability.

Keywords: Bioinputs, biological nitrogen fixation, *Bradyrhizobium elkanii*, *Azospirillum brasilense*, inoculation.

1 INTRODUÇÃO

Em termos econômicos, a soja (*Glycine max* L.) representa a cultura oleaginosa mais importante do mundo, sendo sua produtividade dependente, além de outros fatores, do adequado suprimento de nutrientes (AVELAR; TANNUS, 2022). Dentre os diversos nutrientes essenciais ao cultivo, o nitrogênio (N) é exigido em grandes quantidades, podendo ser suprido totalmente através da fixação biológica de nitrogênio (FBN), desde que realizada a prática da inoculação com estirpes de bactérias selecionadas e comprovadamente eficientes em fixar este elemento para a soja (HUNGRIA *et al.*, 2006).

O processo de FBN é essencial para o cultivo da soja no Brasil, representando uma das tecnologias mais difundidas no cenário agrícola nacional (PRANDO *et al.*, 2020). É uma tecnologia economicamente viável e ambientalmente sustentável, que se encontra ao alcance dos produtores de soja do País. Além de representar uma significativa redução dos custos de produção, por substituir o uso de fertilizantes nitrogenados, apresenta a vantagem de evitar possíveis contaminações do solo e da água pelo nitrato, molécula oriunda do uso intensivo de fertilizantes nitrogenados na agricultura e que apresenta alta taxa de lixiviação no solo. De acordo com Hungria *et al.* (2006), o uso de inoculantes contendo estirpes de *Bradyrhizobium* selecionadas pela pesquisa ao longo de décadas, assegura o completo suprimento do N necessário para a cultura da soja, mesmo em altos níveis de produtividade.

Considerando a grande exigência da soja por N, equivalente a mais de 80 kg do nutriente para cada tonelada

de grãos produzidos (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007), fica evidente a importância da FBN para o aumento da rentabilidade da cultura. Por esta razão, a inoculação de estirpes de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* em culturas agrícolas leguminosas é uma prática que vem sendo cada vez mais adotada por produtores no Brasil e incentivada por técnicos e equipes de órgãos de pesquisa agropecuária. Mais recentemente, além das atualizações dos benefícios da inoculação de *Bradyrhizobium*, são cada vez mais evidentes e comprovados os benefícios do uso combinado desse grupo de bactérias com a espécie *Azospirillum brasilense* em cultivos de soja, técnica conhecida como coinoculação (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Inúmeros resultados de pesquisa vêm demonstrando a viabilidade técnica e econômica dessa prática para diferentes cultivos (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2018; PRANDO *et al.*, 2019, 2020; RONDINA *et al.*, 2020; CUNHA *et al.*, 2023).

A simbiose entre plantas de soja e bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, popularmente chamadas de rizóbios, resulta na formação de nódulos radiculares, nos quais as bactérias se abrigam e recebem alimento da planta hospedeira. Em troca, esses microrganismos capturam o N atmosférico (N_2), reduzindo-o a amônia (NH_3) através da ação de enzimas produzidas pelo metabolismo bacteriano. Na sequência, a amônia é transformada em compostos nitrogenados, os quais são utilizados pela planta durante o crescimento (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

É curioso pensar que, embora o N_2 constitua 78% dos gases atmosféricos, nenhum animal ou planta consegue utilizá-lo diretamente como nutriente, devido à forte ligação tripla que existe entre os dois átomos do N, considerada uma

das mais fortes na natureza (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2022). Porém, quando difundido para o espaço poroso do solo, o N_2 consegue ser aproveitado por alguns microrganismos, especialmente bactérias, graças à ação de enzima nitrogenase, responsável pela quebra da tripla ligação do N_2 e sua redução à amônia (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; HUNGRIA, 2011). As bactérias que possuem esta habilidade são conhecidas como diazotróficas ou fixadoras de N e podem associar-se a diversas espécies de plantas em diferentes graus de especificidade. Assim, conforme o tipo de relação que estabelecem com as plantas, as bactérias podem ser classificadas como associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

A espécie *Azospirillum brasilense* também possui a habilidade de fixar N atmosférico. Porém, pelo fato de formar um tipo de associação menos especializada com as plantas, é capaz de suprir somente parte da necessidade de N dos vegetais (SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2021). Diferentemente das bactérias simbióticas do gênero *Bradyrhizobium*, as bactérias do gênero *Azospirillum* apresentam vida livre no solo e são classificadas como associativas, podendo se desenvolver dentro ou fora das raízes de plantas leguminosas ou gramíneas (MOREIRA, 2010). No entanto, as estirpes de *A. brasilense* selecionadas no Brasil possuem alta capacidade de produzir fitormônios, especialmente o ácido indolacético (SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2021). Por esta razão, são capazes de promover o desenvolvimento do sistema radicular das plantas e ampliar o volume de solo explorado pelas raízes em busca de água e nutrientes, beneficiando diretamente a nodulação da soja e a eficiência de absorção de nutrientes (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015).

Devido ao elevado custo dos fertilizantes químicos e à conscientização dos produtores rurais da importância de utilizar técnicas mais sustentáveis na agricultura, observa-se um crescente interesse pelo uso de inoculantes bacterianos que promovam o crescimento e incrementem a produtividade vegetal (HUNGRIA, 2011). No entanto, uma parcela representativa de sojicultores ainda não faz uso da prática da inoculação, devido ao fato de observar nodulação nas raízes das plantas, mesmo sem realizar a inoculação com estirpes comerciais (PRANDO *et al.*, 2019). Isso acontece pelo fato de existirem bactérias fixadoras de N em ambientes agrícolas, sejam elas nativas ou oriundas de inoculantes comerciais previamente utilizados na área produtiva. Contudo, é fundamental considerar que o adequado suprimento de N para a cultura da soja é dependente do grau de nodulação do sistema radicular, sendo que somente há garantia do total suprimento de N pela fixação biológica se o número ou a massa de nódulos estiver em níveis satisfatórios com a expectativa de produção almejada. Por isso, a importância da prática de inoculação ou coinoculação ser realizada anualmente e com estirpes comprovadamente eficientes para a cultura que se deseja implantar, para que assim os produtores possam garantir os benefícios agrônômicos e econômicos dessa ferramenta.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar os benefícios da inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 e da coinoculação com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 sobre parâmetros de desenvolvimento vegetal e a nodulação da cultura da soja. A partir dos dados gerados por esta pesquisa, espera-se contribuir com a cadeia produtiva de soja no sul do Brasil, gerando recomendações técnicas eficientes e viáveis do ponto de vista econômico e

sustentáveis do ponto de vista ambiental, através da redução dos custos de produção, do aumento da lucratividade da cultura e da mitigação de impactos ambientais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em condições de casa de vegetação climatizada, nos meses de novembro e dezembro de 2022, na área experimental do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA), pertencente à Secretaria de Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação (SEAPI) no município de Santa Maria (RS).

No estudo, foram avaliados três tratamentos, sendo 1. Controle sem inoculação, 2. Inoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019, e 3. Coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *A. brasilense* Ab-V5 na cultura da soja cultivar Vênus. A inoculação com *B. elkanii* foi realizada com o produto comercial Bionutri® na formulação sólida (turfa) contendo as estirpes SEMIA 587 e 5019. Enquanto a inoculação com *A. brasilense* foi realizada com formulação líquida do produto comercial Biomax® Azum, contendo a estirpe Ab-V5 na concentração de 3×10^8 UFC/mL (unidades formadoras de colônia por mL de produto).

A inoculação de *B. elkanii* nas sementes ocorreu previamente à semeadura, na dose de 300 g de inoculante por 250 kg de sementes. A bactéria *A. brasilense* Ab-V5 foi aplicada no tratamento 3, diretamente no solo aos sete dias após a emergência das plântulas, na dose equivalente a 200 mL do produto comercial por hectare. A dose líquida do inoculante foi aplicada no interior de orifícios feitos com um bastão de vidro no entorno da plântula, para possibilitar maior

proximidade da bactéria com a rizosfera. É importante ressaltar que, em condições de campo, os dois inoculantes bacterianos podem ser misturados e aplicados conjuntamente nas sementes. Para este estudo, optou-se por realizar a inoculação em momentos separados, para possibilitar a observação de alguns parâmetros específicos da pesquisa.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada unidade experimental representada por uma planta, cultivada em um vaso. Foram utilizados vasos plásticos com capacidade para 3,8 litros, contendo uma mistura de solo arenoso e substrato comercial Plantmax® (1:1) (v/v). O solo foi coletado em um cultivo de aveia preta e não passou por processo de esterilização, com o objetivo de simular condições naturais de um solo agrícola com uma diversa presença de microrganismos, dentre eles bactérias fixadoras de N.

As avaliações foram realizadas na fase de florescimento das plantas, em estágio R1, aos 46 dias após a semeadura, sendo determinados os seguintes parâmetros: massa fresca da parte aérea e das raízes (g), número de nódulos, massa fresca (g) e atividade de nódulos fixadores de N. A atividade dos nódulos foi avaliada através da determinação da leg-hemoglobina conforme metodologia de Bradford (1976).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estabelecimento de simbiose entre plantas leguminosas e os rizóbios é facilmente identificado pela formação dos nódulos radiculares, que são estruturas altamente especializadas formadas especificamente para o processo de FBN. A eficiência deste processo natural é tão elevada, que é capaz de suprir completamente a necessidade de N de culturas leguminosas (HUNGRIA *et al.*, 2011). No caso da cultura da soja, taxas superiores a 300 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹ já foram observadas no Brasil, suprimindo totalmente as demandas deste nutriente pela planta (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). Diferentemente do gênero *Bradyrhizobium*, a bactéria *A. brasilense* sintetiza fitormônios que promovem crescimento vegetal, especialmente do sistema radicular, o que favorece a nodulação e a FBN realizada por *Bradyrhizobium*, além de trazer outros benefícios, como ampliação do volume de solo explorado pelas raízes (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015). Neste trabalho, observou-se a formação expressiva de nódulos fixadores de N nas plantas inoculadas com *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e coinoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 (Figuras 1 e 2), corroborando com as informações apresentadas por Hungria (2011) e Hungria, Nogueira e Araujo (2015).

A inoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 nas sementes de soja incrementou em 1500% o número médio de nódulos fixadores de N por planta (Figura 1) e em 679,3% a massa média de nódulos no sistema radicular das plantas inoculadas (Figura 2).

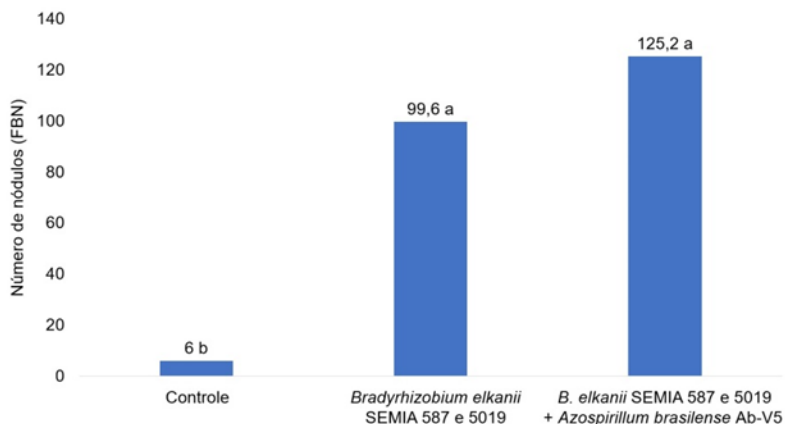


Figura 1. Número de nódulos radiculares por planta nas raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.

Médias com mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

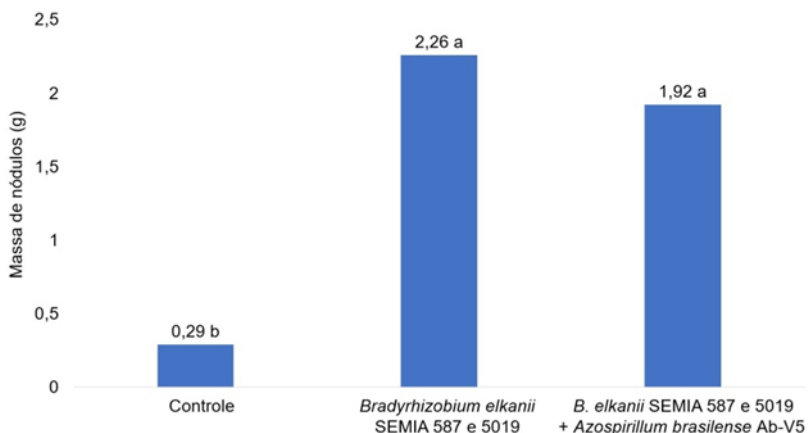


Figura 2. Massa fresca de nódulos fixadores de nitrogênio por planta nas raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.

Médias com mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Da mesma forma, a coinoculação com *A. brasilense* Ab-V5 incrementou significativamente a nodulação das plantas de soja em relação ao tratamento controle, elevando em 2000% o número médio de nódulos (Figura 1) e em 562% a massa fresca dos nódulos (Figura 2).

Apesar de não ter sido observada diferença significativa entre as práticas de inoculação e coinoculação para os parâmetros de nodulação, ficou evidente a compatibilidade entre as duas biotecnologias e os benefícios que ambas apresentam para a cultura da soja.

Prando *et al.* (2019), avaliando a nodulação de soja não inoculada e coinoculada com *Bradyrhizobium japonicum* e *A. brasilense* em 61 unidades produtivas no estado do Paraná, observaram nodulação média de 20,8 nódulos por planta nas parcelas coinoculadas e de 15,5 nódulos por planta nas parcelas sem inoculação, representando incremento na ordem de 34%. Em relação à massa fresca de nódulos, os mesmos autores verificaram aumento de quase 50% nas plantas coinoculadas em relação às não inoculadas, passando de 0,15 gramas de nódulos nas plantas sem inoculação, para 0,22 gramas de nódulos nas plantas coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Os dados observados neste trabalho corroboram também com os dados apresentados por Prando *et al.* (2019), de que a inoculação de *Bradyrhizobium* e a coinoculação com *Azospirillum* eleva o número de nódulos nas plantas de soja. No entanto, os incrementos em nodulação observados neste trabalho foram ainda mais expressivos, o que demonstra a qualidade dos inoculantes bacterianos e a eficiência das estirpes avaliadas.

Um parâmetro muito importante para determinar a eficiência da FBN nas plantas leguminosas é a quantificação dos níveis de leg-hemoglobina, uma proteína característica do

estabelecimento da simbiose que é sintetizada com a função de transportar oxigênio nas concentrações necessárias. Neste trabalho, a partir da análise dos nódulos formados nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos, constatou-se maior atividade dos nódulos extraídos das plantas inoculadas com *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e coinoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 em relação aos nódulos das plantas não inoculadas. Os cortes transversais dos nódulos indicaram a presença de teores mais elevados de pigmentos rosados nos nódulos das plantas inoculadas e coinoculadas com as bactérias (Figura 3).

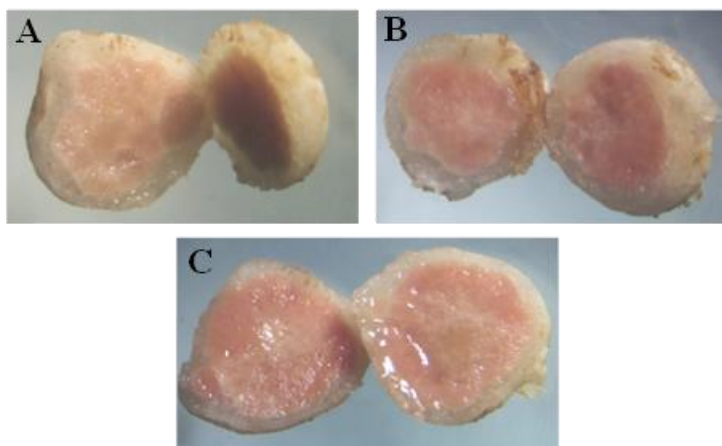


Figura 3. Corte longitudinal dos nódulos fixadores de nitrogênio nos diferentes tratamentos: controle sem inoculação (A), inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 (B) e coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (C).

Fonte: Gerusa Pauli Kist Steffen

Os nódulos em plena atividade apresentam a parte interna com coloração rósea intensa, pela ação da leg-hemoglobina. Enquanto nódulos senescentes apresentam coloração esverdeada devido à degradação da leg-hemoglobina, os nódulos formados por bactérias ineficientes apresentam coloração interna branca ou esverdeada desde a sua formação (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). A partir da determinação dos teores de leg-hemoglobina, foi possível confirmar a maior eficiência e atividade dos nódulos formados pela simbiose das plantas com as bactérias inoculadas (Figura 4).

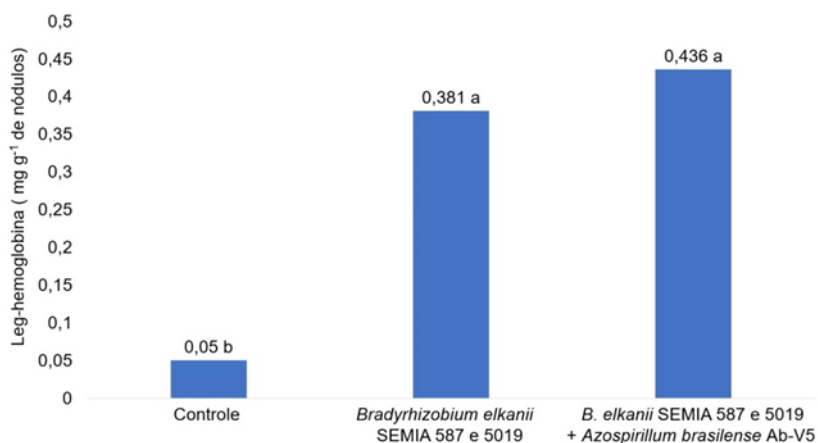


Figura 4. Concentração de leg-hemoglobina nos nódulos fixadores de nitrogênio das raízes de soja no estágio R1 nos diferentes tratamentos.

Médias com mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação aos parâmetros de desenvolvimento vegetal, a inoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e coinoculação com *A. brasilense* Ab-V5 ampliaram significativamente as médias de massa fresca da parte aérea de plantas de soja em relação ao tratamento controle (Figura 5). Queiroz Rego *et al.* (2018) observaram que a coinoculação de *B. japonicum* (SEMIA 5079 E 5080) e *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) foi benéfica para a cultura da soja, promovendo incremento de massa da parte aérea em três safras avaliadas. Galindo *et al.* (2022) obtiveram aumento de 13% na produção de biomassa de parte aérea na cultura do feijão-caupi em parcelas coinoculadas com *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6), em comparação com a inoculação isolada de *Bradyrhizobium* sp. (SEMIA 6462 e SEMIA 6463). Nesse sentido, incrementos na parte aérea das plantas são benéficos por aumentarem a área fotossinteticamente ativa (PARCIANELLO *et al.*, 2004), cujo efeito apresenta reflexos diretos sobre os parâmetros de produtividade da cultura da soja.

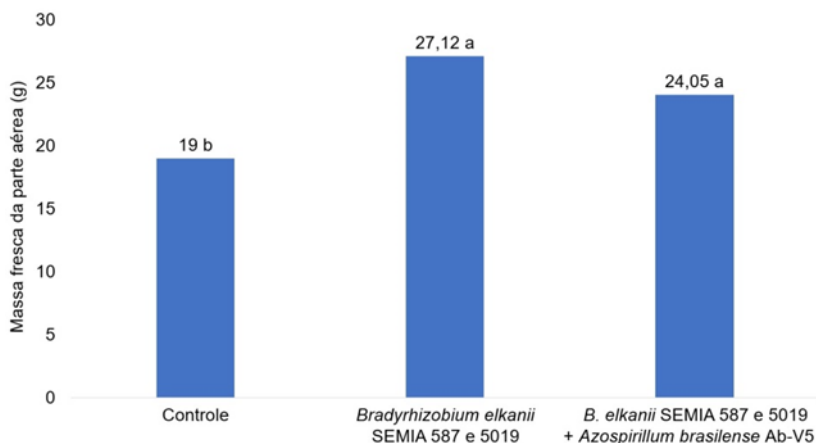


Figura 5. Massa fresca da parte aérea de plantas de soja em estágio R1 nos diferentes tratamentos.

Médias com mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Além do incremento observado na parte aérea das plantas, o uso dos bioinsumos também promoveu maior enraizamento das plantas de soja, demonstrando os benefícios do uso de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *A. brasilense* Ab-V5 em aumentar a capacidade da planta em explorar o solo, absorver água e nutrientes (Figuras 6 e 7). Estes resultados corroboram com Rondina *et al.* (2020), os quais afirmam que a coinoculação de soja com *Bradyrhizobium* e *A. brasilense* melhora diversas características morfológicas das raízes, aumentando a capacidade da planta de superar episódios moderados de estresse hídrico em solos arenosos, permitindo alcançar produtividades maiores e mais estáveis. Resultados como estes ressaltam a importância da prática da inoculação na

cultura da soja, que além de suprir a demanda de N, irá promover maior resiliência à planta em resistir a períodos de baixa precipitação, como os observados nos últimos anos no Rio Grande do Sul.

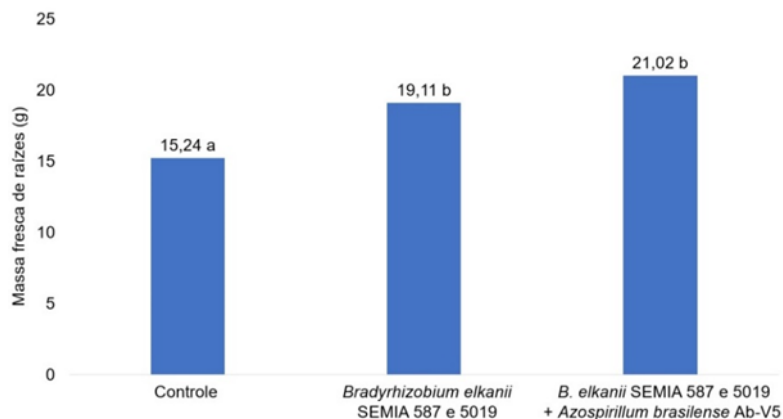


Figura 6. Massa fresca das raízes de plantas de soja em estágio R1 nos diferentes tratamentos.

Médias com mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

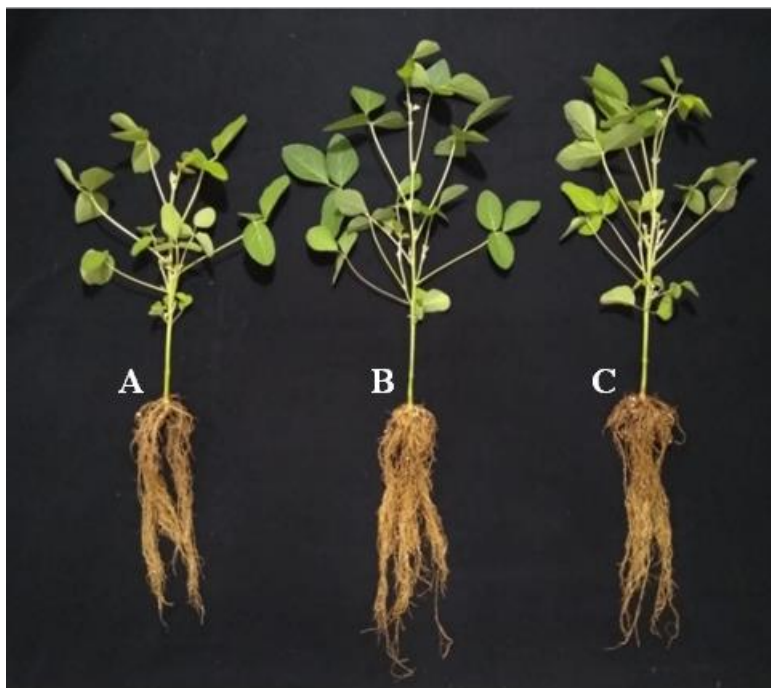


Figura 7. Comparativo entre plantas de soja submetidas aos diferentes tratamentos: controle sem inoculação (A), inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 (B) e coinoculação de *B. elkanii* SEMIA 587 e 5019 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (C).

Fonte: Gerusa Pauli Kist Steffen.

A promoção do desenvolvimento radicular pela inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* pode implicar em vários outros efeitos, tais como incremento na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses hídrico e salino, resultando em plantas mais vigorosas e produtivas (DOBBELAERE *et al.*, 2001; BASHAN; HOLGUIN; DE-

BASHAN, 2004; HUNGRIA, 2011; SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2021). Inclusive, há relatos de que os benefícios proporcionados pelo incremento radicular e em nutrição vegetal pode resultar em maior tolerância das plantas a agentes causadores de doenças (FUKAMI *et al.*, 2017).

Rondina *et al.* (2020) avaliaram os efeitos da coinoculação com *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) ou a aplicação de seus exsudatos via sementes ou pulverização foliar em desenvolvimento da parte aérea, características morfológicas e nodulação de raízes, e produtividade de grãos da soja inoculada com duas estirpes de *Bradyrhizobium* spp. (*B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080). Os autores observaram que a coinoculação de *Bradyrhizobium* spp. e *A. brasilense* e a aplicação de exsudatos de *A. brasilense* nas sementes aumentaram o número de ramos e nódulos radiculares em comparação com a inoculação única das duas estirpes de *Bradyrhizobium* (SEMIA 5079 e 5080). A coinoculação elevou o teor total de N na parte aérea e foi eficaz na melhoria de algumas características morfológicas das raízes da soja, incluindo aumentos no comprimento específico das raízes, volume radicular, abundância e comprimento dos pêlos radiculares, resultando no incremento do rendimento de grãos.

Avaliando os efeitos da coinoculação de duas espécies de *Bradyrhizobium* (*B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* 5080) e *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) sobre a nodulação de plantas de soja, Chibeba *et al.* (2015) observaram precocidade de nodulação. Segundo Hungria, Nogueira e Araujo (2015), a coinoculação de plantas de soja com estes gêneros bacterianos resulta em nodulação mais abundante e precoce, com ganho médio de produtividade de 16% (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013), que é o dobro

do proporcionado pela inoculação anual apenas com *Bradyrhizobium*. Neste contexto, considerando os dados obtidos neste trabalho e os resultados obtidos por diversos grupos de pesquisa nacionais e internacionais, há evidências técnicas e científicas consistentes que demonstram os benefícios das práticas da inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* e da coinoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. Além de proporcionar ganhos produtivos, a inoculação e a coinoculação de bactérias no cultivo da soja representam ferramentas viáveis do ponto de vista técnico e sustentáveis, por representarem economia com o uso de fertilizantes nitrogenados e mitigação de problemas ambientais.

4 CONCLUSÕES

A prática da inoculação da soja com *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 e da coinoculação com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 elevou significativamente a nodulação e os parâmetros de desenvolvimento radicular e da parte aérea das plantas. Os incrementos no desenvolvimento da parte aérea e das raízes das plantas de soja contribuem para a maior eficiência produtiva das plantas por aumentar a área fotossinteticamente ativa das folhas e elevar a capacidade do sistema radicular em explorar maior volume de solo em busca de água e nutrientes.

A inoculação de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e 5019 e a coinoculação com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 elevaram significativamente o número, a massa fresca e a atividade dos nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes em comparação com plantas não inoculadas. Embora tenha ocorrido a formação de nódulos fixadores de N nas raízes das plantas do tratamento controle (sem inoculação) pelo fato de não ter sido utilizado solo estéril no experimento, foram observadas diferenças significativas na atividade dos nódulos presentes nas raízes das plantas não inoculadas e inoculadas com os microrganismos.

REFERÊNCIAS

AVELAR, M. M. de; TANNUS, S. P. Indicadores das exportações brasileiras de soja em grão. **Revista Competitividade e Sustentabilidade**, Cascavel, v. 9, n. 1, p. 44-53, 2022.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976.

CHIBEBA, A. M. *et al.* Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, [Irvine, Calif.], v. 6, p. 1641-1649, 2015.

CUNHA, L. DO S. *et al.* Inoculation, co-inoculation and nitrogen fertilization in soybean culture: inoculação, co-inoculação e adubação nitrogenada na cultura da soja. **Concilium**, London, v. 23, n. 10, 454-472, 2023.

DOBELAERE, S. *et al.* Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, Harpenden, v. 28, n. 9, p. 871-879, 2001.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. **Brazilian Journal of Biometrics**, Lavras, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FUKAMI, J. *et al.* Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, Münster, v. 7, n. 153, p. 1-13, 2017.

GALINDO, F. S. *et al.* Co-Inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* sp. enhances nitrogen uptake and yield in field-grown cowpea and did not change N-fertilizer recovery. **Plants**, Basel, v. 11, n. 14, p. 1847, 2022.

HUNGRIA, M. *et al.* Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) in South America. *In*: SINGH; R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K (ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston, TX: Studium Press, 2006. p. 43-93.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, 325).

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. 80 p. (Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Fixação biológica do nitrogênio. *In*: MEYER, M. C. *et al.* (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília: Embrapa, 2022. cap. 8, p. 141-162.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, Frankfurt, v. 49, p. 791-801, 2013.

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 Plant Sciences**, [Irvine, Calif.], v. 6, n. 6, p. 811-817, 2015.

MOREIRA, F. M. de S. *et al.* Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 1, n. 20, p. 74-99, 2010.

NOGUEIRA, M. A. *et al.* **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja na safra 2017/18 no Estado do Paraná.** Londrina: Embrapa Soja, 2018. 16 p. (Circular Técnica, 143).

PARCIANELLO, G. *et al.* Tolerância da soja ao desfolhamento afetada pela redução do espaçamento entre fileiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 357-364, 2004.

PRANDO, A. M. *et al.* **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2018/2019 no Paraná.** Londrina: Embrapa Soja, 2019. 20 p. (Circular técnica, 156).

PRANDO, A. M. *et al.* **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2019/2020 no Paraná.** Londrina: Embrapa Soja, 2020. 22 p. (Circular técnica, 166).

QUEIROZ REGO, C. H. *et al.* Co-inoculation with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* increases yield and quality of soybean seeds. **Agronomy Journal**, Madison, Wis., v. 110, n. 6, p. 2302-2309, 2018.

RONDINA, A. B. L. *et al.* Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 56, n. 4, p. 537-549, 2020.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 45, e.0200128, 2021.



GOVERNO DO ESTADO
RIO GRANDE DO SUL
SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA,
PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E IRRIGAÇÃO

Secretaria de Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação
Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária

Avenida Getúlio Vargas, 1384 - Menino Deus
CEP 90150-004 - Porto Alegre - RS
Fone: (51) 3288-8000

www.agricultura.rs.gov.br/ddpa