



## COINOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO NA CULTURA DA SOJA

Edivam de Bonfim<sup>1</sup>, Ana Paula Morais Mourão Simonetti<sup>2</sup>, André Silas Lima Silva<sup>3</sup>, Kelly Jackeline Silva do Valle<sup>4</sup>

### RESUMO

Com a finalidade de obter maior desempenho no desenvolvimento das culturas, as bactérias promotoras de crescimento vegetal são uma alternativa viável à agricultura. A pesquisa foi realizada em Braganey PR entre outubro de 2020 e junho de 2021. Neste contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da coinoculação com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*, via tratamento de sementes, sobre características morfológicas e produtivas da soja. O estudo foi conduzido a campo sob delineamento de blocos casualizados com quatro repetições totalizando 48 parcelas com medidas de 4,5x6 m e os seguintes tratamentos: T1: controle; T2: *A. brasilense*; T3: *B. megaterium* e *B. subtilis*; T5 - *B. liquefacens*; T4 - *P. fluorescens*; T6: *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7 - *A. brasilense* + *B. liquefacens*; T8: *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. liquefacens*; T10: *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11 - *A. brasilense* + *B. liquefacens* + *P. fluorescens*; T12: *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. liquefacens* + *P. fluorescens*. Nos estádios V5, VN e R3 foram avaliados: altura de plantas, diâmetro basal, e área foliar. E no estádio R8, massa de mil grãos e a produtividade em kg ha<sup>-1</sup>. Concluiu-se que a coinoculação com *Pseudomonas fluorescens* promoveu maior crescimento de planta em relação a coinoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*. Para as variáveis diâmetro basal, área foliar, produtividade e massa de 1000 grãos não foram observadas diferenças entre os tratamentos com coinoculação, em comparação a testemunha inoculada com *Azospirillum brasilense*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Glycine max*; *Azospirillum brasilense*; *Pseudomonas fluorescens*; *Bacillus megaterium*; *Bacillus subtilis*; Fixação biológica.

### 1. INTRODUÇÃO

A primeira posição no ranking mundial dos países produtores de soja pertence ao Brasil, com produção de 135,86 milhões de toneladas em 38,502 milhões de hectares cultivados (CONAB, 2021). Seguindo a linha de pensamento da necessidade de aprimorar a produção, pensando na sustentabilidade, temos vários estudos os quais destacam o potencial das bactérias promotoras de crescimento nos solos agrícolas por atuarem como biofertilizantes, biocontroladores e fitoestimulantes, contribuindo para um melhor desempenho da cultura (BERG e SMALLA, 2009; BENEDEZI, AMBROSINI e PASSAGLIA, 2012).

Bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) são microrganismos de vida livre, que formam relações simbióticas específicas com plantas, endófitos bacterianos que podem colonizar alguns ou uma grande parte dos tecidos de uma planta, e cianobactérias (GLICK, 2012).

Dentre as BPCVs, destacando-se o *Azospirillum brasilense*, tem atividade biorreguladora em função da produção e excreção hormonal, destacando-se auxinas, giberelinas e citocininas (BASHAN, HOLGUIN e LUZ, 2004; MASCIARELLI *et al.*, 2013). Seguindo a mesma linha, temos as bactérias dos gêneros *Bacillus* produzem fitohormônios e antibióticos, durante seu desenvolvimento, desta forma crescimento de plantas promovido por BPCV tem sido relacionado à produção de hormônios com giberelinas, auxinas (ARAUJO, 2005) e ácidos láctico e succínico (YOSHIKAWA, 1993).

Tendo em vista os inúmeros benefícios que as BPCVs têm na produção vegetal, objetivo da realização deste trabalho foi verificar os efeitos da co inoculação de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* sobre características morfológicas, fisiológicas e produtivas da cultura da soja.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Braganey - PR, em propriedade particular pertencente a Benjamin Oehninger, latitude 24° 44' 12" S, longitude 54° 00' 44" O e altitude de 550 metros. O solo é classificado como latossolo vermelho Eutroférico (SANTOS *et al.*, 2018). Foi realizado, anterior a instalação do experimento uma análise química de solo, a mesma foi feita em profundidade de 00 cm – 20cm, coletadas as amostras, estas foram enviadas ao laboratório da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, campus Marechal Candido Randon.

A cultivar elencada para o experimento foi a 95R90 Híbrido marca Pioneer® com a tecnologia INTACTA® de proteção contra insetos e com gene Roundup Ready™ que apresenta elevado potencial produtivo com ciclo Precoce. Utilizou-se três inoculantes comerciais sendo eles, BiomaPhos® composto por *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084 (BRM034840)) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119 (BRM033112)) com garantia de 4x10<sup>9</sup> células viáveis/mL; FertiBio® composto de *Pseudomonas fluorescens* e o Nitro1000® Gramíneas composto por *Azospirillum brasilense*,

<sup>1</sup>Instituição Centro Universitário Assis Gurgacz: E-mail: ebonfim1@minha.fag.edu.br

<sup>2</sup>Instituição: Centro Universitário Assis Gurgacz E-mail: anamourao@fag.edu.br

<sup>3</sup>Instituição: UNIOESTE E-mail:

<sup>4</sup>Instituição: Centro Universitário Assis Gurgacz E-mail: Kellyjackelinesilvadovalle@gmail.com



delineamento de blocos casualizados sendo 12 tratamentos com quatro repetições.

Sendo os tratamentos realizados: T1 - controle; T2 - inoculação de sementes com *A. brasilense* (100 mL por 60.000 sementes); T3 - inoculação de sementes com *B. megaterium* e *B. subtilis* (100 mL por 60.000 sementes); T4 - inoculação de sementes com *P. fluorescens* (100 mL por 60.000 sementes); T5 - inoculação de sementes com *A. brasilense* (100 mL por 60.000 sementes) + *B. megaterium* e *B. subtilis* (100 mL por 60.000 sementes); T6 - inoculação de sementes com *A. brasilense* (100 mL por 60.000 sementes) + *P. fluorescens* (100 mL por 60.000 sementes); T7 - inoculação de sementes com *B. megaterium* e *B. subtilis* (100 mL por 60.000 sementes) + *P. fluorescens* (100 mL por 60.000 sementes); e T8 - inoculação de sementes com *A. brasilense* (100 mL por 60.000 sementes) + *P. fluorescens* (100 mL por 60.000 sementes) + *B. megaterium* e *B. subtilis* (100 mL por 60.000 sementes).

A inoculação das sementes foi efetuada em sacos plásticos, na dose conforme a definição do tratamento. Após a inoculação realizou-se a homogeneização das sementes junto ao inoculante, manualmente durante três minutos, 30 minutos antes da semeadura. As unidades experimentais foram constituídas de 6 m de comprimento com 10 linhas de semeadura, espaçadas a 0,45 m de entrelinha, sendo a parcela útil de 14 m<sup>2</sup>, descartando-se duas linhas laterais e um metro em cada extremidade da parcela. A área foi riscada com semeadora de semeadura direta com liberação do fertilizante no sulco de semeadura.

No estágio R1 coletou-se dez plantas por parcela, aleatoriamente, sendo determinada a altura de planta (AP), que é compreendida entre a base da planta ao ápice da mais longa folha. Com o auxílio de paquímetro digital foi determinado o diâmetro basal do ponto médio do segundo internódio acima do solo. Determinou-se também o número de folhas (NF), a partir da base da planta. Após, as plantas foram seccionadas em folhas e demais estruturas, e em seguida acondicionadas em sacos de papel Kraft para a secagem em estufa de circulação de ar forçada a 65 °C ± 2 °C por 72 horas, até atingir massa constante. Em seguida estas amostras foram pesadas em balança analítica para obtenção da massa seca de folhas.

A área foliar (AF), foi determinada pela técnica da área foliar conhecida por meio da determinação da massa seca de quatro anéis de 4,1457 cm<sup>2</sup> provenientes de folhas distintas, e relacionadas matematicamente com a massa total de folhas. No momento da colheita, as plantas da parcela útil que é de 1,80 x 4 m sendo 7,2 m<sup>2</sup> foram colhidas manualmente, sendo separadas dez plantas aleatórias de cada parcela para a avaliação dos componentes de produção. Foram avaliados o comprimento da planta, com o auxílio de régua graduada, o diâmetro basal, com o auxílio de paquímetro digital, o número de vagens, e número de grãos por vagens, realizados manualmente. As plantas colhidas foram trilhadas manualmente e com o auxílio de uma balança, determinada a massa de grãos e a partir desta retirada duas amostras por parcela para a determinação da umidade e determinação da massa de mil grãos (BRASIL, 2009)

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SISVAR.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os parâmetros avaliados na tabela 1 são observados alguns pontos, onde no parâmetro altura de plantas, o tratamento 4 (*P. fluorescens*) obteve diferença em relação ao tratamento T3 (*Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*). Ainda na tabela 1, nas comparações dos parâmetros diâmetro basal e área foliar não pode ser observada diferença entre os tratamentos, sendo esses 3 parâmetros analisados na tabela 1 dependentes um do outro, podendo justificar a igualdade nos tratamentos com a situação em que todos foram inoculados com *Azospirillum brasilense*. De acordo com Bellone, Bellone e Cordileone (2011) alguns dos benefícios da coinoculação com *A. brasilense* estão acondicionados ao aumento de velocidade de emergência, número e massa de nódulos, parte aérea da planta e rendimento na soja.

Considerando o parâmetro índice de área foliar (IAF) em trabalhos mais antigos são encontrados valores na casa de 3,5 a 4,5 m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup> (ZHOU, CHEN e OUYANG, 2011) enquanto no experimento foram obtidos dados entre 2,0 a 3,1 m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup> podendo ser justificado principalmente pela condição climática e ao baixo índice pluviométrico da região na época em que o experimento foi conduzido.

Considerando os parâmetros apresentados na tabela 2, que fazem parte da avaliação das características de produtividade, pode-se perceber que não apresentaram diferença entre os tratamentos. Segundo Hungria *et al.* (2010) significativos resultados para rendimento de grãos quando inoculados com *A. brasilense* têm sido verificados em diversos trabalhos, assim sendo pode se considerar que por todos os tratamentos conterem inoculação com *A. brasilense*, torna-se aceitável a proximidade nos resultados.

**Tabela 1** – Avaliação de altura de planta, diâmetro basal e área foliar em R1 de plantas de soja submetidas a diferentes



tratamentos com coinoculação, em condições de campo, Braganey – PR.

Tratamentos	Altura de planta (cm)	Diâmetro basal (mm)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )
T1	74,75ab	8,85	311,25
T2	72,00ab	7,29	207,67
T3	64,25b	7,31	194,32
T4	81,25a	8,10	236,47
T5	73,25ab	7,35	230,10
T6	71,25ab	7,10	221,00
T7	77,57ab	8,59	264,00
T8	76,75ab	8,30	196,47
T9	70,00ab	7,86	257,30
T10	73,50ab	8,00	274,25
T11	77,75ab	7,99	306,21
T12	68,25 ab	7,84	266,52
F trat.	2,18*	1,13 n.s	1,67 n.s.
CV (%)	8,57%	13,11%	24,70%

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a 5 % de significância pelo teste de Tukey. CV= Coeficiente de variação

**Tabela 2** – Avaliação de massa de mil grãos e produtividade de plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos com coinoculação, em condições de campo, Braganey – PR.

Tratamentos	Massa de mil grãos	Massa mil grãos(g)	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )
T1		140,50	2479,75
T2		141,70	2771,00
T3		138,90	2941,00
T4		145,50	2564,00
T5		144,40	2604,00
T6		146,70	2796,00
T7		144,50	2440,25
T8		146,70	2692,75
T9		143,20	2870,00
T10		140,10	2770,00
T11		15,00	2744,00
T12		14,64	2457,50
F trat.		0,67	1,12
CV (%)		5,54%	11,70%

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si a 5 % de significância pelo teste de Tukey. CV= Coeficiente de variação

Segundo Graças *et al.* (2015) o efeito que um microrganismo pode produzir em uma planta, pode não apresentar o mesmo efeito em outras plantas. Tipo de solo e características da região também podem alterar seus efeitos, sendo assim a coinoculação pode sim apresentar resultados. As condições climáticas podem explicar os resultados relativamente baixos em níveis de produção, porém Benintende *et al.* (2010) realizou experimento com condições de déficit hídrico, e obteve resultados positivos na inoculação de soja com *A. brasilense*. Apresentando aumento de 118 kg ha<sup>-1</sup> em comparação a inoculação com *B. japonicum*.

## 5. CONCLUSÃO



A coinoculação com *Pseudomonas fluorescens* promoveu maior crescimento de planta em relação a coinoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*. Para as variáveis diâmetro basal, área foliar, produtividade e massa de 1000 grãos não foram observadas diferenças entre os tratamentos com coinoculação, em comparação a testemunha inoculada com *Azospirillum brasilense*.

Embora, o conhecimento e aplicação de *A. brasilense* em culturas de leguminosas favorecendo o seu crescimento, esteja já consolidado, a associação de outras bactérias pode assegurar um maior rendimento para estas culturas, abrindo caminho para desenvolvimento de novos inoculantes. Cabem estudos em diferentes locais e situações, para melhor conclusão e entendimento do tema.

## 6. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e agrotecnologia.**, v.32, n.2, pp.456-462, 2005.
- BELLONE, C. H.; BELLONE, S. C.; CORDILEONE, V. Related growth parameters in soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Journal of Crop Improvement**, v. 25, p. 472–487, 2011.
- BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. **Genetics and molecular biology**, v. 35, n. 4, p. 1044–1051, 2012.
- BENINTENDE, S.; UHRICH, M.; HERRERA, F.; GANGGE, M.; STERREN, Y.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple com *Bradyrhizobium japonicum* em la nodulación de N em el cultivo de soja. **Agriscientia**, v. 27, n. 2, p. 71 - 77, 2010.
- BERG, G.; SMALLA, K. Plant Species and Soil Type Cooperatively Shape the Structure and Function of Microbial Communities in the Rhizosphere: Plant Species, Soil Type and Rhizosphere Communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 68, n. 1, p. 1–13, abr. 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, safra 2020/21**, décimo segundo levantamento, v. 5, n. 11., p. 106, nov 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos> . Acesso em:15 nov. 2021.
- GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, p.15-25, 2012. GRAÇAS, J. P.; RIBEIRO, C.; COELHO, F. A. A.; CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. DE C. e. **Microorganismos estimulantes na agricultura**. Piracicaba: ESALQ, 2015. 61p.
- 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**, v.331, n. 1-2, p.413-425, 2010.
- MASCIARELLI O.; URBANI L.; REINOSO H.; LUNA V. Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic 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.
- YOSHIKAWA, M. Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 1150-1154, 1993.
- ZHOU, X. B.; CHEN, Y. H.; OUYANG, Z. Row spacing effect on leaf area development, light interception, crop growth and grain yield of summer soybean crops in Northern China. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v.6, n.6, p.1430-1437, 2011.