

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESEMPENHO SIMBIÓTICO E PRODUTIVO DE
CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDAS A
CO-INOCULAÇÃO COM *Azospirillum***

**Paloma Helena da Silva Libório
Engenheira Agrônoma**

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESEMPENHO SIMBIÓTICO E PRODUTIVO DE
CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDAS A
CO-INOCULAÇÃO COM *Azospirillum***

Paloma Helena da Silva Libório

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli

Coorientadora: PqC. Dra. Ivana Marino Bárbaro-Torneli

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2019

L696d Libório, Paloma Helena da Silva
Desempenho simbiótico e produtivo de cultivares de soja submetidas a co-inoculação com *Azospirillum* / Paloma Helena da Silva Libório. -- Jaboticabal, 2019
103 p. : tabs. + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Sandra Helena Unêda-Trevisoli
Coorientadora: Ivana Marino Bárbaro-Torneli

1. bactérias diazotróficas. 2. fixação biológica de nitrogênio. 3. *Glycine max*. 4. inoculação mista. 5. nodulação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

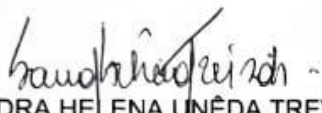
Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DESEMPENHO SIMBIÓTICO E PRODUTIVO DE CULTIVARES DE SOJA
SUBMETIDAS A CO-INOCULAÇÃO COM *Azospirillum*

AUTORA: PALOMA HELENA DA SILVA LIBORIO
ORIENTADORA: SANDRA HELENA UNÊDA TREVISOLI
COORDINADORA: IVANA MARINO BÁRBARO TORNELI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA
(GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. SANDRA HELENA UNÊDA TREVISOLI
Departamento de Produção Vegetal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pós-doutorando WALTER MALDONADO JUNIOR
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisador Dr. EVERTON LUIS FINOTO
APTA - Polo Regional do Centro Norte / Pindorama/SP

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Paloma Helena da Silva Libório – nascida em Colina-SP em 27 de setembro de 1993. Nos anos de 2010 e 2011 concluiu os cursos técnicos em química e agropecuária pela ETEC “Coronel Raphael Brandão - Barretos-SP e ETAM “São Francisco de Assis” - Colina-SP. Foi bolsista IC CNPq Junior (2010) no Pólo Regional da Alta Mogiana – APTA – Colina/SP. Em fevereiro de 2012, iniciou o curso de Agronomia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, obtendo o grau de Engenheira Agrônoma em fevereiro de 2017. Durante a graduação, nos anos de 2012 a 2016 desenvolveu iniciações científicas no Pólo Regional da Alta Mogiana – APTA – Colina/SP como bolsista CNPq e PIBIC-UNIFEB, atuando nas culturas de citros e soja, na instalação e condução de experimentos. No ano de 2016, realizou estágio curricular na empresa de consultoria agrícola Herbae, sediada no município de Jaboticabal-SP e Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/FCAV, Jaboticabal - SP. Em março de 2017 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), na UNESP- FCAV, sob orientação da Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli e coorientação da PqC. Dra. Ivana Marino Bárbaro-Torneli, como bolsista Capes.

“Nada te perturbe, nada te espante,

Tudo passa, Deus não muda.

A paciência tudo alcança;

Quem a Deus tem, Nada lhe falta:

Só Deus basta.”

Santa Tereza D’Ávila

AGRADECIMENTOS

À Deus, por conduzir meus passos pelos caminhos do bem, por me dar saúde e por colocar verdadeiros anjos na minha vida.

À toda minha família, em especial meus pais Clóvis Aparecido Libório e Sandra Regina da Silva Libório e minha irmã Isabeli Cristini Libório pelo grande incentivo, sacrifícios e amor.

Ao meu namorado Pedro Sperchi Camilo, pelo amor e companheirismo.

À Universidade Estadual Paulista – UNESP/FCAV e ao curso de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de realização do mestrado.

À minha Orientadora Profa. Dra. Sandra Helena Unêda-Trevisoli, pela orientação, oportunidade e conhecimentos transmitidos.

À minha Coorientadora Dra. Ivana Marino Bárbaro-Torneli, pelo exemplo de dedicação, ensinamentos e amizade.

Ao prof. Dr. Antônio Sérgio Ferraud e ao doutorando Anderson Prates Coelho, pelas orientações estatísticas.

Aos membros da banca do exame geral de qualificação, Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula e Profa. Dra. Viviane Formice Vianna, pela disponibilidade e excelentes sugestões para melhoria do trabalho.

Aos membros da banca examinadora PqC. Dr. Everton Luis Finoto e Prof. Dr. Walter Maldonado Jr., pela disponibilidade e gentileza em aceitar o convite para participar da minha defesa.

Aos amigos do UNIFEB e UNESP FCAV: Maria Gabriela, Carlos, Luciano, Bruno, Vitor, Cícero, Leonardo, Gabriel, Guilherme, Fabiana, Antônio, Wallace, Lígia, Cléber, Bruno, Eduardo, Lucas, Alan, Karoline, César, Ananda, Thales, Nathália e Carla pela colaboração, bom convívio e ajuda nas avaliações em campo e laboratório.

Aos amigos de Colina e Jaboticabal: Rodolfo, Amanda, Laís, Bruna, Carol, Cíntia, Marcos, Patrícia, José, Luiz, Anderson, Mariele, André, Vinícius, Mateus e Tati, pelas boas conversas, momentos de oração e de descontração.

Aos colaboradores do Departamento de Fitotecnia Mônica, Geraldo e Rubens.

Ao Sindicato Rural de Guaíra pela parceria, em especial aos senhores Renato Massaro Sobrinho, Francisco Muraishi e “Cido”, pelo apoio técnico na condução dos experimentos.

Ao Pólo Regional da Alta Mogiana - APTA, por meio do projeto 561 DD – Inoculantes Fundag parceria APTA e Stoller do Brasil Ltda que favoreceu os recursos e aporte financeiro para condução dos experimentos.

A empresa Stoller do Brasil Ltda pela parceria para realização dos experimentos.

Às empresas Micron e Orion, por gentilmente disponibilizarem seus equipamentos de aplicação de inoculante no sulco de semeadura.

Ao Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - UNIFEB - Laboratório de Solos pelas análises de teor de nitrogênio foliar e nos grãos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que colaboraram, o meu muito obrigada. Que Deus os abençoe.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	4
2.1. Importância da cultura da soja	4
2.2. Processo de fixação biológica de nitrogênio	5
2.3. Inoculantes à base de bactérias fixadoras de nitrogênio	7
2.4. A inserção de um novo microrganismo: co-inoculação.....	8
2.5. Tecnologia de aplicação dos insumos biológicos	10
2.6. Interação bactérias fixadoras de nitrogênio versus genótipos de soja	11
2.7. Análises Multivariadas	13
2.7.1. Análise de Componentes Principais	14
2.7.2. Análise de Agrupamento	14
2.7.2.1. Análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward	16
2.7.2.2. Análise de agrupamento pelo método não hierárquico de k-médias	16
2.7.3. Análise de Fatores	16
3. Referências bibliográficas	17
CAPÍTULO 2 - Desempenho simbiótico e produtivo de cultivares de soja submetidas a co-inoculação	27
1. Introdução	28
2. Material e métodos.....	29
2.1. Descrição do experimento.....	29
2.2. Material genético e condução experimental	30
2.3. Avaliações realizadas	32
2.3.1. Parâmetros de FBN	32
2.3.2. Componentes de Produtividade	33

2.4. Análises estatísticas.....	33
2.4.1. Análise de descarte de variáveis.....	34
2.4.2. Cálculo dos componentes principais	34
2.4.2.1. Cálculo da variância contida em cada componente principal	35
2.4.2.2. Correlações das variáveis com os componentes principais	35
2.4.3. Análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward	36
2.4.4. Análise de agrupamento pelo método não hierárquico de k-médias	36
3. Resultados e discussão	37
4. Conclusões	58
5. Referências bibliográficas	59
CAPÍTULO 3 - Caracterização de cultivares de soja quanto ao potencial simbiótico e produtivo por meio de análises univariadas e multivariada de fatores.....	67
1. Introdução.....	68
2. Material e métodos.....	70
2.1. Descrição do experimento.....	70
2.2. Material genético e condução experimental	71
2.3. Avaliações realizadas	72
2.3.1. Parâmetros de FBN	72
2.3.2. Componentes de Produtividade	73
2.4. Análises estatísticas.....	73
2.4.1. Análise de fatores	74
3. Resultados e discussão	74
4. Conclusões	86
5. Referências bibliográficas	87
CAPÍTULO 4 – Considerações finais	92

DESEMPENHO SIMBIÓTICO E PRODUTIVO DE CULTIVARES DE SOJA SUBMETIDAS A CO-INOCULAÇÃO COM *Azospirillum*

RESUMO – A co-inoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*), para a cultura da soja, apresenta-se como uma ferramenta para maximizar os benefícios obtidos com a fixação biológica de nitrogênio. A pesquisa desenvolve constantemente inoculantes, contendo estirpes elites de bactérias, no entanto, as características associadas aos parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, não têm sido contempladas pelos programas de melhoramento genético de soja. Mediante o exposto, o presente estudo objetivou avaliar a capacidade simbiótica e desempenho produtivo de cultivares de soja submetidas a co-inoculação por meio de análises uni e multivariadas em dois anos agrícolas. As cultivares foram submetidas a co-inoculação no sulco de semeadura e controle (sem co-inoculação). O delineamento experimental utilizado foi em esquema de faixas com três repetições. No estágio reprodutivo R₁, foram avaliados: índice de conteúdo de clorofila, altura da planta no florescimento e comprimento da raiz, massa seca da parte aérea e raiz, número de nódulos das raízes principal, secundárias e total, massa seca dos nódulos das raízes principal, secundárias e total e nitrogênio total na parte aérea. No estágio reprodutivo R₈, foram avaliados: altura da planta na maturação, altura de inserção da primeira vagem, número de nós, número de ramos, número de vagens, número de grãos, massa de mil grãos, produtividade e teor de nitrogênio total nos grãos. Para as análises univariadas os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. Para as análises multivariadas, três abordagens exploratórias foram realizadas: componentes principais, análise de agrupamento e análise de fatores. No ano agrícola 2016/17, a co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 20,78%. Pelas análises multivariadas as variáveis altura da planta no florescimento, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca de nódulos total, número de vagens e produtividade de grãos, foram as mais apropriadas para selecionar cultivares de soja com base em parâmetros de fixação biológica de nitrogênio e produtividade. A análise de componentes principais resultou em 3 componentes, os quais explicaram 73,51% da variância. A análise de agrupamento pelos métodos de Ward e k-médias permitiram a formação de quatro grupos. As cultivares BRS 7380 RR, DS 5916 IPRO, CZ 36B31 IPRO, BMX GARRA IPRO, BMX ÍCONE IPRO, TFC 6702 IPRO, CD 2720 IPRO, AS3680 IPRO, AS3730 IPRO, 5G 7315 IPRO e SYN 1560 IPRO apresentaram melhor relação simbiótica e produtiva. No ano agrícola 2017/18, a co-inoculação proporcionou novamente maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 16,87%. As cultivares ADV 4672 IPRO, GDM 161024 IPRO, CZ36 B31 IPRO, NS6300 RR e 96Y90 RR foram as que apresentaram melhor relação simbiótica e desempenho produtivo. Pela análise de fatores, verificou-se que quatro processos conseguiram reter 60,20% da variância total e as variáveis que melhor caracterizaram a fixação biológica de nitrogênio e produtividade foram: massa seca de nódulos total, teor de nitrogênio na parte área e grãos, altura de inserção da primeira vagem e produtividade de grãos. Os resultados obtidos nos dois anos agrícolas enfatizam a existência de variabilidade genética a ser explorada pelos programas de melhoramento genético de soja, o que protagoniza o grande desafio para a melhoria da capacidade de fixação biológica de nitrogênio em soja.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, fixação biológica de nitrogênio, *Glycine max*, inoculação mista, nodulação, produtividade de grãos

SYMBIOTIC AND PRODUCTIVE PERFORMANCE OF SOYBEAN CULTIVARS SUBMITTED TO CO-INOCULATION WITH *Azospirillum*

ABSTRACT - Co-inoculation (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*), is presented as a tool to maximize the benefits obtained in the biological nitrogen fixation. Research is constantly developing inoculants containing elite strains of bacteria, however, the traits associated to the biological nitrogen fixation parameters have not been contemplated by the genetic improvement programs of soybean. The present study aimed to evaluate the symbiotic capacity and productive performance of soybean cultivars submitted to co-inoculation through of univariate and multivariate analyzes in two crop years. The cultivars were submitted to co-inoculation in the planting furrow and control (without co-inoculation). The experimental design used was a split-block with three replicates. In the reproductive stage R₁, chlorophyll content index, plant height at flowering and root length, dry mass of shoot and root, number of main, secondary and total root nodules, dry mass of main root nodules, secondary and total, besides total nitrogen in the aerial part. At the R₈ reproductive stage, plant height at maturity, height at first pod insertion, number of nodes, number of branches, number of pods, number of grains per plant, mass of one thousand grains, grain yield and total nitrogen in the grains. For the univariate analyzes the data were submitted to analysis of variance and the means compared with the Scott-Knott test (5%). In the multivariate analyzes, the three exploratory explorations were: the main components, the clustering analysis and the factor analysis. No agricultural year 2016/17, a combination that resulted in a higher yield of grains, which corresponded to an increase of 20.78%. From the multivariate analyzes, the variables: plant height at flowering, dry shoot mass, dry root mass, total nodule dry mass, number of pods and grain yield were the most appropriate to select soybean cultivars based on biological nitrogen fixation and productivity components. Principal component analysis resulted in 3 components, which accounted for 73.51% of the variance. The cluster analysis by the Ward and k-means methods allowed for the formation of four groups. The cultivars BRS 7380 RR, DS 5916 IPRO, CZ 36B31 IPRO, BMX GARRA IPRO, BMX ÍCONE IPRO, TFC 6702 IPRO, CD 2720 IPRO, AS3680 IPRO, AS3730 IPRO, 5G 7315 IPRO e SYN 1560 IPRO, presented a better symbiotic relationship, showing synergism between cultivar and bacteria. In the agricultural year 2017/18, co-inoculation again provided higher yields of grains, which corresponded to an increase of 16.87%. The cultivars ADV 4672 IPRO, GDM 16I024 IPRO, CZ36 B31 IPRO, NS6300 RR e 96Y90 RR. presented a better symbiotic relationship and productive performance. By the analysis of factors, it was verified that four processes managed to retain 60.20% of the total variance and the variables that best characterized the biological fixation of nitrogen and productivity were: total nodule dry mass, area nitrogen content and grains, height of insertion of the first pod and yield of grains. The results obtained in the two crops years emphasize the existence of genetic variability to be explored by the genetic improvement programs of soybean, which is the main challenge for the improvement of the biological nitrogen fixation capacity in soybean.

Keywords: diazotrophic bacteria, nitrogen biological fixation, *Glycine max*, mixed inoculation, nodulation, grain yield

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui grande relevância para a agricultura e economia mundial. A produção chega a 369,32 milhões de toneladas, sendo os Estados Unidos e Brasil, o primeiro e segundo maior produtor, respectivamente (USDA, 2018). Na safra 2017/18, o Brasil produziu 115,40 milhões de toneladas com uma produtividade média de 3.394 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

A inoculação em soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* posicionou o Brasil como referência na produção e utilização desta técnica. Desde o início da produção de soja no Brasil, o país apostou no melhoramento genético focado na utilização de inoculantes biológicos contendo estirpes selecionadas pela pesquisa (Mercante, 2011). A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio, possibilitou a independência da cultura em termos de adubação mineral nitrogenada, o que promove inúmeros benefícios nas esferas econômica, social e ambiental.

Entre os benefícios, destaca-se o baixo custo dos inoculantes (R\$3,00 a dose), frente aos fertilizantes nitrogenados que chegam a custar R\$1.000,00 por hectare. Além disso, o nitrogênio (N) presente nos restos culturais chega a aportar de 20 a 30 kg ha⁻¹, além de auxiliar no desenvolvimento inicial das culturas em sucessão, como é o caso do milho e trigo (Hungria et al., 2007).

O sucesso da fixação biológica de nitrogênio (FBN), é dependente de diversos fatores. A competição entre as bactérias fixadoras de nitrogênio e outros microrganismos já estabelecidos no solo, requer a reinoculação anual com o intuito de mitigar o estabelecimento de populações microbianas menos eficientes (Carvalho et al., 2005; Chueiri et al., 2005). Além disso, a incompatibilidade dos inoculantes com o tratamento químico das sementes e as mudanças climáticas, limitam a efetividade da inoculação (Hungria et al., 2013a).

Visando reduzir os efeitos deletérios ocasionados pelos pacotes tecnológicos inseridos nas cultivares, tem-se recomendado a aplicação dos inoculantes por aspersão nas sementes via sulco de semeadura. Essa prática tem proporcionado incrementos significativos na nodulação e no rendimento de grãos (Hungria et al.,

2013b; Bulegon et al., 2016; Bárbaro et al., 2017; Bárbaro-Torneli et al., 2018a; Bárbaro-Torneli et al., 2018b).

Com o intuito de potencializar os ganhos obtidos com a inoculação tradicional (*Bradyrhizobium*), há cerca de 5 anos foi validada pela pesquisa a prática de co-inoculação ou inoculação mista, que consiste na inserção de um microrganismo do gênero *Azospirillum brasilense* (Hungria e Nogueira, 2014). Em culturas como trigo, milho e forrageiras (Hungria 2011; Novakowiski et al., 2011; Hungria et al., 2016), essas bactérias apresentam excelentes resultados, em virtude da produção de reguladores de crescimento vegetal como, auxinas, giberilinas e citocininas (Huergo et al., 2008). A inserção da bactéria *A. brasilense* na cultura da soja, confere incrementos de até 16% no rendimento de grãos, sendo a sua aplicação também recomendada em sulco de semeadura (Hungria e Nogueira, 2014; Hungria et al., 2015; Chibeba et al., 2015; Bárbaro-Torneli et al., 2018a, Bárbaro-Torneli et al., 2018b).

A pesquisa com inoculantes no Brasil é altamente tecnificada, através do controle genético e seleção dos microorganismos de maior eficiência. No entanto, desde os estudos iniciais envolvendo a FBN, demonstra-se que a eficiência do processo é altamente dependente do genótipo da planta (Wilson, 1940). Diversos estudos têm demonstrado diferenças entre cultivares quanto às características de nodulação (Mercante, 2006; De Souza et al., 2008; Bulegon et al., 2016, Bárbaro et al., 2018a), sendo que respostas limitadas à inoculação podem ser atribuídas a genótipos de reduzida capacidade simbiótica (Reis et al., 2000).

Contudo, as características associadas aos parâmetros de FBN não têm sido contempladas pelos programas de melhoramento genético de soja, o que implica na necessidade de pesquisas que abordem a correlação entre FBN e produtividade em um grupo de genótipos representativos da espécie. A literatura relata que o próximo passo para elevar a atividade da FBN, consiste na seleção de cultivares de soja, visando possíveis indicações de estratégias para o melhoramento genético (Torres, et al., 2015; Sciclair e Nogueira, 2018).

Mediante o exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a os parâmetros de fixação biológica de nitrogênio e desempenho produtivo de cultivares de soja submetidas a co-inoculação (*Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*).

2. Revisão de literatura

2.1. Importância da cultura da soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill], pertencente à família Fabaceae, é a mais importante leguminosa cultivada em nível mundial, tanto do ponto de vista econômico, como no aspecto nutricional (Câmara, 2006). O grão da soja tem sido utilizado na alimentação humana através da produção de óleos, margarinas, gordura vegetal, maionese, chocolates, temperos prontos, massas, leite, sucos entre outros. Alguns estudos ainda relatam propriedades antioxidantes que retardam o envelhecimento, além de propiciar aumento na massa magra (Vidor et al., 2014).

Originária da China, foi inicialmente introduzida no Brasil em 1882 por Gustavo D'Utra, no estado da Bahia, porém sem muito sucesso. Em 1891, cultivares de soja foram levadas para São Paulo e avaliadas no IAC - Instituto Agrônomo de Campinas, no entanto o melhor desempenho só foi verificado mais tarde entre 1920 e 1940 nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, por conta das condições climáticas mais favoráveis (Gazzoni, 2018).

No ano agrícola 2017/18 a produção mundial foi de 369,32 milhões de toneladas, sendo os Estados Unidos e o Brasil o primeiro e segundo maiores produtores com 119,52 e 116,99 milhões de toneladas, respectivamente (USDA, 2018). No Brasil, os principais estados produtores são: Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul. A produtividade média brasileira no ano agrícola 2017/18 foi de 3.394 kg ha⁻¹ com uma área semeada de 35,15 milhões de hectares (CONAB, 2019). No ano agrícola 2018/19 a área semeada foi de 35,80 milhões de hectares com produtividade média nacional estimada em 3.322 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

Na região Sudeste, mais especificamente no estado de São Paulo, a produtividade média obtida no ano agrícola 2017/18 foi de 3.546 kg ha⁻¹ com área semeada de 961,60 mil hectares. Para o ano agrícola 2018/19, verificou-se expansão da cultura, principalmente em áreas anteriormente ocupadas por milho, feijão, cana de açúcar e amendoim. A produtividade média estimada é de 3.566 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

2.2. Processo de fixação biológica de nitrogênio

O nitrogênio (N) é um dos elementos químicos essenciais para o desenvolvimento vegetal e requerido em maior quantidade pelas culturas. As plantas podem obter o N através da decomposição da matéria orgânica; fixação não-biológica, adubação nitrogenada e fixação biológica de nitrogênio, sendo as duas últimas fontes, as que mais contribuem para o suprimento de N (Hungria et al., 2007).

O processo FBN foi descoberto no final do século XIX e por meio dessa descoberta, a microbiologia do solo difundiu-se pela Europa, dando origem a novas gerações de microbiologistas. No Brasil a pesquisadora Dra. Johanna Döbereiner foi responsável por grande parte do que se conhece hoje sobre FBN (De Alcantara et al., 2009).

O conceito de FBN é o processo bioquímico por meio do qual o nitrogênio presente na atmosfera (N_2) é convertido em formas assimiláveis (NH_4^+ ou NO_3^-) que podem ser utilizadas pelas as plantas. A reação é catalisada pela enzima denominada nitrogenase, que é encontrada nas bactérias fixadoras.

Após a fotossíntese, a FBN é o processo biológico mais importante para as plantas (Graham e Vance, 2003). Assim, a simbiose entre a cultura da soja e rizóbios, resulta de um processo de evolução de milhares de anos. Como a soja não ocorre naturalmente no Brasil, também não existem rizóbios nativos eficientes na nodulação (Hungria, 2007). Os solos brasileiros, em sua grande maioria já possuem populações estabelecidas de rizóbios fornecidos via inoculantes, porém, a reinoculação anual deve ser realizada por conta da ação de microorganismos menos eficientes que competem pelos sítios de infecção nodular (Carvalho et al., 2005).

No solo, as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* recebem estímulos de substâncias orgânicas excretadas pelo sistema radicular da soja. Ao mesmo tempo, ocorre a adesão e infecção das bactérias à epiderme das raízes, por meio de sinais moleculares entre a planta e a bactéria (Câmara; 2014; Bortolan et al., 2009). Esses sinais moleculares ativam os genes “*nod*” que determinam a nodulação (Vargas e Hungria, 1997).

O processo de FBN, ocorre em estruturas típicas formadas nas raízes, os nódulos (Hungria et al., 2013a). O principal meio de transporte do nitrogênio contido nos nódulos para a parte aérea é na forma de ureídeos (King e Purcell, 2005). Os

nódulos bacterianos concentram-se na coroa da raiz, de onde saem as ramificações radiculares. Os nódulos ativos apresentam uma superfície rugosa e internamente com coloração rosácea, por conta da presença da proteína leghemoglobina (Hungria et al., 2007).

Durante o crescimento e desenvolvimento da cultura da soja, há alguns períodos críticos relacionados com o N proveniente da FBN pelo *Bradyrhizobium*. Entre estes estão os estágios reprodutivos R₃ e R₅, que requerem altos níveis de fotossíntese e podem resultar em senescência nodular (Fehr et al., 1971).

Caso a adição de N ao solo ocorresse por meio de fertilizantes nitrogenados sintéticos, a cultura da soja seria inviabilizada em virtude dos elevados custos, uma vez que para cada uma tonelada de grãos produzidos são necessários aproximadamente 80 kg de N. Os fertilizantes nitrogenados, são na sua maioria importados, além de serem produzidos através de processos que despedem altos níveis energéticos envolvendo os combustíveis fósseis (Hungria et al., 2013a).

Diversos experimentos foram conduzidos e concluíram que a complementação com fertilizantes nitrogenados na semeadura não deve ultrapassar 20 kg de N ha⁻¹, uma vez que doses superiores resultam em decréscimos na nodulação sem trazer benefícios ao rendimento de grãos, independentemente do tipo de sistema de plantio adotado (Hungria et al., 1997).

Vargas e Hungria (1997) verificaram que dos 10 aos 15 dias após a emergência, a avaliação inicial da nodulação pode ser um bom indicativo da eficiência da FBN. Hungria et al. (2001) constataram que plantas de soja com eficiência simbiótica no florescimento devem apresentar de 15 a 30 nódulos/planta com 100 a 200 mg de massa seca nodular. Os nódulos considerados saudáveis, apresentam em média 4 a 8 mm com uma amplitude de 3 a 10 mm. A massa seca de nódulos sempre que possível também deve ser determinada, pois proporciona melhor correlação entre a eficiência de nodulação e a produtividade de grãos (Câmara, 2000).

Com relação ao sistema de plantio adotado, resultados de diferentes regiões indicam que o plantio direto também pode favorecer a FBN em leguminosas. A elevada eficiência da FBN, obtida na utilização do plantio direto, se dá em virtude do estímulo ao processo simbiótico, provavelmente pela menor disponibilidade de N-mineral no solo, em razão da maior imobilização da população microbiana (Costa de Campos e Gnatta, 2006).

A redução da temperatura e umidade no solo proporcionada pelo Sistema Plantio Direto (SPD) favorece a sobrevivência dos rizóbios nas sementes de soja e no solo, potencializando a nodulação e a fixação de N. Em solos altamente compactados, observa-se massas nodulares baixas, por conta das barreiras físicas que dificultam a expansão do nódulo (González e Racca, 2012).

Em estudo conduzido no Mato Grosso do Sul foi verificada uma redução no acúmulo de N na planta no sistema convencional, quando comparado ao manejo em SPD. Nesse caso, com a incorporação dos resíduos (aração e gradagem) no sistema convencional, verificou-se um atraso no processo de fixação de N, por inibição causada pela mineralização do N incorporado ao solo pelos resíduos (Mercante et al., 2011).

2.3. Inoculantes à base de bactérias fixadoras de nitrogênio

Desde a década de 1960, foram estabelecidas no país indústrias de inoculantes, contendo as estirpes selecionadas pela pesquisa (Nogueira e Hungria, 2013). Inicialmente, os inoculantes mais utilizados eram os do tipo turfoso, já, na última década, foram lançados inoculantes do tipo líquido constituídos pela combinação de duas das quatro estirpes: *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (29w) e, *B. japonicum* SEMIA 5079 (CPAC-15) e SEMIA 5080 (CPAC-7) (Zilli et al., 2006; Santana et al., 2011).

Os inoculantes utilizados para a cultura da soja têm excelente qualidade, levando o país à liderança em aproveitar os benefícios da fixação biológica do nitrogênio para uma agricultura mais produtiva e sustentável. Porém, em diversos países como China, Estados Unidos e Austrália, as regulamentações são insuficientes para impulsionar as empresas na melhoria da qualidade de seus inoculantes, levando ao baixo desempenho e subsequente abandono por parte do sojicultor, que não encontra benefícios com a utilização desse insumo biológico (De Souza et al., 2018).

As estirpes ou cepas que compõem os inoculantes são específicas para a cultura de interesse e recomendadas pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE). O inoculante líquido é a formulação mais utilizada (Nogueira e

Hungria, 2013). A pesquisa ainda tem trabalhado no desenvolvimento de protetores que aumentam a sobrevivência das bactérias contidas nos inoculantes.

Aproximadamente 95% dos inoculantes à base de bactérias comercializados atualmente no Brasil destinam-se à cultura da soja. Entretanto, existem estirpes bacterianas selecionadas e autorizadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para mais de 100 espécies vegetais (Brasil, 2011), indicando o grande potencial de extensão da FBN a outras culturas de importância econômica.

A cultura da soja só é viável economicamente graças ao uso de inoculantes com estirpes de *Bradyrhizobium*, que chegam a aportar mais de 300 kg de N ha⁻¹. O procedimento deve ser feito anualmente visando maximizar os benefícios proporcionados pelos microorganismos, resultando em incrementos médios no rendimento de soja da ordem de 8% (Hungria e Nogueira, 2014).

A FBN atende aos requisitos necessários para uma agricultura sustentável e em harmonia com o meio ambiente, além de enriquecer o solo com o N, que pode ser aproveitado pelas culturas subsequentes (Hungria et al., 2007).

2.4. A inserção de um novo microrganismo: co-inoculação

O Brasil e a Argentina, ocupam posição de destaque quando o tema é o desempenho satisfatório do processo de FBN, sendo que a prática permite a obtenção de produtividades que ultrapassam 5.000 kg ha⁻¹.

Com intuito de maximizar os ganhos obtidos com inoculação, em 2013 foi validada pela pesquisa uma nova ferramenta, denominada de co-inoculação ou inoculação mista. A prática de co-inoculação, consiste na junção de inoculantes contendo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e do gênero *Azospirillum brasilense*.

O gênero *Azospirillum*, pertence ao grupo das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), que possuem como principais características a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, o aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas e a produção de fitohormônios como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno (Tien et al., 1979; Bottini et al., 1989; Strzelczyk e Kampert, 1994; Cassán et al., 2008; Huergo et al., 2008). Nessas bactérias, não há estímulo de nodulação nos vegetais, optando por colonizar áreas

superficiais (Tortora et al., 2012), ou mesmo, se locomover internamente via xilema e floema (Roncato-Maccari et al., 2003).

As auxinas, ou mais especificamente o ácido 3-indol acético (AIA), possuem diversas funções no crescimento e desenvolvimento das plantas, estando presente na maioria dos estádios do ciclo de vida de um vegetal, da germinação à senescência. Este grupo hormonal regula alguns processos, tais como: dominância apical, abscisão foliar, formação de raízes laterais e diferenciação vascular (Taiz e Zeiger, 2013). Algumas bactérias também apresentam capacidade de sintetizar giberilinas e citocininas (Glick, 2012), estando estes grupos de reguladores de crescimento diretamente ligados ao alongamento celular e a juvenilidade da planta, acarretando em incremento de porte e longevidade do vegetal.

Os inoculantes contendo as bactérias do gênero *Azospirillum* são comercializados para inoculação em trigo e milho, porém, é necessária a complementação com N- mineral (Ferlini, 2006; Hungria et al. 2013b; Embrapa, 2014). Na cultura da soja, a inserção da bactéria *A. brasilense*, pode proporcionar incrementos de até 16% no rendimento de grãos (Hungria e Nogueira, 2014).

Estudos conduzidos em campo demonstram que a co-inoculação proporciona diversos benefícios, tais como: aumento da área radicular possibilitando maior aproveitamento dos fertilizantes além de favorecer a planta em situações de estresse hídrico e incremento da produtividade devido a maior capacidade de absorção de água e nutrientes pelas raízes (Hungria e Nogueira, 2014). Podem atuar também como agentes de controle biológico por induzirem resistência sistêmica na planta (Bashan et al., 2014).

Os mecanismos de ação dos rizóbios e do *Azospirillum* são diferentes. No caso do último, os benefícios advêm da fixação biológica do nitrogênio, como já mencionado anteriormente, no entanto, sua maior eficiência se dá em função da síntese de fitohormônios de crescimento vegetal (Spaepen e Vanderleyden, 2015). Desta forma, um sistema radicular mais volumoso, propicia melhor absorção e/ou aproveitamento de água e nutrientes, sendo observado também maior resistência ao estresse hídrico (Fukami et al., 2017; Marques et al., 2017). Em relação aos nutrientes, observa-se maior vigor das plantas (Ardakani et al., 2011).

Em estudos realizados por Hungria et al. (2013b), Embrapa (2014), Hungria et al. (2015), Bárbaro et al. (2017), Bárbaro et al. (2018a), Bárbaro et al. (2018b),

Dourado et al. (2018), Galindo et al. (2018), são verificadas influências positivas da co-inoculação sobre as características agronômicas de soja, porém, nos resultados obtidos por Gitti et al. (2012), Zuffo et al. (2016), Finoto et al. (2017) e Mundim et al., (2018) não foram verificadas diferenças significativas para esta prática.

2.5. Tecnologia de aplicação dos insumos biológicos

Além da qualidade dos inoculantes, a aplicação correta da técnica de inoculação é de suma importância para o sucesso da FBN. A aplicação tradicional (via sementes), nem sempre é eficiente, principalmente pela aplicação conjunta dos inoculantes com fungicidas, inseticidas e micronutrientes, como cobalto e molibdênio, que afetam drasticamente a sobrevivência das bactérias (Santana et al., 2011; Hungria et al., 2013b).

No passado, um dos maiores obstáculos para a adoção da inoculação com bactérias fixadoras de N e demais tratamentos de sementes, era a inexistência de equipamentos adequados para essa finalidade (Henning et al., 1997). Atualmente já estão disponíveis no mercado equipamentos manuais, elétricos ou tratorizadas para inoculação de sementes, que pode ser realizada na propriedade rural ou na unidade de beneficiamento.

Grande parte das falhas eventualmente detectadas no processo de inoculação ainda se deve a aplicação inadequada dos insumos biológicos. São comuns eventos, como mistura deficiente do inoculante nas sementes, inoculação com muita antecedência, incompatibilidade com inseticidas e fungicidas, além da distribuição desuniforme, altas temperaturas, semeadura em solos secos e sub dosagem (Fonseca, 2011).

Com o intuito de mitigar esses processos que comprometem o sucesso da inoculação, foi validada pela pesquisa a aplicação no sulco de semeadura dos inoculantes líquidos (Embrapa, 2008). A inoculação em jato dirigido, ou no sulco de semeadura, apresenta alguns benefícios em relação à aplicação via semente, pelo fato desta aplicação utilizar altas doses (Embrapa, 2018). Dessa forma, aumenta-se consideravelmente o número de células bacterianas viáveis, o que beneficia a nodulação, além de disponibilizar o N nos períodos de maior demanda, como por exemplo no enchimento de grãos.

A inoculação no sulco de semeadura é uma operação prática que visa reduzir a interferência com o tratamento químico de sementes, utilizando-se equipamento montado no chassi da semeadora, constituído por um tanque para inoculante líquido, bomba pressurizadora, mangueiras e pontas de orifício para jato sólido contínuo, que ficam situados entre os discos duplos dos sulcadores das sementes (Câmara, 2014).

Para a inoculação no sulco de semeadura, deve-se aplicar o inoculante líquido diluído em água. Recomenda-se que a dose do inoculante, seja seis vezes superior à indicada para o tratamento padrão, com o objetivo de compensar a baixa sobrevivência das bactérias, ocasionada por fatores adversos, como temperaturas elevadas do solo, déficit hídrico, acidez, solos arenosos e competição entre colônias de bactérias nativas e as selecionadas (Embrapa, 2018).

Hungria et al. (2007) verificaram que a presença de fungicidas nas sementes resultou na redução de até 98% na população de *Bradyrhizobium*. Campo et al. (2009) informam que pode haver redução na nodulação superior a 80% e perdas de produtividade de grãos superiores a 20%, dependendo do ingrediente ativo do fungicida utilizado no tratamento das sementes, do histórico de cultivo da área e da textura do solo. Zilli et al. (2010), comparando a inoculação no sulco e na semente, verificaram produtividade 20% superior com a inoculação no sulco, fato este atribuído ao menor contato das bactérias com produtos fitossanitários aplicados nas sementes, e conseqüentemente melhor desempenho da FBN.

2.6. Interação bactérias fixadoras de nitrogênio versus genótipos de soja

A grande variabilidade existente entre as estirpes que nodulam a soja e a eficiência do processo simbiótico, pode proporcionar diferentes interações entre bactérias e genótipos de soja (Araújo e Hungria, 1999; Carvalho, 2003).

O incremento na FBN por meio do melhoramento genético e do manejo eficiente tem um alto benefício econômico. No entanto, nem sempre tem apresentado resultados satisfatórios. São muitas as razões que contribuem para tal, como a dificuldade em combinar características como a fixação de nitrogênio com outras características, tais como, resistência a doenças, qualidade das sementes e produtividade de grãos (Herridge et al., 2001). Assim, a lacuna provocada por uma

descontínua avaliação das características relacionadas à fixação do nitrogênio pode provocar perdas genéticas em relação à capacidade simbiótica.

Em uma pesquisa envolvendo a avaliação de 152 cultivares de soja foram identificadas diferenças marcantes, no entanto, dentre as cultivares analisadas nenhuma restringiu a nodulação, embora houvesse uma diferença de até quatro vezes no número e peso seco de nódulos por planta. As cultivares que apresentaram melhor desempenho simbiótico acumularam 30% a mais de nitrogênio quando em comparação com a média geral sendo: Bossier, BR-29, J-200 e Ivaí. Já as cinco cultivares que apresentaram menores taxas foram: BR-7, EMBRAPA 9, EMGOPA-313, FT-Canarana e Paranagoiana (Hungria e Bohrer, 2000).

Nicolás et al. (2006) identificaram, em uma população de 160 famílias $F_{2:3}$ do cruzamento BRS 133 (baixa capacidade de FBN) x Embrapa 20 (média capacidade de FBN), 16 associações significativas entre marcadores SSR e QTL para parâmetros de crescimento e nodulação das plantas.

Brandelero et al. (2009) avaliaram a interação da nodulação e dos componentes morfofisiológicos sobre o rendimento final de grãos de cultivares de soja nas condições edafoclimáticas do Recôncavo Baiano e verificaram que mais de 40% do rendimento de grãos se correlacionaram com os componentes da nodulação das cultivares de soja testadas, sendo que as cultivares Curió, Conquista e Liderança apresentaram melhor desempenho produtivo.

Bulegon et al. (2016), verificaram resposta diferenciada dos genótipos de soja BMX Turbo e Coodetec 250 à inoculação de sementes com bactérias do gênero *B. japonicum* ou *A. brasilense* na altura de plantas e nitrogênio total na parte aérea.

Em condições de campo envolvendo quatro locais e diferentes cultivares de soja submetidas ou não a inoculação padrão e co-inoculação via sulco de semeadura, as cultivares exibiram comportamento diferenciado quanto ao potencial de nodulação, onde foram obtidos ganhos expressivos em termos de produtividade de grãos com a prática de co-inoculação (Bárbaro et al., 2018a).

São amplamente conhecidos os genes dos rizóbios envolvidos na nodulação, no entanto, pouco se sabe a respeito dos genes das leguminosas hospedeiras relacionados à simbiose (Santos, et al., 2006). O desafio para melhorar a capacidade de fixação de N das leguminosas, por meio do melhoramento é complexo, pois deve-se considerar a planta hospedeira, o rizóbio e atualmente o *Azospirillum*. No entanto,

muitos programas de melhoramento genético de soja negligenciam esse aspecto, embora a complexidade da interação demonstre que só com a seleção concomitante dos parceiros simbióticos poderá ser obtida a otimização da FBN.

2.7. Análises Multivariadas

A análise estatística multivariada refere-se a todos os métodos estatísticos que analisam simultaneamente múltiplas medidas sobre cada indivíduo ou objeto sob investigação. Qualquer análise simultânea de mais de duas variáveis, de certa maneira pode ser classificada como multivariada (Hair et al., 2009).

Os métodos de análise de dados multivariados permitem, um estudo global de variáveis, colocando em evidência as ligações, semelhanças ou diferenças entre as mesmas, perdendo o mínimo de informação. A grande vantagem de analisar simultaneamente as informações de todas as variáveis, está na interpretação do conjunto de dados, levando em consideração as relações existentes entre elas (Sartorio, 2008).

Nos métodos multivariados, as variáveis devem ser aleatórias e inter-relacionadas, de tal forma que seus diferentes efeitos não sejam interpretados significativamente de forma separada. Têm-se assim, a classificação em variáveis dependentes e independentes (Hair et al., 2009).

Na técnica de dependência, a variável é classificada como dependente e explicada por outras variáveis conhecidas como variáveis independentes, tendo como exemplo a análise discriminante, análise conjunta, análise de correlação canônica, análise multivariada de variância, modelagem de equações estruturais e regressão múltipla. Por outro lado, a técnica de interdependência envolve a análise simultânea de todas as variáveis no conjunto, sem definir se a variável é dependente ou independente. Exemplos da técnica: análise de agrupamentos, análise de componentes principais, análises de correspondência, análise fatorial e escalonamento multidimensional (Hair et al., 2009).

No melhoramento genético, os métodos multivariados têm sido aplicados em diversas culturas como na soja, feijão e amendoim (Bertini et al., 2010; Pitta et al., 2010; Stahelin et al., 2011; Campos et al., 2011; Dallastra et al., 2014; Ramos, 2015; Silva, 2015).

2.7.1. Análise de Componentes Principais

Descrita inicialmente por Pearson e desenvolvida de forma independente por Hotelling, a análise de componentes principais permite simplificar um conjunto de dados, resumindo as informações, originalmente contidas em um grupo de n variáveis, em poucos componentes, que apresentam as propriedades de reterem o máximo de variação originalmente disponível e serem independentes entre si (Cruz; Carneiro, 2003).

A técnica busca substituir um conjunto de variáveis correlacionadas por um conjunto de novas variáveis não correlacionadas, criando eixos ortogonais que são combinações lineares das variáveis originais, denominados componentes principais (Ferraudo, 2014).

Para a determinação dos componentes principais, é necessário calcular a matriz de variâncias e covariância, ou a matriz de correlação, encontrar seus autovalores e os autovetores e, por fim, escrever as combinações lineares, que serão as novas variáveis independentes entre si (Cruz et al., 2004).

É caracterizada como uma técnica de transformação de variáveis, de tal modo, que o primeiro autovalor a ser determinado, corresponderá a maior porcentagem da variabilidade total presente e assim sucessivamente, até que toda a variação do conjunto tenha sido explicada. Já, os autovetores são os resultados da participação das variáveis originais (eixos originais) na composição dos novos eixos (componentes principais), que ditam a importância relativa de cada variável juntamente com seus respectivos sinais, positivos ou negativos, indicando a relação direta ou inversamente proporcional em relação aos componentes principais (Muniz et al., 2014).

É uma técnica estatística exploratória muito utilizada na compreensão e inter-relacionamento entre as variáveis originais (Ferraudo, 2014). Devido a este fato tem sido de grande utilidade no melhoramento genético (Cruz; Carneiro, 2003).

2.7.2. Análise de Agrupamento

A análise de agrupamento é o nome dado para o conjunto de técnicas multivariadas que possui como objetivo agregar genótipos com base nas

características que possuem. Os métodos de agrupamento têm por finalidade separar um grupo original de observações em vários subgrupos, de forma a obter homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os subgrupos, seguindo-se algum critério de similaridade ou dissimilaridade (Cruz et al., 2004; Hair et al., 2009).

Os métodos de agrupamento, se diferenciam pelo tipo de resultado a ser fornecido e pelas diferentes formas de definir a proximidade entre um indivíduo e um grupo já formado ou entre dois grupos quaisquer. Dentre os métodos disponíveis, destacam-se os hierárquicos e os não-hierárquicos (Cruz; Carneiro, 2003).

O método hierárquico pode ser formado pelo método de aglomeração e divisão. Os resultados de ambos os procedimentos hierárquicos podem ser dispostos em um diagrama de duas dimensões conhecido como dendrograma, nos quais os objetos são agrupados de acordo com a sua similaridade. O método não-hierárquico difere do hierárquico na quantidade de classes a serem formadas, a qual é determinada antes da realização da análise, com o objetivo de minimizar a variabilidade dentro do conjunto e maximizar a variabilidade entre os conjuntos (Pitta et al., 2010).

Os métodos hierárquicos mais utilizados são os de ligação simples, ligação completa, método não ponderado de agrupamento de pares (UPGMA), método de Ward, dentre outros. Um método não-hierárquico bastante utilizado é o k-médias, o qual classifica objetos em um número predefinido de grupos. A medida de similaridade usada entre os vetores de médias dos grupos pode levar a diferentes formações quanto a composição e ao número de objetos dentro de cada grupo. A escolha dessa medida deve levar em consideração alguns fatores, sendo a distância Euclidiana o critério mais utilizado (Hair et al., 2009).

A distância Euclidiana pode ser influenciada pela escala de medida, pelo número de variáveis e pela correlação existente entre elas. Deste modo, é realizada a padronização das variáveis em estudo, para que possuam a variância igual a unidade (1), o que implica, que a distância entre dois objetos não é afetada pela adição de novos objetos, ainda que sejam dados fora do padrão (Andrade, 2004; Manly, 2008).

2.7.2.1. Análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward

Este método de aglomeração, considera que a distância entre dois agrupamentos é a soma dos quadrados entre os dois agrupamentos feita sobre todas as variáveis. Em cada estágio do procedimento de agrupamento, a soma interna de quadrados é minimizada sobre todas as partições (o conjunto completo de agrupamentos disjuntos ou separados) que podem ser obtidos pela combinação de dois agregados do estágio anterior. Tal processo se repete em vários níveis, até que seja estabelecido o dendrograma (Cruz; Carneiro, 2003; Hair et al., 2009).

2.7.2.2. Análise de agrupamento pelo método não hierárquico de k-médias

Este método classifica os objetos em um número predefinido de grupos. O parâmetro k , que representa o número de grupos a serem formados com os dados, deve ser indicado pelo pesquisador. Ao selecionar k objetos do conjunto de dados aleatoriamente, cada um deles será o representante de seu grupo ainda unitário. Em sequência, os demais objetos serão testados em cada grupo e serão alocados naquele ao qual tenham a maior similaridade (menor distância). A cada novo objeto alocado será calculada a média dos objetos do grupo – o centróide, contra quem será medida a distância dos objetos que ainda não foram alocados.

Ao aplicar um critério de otimização que possa dividir uma amostra em k grupos homogêneos, pretende-se que, dentro de cada grupo, os elementos sejam os mais semelhantes possíveis entre si, ao passo que as semelhanças entre os elementos de grupos distintos, sejam as menores possíveis (Lourenço e Matias, 2001).

2.7.3. Análise de Fatores

A análise de fatores é semelhante à análise de Regressão Múltipla, pelo fato de cada variável ser expressa como uma combinação linear de fatores subjacentes (Malhotra, 2001). O objetivo é condensar a informação contida em um determinado número de variáveis originais em um conjunto menor, os fatores, com uma perda mínima de informação. Cada variável observada (original) pode ser considerada como

uma variável dependente que é uma função de algum conjunto latente de fatores (dimensões) feitos eles próprios a partir de todas as outras variáveis (Ferraudo, 2014).

A análise de fatores tem muita semelhança com a análise de componentes principais. A diferença importante entre ambas é que a análise de componentes principais não se fundamenta em um modelo estatístico particular, enquanto que a análise de fatores se fundamenta em um modelo. A decomposição da variância na análise de componentes principais é feita a partir da variância total contida nas variáveis originais enquanto que na análise de fatores a variância (comunalidade) representa a variância que a variável x_i compartilha com as outras variáveis, via fatores comuns (Ferraudo, 2014).

3. Referências bibliográficas

Andrade LP (2004) **Procedimento interativo de agrupamento de dados**. 193 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - UFRJ, Rio de Janeiro.

Araújo FD e Hungria M (1999) Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34:1633-1643.

Ardakani MR, Mazaheri D, Mafakheri S, Moghaddam A (2011) Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp, *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants** 17:181–192.

Bárbaro IM, Miguel FB, da Silva JAA, Libório PHS, Sobrinho RM, Finoto EL, Mateus GP, Borges WLB, De Freitas RS (2017) Viabilidade Técnica e Econômica da co-inoculação de soja no estado de São Paulo. **Nucleus** 1:45-58.

Bárbaro-Torneli IM, Finoto EL et al. (2018a) Avaliação de cultivares de soja no estado de São Paulo em resposta à aplicação de inoculantes no sulco de semeadura. **Nucleus** 1:55-62.

Bárbaro-Torneli IM, Finoto EL et al. (2018b) Influência de Modos de aplicação da co-inoculação no desempenho agrônomo de soja. **Nucleus** 1:105-114.

Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP (2014) Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013) **Plant and Soil** 378:1-33.

Bertini CHCM, de Almeida WS, da Silva APM, Silva JW, Teófilo EM (2010) Análise multivariada e índice de seleção na identificação de genótipos superiores de feijão-caupi. *Acta Scientiarum*. **Agronomy** 32:613-619.

Bortolan S, Barcellos FG, Marcelino FC, Hungria M (2009) Expression of nodC, nodW and nopP genes in *Bradyrhizobium japonicum* CPAC 15 strain evaluated by RT-qPCR. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 44:1491-1498.

Bottini R, Fulchieri M, Pearce D, Pharis RP (1989) Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology** 90:45-47.

Brandelero EM, Pereira Peixoto C, Ralisch R (2009) Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias** 30:3.

Brasil (2011) Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 10, de 13 de março de 2011.

Bulegon LG, Rampim L, Klein J, Kestring D, Guimarães VF, Battistus AG, Inagaki AM (2016) Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana** 34:169-176.

Câmara GMS (2000) **Nitrogênio e produtividade da soja**. Soja: Tecnologia da Produção II Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, p 295-339.

Câmara GMS (2006) Potencial da cultura da soja como fonte de matéria-prima para o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel In: CAMARA, GMS; HEIFFIG, LS (Coord) **Agronegócio de plantas oleaginosas: matérias-primas para Biodiesel** Piracicaba: ESALQ p 123-153.

Câmara GMS (2014) Fixação biológica de nitrogênio em soja. **Informações Agronômicas** 147:1-9.

Campo RJ, Araujo RS, Hungria M (2009) Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and *Bradyrhizobial* inoculants. **Symbiosis** 48: 154-163.

Campos AP, Boiça Júnior, de Jesus FG, Godoy IJ (2011) Avaliação de cultivares de amendoim para resistência à *Spodoptera frugiperda*. **Bragantia** 70: 349-355.

Carvalho FGD (2003) **Variabilidade de isolados de estirpes de *Bradyrhizobium ssp* recomendadas para a cultura da soja**. 104 p. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Carvalho FGD, Selbach PA, Bizarro MJ (2005) Eficiência e competitividade de variantes espontâneos isolados de estirpes de *Bradyrhizobium spp* recomendadas para a cultura da soja (*Glycine max*). **Revista brasileira de ciência do solo** 29: 883-891.

Cassán F, Sgroy V, Perrig D, Masciarelli O, Luna V (2008) Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 1:59-84.

Chibeba AM, Guimarães MF, Brito OR, Nogueira MA, Araujo RS, Hungria M (2015) Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences** 6: 1641.

Chueiri WA, Pajara F, Bozza D (2005) **Importância da inoculação e nodulação na cultura da soja**. Manah: Divulgação técnica, 169.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento Agrícola – (2019) **Quarto levantamento de grãos. Safra 2018/19**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10/01/2019.

Costa de Campos BH e Gnatta V (2006) Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 30: 69-76.

Cruz CD; Carneiro PCS (2003) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV. 2:585.

Cruz CD; Regazzi AJ; Carneiro PCS (2004) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético** 3 ed Viçosa: UFV. 1:480.

Dallastra A; Unêda-Trevisoli SH; Ferraudo AS; Mauro AO (2014) Multivariate approach in the selection of superior soybean progeny which carry the RR gene. **Revista Ciência Agronômica** 45:588-597.

De Alcantara RMCM. et al. (2009) **Estado atual da arte quanto ao melhoramento de genótipos para a otimização da FBN**. EMBRAPA MEIO-NORTE-DOCUMENTOS (INFOTECA-E).

De Souza RA, Hungria M, Franchini JC, Maciel CD, Campo RJ, Zaia DAM. (2008) Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43:83-91.

De Souza, G K et al (2018) Soybean inoculants in Brazil: an overview of quality control **Brazilian Journal of Microbiology** p 1-7.

Dourado DP, Peluzio JM, Reina E, Albornas KK, de Lázari TM, Muraishi CT (2018) Protein content in *Glycine max* grains influenced by the mixed inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. **Journal of bioenergy and food science** 5: 32-43.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2008) **Tecnologias de produção de soja** - região central do Brasil Londrina, Embrapa Soja/Embrapa Cerrados/Embrapa Agropecuária Oeste 280p.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2014) **Tecnologia de co-inoculação combina alto rendimento com sustentabilidade na produção de soja e do feijoeiro**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1580416/tecnologia-de-coinoculacao-combina-altorendimento-com-sustentabilidade-na-producao-de-soja-e-do-feijoeiro>>. Acesso em: 09/01/19.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2018) **Árvore do Conhecimento Soja**. Disponível em: <http://www.wagenciacnptiaembrapabr/gestor/soja/arvore/CONTAG01_73_271020069133.html> Acesso em: 26/12/2018.

Fehr WR, Caviness CE, Burmood DT, Pennington JS. (1971) Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill 1. **Crop science** 11:929-931.

Ferlini HA (2006) Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* **Artículos Técnicos–Agricultura**.

Ferraudo AS (2014) **Técnicas de Análise Multivariada – uma introdução**. Treinamento. Jaboticabal, SP.76p.

Finoto EL, Júnior PSC, Bárbaro-Torneli IM, Martins MH, Soares MBB, Martins ALM (2017) Desenvolvimento e produção de soja co-inoculada com *Azospirillum brasilense* em semeadura direta sobre palhicho de cana crua **Nucleus** 1:9-14.

Fonseca, GG (2011) **Respostas de cultivares de feijoeiro-comum a inoculação das sementes com estirpes de rizóbios em Minas Gerais**. Dissertação mestrado – Universidade Federal de Lavras 166p.

Fukami J, Ollero FJ, Megías M, Hungria M (2017) 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** 7:153.

Galindo FS, Teixeira Filho M, Buzetti S, Ludkiewicz MG, Rosa PA, Tritapepe CA (2018) Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 22: 51-56.

Gazzoni DL (2018) A soja no Brasil é movida por inovações tecnológicas. **Ciência e Cultura** 70:16-18.

Gitti DC, Arf O, Kaneko FH, Rodrigues RAF, Buzetti S, Portugal JR, Corsini DCDC. (2012) Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Agrarian** 5:36-46.

Glick BR (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**.

González N e Racca R (2012) Fijación biológica de nitrógeno en soja. El cultivo de soja en Argentina. p. 987-27584.

Graham PH e Vance CP (2003) Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant physiology** 131: 872-877.

Hair JF, Black WC, Babin BJ, Anderson RE, Tatham RL (2009) **Análise multivariada de dados**. Bookman 6:688p.

Henning A, Zorato M (1997) **Efeito do tratamento de sementes de soja com fungicidas antes do armazenamento**. In Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE). Informativo ABRATES 7:160.

Herridge DF, Turpin JE, Robertson MJ (2001) Improving nitrogen fixation of crop legumes through breeding and agronomic management: analysis with simulation modelling. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 41:391-401.

Huergo LF, Monteiro RA et al. (2008) Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. Cassán FD, García salomone. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Asociación Argentina de Microbiología** 1:17-35.

Hungria, M et al (1997) **Adubação nitrogenada na soja**. Embrapa Soja-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Hungria M, Bohrer TRJ (2000) Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils** 31:45-52.

Hungria M, Campo RJ, Mendes IDC (2001) **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Embrapa Soja; Brasília, DF: Embrapa Cerrados.

Hungria M, Campo RJ, Mendes IDC (2007) **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, 80p (Embrapa Soja Documentos, 283).

Hungria M (2011) **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja.

Hungria M, Mendes IC, Mercante FM (2013a) **A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e da soja**. Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E).

Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS (2013b) Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils** 49: 791-801.

Hungria M e Nogueira MA (2014) **Tecnologia de co-inoculação: rizóbios e Azospirillum em soja e feijoeiro**. Embrapa Soja-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E).

Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS (2015) Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences** 6: 811.

Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS (2016) Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 221: 125-131.

King CA, Purcell LC (2005) Inhibition of N₂ fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiology** 137:1389-1396.

Lourenço A e Matias RP (2001) **Estatística multivariada** Porto: Instituto Superior de Engenharia do Porto.

Malhotra N (2001) **Pesquisa de Marketing: uma orientação aplicada** Porto Alegre: Bookman.

Manly BFJ (2008) **Métodos estatísticos multivariados: uma introdução**.3ed. Bookman 229 p.

Marques ACR, Oliveira LB, Nicoloso FT, Jacques JS, Giacomini SJ, Quadros FLF (2017) Biological nitrogen fixation in C4 grasses of different growth strategies of South América natural grasslands. **Applied Soil Ecology** 113:54–62.

Mercante F (2006) Uso de inoculante garante economia de 3 bilhões de dólares na cultura da soja no país.

Mercante FM, Hungria M, Mendes IDC, Reis Junior FB (2011) **Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja**. Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Muniz CASD, Queiroz AS, Mascioli AS, Zadra LEF (2014) Análises de componentes principais para características de crescimento em bovinos de corte. **Semina: Ciências Agrárias** 35:1569-1576.

Nicolás MF, Hungria M, Arias CA (2006) Identification of quantitative trait loci controlling nodulation and shoot mass in progenies from two Brazilian soybean cultivars. **Field Crops Research** 95:355-366.

Nogueira MA e Hungria M (2013) **Oportunidades e ameaças à contribuição da fixação biológica de nitrogênio em leguminosas no Brasil**. In: Embrapa Soja- Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Iberoamerican Conference on Beneficial Plant-Microorganism-environment Interactions, Sevilla Microorganisms for future agriculture Sevilla: Universidad de Sevilla; ALAR; SEFIN, 2013.

Novakowski JH, Sandini IE, Falbo MK, de Moraes A, Novakowski JH, Cheng NC (2011) Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho Residual effect of nitrogen fertilization and *Azospirillum brasilense* inoculation in the maize culture. **Semina: Ciências Agrárias** 32: 1687-1698.

Pitta RM, Boiça Júnior AL, de Jesus FG, Tagliari SRA (2010) Seleção de genótipos resistentes de amendoimzeiro a *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) com base em análises multivariadas. **Neotropical Entomology** 39:260-265.

Ramos JPC (2015) **Divergência genética em acessos de amendoim com base em descritores fenotípicos**. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias (Melhoramento Vegetal) UEPB, Campina Grande.

Reis VM, Baldani JI, Baldani VLD, Dobereiner J (2000) Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Science** 19: 227-247.

Roncato-Maccari LD, Ramos HJ et al. (2003) Endophytic *Herbaspirillum seropedicae* expresses nif genes in gramineous plants. **FEMS microbiology ecology** 45: 39-47.

Santana MJ, de Souza FCA, Silveira AL, Silva CA (2011) Aplicação de cobalto, molibdênio e inoculante na cultura da soja (*Glycine max* L Merrill) **Global Science and Technology** 4: 1-8.

Santos MA, Nicolas MF, Hungria M (2006) Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B elkanii* e soja. **Pesquisa agropecuária Brasileira** 41:67-75.

Sartorio SD (2008) **Aplicações de técnicas de análise multivariada em experimentos agropecuários usando o software R**. 130f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Estatística e Experimentação Agrônômica) ESALQ, Piracicaba.

Silva FM (2015) **Estratégias de condução de populações segregantes de soja portadoras do gene RR e seleção por meio de análises uni e multivariada**. 76 f. Tese (Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) Unesp, Jaboticabal.

Sinclair TR, Nogueira MA (2018) Selection of host-plant genotype: the next step to increase grain legume N₂ fixation activity. **Journal of Experimental Botany** 69: 3523-3530.

Spaepen S, Vanderleyden J (2015) Auxin signaling in *Azospirillum brasilense*: a proteome analysis. **Biological nitrogen fixation** 937-940.

Stahelin D et al. (2011) Screening multivariado entre acessos e cultivares de feijão do grupo preto para utilização em blocos de cruzamento **Biotemas** 24:95-103.

Strzelczyk E, Kampert M, Li CY (1994) Cytokinin-like substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research** 149:55-60.

Taiz L; Zeiger E (2013). Fisiologia Vegetal. **Artmed**. Porto Alegre 5 ed.

Tien TM, Gaskins MH, Hubbell DH (1979) Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology** 37:1016-1024.

Torres AR et al. (2015) Genetic structure and diversity of a soybean germplasm considering biological nitrogen fixation and protein content **Scientia agrícola** 72: 47-52.

Tortora ML, Díaz-Ricci JC, Pedraza RO (2012) Protection of strawberry plants (*Fragaria ananassa* Duch) against anthracnose disease induced by *Azospirillum brasilense*. **Plant and soil**, 356: 279-290.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (2018) Disponível em: <<http://usdamannlibcornelledu/usda/current/worldag-production/worldag-production-09-12-2018pdf>> Acesso em: 11/09/2018.

Vargas MAT, Hungria M (1997) Fixação biológica do N₂ na cultura da soja. **Biologia dos solos do Cerrado** p297-360.

Vidor C et al. 2014 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil.

Wilson PW (1940) **Biochemistry of symbiotic Nitrogen fixation**. Madison: University of Wisconsin Press, 130p.

Zilli JE, Campo RJ, Hungria M (2010) **Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja**. Embrapa Soja- Artigo em periódico indexado (ALICE).

Zilli JE, Marson LC, Campo RJ, Gianluppi V, Hungria M (2006) **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Soja-Comunicado Técnico (INFOTECA-E). 9p.

Zuffo AM, Bruzi AT, de Rezende PM, Bianchi MC, Zambiazzi EV, Soares IO, Vilela GLD (2016) Morphoagronomic and productive traits of RR soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. **African Journal of Microbiology Research**, 10:438-444.

CAPÍTULO 2 - Desempenho simbiótico e produtivo de cultivares de soja submetidas a co-inoculação

RESUMO – Nos últimos anos, além da prática de inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, também tem sido realizada a co-inoculação com *Azospirillum brasilense*. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho simbiótico e produtivo de cultivares de soja submetidas à co-inoculação em sulco de semeadura. O delineamento experimental utilizado foi em esquema de faixas com três repetições. No estágio reprodutivo R₁, foram avaliados: índice de conteúdo de clorofila, altura da planta no florescimento e comprimento de raiz, massa seca da parte aérea e raiz, número de nódulos das raízes principal, secundárias e total, massa seca dos nódulos das raízes principal, secundárias e total e teor de nitrogênio total na parte aérea. No estágio reprodutivo R₈, foram avaliados: altura da planta na maturidade, altura de inserção da primeira vagem, número de nós, número de ramos, número de vagens, número de grãos, massa de mil grãos, produtividade e teor de nitrogênio total nos grãos. Com os dados, foram realizadas análises de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. Para as análises multivariadas, foram realizadas análises de componentes principais e análise de agrupamento pelos métodos de Ward e k-médias. Para os parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, foram verificadas interações significativas para altura da planta no florescimento, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, número de nódulos das raízes principal, secundárias e total e massa seca de nódulos das raízes principal, secundárias e total. Para os componentes de produtividade, interações significativas foram verificadas para altura da planta na maturidade, número de nós, número de ramos, número de vagens, massa de mil grãos, produtividade e teor de nitrogênio total nos grãos. A média geral de produtividade foi de 3.031,59 kg ha⁻¹, sendo que a co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos de 3.316,94 kg ha⁻¹. De acordo com o critério para descarte de variáveis, das 21 características analisadas, seis foram recomendadas para as análises de componentes principais e de agrupamento, sendo elas: altura da planta no florescimento, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz, massa seca dos nódulos total, número de vagens e produtividade. A análise de componentes principais resultou em 3 componentes (CP1, CP2 e CP3), os quais explicaram 73,51% da variância. As características de maior contribuição na discriminação das cultivares em CP1 foram altura da planta no florescimento, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz. No segundo componente principal (CP2), destacaram-se massa seca de nódulos total e número de vagens. O terceiro componente (CP3) foi caracterizado apenas pela produtividade. A análise de agrupamento pelos métodos de Ward e k-médias permitiram a formação de quatro grupos. A co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 20,78% ou 9,51 sacas ha⁻¹. As cultivares 1, 6, 9, 12, 13, 16, 18, 20, 21, 27 e 29 apresentaram melhor relação simbiótica. Os resultados obtidos enfatizam a existência de variabilidade genética a ser explorada pelos programas de melhoramento de soja, por meio de estudos envolvendo a avaliação dos parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, bem como a sua relação com os componentes de produtividade de grãos.

Palavras-chave: análise de agrupamento, bactéria diazotrófica, componentes principais, genótipos, *Glycine max*, sulco de semeadura

1. Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das culturas de maior importância mundial, além de ser a principal *commodity* brasileira. No mundo, a produção chega a 369,32 milhões de toneladas, sendo os Estados Unidos e o Brasil os maiores produtores (USDA, 2018). Na safra 2017/18, a produtividade média brasileira foi de 3.394 kg ha⁻¹ com área semeada de 35 milhões de hectares (CONAB, 2019). Em síntese, o excelente desempenho da cultura da soja no Brasil pode ser atribuído ao aporte tecnológico, melhoramento genético e benefícios proporcionados pela fixação biológica de nitrogênio (FBN).

Quanto à FBN, destaca-se a relação econômica, social e ambiental, pois em virtude do uso das bactérias fixadoras de N do gênero *Bradyrhizobium*, em substituição aos fertilizantes nitrogenados que são altamente poluentes, o país economiza anualmente cerca de US\$ 15 bilhões (Hungria et al., 2014). O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja, uma vez que para cada 1.000 kg de grãos produzidos são requeridos cerca de 80 kg de N, dos quais, 60% são exportados com os grãos. Estabelecendo-se uma produtividade de 5.000 kg ha⁻¹ de grãos, seriam necessários aproximadamente 400 kg ha⁻¹ de N, o que inviabilizaria o custo de produção da cultura (Nogueira e Hungria; 2014).

A prática da inoculação dispensa totalmente o uso de N-mineral na cultura da soja e posiciona o país como referência mundial em inoculação com a bactéria *Bradyrhizobium* e mais recentemente com a co-inoculação envolvendo as bactérias do gênero *Azospirillum* (Bárbaro et al., 2011; Hungria et al., 2013; Bulegon et al., 2016). As plantas de soja co-inoculadas com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* apresentam uma nodulação mais abundante e precoce (Hungria et al., 2015; Chibeba et al., 2015), com ganhos médios de produtividade de 16% (Hungria et al., 2013), ou seja, o dobro em relação à inoculação realizada apenas com *Bradyrhizobium*.

Apesar disso, os programas de melhoramento genético de soja têm negligenciado a avaliação de FBN em suas linhagens e voltado suas pesquisas com maior intensidade, para características como o aumento da produtividade de grãos, teor de óleo, resistência a doenças e pragas. Assim, uma descontínua avaliação dos parâmetros de FBN é responsável por reduções na contribuição de N para as plantas,

fato este observado em muitas cultivares modernas quando confrontadas com os parentais que lhe deram origem (Hungria e Bohrer, 2000; Santos et al., 2006).

As técnicas de análises multivariadas têm sido amplamente utilizadas devido à possibilidade de integrar simultaneamente, múltiplas informações e quantificar a variância dos caracteres de interesse agrônômico, sendo empregadas em estudos para as mais diversas culturas, como soja (Koga et al., 2008), feijão (Perina et al., 2010; Bertini et al., 2010), arroz (Benitez et al., 2011), trigo (Benin et al., 2010), café (Magalhães-Guedes et al., 2013) e eucalipto (Scapim et al., 2015).

Dessa forma, por meio do presente estudo, objetivou-se analisar o desempenho simbiótico e produtivo de cultivares de soja submetidas à co-inoculação em sulco de semeadura com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*.

2. Material e métodos

2.1. Descrição do experimento

O experimento de campo foi instalado no ano agrícola 2016/2017 no município de Guaíra-SP, à 20°20'55" de latitude sul, 48°19'57" de longitude oeste e altitude de 568 m. O solo da área experimental de Guaíra-SP é um Latossolo Vermelho distrófico (Santos et al., 2013). O clima é subtropical Cwa, com verão quente e úmido, inverno seco (Koppen, 1948). Nos meses de outubro a fevereiro, durante a condução do experimento, a temperatura média verificada foi de 28,9°C e a precipitação acumulada foi de 1.260,5 mm (CIIAGRO, 2018).

Antes da instalação do experimento, foram coletadas amostras de solo para contagem de bactérias *Bradyrhizobium* e bactérias diazotróficas associativas do solo (Döbereiner et al., 1995). O valor encontrado na amostra, foi de $2,5 \times 10^5$ bactérias/g solo.

Além da análise microbiológica, foram realizadas análises química e física. As amostras de solo para a caracterização química (Rajj et al., 2001) e granulométrica (Day, 1965) foram coletadas na camada de 0-0,20 m de profundidade, onde foram obtidos os seguintes resultados: pH (CaCl₂) = 5,68; M.O = 36 g dm⁻³; P = 94,23 mg dm⁻³; K = 4,98 mmolc dm⁻³; Ca = 63,54 mmolc dm⁻³; Mg = 16,13 mmolc dm⁻³; H + Al

= 29,56 mmolc dm⁻³; V = 74,12%, S-SO₄ = 72,71 mg dm⁻³; Areia Total = 245 g kg⁻¹ de solo; Argila = 500 g kg⁻¹ de solo e Silte = 253 g kg⁻¹ de solo.

O delineamento experimental utilizado foi em esquema de faixas, com três blocos. As fontes de variação da análise de variância foram compostas por 29 cultivares de soja e a aplicação ou não das bactérias *Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*. As parcelas experimentais constituíram-se de 60 metros de comprimento e 4 metros de largura, com espaçamento entre linhas de 0,5 m. Estas parcelas foram divididas, sendo utilizados 30 metros para o tratamento de co-inoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*) e 30 metros para o controle (sem co-inoculação). Como área útil, foram utilizadas as duas linhas centrais, onde foram coletadas 10 plantas por repetição, totalizando 30 plantas avaliadas.

2.2. Material genético e condução experimental

Na Tabela 1, estão dispostas as 29 cultivares utilizadas no experimento, as quais são portadoras das tecnologias RR e IPRO. As cultivares foram submetidas aos tratamentos de co-inoculação e controle (sem co-inoculação).

Tabela 1. Identificação das 29 cultivares comerciais de soja submetidas a co-inoculação (I) e controle (SI). Ano agrícola 2016/17. Guaira-SP.

Identificação	Cultivar	Tratamento	Bactérias
1	BRS 7380 RR	1I	Co-inoculação
1	BRS 7380 RR	1SI	Controle
2	XB 69P16 RR	2I	Co-inoculação
2	XB 69P16 RR	2SI	Controle
3	XB 60D17 RR	3I	Co-inoculação
3	XB 60D17 RR	3SI	Controle
4	M 5947 IPRO	4I	Co-inoculação
4	M 5947 IPRO	4SI	Controle
5	SYN 13561 IPRO	5I	Co-inoculação
5	SYN 13561 IPRO	5SI	Controle
6	DS 5916 IPRO	6I	Co-inoculação
6	DS 5916 IPRO	6SI	Controle
7	5D6215 IPRO	7I	Co-inoculação
7	5D6215 IPRO	7SI	Controle
8	CZ 28B42 IPRO	8I	Co-inoculação
8	CZ 28B42 IPRO	8SI	Controle
9	CZ 36B31 IPRO	9I	Co-inoculação
9	CZ 36B31 IPRO	9SI	Controle
10	TMG 7063 IPRO	10I	Co-inoculação
10	TMG 7063 IPRO	10SI	Controle
11	TMG 1264 IPRO	11I	Co-inoculação
11	TMG 1264 IPRO	11SI	Controle
12	BMX GARRA IPRO	12I	Co-inoculação
12	BMX GARRA IPRO	12SI	Controle
13	BMX ÍCONE IPRO	13I	Co-inoculação
13	BMX ÍCONE IPRO	13SI	Controle
14	NS 6828 IPRO	14I	Co-inoculação
14	NS 6828 IPRO	14SI	Controle
15	BS 2606 IPRO	15I	Co-inoculação
15	BS 2606 IPRO	15SI	Controle
16	TFC 6702 IPRO	16I	Co-inoculação
16	TFC 6702 IPRO	16SI	Controle
17	NS 6700 IPRO	17I	Co-inoculação
17	NS 6700 IPRO	17SI	Controle
18	CD 2720 IPRO	18I	Co-inoculação
18	CD 2720 IPRO	18SI	Controle
19	CD 2728 IPRO	19I	Co-inoculação
19	CD 2728 IPRO	19SI	Controle
20	AS3680 IPRO	20I	Co-inoculação
20	AS3680 IPRO	20SI	Controle
21	AS3730 IPRO	21I	Co-inoculação
21	AS3730 IPRO	21SI	Controle
22	NS7202 IPRO	22I	Co-inoculação
22	NS7202 IPRO	22SI	Controle
23	NS707 IPRO	23I	Co-inoculação
23	NS7007 IPRO	23SI	Controle
24	ICS 1835 RR	24I	Co-inoculação
24	ICS 1835 RR	24SI	Controle
25	ICS 248 RR	25I	Co-inoculação
25	ICS 248 RR	25SI	Controle
26	LG 60163 IPRO	26I	Co-inoculação
26	LG 60163 IPRO	26SI	Controle
27	5G 7315 IPRO	27I	Co-inoculação
27	5G 7315 IPRO	27SI	Controle
28	SYN 1163 RR	28I	Co-inoculação
28	SYN 1163 RR	28SI	Controle
29	SYN 1560 IPRO	29I	Co-inoculação
29	SYN 1560 IPRO	29SI	Controle

A área experimental utilizada conta com um sistema de plantio direto consolidado, sendo a semeadura realizada sobre palhada de milho. A adubação de base foi realizada com 280 kg ha⁻¹ da formulação de adubo 03-23-23. Todas as cultivares (co-inoculação e controle), foram submetidas ao pré-tratamento com inseticida/fungicida contendo fipronil e piraclostrobina na dose de 200 mL/100 kg sementes.

Para a co-inoculação, foi utilizada a formulação de inoculante BA Dual Core, que se encontra em fase de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A formulação de inoculante líquido para soja (registro requerido ao MAPA) e produzido pela Stoller do Brasil Ltda, assegura a presença de duas espécies de bactérias, sendo elas: *Bradyrhizobium japonicum* (cepa SEMIA 5079), na concentração de 1 x 10⁹ UFC/mL e *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na concentração de 1 x 10⁷ UFC/mL. O inoculante foi aplicado no sulco de semeadura na dose recomendada pelo fabricante de 0,45 L ha⁻¹.

A aplicação do inoculante, foi realizada através de pulverizador Micron®, acoplado na semeadora-adubadora. Foram adotados alguns cuidados para garantir uma maior eficiência da co-inoculação, como preparo da calda à sombra, averiguação do pH da calda e calibração adequada dos bicos de pulverização para a distribuição uniforme do inoculante.

No estágio de desenvolvimento V₅ (Fehr e Caviness, 1977) foram aplicados os micronutrientes cobalto e molibdênio via pulverização foliar, na co-inoculação e no controle (I e SI) na dose de 100 mL ha⁻¹.

2.3. Avaliações realizadas

2.3.1. Parâmetros de FBN

Os parâmetros avaliados no início do florescimento, no estágio reprodutivo R₁ (Fehr e Caviness, 1977) foram: índice de conteúdo de clorofila (ICC); altura da planta no florescimento (APF) e comprimento da raiz (CR) em cm; massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em g planta⁻¹; número de nódulos das raízes principal, secundárias e total (NNODP), (NNODS) e (NNODT) em número planta⁻¹; massa seca de nódulos das raízes principal, secundária e total (MSNODP),

(MSNODS) e (MSNODT) em mg planta^{-1} e nitrogênio total na parte aérea (NPA) em g kg^{-1} .

O teor de clorofila foliar foi analisado indiretamente por clorofilômetro, medidor portátil. A leitura foi realizada em clorofilômetro modelo CCM-200 (Opti-Scienses, Inc). O teor de nitrogênio total na massa seca da parte aérea (NPA) foi determinado pela metodologia descrita por Bataglia et al. (1983).

2.3.2. Componentes de Produtividade

Os componentes de produtividade avaliados na maturidade fisiológica, no estágio reprodutivo R_8 (Fehr e Caviness, 1977) foram: altura de planta na maturação (APM) e altura de inserção da primeira vagem (AIV) em cm; número de nós por planta (NN); número de ramos por planta (NR); número de vagens por planta (NV); número de grãos por planta (NG); massa de mil grãos (M1000); produtividade de grãos (PG) em kg.ha^{-1} (valores corrigidos para 13% de umidade) e teor de nitrogênio total nos grãos em g. kg^{-1} (NTG), seguindo a metodologia descrita por Bataglia et al. (1983).

2.4. Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste de normalidade de Shapiro e Wilk (1965) a 5% de probabilidade. Quando diferenças significativas foram detectadas pela análise de variância, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, sendo que não foi necessária a transformação dos dados. As análises univariadas foram executadas com auxílio do software AgroEstat (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015).

Para as análises multivariadas, os dados foram submetidos a análise de componentes principais pelo software Genes (Cruz, 2013) para indicação de possíveis variáveis “descarte”. As variáveis não indicadas para descarte, foram utilizadas nas análises de componentes principais e agrupamento pelos métodos hierárquico de Ward e não hierárquico de k-médias com auxílio do software Statistica versão 10 (Statsoft, 2010).

2.4.1. Análise de descarte de variáveis

Nas análises multivariadas, quando se tem um grande número de variáveis, cerca de 10 ou mais, os resultados são pouco alterados se apenas um subconjunto das variáveis for utilizado (Jolliffe, 1973). No entanto, deve-se primeiramente identificar se todas essas variáveis são realmente necessárias e, se a distância é alterada quando uma ou mais variáveis são adicionadas ou recuperadas (Arunachalam, 1981; Beale et al., 1967).

Os dados foram previamente submetidos ao programa Genes (Cruz, 2013), para possível indicação de variáveis para descarte. O critério para descarte de variáveis estabelece que o número de variáveis descartadas deve ser igual ao número de componentes cuja variância (autovalor) é inferior a 0,7.

No descarte de variáveis, a variável que apresenta o maior coeficiente (valor absoluto) no componente principal de menor autovalor (menor variância) deve ser menos importante para explicar a variância total e, portanto, se torna, passível de descarte (Regazzi, 2002).

2.4.2. Cálculo dos componentes principais

Para a análise de componentes principais, os autovalores foram extraídos a partir da matriz de covariância que geraram os autovetores denominados de componentes principais, que são determinados a partir da equação característica da matriz (Ferraud, 2014). Para as análises de agrupamento, a semelhança entre as cultivares foi medida pela distância Euclidiana e a ligação média entre os grupos foi realizada pelo método de Ward.

Os dados foram padronizados resultando em média igual a zero e variância igual a um para todas as variáveis, de acordo com a equação:

$$Z_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{X}_j}{S_j}$$

Onde: $j=1, 2, \dots, p$ características;

$i=1, 2, \dots, n$ objetos;

X_j e S_j = média e o desvio padrão da coluna j .

A variabilidade original foi decomposta em três autovetores (componentes principais) construídos com os autovalores da matriz de covariância, que são combinações lineares das variáveis originais buscando maximizar a informação relevante (Hair et al., 2009).

2.4.2.1. Cálculo da variância contida em cada componente principal

Para o cálculo da proporção da variância total contida em cada componente

tem-se a expressão: $CP_h = \frac{\lambda_h}{\text{Traço}(C)} 100$

Onde:

CP_h = matriz de covariâncias dos dados originais padronizados;

λ_h = h-ésima raiz característica (autovalor) da matriz C,

Traço (C) = $\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_h$

São considerados somente autovalores acima de 1 ou muito próximos, pois geram componentes com quantidade relevante de informação das variáveis originais. Para aqueles abaixo de 1 a quantidade de informação retida no componente não é relevante (Kaiser, 1958).

2.4.2.2. Correlações das variáveis com os componentes principais

A correlação dos caracteres com os componentes principais foi calculada pela fórmula (Kaiser, 1958):

$$r_{xj}(cp_h) = \frac{a_{jh} \sqrt{\lambda_h}}{S_j}$$

Onde:

S_j = desvio padrão da variável j;

a_{jh} = coeficiente da variável j no h-ésimo componente principal;

λ_h = h-ésima raiz característica (autovalor) da matriz de covariância

2.4.3. Análise de agrupamento pelo método hierárquico de Ward

Neste método, a distância entre dois grupos é definida como a soma de quadrados entre os dois grupos feita sobre todas as variáveis. Em cada estágio do procedimento de agrupamento, a soma interna de quadrados é minimizada sobre todas as partições que podem ser obtidas pela combinação de dois grupos do estágio anterior. Este método tende a combinar grupos com um pequeno número de observações e também tende a produzir grupos com aproximadamente o mesmo número de observações (Ferraudo, 2014).

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{i=j}^n (X_{hi} - X_{hj})^2}$$

Onde:

$d_{i,j}$ = distância euclidiana estimada entre as classes i e j ;

X_{hi} = número de árvores na classe i ;

$X_{h,j}$ = número de árvores na classe j ;

$d_{i,j}$ = distância entre as médias dos grupos I e J .

2.4.4. Análise de agrupamento pelo método não hierárquico de k-médias

Na análise de agrupamentos pelo método k-médias, deve-se utilizar um número de *clusters* previamente determinado pela análise de agrupamento hierárquico, para o cálculo dos pontos que representam os “centros” destes *clusters*.

$$E = \sum_{k=1}^k \sum_{x \in C_k} d(x_{ij}, x_{ok})$$

Onde:

x_{ok} é o centróide do *cluster*

$d(x, x_{ok})$ é a distância entre os pontos

O centróide pode ser a média ou a mediana de um grupo de pontos. Sendo que, o objetivo do k-médias é minimizar a distância entre cada ponto e o seu respectivo centróide (Hair et al., 2009).

3. Resultados e discussão

Na Tabela 2, encontram-se os resultados obtidos para os parâmetros de FBN: índice de conteúdo de clorofila (ICC), altura da planta no florescimento (APF), comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e nitrogênio total na parte aérea (NPA) das 29 cultivares de soja submetidas a co-inoculação, além do controle (sem co-inoculação).

Apenas os parâmetros CR e NPA, não apresentaram diferença para nenhuma das fontes de variação da análise de variância. Com relação ao NPA, resultados semelhantes foram obtidos por Zilli et al. (2010) e Bulegon et al. (2016), que não observaram diferenças para o acúmulo de N na parte aérea. Esse acúmulo de N semelhante entre os tratamentos, pode estar associado ao fato das plantas ainda estarem utilizando o N disponível no solo até o período da avaliação (Zilli et al., 2009).

Com relação às cultivares F(A), os parâmetros ICC, APF, MSPA e MSR se diferenciaram. Para as bactérias F(B) foi detectada diferença significativa apenas para MSPA, com superioridade para a co-inoculação, que apresentou 4,19 g e o controle 3,72 g. Na interação cultivar versus bactérias F(C), os parâmetros que apresentaram diferença foram APF, MSPA e MSR.

Tabela 2. Parâmetros de fixação biológica de nitrogênio (ICC, APF, CR, MSPA, MSR e NPA) em cultivares de soja, avaliadas no início do florescimento. Guaíra-SP. Ano agrícola 2016/17.

CULTIVARES	ICC	APF		CR	MSPA		MSR		NPA
		Cm			g planta ⁻¹				g kg ⁻¹
	-	I	SI	-	I	SI	I	SI	-
1	25,83 b	42,33 bA	43,50 bA	15,75 a	4,68 aA	3,75 bB	0,99 bA	0,89 bA	38,66 a
2	26,17 b	39,00 bA	43,67 bA	19,33 a	3,80 cA	3,64 bA	0,50 cA	0,68 cA	44,08 a
3	26,52 b	41,33 bA	35,33 bA	15,67 a	3,15 dA	3,39 bA	0,83 cA	0,60 cA	30,54 a
4	24,93 b	46,33 aA	39,67 bA	17,33 a	3,41 dA	3,19 cA	0,75 cA	0,48 cA	35,52 a
5	30,90 a	48,67 aA	46,00 aA	17,17 a	3,36 dA	3,08 cA	1,25 aA	1,15 aA	42,21 a
6	28,33 a	52,33 aA	58,00 aA	17,50 a	4,88 aA	4,25 aB	1,36 aA	1,14 aA	39,71 a
7	31,62 a	46,67 aA	44,67 bA	17,00 a	3,31 dA	3,48 bA	0,88 cA	0,93 bA	35,17 a
8	26,22 b	47,33 aA	51,33 aA	16,50 a	5,09 aA	4,52 aB	1,16 aA	1,36 aA	38,05 a
9	30,72 a	42,67 bB	53,00 aA	18,50 a	3,32 dA	3,20 cA	1,15 aA	1,39 aA	31,29 a
10	30,77 a	46,00 aA	46,00 aA	14,67 a	4,54 bA	4,40 aA	0,93 bA	0,82 bA	30,29 a
11	29,47 a	44,67 bA	45,33 aA	17,50 a	4,34 bA	4,11 aA	1,06 bA	1,00 bA	41,17 a
12	31,60 a	49,00 aA	44,33 bA	14,67 a	4,66 aA	3,41 bB	1,18 aA	1,26 aA	40,23 a
13	29,97 a	39,67 bA	45,67 aA	18,17 a	4,72 aA	4,17 aB	0,97 bA	0,91 bA	36,40a
14	24,90 b	38,67 bA	43,67 bA	18,50 a	3,75 cA	3,57 bA	0,86 cB	1,52 aA	39,95 a
15	22,75 b	41,33 bA	35,00 bA	17,67 a	3,83 cA	3,49 bA	0,72 cA	0,47 cA	30,54 a
16	23,38 b	48,00 aA	37,00 bB	17,00 a	4,46 bA	3,59 bB	0,95 bA	0,70 cA	29,63 a
17	26,52 b	48,33 aA	46,00 aA	16,08 a	4,03 bA	3,46 bB	0,89 cA	0,61 cA	39,24 a
18	27,43 b	52,33 aA	49,67 aA	17,83 a	4,45 bA	3,61 bB	0,72 cA	0,76 bA	35,85 a
19	34,15 a	52,67 aA	49,33 aA	17,67 a	5,36 aA	4,52 aB	1,19 aA	0,85 bB	37,52 a
20	31,08 a	47,67 aA	51,67 aA	17,00 a	4,38 bA	3,64 bB	0,78 cA	0,87 bA	37,85 a
21	29,52 a	46,67 aA	49,67 aA	17,00 a	4,53 bA	3,63 bB	0,94 bA	0,75 bA	32,22 a
22	24,45 b	41,67 bA	39,67 bA	16,50 a	4,13 bA	2,83 cB	0,65 cA	0,77 bA	35,04 a
23	26,08 b	36,33 bB	50,33 aA	14,00 a	2,32 eB	3,27 cA	0,42 cB	0,87bA	39,21 a
24	25,43 b	50,33 aA	47,67 aA	16,67 a	4,71 aA	4,56 aA	0,71 cB	1,30 aA	31,94 a
25	27,52 b	51,00 aA	39,00 bB	15,17 a	4,73 aA	3,57 bB	1,00 bA	0,74 bA	35,33 a
26	26,28 b	50,33 aA	50,50 aA	16,50 a	4,71 aA	4,13 aB	0,94 bA	1,15 aA	38,92 a
27	26,55 b	44,67 bA	49,00 aA	18,00 a	4,85 aA	4,28 aB	0,75 cA	0,84 bA	29,54 a
28	29,17 a	44,67 bA	46,00 aA	15,33 a	3,83 cA	3,67 bA	1,03 bA	0,82 bA	39,11 a
29	25,78 b	50,00 aA	43,00 bB	16,17 a	4,25 bA	3,48 bB	1,27 aA	0,84 bB	37,50 a
I	29,54 a	45,89 a		17,39 a	4,19 a		0,93 a		36,53 a
SI	25,91 a	45,64 a		16,18 a	3,72 b		0,91 a		36,07a
F (A)	1,69*	3,23**		1,02 ns	17,72**		8,17**		1,55 ns
F (B)	13,05ns	0,49ns		6,98 ns	87,83*		0,90ns		0,36 ns
F (C)	1,59ns	2,85**		1,36 ns	3,51**		3,01**		1,53 ns
Média Geral	27,73	45,76		16,79	3,96		0,92		36,29
CV % (A)	19,12	11,85		18,32	7,84		19,50		22,02
CV % (B)	23,95	4,96		17,95	8,40		11,85		14,04
CV % (C)	17,44	9,39		14,76	7,99		20,77		23,14

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C) = interação cultivar versus bactérias. 1- BRS 7380 RR; 2- XB 69P16 RR; 3- XB 60D17 RR; 4- M5947 IPRO; 5- SYN 13561 IPRO; 6- DS 5916 IPRO; 7- 5D6215 IPRO; 8- CZ 28B42 IPRO; 9- CZ 36B31 IPRO; 10- TMG 7063 IPRO; 11- TMG 1264 IPRO; 12 - BMX GARRA IPRO; 13 -BMX ÍCONE IPRO; 14 -NS 6828 IPRO; 15 - BS 2606 IPRO; 16 - TFC 6702 IPRO; 17 - NS 6700 IPRO; 18 - CD 2720 IPRO; 19- CD 2728 IPRO; 20 - AS3680 IPRO; 21 - AS3730 IPRO; 22 - NS7202 IPRO; 23- NS7007 IPRO; 24 -ICS 1835 RR; 25 - ICS 248 RR; 26- LG 60163 IPRO; 27 -5G 7315 IPRO; 28- SYN 1163 RR e 29- SYN 1560 IPRO. I= Co-inoculação e SI=Controle. ICC= Índice de conteúdo de clorofila; APF=Altura da planta no florescimento; CR= Comprimento da raiz; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz e NPA= teor de nitrogênio total na parte aérea.

No desdobramento da interação para APF, dentro da co-inoculação as cultivares 19, 18, 6, 25, 24, 26, 29, 12, 5, 17, 16, 20, 8, 7, 21, 4 e 10 obtiveram melhor desempenho. Já no controle as cultivares 6, 9, 20, 8, 26, 23, 18, 21, 19, 27, 24, 17, 5, 10, 28, 13 e 11 apresentaram médias superiores. As cultivares 9 e 23 foram melhores no controle com 53,00 e 50,33 cm, o que demonstra um efeito negativo do uso conjunto das bactérias envolvidas na co-inoculação para essas cultivares. Por sua vez, as cultivares 16, 25 e 29 foram beneficiadas pela co-inoculação com 48,00; 51,00 e 50,00 cm, respectivamente (Tabela 2).

Essa ausência de resposta a co-inoculação, pode ser atribuída a baixa afinidade do genótipo da planta hospedeira, com as estirpes bacterianas contidas no inoculante (Reis et al., 2000).

Para a massa seca da parte aérea (MSPA) no desdobramento da interação, dentro da co-inoculação as cultivares 19, 8, 6, 27, 25, 12, 24, 26, 1 e 12 destacaram-se. Já no controle as cultivares 24, 19, 8, 10, 27, 6, 13, 26 e 11. A co-inoculação proporcionou aumento em massa seca para as cultivares 1, 6, 8, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27 e 29, o que corresponde a 55,17% das cultivares avaliadas, com conteúdo variando de 4,03 a 5,36 g planta⁻¹. O controle proporcionou aumento de massa seca apenas para a cultivar 23 com 3,27 g planta⁻¹ (Tabela 2).

O acréscimo verificado com a prática da co-inoculação, pode estar associado a capacidade das bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* na produção de reguladores de crescimento vegetal, aliado a maior absorção de água e nutrientes (Hungria et al., 2013).

Em estudo realizado por Bohrer e Hungria (1998), foram verificadas diferenças marcantes entre cultivares de soja quanto ao potencial de nodulação e fixação biológica de nitrogênio, e constataram que a quantificação da MSPA é um bom parâmetro para a seleção das simbioses mais promissoras.

No desdobramento da interação para a MSR, dentro da co-inoculação as cultivares 6, 29, 5, 19, 12, 8 e 9 apresentaram maiores médias. No controle, as cultivares 14, 9, 8, 24, 12, 26, 5 e 6 demonstram-se superiores. Com relação ao potencial da adição ou não das bactérias, na co-inoculação destacaram-se as cultivares 19 e 29 com 1,19 e 1,27 g planta⁻¹. Já no controle as cultivares 14, 23 e 24 com 1,52; 0,87 e 1,30 g planta⁻¹, respectivamente (Tabela 2).

Para os parâmetros de FBN, relativos ao número de nódulos das raízes principal, secundárias e total (NNODP, NNODS e NNODT) e suas respectivas massas secas (MSNODP, MSNODS e MSNODT), a interação cultivar versus bactérias F(C) foi significativa para todos os caracteres.

No desdobramento da interação para o NNODP, dentro da co-inoculação, as cultivares 1, 3, 10, 15, 18, 26 e 28 apresentaram maiores médias. Já no controle foram as cultivares 7, 29, 8, 13, 1, 14, 16, 9, 17, 11 e 18. As cultivares 3, 15, 18, 19, 21, 26 e 28 apresentaram médias superiores quando submetidas a co-inoculação com variação de 8,96 a 13,30 nódulos. Para o controle, não foram verificadas diferenças.

Para o NNODS, dentro da co-inoculação as cultivares 3, 5, 18 e 6 destacaram-se. Dentro do controle, apenas a cultivar 4 apresentou média superior. As cultivares que obtiveram incrementos com a co-inoculação foram 3, 5, 6, 18 e 19 e no controle as cultivares 4, 12 e 22, sendo que o melhor desempenho foi obtido na co-inoculação com até 23,47 nódulos planta⁻¹, verificado na cultivar 3 (Tabela 3).

Em estudo conduzido por Bohrer e Hungria (1998) a distribuição de nódulos esteve quase sempre restrita à coroa da raiz, sendo que um pequeno deslocamento da nodulação para as raízes secundárias ocorreu somente na presença de *Bradyrhizobium* (SEMIA 587). Por outro lado, as cultivares FT-Abyara e BR-27 apresentaram um maior deslocamento para as raízes laterais com a utilização de três estirpes, evidenciando o potencial desses genótipos como fonte de variabilidade para os programas de melhoramento genético de soja, visando maximizar o potencial de nodulação das cultivares modernas de soja.

Tabela 3. Parâmetros de fixação biológica de nitrogênio (NNODP, NNODS, NNODT, MSNODP, MSNODS e MSNODT) em cultivares de soja, avaliadas no início do florescimento. Guaira-SP. Ano agrícola 2016/17.

CULTIVARES	NNODP		NNODS		NNODT		MSNODP		MSNODS		MSNODT	
	n° pl ⁻¹		n° pl ⁻¹		n° pl ⁻¹		mg pl ⁻¹		mg pl ⁻¹		mg pl ⁻¹	
	I	SI	I	SI	I	SI	I	SI	I	SI	I	SI
1	10,09 aA	8,73 aA	13,88 bA	16,02 bA	23,98 bA	24,75 aA	123,50bA	98,83 aA	58,00 bA	50,67 bA	181,50 aA	149,50 bA
2	7,20 bA	4,47 bA	13,67 bA	10,33 cA	20,87 cA	14,80 cA	54,33 cA	90,00 aA	85,00 aA	26,67 bB	139,33 bA	116,66 cA
3	10,13 aA	3,30 bB	23,47 aA	17,70 bB	33,60 aA	21,00 bB	74,00 cA	106,00aA	85,33 aA	77,00 aA	159,33 bA	183,00 aA
4	4,12 bA	5,57 bA	15,10 bB	22,37 aA	19,22 cB	27,93 aA	86,33 cA	71,66 aA	48,33 bA	33,33 bA	134,66 bA	105,00 cA
5	7,83 bA	6,17 bA	22,07 aA	10,47 cB	29,90 aA	16,63 cB	47,00 cB	96,33 aA	42,33 bA	42,67 bA	89,333 cB	139,00 bA
6	7,03 bA	6,80 bA	21,53 aA	14,17 bB	28,57 aA	20,97 bB	86,66 cA	70,00 aA	111,00 aA	51,33 bB	197,66 aA	121,33 cB
7	7,60 bA	10,80aA	16,73 bA	17,27 bA	24,33 bA	28,07 aA	120,00bA	106,33aA	58,33 bA	36,00 bA	178,33 aA	142,33 bA
8	8,77 bA	9,40 aA	12,07 cA	10,50 cA	20,83 cA	19,90 bA	62,00 cA	63,00 aA	56,33 bA	63,33 aA	118,33 cA	126,33 cA
9	7,20 bA	8,40 aA	13,13 bA	10,50 cA	20,33 cA	18,90 bA	69,33 cA	74,66 aA	63,00 bA	57,00 bA	132,33 bA	131,66 cA
10	7,80 aA	6,30 bA	9,7 0 cA	10,73 cA	17,50 cA	17,03 cA	76,00 cA	60,33 aA	76,66 aA	50,33 bA	152,66 bA	110,66 cA
11	6,53 bA	7,87 aA	7,73 cA	10,07 cA	14,27 dA	17,93 cA	55,66 cA	35,00 aA	40,00 bA	64,33 aA	95,66 cA	99,33 cA
12	8,72 bA	6,80 bA	5,00 cB	10,00 cA	13,72 dA	16,80 cA	159,66aA	65,33 aB	57,33 bA	72,67 aA	217,00 aA	138,00 bB
13	8,03 bA	9,30 aA	9,24 cA	8,60 cA	17,27 cA	17,90 cA	91,66 cA	66,66 aA	88,66 aA	55,00 bB	180,33 aA	121,66 cB
14	8,03 bA	8,40 aA	14,6 bA	12,3 cA	22,63 bA	20,70 bA	110,00bA	81,33 aA	99,66 aA	99,33 aA	209,66 aA	180,66 aA
15	10,13 aA	5,50 bB	13,97 bA	9,67 cA	24,10 bA	15,17 cB	158,00 aA	78,33 aB	71,00 aA	59,67 aA	229,00 aA	138,00 bB
16	6,30 bA	8,40 aA	7,70 cA	11,10 cA	14,00 dA	19,50 bA	96,00 cA	74,66 aA	92,00 aA	62,33 aB	188,00 aA	137,00 bB
17	9,42 bA	8,05 aA	9,45 cA	5,97 cA	18,87 cA	14,02 cA	47,66 cA	71,66 aA	63,33 bA	42,00 bA	111,00 cA	114,16 cA
18	13,30 aA	7,40 aB	21,57 aA	9,60 cB	34,87 aA	17,00 cB	42,00 cA	60,66 aA	68,33 aA	43,00 bA	110,33 cA	103,66 cA
19	9,30 bA	4,67 bB	15,37 bA	7,07 cB	24,67 bA	11,74 cB	50,33 cA	79,66 aA	47,33 bA	45,00 bA	97,67 cA	124,66 cA
20	8,53 bA	5,30 bA	10,30 cA	6,43 cA	18,83 cA	11,73 cB	67,00 cA	103,33aA	29,00 bB	83,67 aA	96,00 cB	187,00 aA
21	8,96 bA	3,33 bB	10,17 cA	9,70 cA	19,13 cA	13,03 cB	95,66 cA	64,33 aA	58,66 bA	44,67 bA	154,33 bA	109,00 cA
22	5,73 bA	5,60 bA	4,97 cB	10,87 cA	10,70 dA	16,47 cA	94,00 cA	93,33 aA	51,33 bB	94,00 aA	145,33 bA	187,33 aA
23	5,73 bA	3,43 bA	7,30 cA	8,00 cA	13,03 dA	11,43 cA	90,66 cA	83,33 aA	48,33 bA	23,67 bA	139,00 bA	107,00 cA
24	9,23 bA	6,90 bA	9,07 cA	9,37 cA	18,30 cA	16,27 cA	79,00 cA	73,00 aA	43,00 bA	46,33 bA	122,00 cA	119,33 cA
25	9,54 bA	6,67 bA	14,30 bA	9,90 cA	23,84 bA	16,57 cB	74,00 cA	49,00 aA	71,00 aA	41,67 bB	145,00 bA	90,67 cB
26	11,12 aA	6,17 bB	13,90 bA	10,12 cA	25,02 bA	16,28 cB	66,16 cA	44,83 aA	86,16 aA	42,00 bB	152,33 bA	86,83 cB
27	8,53 bA	5,23 bA	11,10 cA	7,20 cA	19,63 cB	12,43 cA	57,66 cA	57,00 aA	77,33 aA	30,67 bB	135,00 bA	87,67 cA
28	11,39 aA	4,37 bB	9,60 cA	6,50 cA	20,99 cA	10,87 cB	56,33 cA	66,33 aA	35,66 bB	83,33 aA	92,00 cB	149,66 bA
29	8,20 bA	9,83 aA	10,87 cA	9,77 cA	19,07 cA	19,60 bA	83,66 cA	71,00 aA	73,66 aA	66,67 aA	157,33 bA	137,66 bA
I	8,43 a		12,67 a		21,11 a		81,88 a		65,04 a		146,91 a	
SI	6,67 b		10,77 b		17,43 b		74,34 a		54,79 b		129,13 a	
F(A)	1,78*		8,79**		4,05**		3,54**		3,20**		3,76**	
F(B)	25,53*		26,74*		4,76**		3,45ns		27,30*		12,09ns	
F(C)	2,18**		3,52**		4,58**		2,25**		3,70**		3,44**	
Média Geral	7,55		11,72		19,27		78,11		59,91		138,02	
CV % (A)	32,95		25,76		25,09		31,88		31,70		23,82	
CV% (B)	30,65		20,74		6,27		34,24		21,60		24,40	
CV% (C)	31,10		25,72		19,36		32,88		30,14		20,96	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C)= interação cultivar versus bactérias. 1- BRS 7380 RR; 2- XB 69P16 RR; 3- XB 60D17 RR; 4-M 5947 IPRO; 5- SYN 13561 IPRO; 6-DS 5916 IPRO; 7-5D6215 IPRO; 8- CZ 28B42 IPRO; 9- CZ 36B31 IPRO; 10 -TMG 7063 IPRO; 11- TMG 1264 IPRO; 12 - BMX GARRA IPRO; 13 -BMX ÍCONE IPRO; 14 -NS 6828 IPRO; 15 - BS 2606 IPRO; 16 - TFC 6702 IPRO; 17 - NS 6700 IPRO; 18 - CD 2720 IPRO; 19- CD 2728 IPRO; 20 - AS3680 IPRO; 21 - AS3730 IPRO; 22 - NS7202 IPRO; 23- NS7007 IPRO; 24 -ICS 1835 RR; 25 - ICS 248 RR; 26- LG 60163 IPRO; 27 -5G 7315 IPRO; 28- SYN 1163 RR e 29- SYN 1560 IPRO. I= Co-inoculação e SI=Controle. NNODP= Número de nódulos da raiz principal; NNODS= Número de nódulos da raiz secundária; NNODT= Número de nódulos total; MSNODP= massa seca dos nódulos da raiz principal; MSNODS= massa seca dos nódulos da raiz secundária; MSNODT= massa seca dos nódulos total.

Com a adição de *Azospirillum*, verificou-se uma maior quantidade de nódulos. A produção de reguladores de crescimento vegetal, como auxinas que atuam diretamente na formação de raízes laterais (Taiz e Zeiger, 2013), proporcionam melhorias no sistema radicular, o que conseqüentemente induz a planta a uma maior nodulação.

Para a nodulação total (NNODT), no desdobramento da interação, as cultivares 18, 3, 5 e 6 dentro da co-inoculação apresentaram maiores médias e na testemunha as cultivares 7, 4 e 1. As cultivares 3, 5, 6, 15, 18, 19, 20, 21, 25, 26 e 28 foram incrementadas com a co-inoculação. Já no controle, as cultivares 4 e 27 destacaram-se.

Foram verificadas diferenças expressivas quanto a nodulação, com cultivares apresentando incrementos de até 200% em relação a outras avaliadas. Dentro da co-inoculação, os resultados obtidos para as cultivares 3 e 22, apresentaram variação expressiva, uma vez que a cultivar 3 apresentou 23 nódulos a mais do que a cultivar 22. No controle, a cultivar 7 destacou-se com 17 nódulos a mais do que a cultivar 28.

Foi verificada a presença de nódulos até mesmo no controle, isso se dá em virtude da elevada população microbiana já estabelecida na área experimental, conforme laudo da análise microbiológica. No entanto, vale ressaltar a importância da reinoculação anual com insumos biológicos, por conta da competição com microrganismos menos eficientes e que competem pelo sítio de ação dos nódulos (Carvalho et al., 2005).

Com relação a massa seca dos nódulos da raiz principal (MSNODP), dentro da co-inoculação as cultivares 12 e 15 foram superiores, e no controle não foram identificadas diferenças. As cultivares 12 e 15 foram beneficiadas pela co-inoculação com 159,66 e 158,00 mg planta⁻¹ e no controle, destacou-se apenas a cultivar 5 com 96,33 mg planta⁻¹.

Para a massa seca dos nódulos das raízes secundárias (MSNODS) dentro da co-inoculação as cultivares 6, 14, 16, 13, 26, 3, 2, 27, 10, 29, 25, 15 e 18 apresentaram médias superiores. Já dentro do controle, as cultivares 14, 22, 20, 28, 3, 12, 29, 11, 8, 16 e 15 foram superiores. As cultivares 2, 6, 13, 16, 25, 26 e 27 quando co-inoculadas apresentaram maior massa de nódulos na raiz secundária e no controle as cultivares 20, 22 e 28 (Tabela 3).

Para a massa seca de nódulos total (MSNDOT), dentro da co-inoculação as cultivares 15, 12, 14, 6, 16, 1, 13 e 7 apresentaram médias superiores, já no controle as cultivares 22, 20, 3 e 14. As cultivares 6, 12, 13, 15, 16, 25 e 26 foram incrementadas pela co-inoculação, apresentando 197,66; 217,00; 180,33; 229,00; 188,00; 145,00 e 152,33 mg planta⁻¹ e no controle as cultivares 5, 20 e 28 apresentaram 139,00; 187,00 e 149,66 mg planta⁻¹. Gitti et al. (2014) relatam que a utilização de *Azospirillum brasilense* em soja, possibilitou maior NNODT e MSNODT, o que também foi verificado no presente trabalho para as cultivares 6, 15, 25 e 26 (Tabela 3).

As cultivares 12, 13 e 16 quando submetidas a co-inoculação foram superiores, para MSNODT, no entanto, o NNODT permaneceu abaixo da média geral do experimento com 13,72; 17,17 e 14,00 nódulos planta⁻¹. No controle, a mesma situação foi verificada para as cultivares 5 e 20 com 16,63 e 11,73 nódulos planta⁻¹ (Tabela 3). Essas cultivares, provavelmente, possuem um maior peso específico dos nódulos, o que compensou o fato de encontrarem-se em menor quantidade.

Zenzen et al. (2007) com o propósito de estudarem a nodulação em duas cultivares de soja inoculadas com diferentes estirpes de *Bradyrhizobium* sob alagamento, notaram que a cultivar FT Abyara apresentou maior número e massa seca de nódulos em relação à BR 4. Entretanto, o volume dos nódulos não demonstrou diferenças significativas entre ambas as cultivares.

As médias gerais obtidas para NNODT e MSNODT foram de 19,27 nódulos planta⁻¹ e 138,02 mg planta⁻¹ (Tabela 3). Os valores encontrados estão dentro da faixa recomendada para a eficiência simbiótica no início do florescimento que é de 15 a 30 nódulos por planta com 100 a 200 mg de massa seca nodular (Hungria et al., 2001).

Na Tabela 4, pode-se observar os resultados das análises para caracteres agrônômicos altura de plantas na maturação (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), número de nós por planta (NN), número de ramos por planta (NR), número de vagens (NV) e número de grãos por planta (NG).

Tabela 4. Caracteres agronômicos em soja (APM, AIV, NN, NR, NV e NG), avaliados na maturidade fisiológica em resposta a co-inoculação via sulco de semeadura. Guaira-SP. Ano Agrícola 2016/17.

CULTIVARES	APM		AIV		NN		NR		NV		NG	
	cm										g kg ⁻¹	
	I	SI	-	I	SI	I	SI	I	SI	-	-	
1	81,71 bA	83,88 bA	13,65 b	17,42 aA	19,08 aA	3,59 bA	3,29 aA	93,21 aA	75,29 aB	173,00 a		
2	80,38 bA	71,00 dB	11,33 b	14,75 bA	12,67 cA	1,96 cA	1,92 bA	59,92 bA	36,25 bB	134,17 a		
3	67,08 cA	69,97 dA	10,83 b	15,88 bA	16,09 bA	2,42 cA	1,63 bA	46,59 cA	38,59 bA	128,67 a		
4	70,13 cA	68,25 dA	13,00 b	15,46 bA	14,96 cA	2,54 cA	2,46 bA	56,13 bA	45,75 bA	134,33 a		
5	72,25 bA	71,83 dA	13,13 b	18,17 aA	14,42 cB	2,38 cA	1,88 bA	39,17 cA	34,67 bA	110,83 b		
6	90,80 aA	93,92 aA	12,09 b	15,83 bA	16,84 bA	2,00 cA	1,00 bA	81,67 aA	36,63 bB	118,00 a		
7	87,63 aA	81,50 cA	11,19 b	16,42 bA	14,00 cA	2,63 cA	1,92 bA	48,46 cA	35,57 bA	109,00 b		
8	76,88 bA	77,96 cA	12,56 b	15,38 bA	13,88 cA	4,79 aA	3,92 aA	58,29 bA	39,29 bB	109,00 b		
9	87,29 aA	88,58 bA	13,29 b	19,04 aA	18,05 aA	2,13 cA	1,55 bA	54,88 bA	45,17 bA	104,00 b		
10	86,92 aA	88,37 bA	12,42 b	17,71 aA	16,67 bA	3,29 bA	2,29 bA	40,34 cA	30,92 bA	76,83 b		
11	91,50 aA	93,83 aA	12,17 b	17,96 aA	16,96 bA	2,92 bA	2,25 bA	41,09 cA	42,21 bA	84,50 b		
12	80,09 bB	93,00 aA	13,04 b	14,92 bB	19,92aA	3,21 bA	3,04 aA	46,79 cA	34,08 bA	124,83 a		
13	88,33 aA	88,25 bA	13,79 b	19,67 aA	18,34 aA	3,96 aA	3,21 aA	52,42 cA	36,88 bA	146,17 a		
14	81,33 bA	81,21 cA	13,30 b	16,25 bA	15,42 cA	4,42 aA	4,25 aA	61,00 bA	66,75 aA	144,23 a		
15	75,13 bA	78,38 cA	11,30 b	14,46 bA	14,71 cA	2,88 bB	4,09 aA	55,75 bA	46,84 bA	107,33 b		
16	77,00 bA	73,42 dA	12,23 b	16,50 bA	17,09 bA	3,79 aA	3,92 aA	54,34 bA	53,54 aA	94,67 b		
17	82,30 bA	86,00 bA	13,65 b	15,09 bA	13,00 cA	0,79 cA	1,79 bA	36,71 cA	44,42 bA	100,50 b		
18	75,67 bA	73,92 dA	12,67 b	15,42 bA	15,42 cA	1,79 cA	1,50 bA	38,75 cA	37,71 bA	86,17 b		
19	90,33 aB	103,46aA	20,08 a	15,42 bA	16,67 bA	3,04 bA	2,38 bA	38,42 cA	36,71 bA	105,67 b		
20	82,30 bA	88,67 bA	12,38 b	21,00 aA	13,25 cB	3,25 bA	2,33 bA	61,58 bA	49,80 bA	126,15 a		
21	77, 79 bA	74,67 dA	11,73 b	18,04 aA	15,08 cB	3,83 aA	2,08 bB	66,79 bA	60,33 aA	130,83 a		
22	85,58 aA	79,00 cA	13,75 b	16,88 bA	16,46 bA	2,25 cA	2,25 bA	39,71 cA	45,42 bA	136,67 a		
23	86,00 aA	76,00 cB	11,54 b	19,00 aA	16,55 bA	4,67 aA	3,58 aB	62,79 bA	67,38 aA	130,83 a		
24	92,93 aA	90,33 bA	13,40 b	17,00 bA	14,63 cA	1,96 cA	1,67 bA	49,67 cA	46,00 bA	75,83 b		
25	92, 96 aA	92,71 aA	12,48 b	18,63 aA	16,75 bA	3,25 bA	2,83 aA	57,21 bA	67,75 aA	90,17 b		
26	85,80 aA	82,67 cA	14,48 b	18,30 aA	15,92 cA	1,21 cA	2,13 bA	43,55 cA	42,54 bA	97,17 b		
27	84,79 aA	88,63 bA	14,02 b	18,29 aA	18,00 aA	3,38 bA	2,67 bA	75,67 aA	54,21 aB	99,83 b		
28	97,13 aA	96,67 aA	18,75 a	19,04 aA	15,58 cB	4,04 aA	2,67 bB	55,88 bA	28,42 bB	87,50 b		
29	80,42 bA	87,48 bA	12,12 b	19,04 aA	19,48 aA	3,58 bA	1,42 bB	58,75 bA	38,46 bB	142,17 a		
I	83,57 a		13,5 a		17,14 a		2,96 a		54,33 a		126,04 a	
SI	83,13 a		12,73 a		16,06 b		2,48 b		45,43 b		102,17 a	
F (A)	12,08ns		5,28**		4,59**		6,18**		8,41**		2,03*	
F (B)	0,59ns		2,02ns		31,08*		41,30*		358,35**		5,56ns	
F (C)	1,79*		1,33ns		2,68**		1,68*		1,77*		1,03ns	
Média Geral	83,35		13,11		16,60		2,72		49,88		114,10	
CV % (A)	6,46		16,11		9,86		31,03		19,03		17,51	
CV % (B)	4,47		27,31		7,64		18,27		6,21		27,89	
CV % (C)	5,94		16,87		9,94		25,47		22,29		18,94	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C)= interação cultivar versus bactérias. 1- BRS 7380 RR; 2- XB 69P16 RR; 3- XB 60D17 RR; 4-M 5947 IPRO; 5- SYN 13561 IPRO; 6-DS 5916 IPRO; 7-5D6215 IPRO; 8- CZ 28B42 IPRO; 9- CZ 36B31 IPRO; 10 -TMG 7063 IPRO; 11- TMG 1264 IPRO; 12 - BMX GARRA IPRO; 13 -BMX ÍCONE IPRO; 14 -NS 6828 IPRO; 15 - BS 2606 IPRO; 16 - TFC 6702 IPRO; 17 - NS 6700 IPRO; 18 - CD 2720 IPRO; 19- CD 2728 IPRO; 20 - AS3680 IPRO; 21 - AS3730 IPRO; 22 - NS7202 IPRO; 23- NS7007 IPRO; 24 -ICS 1835 RR; 25 - ICS 248 RR; 26- LG 60163 IPRO; 27 -5G 7315 IPRO; 28- SYN 1163 RR e 29- SYN 1560 IPRO. I= Co-inoculação e SI=Controle. APM=Altura da planta na maturidade; NN = Número de nós; NR= número de ramos; NV= Número de vagens.

Observou-se diferença significativa entre cultivares para os caracteres, AIV, NN, NR, NV e NG e entre bactérias F(B) para NN, NR e NV. A interação F(C) foi significativa para a APM, NN, NR e NV (Tabela 4).

A média geral para a AIV foi de 13,11 cm, valor este indicado para a colheita mecanizada da cultura. Apenas as cultivares 19 e 28 com 20,08 e 18,75 cm, apresentaram valores superiores ao recomendado (Tabela 4). De acordo com Sediayama et al. (1999), para que não haja perda na colheita pela barra de corte, a AIV deve situar-se entre 10 a 15 cm.

Para o NG, apenas as cultivares apresentaram diferença significativa, com médias variando de 118 a 173 grãos/planta (Tabela 4). Os resultados obtidos são semelhantes aos verificados por Bulegon et al. (2016), que em experimento envolvendo a prática da co-inoculação, não verificaram incrementos para o NG entre os tratamentos avaliados.

No desdobramento da interação para a altura da planta na maturidade (APM), dentro da co-inoculação as cultivares 28, 25, 24, 11, 6, 19, 13, 7, 9, 10, 23, 26, 22 e 27 apresentaram médias superiores e no controle as cultivares 19, 28, 6, 11, 12 e 25. As cultivares 2 e 23 obtiveram incrementos próximos a 10 cm a mais com a prática da co-inoculação. As cultivares 12 e 19 no controle, apresentaram incrementos superiores aos obtidos na co-inoculação, com 93,00 e 103,46 cm, o que demonstrou efeito negativo do uso conjunto das bactérias envolvidas na co-inoculação para essas cultivares (Tabela 4).

Os valores de APM obtidos no presente trabalho, encontram-se dentro das recomendações para a cultura da soja. A literatura relata que plantas com APM superior a 100 cm tendem ao acamamento e dificultam a eficiência das máquinas colhedoras, além de favorecerem o acamamento (Carvalho et al., 2010).

Para o NN, dentro da co-inoculação as cultivares 20, 13, 9, 28, 29, 23, 25, 26, 27, 5, 21, 11, 10 e 1 apresentaram diferença e dentro do controle as cultivares 12, 29, 1, 13, 9 e 27. As cultivares 5, 20, 21 e 28 foram favorecidas pela co-inoculação com 18,17; 21,00; 18,04 e 19,04 nós/planta, respectivamente. No controle apenas a cultivar 12 apresentou superioridade com 19,92 nós/planta.

Com relação ao NR, dentro da co-inoculação as cultivares 8, 23, 14, 28, 13, 21 e 16 diferenciaram-se e no controle as cultivares 14, 15, 8, 16, 23, 1, 13, 12 e 25. As

cultivares 21, 23, 28 e 29 apresentaram 3,83; 4,67, 4,04 e 3,58 ramos/planta na co-inoculação e no controle a cultivar 15 apresentou 4,09 ramos/planta (Tabela 4).

De acordo com Peixoto et al. (2010) a planta da soja pode atingir de um até 10 ramos por planta, com o maior deles inserido na parte mais baixa da haste principal. O NR relaciona-se diretamente com a competição que ocorre entre as plantas de soja pelos fatores de crescimento, em especial a luz, que determina o número de ramificações.

Para o NV, dentro da co-inoculação as cultivares 1, 6 e 27 foram superiores e no controle as cultivares 1, 25, 23, 14, 21, 27 e 16 destacaram-se. As cultivares co-inoculadas 1, 2, 6, 8, 27, 28 e 29 apresentaram 93,21; 59, 92; 81,67; 58,29; 75,67; 55,88 e 58,75 vagens/planta (Tabela 4). A co-inoculação proporcionou maior número de vagens, e esse fato pode estar relacionado ao aporte de N fornecido pela simbiose, onde o mesmo é exigido em grandes quantidades para a manutenção e formação das vagens (Ryle et al., 1979).

O número de vagens por planta é determinado pelo balanço entre a produção de flores por planta e a proporção destas que se desenvolvem até o estágio de vagem. Já o número de flores por planta, é determinado pelo número de flores por nó e pelo número de nós por planta (Jiang e Egli, 1993). O caráter NV é considerado importante pois está diretamente relacionado à PG, sendo o principal caráter buscado em programas de melhoramento, visando o desenvolvimento de cultivares com elevados patamares de produtividade (Alcantara Neto et al., 2011).

Na Tabela 5, encontram-se os resultados obtidos para os caracteres: massa de mil grãos (M1000), produtividade de grãos (PG) e teor de nitrogênio total nos grãos (NTG). A interação cultivar versus bactérias F(C) foi significativa para todos os caracteres.

Tabela 5. Caracteres agronômicos de soja (M1000, PG e NTG), avaliados na maturidade fisiológica em resposta a co-inoculação via sulco de semeadura. Guaira-SP. Ano Agrícola 2016/17.

CULTIVARES	M1000		PG		NTG	
	g pl ⁻¹		kg ha ⁻¹		g kg ⁻¹	
	I	SI	I	SI	I	SI
1	130,43 bA	126,67 aA	3236,48 bA	2432,03 cB	51,93 aA	47,20 bA
2	193,33 aA	137,33 aB	3557,31 aA	2993,81 bA	56,71 aA	52,19 aA
3	143,36 bA	173,33 aA	3230,61 bA	2247,94 cB	52,06 aA	50,67 bA
4	162,20 aA	163,33 aA	2311,59 bB	3746,77 aA	43,20 cA	40,41 cA
5	176,50 aA	153,33 aA	3631,52 aA	2861,44 bB	47,09 bA	45,03 cA
6	177,06 aA	116,67 aB	3825,38 aA	3362,27 aA	57,52 aA	53,77 aA
7	173,33 aA	133,33 aA	3443,44 aA	2628,31 cB	46,50 bA	32,23 eB
8	140,90 bA	128,33 aA	3450,59 aA	2724,85 bB	55,09 aA	48,95 bB
9	122,13 bA	130,00 aA	3973,09 aA	2472,6 cB	48,25 bA	47,62 bA
10	172,80 aA	124,07 aA	3194,9 bA	3211,22 aA	57,03 aA	57,57 aA
11	130,86 bA	160,37 aA	3217,47 bA	2797,52 bA	48,58 bA	42,32 cB
12	132,90 bA	152,17 aA	2985,64 bA	2813,58 bA	48,11 bA	41,33 cB
13	148,23 bA	135,67 aA	2737,81 bA	2730,27 bA	51,70 aA	52,83 aA
14	137,43 bA	155,10 aA	3476,77 aA	2581,38 cB	47,69 bB	54,33 aA
15	117,10 bA	121,77 aA	2720,47 bA	3312,31 aA	54,31 aA	47,52 bB
16	177,20 aA	175,60 aA	3985,85 aA	2220,81 cB	44,87 cA	41,57 cA
17	121,63 bA	142,47 aA	3223,34 bA	2765,53 bA	47,14 bA	36,99 dB
18	129,43 bA	129,93 aA	3309,84 bA	2396,62 cB	44,77 cA	32,71 eB
19	182,76 aA	120,00 aB	3075,98 bA	2706,16 bB	45,16 cB	52,73 aA
20	201,00 aA	142,10 aB	3826,97 aA	3066,83 bB	54,18 aA	53,95 aA
21	130,86 bB	190,03 aA	3743,32 aA	2961,59 bB	57,27 aA	44,44 cB
22	111,56 bA	159,93 aA	3695,80 aA	1418,73 dB	54,33 aA	52,13 aA
23	187,56 aA	142,00 aA	3062,63 bA	2207,06 cB	44,30 cA	40,81 cA
24	128,26 bA	103,57 aA	3547,04 aA	2206,86 cB	49,74 bA	53,81 aA
25	156,53 aA	141,00 aA	2878,39 bA	2221,33 cA	53,74 aA	37,45 dB
26	139,23 bA	111,33 aA	3237,54 bA	2955,19 bA	46,86 bB	41,33 cA
27	174,66 aA	133,33 aA	3676,53 aA	2956,64 bB	41,68 cB	47,27 bA
28	178,90 aA	120,00 aB	2683,07 bB	3527,39 aA	51,00 aA	43,12 cB
29	206,63 aA	117,73 aB	3252,04 bA	3114,05 bA	40,73 cA	42,73 cA
I	154,65 a		3316,94 a		49,71 a	
SI	139,33 a		2746,24 b		46,03 b	
F (A)	1,84*		2,83**		14,87**	
F (B)	17,79ns		26,56*		522,43**	
F (C)	1,85*		4,80**		5,54**	
Média Geral	146,98		3031,59		47,87	
CV % (A)	19,68		12,21		6,73	
CV % (B)	16,30		24,09		2,21	
CV % (C)	22,50		13,55		6,52	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C)= interação cultivar versus bactérias. 1- BRS 7380 RR; 2- XB 69P16 RR; 3- XB 60D17 RR; 4- M 5947 IPRO; 5- SYN 13561 IPRO; 6- DS 5916 IPRO; 7- 5D6215 IPRO; 8- CZ 28B42 IPRO; 9- CZ 36B31 IPRO; 10- TMG 7063 IPRO; 11- TMG 1264 IPRO; 12 - BMX GARRA IPRO; 13 -BMX ÍCONE IPRO; 14 -NS 6828 IPRO; 15 - BS 2606 IPRO; 16 - TFC 6702 IPRO; 17 - NS 6700 IPRO; 18 - CD 2720 IPRO; 19- CD 2728 IPRO; 20 - AS3680 IPRO; 21 - AS3730 IPRO; 22 - NS7202 IPRO; 23- NS7007 IPRO; 24 -ICS 1835 RR; 25 - ICS 248 RR; 26- LG 60163 IPRO; 27 -5G 7315 IPRO; 28- SYN 1163 RR e 29- SYN 1560 IPRO. I= Co-inoculação e SI=Controle. M1000= Massa de mil grãos; PG produtividade de grãos e NTG= teor de N total nos grãos.

No desdobramento da interação, para a M1000 dentro da co-inoculação as cultivares 29, 20, 2, 23, 19, 28, 16, 6, 5, 27, 7, 10, 4 e 25 foram superiores. Foram verificados acréscimos para as cultivares 2, 6, 19, 20, 28 e 29 quando co-inoculadas, apresentando 193,33, 177,06, 182,77, 201,00, 178,90 e 206,63 mg planta⁻¹ e no controle, a cultivar 21 com 190,03 g planta⁻¹ (Tabela 5).

Pardinho e Primieri (2015) verificaram ganhos significativos em M1000 e PG ao avaliar o efeito da co-inoculação. No entanto, Scheneider et al. (2017), testando a co-inoculação em diferentes dosagens não constataram diferença significativa para a M1000. Florencio (2017) cita a massa de mil grãos como um dos quatro componentes de rendimento responsáveis pela produtividade na cultura da soja.

A média geral para a produtividade de grãos (PG) foi de 3.031,59 kg ha⁻¹, valor esse inferior à média nacional obtida no ano agrícola 2017/18 que foi de 3.394 kg ha⁻¹ e abaixo também da média do estado de SP que registrou 3.546 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019). No entanto, a co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos com média de 3.316,94 kg ha⁻¹, o que correspondeu a um acréscimo de 20,78% ou 9,51 sacas ha⁻¹. Já o controle apresentou 2.746,24 kg ha⁻¹ (Tabela 5).

No desdobramento da interação, dentro da co-inoculação, as cultivares 16, 9, 20, 6, 21, 22, 27, 5, 2, 24, 14, 8 e 7 foram superiores, e no controle as cultivares 4, 28, 6, 15 e 10. A utilização conjunta das bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, proporcionou incrementos em PG para as cultivares 1, 3, 5, 7, 8, 9, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 e 27 com produtividades variando de 3.973,09 (cultivar 16) a 3.062,63 kg ha⁻¹ (cultivar 23). No controle, as cultivares 4 e 28 obtiveram 3.746,77 e 3.527,39 kg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 5). Bárbaro et al. (2009), relatam que as bactérias chamadas BPCP (bactérias promotoras de crescimento de plantas) como *A. brasilense*, na relação de simbiose com os rizóbios e leguminosas, proporcionam incrementos significativos no que tange o desenvolvimento e produtividade de grãos, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Com relação ao NTG dentro da co-inoculação, as cultivares 6, 21, 10, 2, 8, 22, 15, 20, 25, 3, 1, 13 e 28 foram melhores, já no controle as cultivares 10, 14, 20, 24, 6, 13, 19, 2 e 22. As cultivares 7, 8, 11, 12, 15, 17, 18, 21, 25 e 28 apresentaram acréscimos na co-inoculação com variação de 44,77 a 57,27 g kg⁻¹. Os incrementos no controle foram observados para as cultivares 14, 19, 26 e 27 com 54,33; 52,73; 41,33 e 47,27 g kg⁻¹ (Tabela 5). Verificou-se influência positiva da co-inoculação, uma vez que a citocinina é um fitohormônio produzido por *A. brasilense*, e exerce influência positiva sobre o teor de N dos grãos (Taiz e Zeiger, 2002).

De acordo com Dourado et al. (2018) o aumento de NTG, não está associado apenas a fatores ambientais e características genéticas inerentes de cada cultivar, mas também a aspectos nutricionais que são metabolizados pela planta e assimilados, como reserva no grão.

Após esta etapa, foram realizadas as análises multivariadas. Nestas análises, as variáveis sugeridas para descarte, em ordem de maior para menor importância, foram: altura de inserção da primeira vagem (AIV), número de grãos por planta (NG), massa de mil grãos (M1000), teor de nitrogênio total nos grãos (NTG), massa seca de nódulos da raiz principal (MSNODP), massa seca de nódulos das raízes secundárias (MSNODS), número de nódulos total (NNODT), nitrogênio total na parte aérea (NPA), número de nódulos da raiz primária (NNODP), número de nódulos das raízes secundárias (NNODS), comprimento da raiz (CR), altura da planta na maturidade (APM), número de nós (NN), número de ramos (NR) e índice de conteúdo de clorofila (ICC).

O objetivo principal desta análise reside na possibilidade do descarte de caracteres que pouco contribuem para a discriminação das cultivares (Pereira et al., 2010). Tal fato, aliado à possibilidade de identificar genótipos com melhor capacidade simbiótica e de forma mais precoce, otimiza as etapas envolvidas nos programas de melhoramento genético de soja.

Das 21 variáveis analisadas, apenas seis não foram indicadas para descarte, e portanto, utilizadas nas análises de componentes principais e de agrupamento, sendo elas: altura da planta no florescimento (APF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca dos nódulos total (MSNODT), número de vagens (NV) e produtividade de grãos (PG) (Tabela 6).

Tabela 6. Autovalores que retiveram a maior quantidade de informação relevante e variáveis sugeridas para descarte.

	Autovalor	Destaque	Recomendação
1	5,2944	MSNODT	
2	4,5062	MSPA	
3	3,3030	PG	
4	1,2032	NV	
5	0,9724	APF	
6	0,8267	MSR	
7	0,6939	AIV	Descarte
8	0,6699	NG	Descarte
9	0,5737	M1000	Descarte
10	0,5108	NTG	Descarte
11	0,4541	MSNODP	Descarte
12	0,3972	MSNODS	Descarte
13	0,3454	NNODT	Descarte
14	0,3028	NPA	Descarte
15	0,2682	NNODP	Descarte
16	0,2189	NNODS	Descarte
17	0,1807	CR	Descarte
18	0,1506	APM	Descarte
19	0,1177	NN	Descarte
20	0,0102	NR	Descarte
21	0,0000	ICC	Descarte

MSNODT= massa seca de nódulos total, MSPA= massa seca da parte aérea, PG= produtividade de grãos, NV=número de vagens, APF= altura da planta no florescimento, MSR= massa seca da raiz, AIV= altura de inserção da primeira vagem, NG= número de grãos, M1000= massa de mil grãos, NTG= nitrogênio total nos grãos, MSNODP= massa seca de nódulos da raiz primária, MSNODS= massa seca de nódulos da raiz secundária, NNODT= número de nódulos total, NPA= nitrogênio total na parte aérea, NNODP= número de nódulos da raiz primária, NNODS= número de nódulos da raiz secundária, CR= comprimento da raiz, APM= altura de planta na maturidade, NN= número de nós, NR= número de ramos e ICC= índice de conteúdo de clorofila.

Em estudo envolvendo a divergência genética entre acessos de capim-elefante, Daher et al. (1997) utilizaram a técnica de componentes principais e observaram que, de um total de 22 variáveis analisadas em três anos, apenas oito (36,40%) foram selecionadas como as mais importantes para determinação da divergência genética.

As variáveis consideradas importantes foram aquelas que apresentaram valores de correlações acima de 0,7, independentemente do sinal (Hair et al., 2014). Segundo Hair et al. (2005) as correlações de sinais iguais significam que as variáveis são relacionadas positivamente, e as com sinais opostos, relacionadas negativamente.

Na análise de componentes principais, três autovalores foram superiores a um (1,0), explicando 73,51% da variância contida nas seis variáveis originais. Foram considerados apenas os autovetores acima de um para a explicação da variabilidade e dispersão das amostras, pois estes geram componentes com quantidades relevantes de informação das variáveis originais (Dallastra et al., 2014).

O autovalor para o primeiro componente principal (CP1), foi de 1,97 o que corresponde a 32,78% da variância total. As principais variáveis que explicaram essa

retenção da variância em CP1 foram: APF, MSPA e MSR. O autovalor para o segundo componente principal (CP2), foi de 1,39 o que reteve 23,17% da variância total, explicada principalmente pelas características MSNODT e NV. O terceiro componente principal (CP3) reteve 17,55% da variância, explicado apenas pela PG (Tabela 7).

Tabela 7. Coeficientes de correlação entre as seis variáveis e os três componentes principais (CP) que retiveram a maior quantidade de informação relevante.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
APF	0,8562	0,2364	-0,0895
MSPA	0,7568	-0,2845	0,1772
MSR	0,7055	-0,0264	-0,5605
MSNODT	-0,1915	-0,7079	-0,3844
NV	-0,0398	-0,7782	-0,0855
PG	0,3536	-0,3821	0,7378
Variância explicada (%)	32,78	23,17	17,55
Variância acumulada (%)	32,78	55,95	73,50
Autovalor	1,97	1,39	1,05

APF= altura da planta no florescimento; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz; MSNODT= massa seca de nódulos total; NV= número de vagens e PG= produtividade de grãos.

O plano bidimensional formado pelos componentes CP1 (32,78%) e CP2 (23,17%) reteve 55,95% da variância original (Figura 1). A partir do gráfico biplot, verifica-se que para o CP1, as cultivares 8SI, 8I, 6SI, 6I e 19I foram discriminadas pelos maiores valores dos caracteres APF, MSPA e MSR, sendo essas, as características que refletem o maior crescimento das plantas. Observa-se que as cultivares 8 e 6 apresentaram-se como cultivares com maior crescimento vegetativo, independentemente do uso da prática da co-inoculação ou não. Já a cultivar 19, foi superior para esses atributos quando co-inoculada, o que indica ser uma cultivar mais responsiva à prática da co-inoculação do que os genótipos 6 e 8 para esses parâmetros.

Para o CP2, as variáveis representativas foram MSNODT e NV, sendo as cultivares 14I, 11I e 15I melhor discriminadas para essas variáveis (Tabela 7). Isso indica que a co-inoculação nessas cultivares é essencial para a obtenção de maior MSNODT e NV, uma vez que, para esse componente, todos os tratamentos superiores foram co-inoculados, diferentemente ao observado para o CP1 (Figura 1).

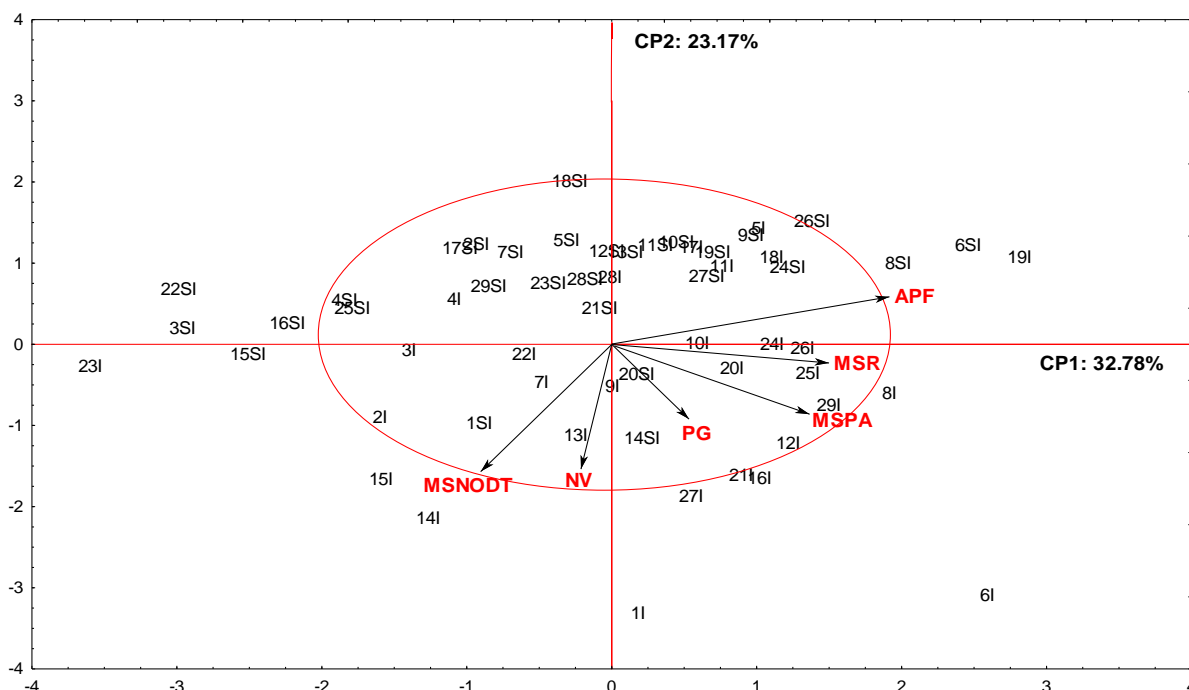


Figura 1. Biplot com a dispersão das 29 cultivares de soja em função dos componentes principais CP1 x CP2, com projeção dos vetores das variáveis analisadas: APF= altura da planta no florescimento; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz; MSNODT = massa seca de nódulos total; NV = número de vagens e PG= produtividade de grãos. I = Co-inoculação e SI = Controle.

Alguns autores relatam que a MSNODT e não o NNODT é o indicador mais adequado para avaliar o estabelecimento de uma simbiose eficaz (Bohrer e Hungria, 1998; Campos et al., 2001). O caráter NV é considerado importante, uma vez que, está diretamente relacionado à produção de grãos, e este é o principal caráter buscado em programas de melhoramento, visando elevados patamares de produtividade (Alcantara Neto et al., 2011).

O melhor desempenho das cultivares submetidas a co-inoculação, quanto as características de crescimento e nodulação pode ser atribuído ao uso de bactérias *Azospirillum*, que possui como principais características a capacidade de fixação biológica de nitrogênio, o aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas e a produção de fitohormônios como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno (Cassán et al., 2008; Huergo et al., 2008).

Os resultados obtidos explicitam que embora a base genética da soja seja estreita, o conhecimento da diversidade genética existente é de grande importância, por serem imprescindíveis fontes de variabilidade genética.

Estima-se que, de toda a população microbiana do solo, apenas 10% dos microrganismos se encontram no estágio ativo (Hungria et al., 2007). Além disso, a quantidade e o número de nódulos por sistema radicular variam conforme o genótipo e o ambiente (Hungria et al., 2013).

O plano bidimensional formado pelos componentes CP1 (32,78%) e CP3 (17,55%) reteve 50,33% da variância remanescente (Figura 2). Observa-se que o atributo relevante para o CP3 foi a PG, sendo as cultivares 20I e 24I superiores em relação às demais para esse atributo. Pode-se analisar que, quanto maior a distância entre o genótipo e o centro do sistema de coordenadas, maior é a especificidade em relação a um caráter podendo ser favorável ou desfavorável (Silva, 2015).

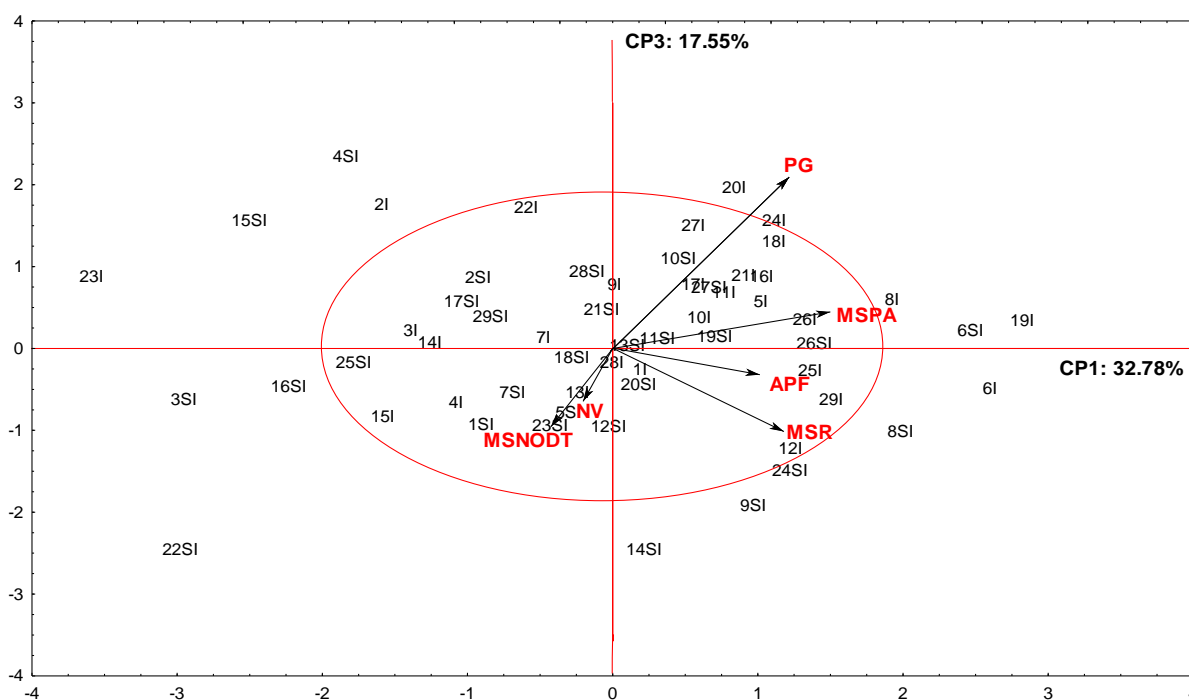


Figura 2. Biplot com a dispersão das 29 cultivares de soja em função dos componentes principais CP1 x CP3, com projeção dos vetores das variáveis analisadas: APF= altura da planta no florescimento; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz; MSNODT = massa seca de nódulos total; NV = número de vagens e PG= produtividade de grãos. I = Co-inoculação e SI = Controle.

A PG foi superior com a prática da co-inoculação, o que evidencia mais uma vez, a importância dessa prática para o aumento da produtividade na cultura da soja (Figura 2). As demais cultivares localizadas no interior da elipse, não apresentaram respostas diferenciadas quanto a inserção ou não das bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*.

Os resultados obtidos permitem reiterar os verificados por Galindo et. al (2018), avaliando as cultivares BMX Potência e BRS Valiosa, verificaram que a co-inoculação eleva a produtividade de grãos, além de ser economicamente viável. Verificaram também diferenças entre as cultivares, com destaque para a BMX Potência.

A seguir, serão apresentadas as análises de agrupamento pelos métodos de Ward e k-médias. A análise de agrupamento pelo método Ward possibilita a geração do dendrograma e a caracterização da similaridade e divergência existente entre os grupos selecionados de cultivares. Já a análise de agrupamento pelo método k-médias permite identificar e caracterizar os diferentes grupos de cultivares com base nas características que melhor os discriminaram.

Na Figura 3, é apresentado o dendrograma gerado pelo método de Ward da análise de agrupamento. De modo geral, verifica-se a formação de quatro grupos. Para estabelecer um ponto de corte no dendrograma e definir o número de grupos, foi utilizado o procedimento de Mojena (1977) baseado no tamanho relativo dos níveis de fusões (distâncias) no dendrograma.

Nos três primeiros grupos, verificou-se a combinação de cultivares submetidas a co-inoculação (I) e controle (SI) situadas em um mesmo grupo. O primeiro grupo foi composto pelas cultivares co-inoculadas 2I, 4I, 13I, 14I, 15I e 23I e no controle 1SI, 3SI, 4SI, 15SI, 16SI, 22SI, 23SI e 25SI. O segundo grupo foi formado por 3I, 5I, 7I, 9I e 22I co-inoculadas e 5SI, 7SI, 8SI, 9SI, 12SI, 14SI, 20SI, 24SI, 28SI e 29SI no controle (Figura 3).

No terceiro grupo estiveram presentes as cultivares 10I, 11I, 17I, 18I, 19I, 24I, 26I e 28I co-inoculadas e 2SI, 6SI, 10SI, 11SI, 13SI, 17SI, 18SI, 19SI, 21SI, 26SI e 27SI no controle. Já o quarto grupo, foi constituído apenas por cultivares co-inoculadas, sendo elas: 27I, 21I, 20I, 16I, 12I, 29I, 25I, 8I, 6I e 1I (Figura 3).

Diante dos grupos formados, constatou-se a divergência genética entre as cultivares baseada nas características estudadas. As cultivares inseridas em um mesmo subgrupo independente da co-inoculação ou não, apresentaram grande

semelhança, enquanto que as cultivares de subgrupos diferentes, são consideradas divergentes.

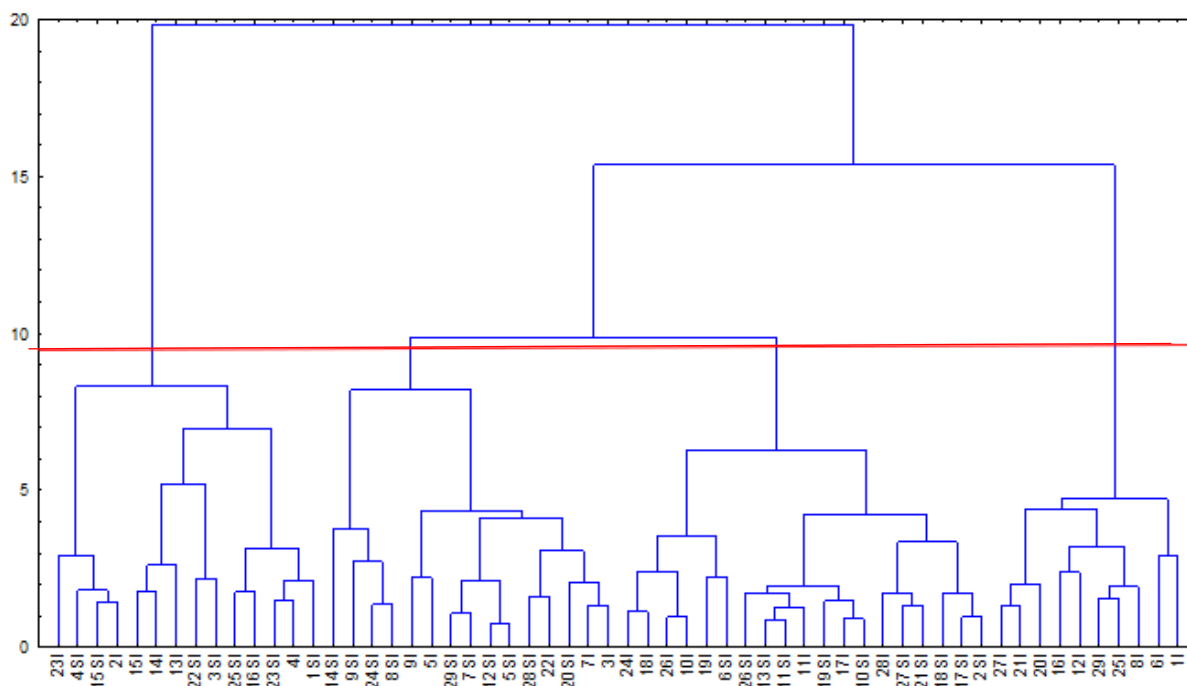


Figura 3. Dendrograma da análise de agrupamento hierárquico utilizando a distância Euclidiana e a ligação entre os grupos pelo método de Ward, para as variáveis: APF= altura da planta no florescimento; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz; MSNODT = massa seca de nódulos total; NV = número de vagens e PG= produtividade de grãos. I = Co-inoculação e SI = Controle.

De acordo com Cruz e Regazzi (2004), o estabelecimento de grupos contendo genótipos com homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos, é o ponto de partida para uma avaliação mais minuciosa dos mesmos, a fim de realizar seu aproveitamento nos programas de melhoramento genético.

Na Figura 4, é apresentado o gráfico da análise de agrupamento gerado pelo método de k-médias com 29 genótipos de soja para seis caracteres, distribuídos em quatro grupos (*clusters*).

O grupo 1, foi composto pelas cultivares 1SI, 4I, 5SI, 7SI, 9SI, 12SI, 16SI, 17SI, 18SI, 21SI, 22SI, 23SI, 25SI e 28I e é caracterizado apenas pela variável NV (Figura 4). O grupo 2, destacou-se para as variáveis MSNODT e PG e foi composto por 2I, 2SI, 3I, 3SI, 4SI, 7I, 9I, 14I, 15I, 15SI, 22I, 23I, 28SI e 29SI (Figura 4).

No grupo 3 ficaram as cultivares 5I, 6SI, 8I, 8SI, 10I, 10SI, 11I, 11SI, 13SI, 17I, 18I, 19I, 19SI, 20I, 24I, 24SI, 25I, 26I, 26SI e 27SI. Esse grupo, apresentou um bom crescimento vegetativo e produtividade de grãos acima da média, sendo caracterizado pelas variáveis APF, MSPA, MSR e PG. Houve a predominância de cultivares co-inoculadas (I) (Figura 4).

O grupo 4 apresentou valores acima da média para todas as variáveis analisadas (APF, MSPA, MSR, MSNODT, NV e PG) e foi composto por 1I, 6I, 12I, 13I, 14SI, 16I, 20SI, 21I, 27I e 29I. Esse grupo reuniu um menor número de cultivares, no entanto, destacou-se por apresentar valores superiores à média para todas as características analisadas. Foi composto em sua maioria, por cultivares submetidas a co-inoculação (80%), o que revela a efetividade da prática na melhoria dos parâmetros de FBN e incrementos em produtividade de grãos.

A inoculação favorece a maior ocorrência de nódulos, aumentando a eficiência da fixação de N na fase inicial do crescimento das plantas, fase crítica para o bom estabelecimento das culturas. Estas observações reforçam a recomendação da prática da inoculação a cada cultivo de soja no Brasil (Mercante et al., 2011), e mais recentemente a co-inoculação.

Os incrementos verificados nos parâmetros de FBN e produtividade da cultura, podem ser explicados pelo fato das bactérias fornecidas via inoculantes, encontrarem-se mais ativas fisiologicamente do que as já estabelecidos no solo, o que proporciona uma nodulação antecipada e abundante. Assim, a planta encontra-se suprida com o N necessário para o seu desenvolvimento, além da presença dos fitohormônios de crescimento vegetal, sintetizados pelas bactérias do gênero *Azospirillum*.

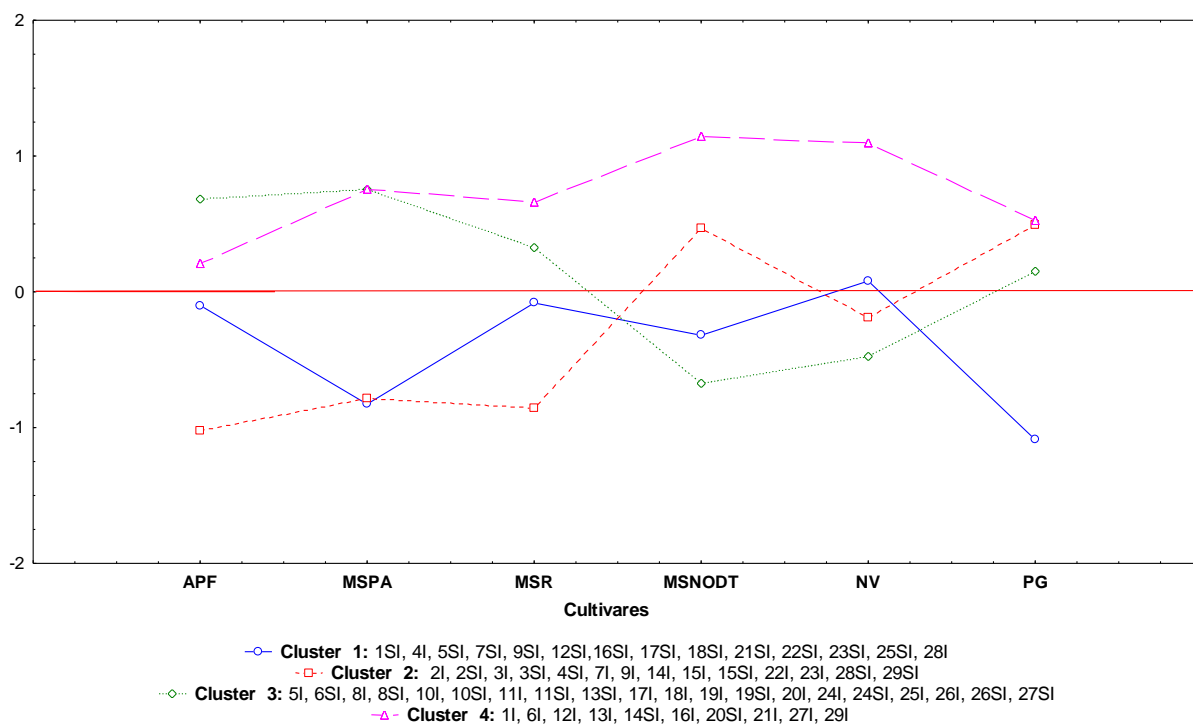


Figura 4. Perfil da distribuição dos centróides dos grupos na análise de agrupamento pelo método não-hierárquico de k- médias formados a partir das variáveis: APF= altura da planta no florescimento; MSPA= massa seca da parte aérea; MSR= massa seca da raiz; MSNODT = massa seca de nódulos total; NV = número de vagens e PG= produtividade de grãos. I = Co-inoculação e SI = Controle.

Os resultados obtidos para co-inoculação em sulco de semeadura foram satisfatórios, pois promoveram incrementos em nodulação e produtividade na maioria das cultivares avaliadas. A aplicação do inoculante no sulco de semeadura demonstrou-se como uma alternativa viável para a inoculação da soja, quando as sementes forem tratadas com fungicidas/ inseticidas (Zilli et al., 2010).

Os resultados obtidos nas análises de agrupamento pelos métodos de Ward e de k-médias, apresentaram algumas diferenças ao agrupar as cultivares. Isso ocorre, pois embora sigam o mesmo princípio, tratam-se de métodos diferentes.

Dallastra et al. (2014), com a finalidade de selecionar progênies de soja com características superiores, portadoras ou não do gene RR, nas análises de agrupamento pelos métodos de k-médias e Ward, obteve concordância parcial entre os dois métodos. Já nos resultados obtidos por Costa (2008), avaliando o estudo qualitativo e quantitativo da resistência de genótipos de soja à ferrugem asiática, foram obtidos resultados concordantes entre os dois métodos de agrupamento.

A eficiência e conformidade das análises multivariadas têm sido evidenciada por alguns autores na seleção de genótipos superiores de soja através da utilização das técnicas de componentes principais e análises de agrupamentos (Vianna et al., 2013; Dallastra et al., 2014; Silva, 2015; Leite et al., 2016). Ainda assim, até o momento estudos que abordem os parâmetros de FBN e componentes de produtividade por meio de análises multivariadas, são escassos ou inexistentes.

O objetivo prioritário dos programas de melhoramento da soja, seja do setor público ou privado, é a obtenção de genótipos com elevada produtividade de grãos (Wysmierski, 2010). A maior parte dos genótipos, deriva de apenas 60 ancestrais comuns, sendo os principais, os genótipos CNS, S-100, Nanking e Tokyo que contribuem com 55,26% da base genética de um conjunto de 444 cultivares brasileiras (Wysmierski, 2010). Apesar disso, os resultados obtidos no presente trabalho, demonstram a existência de variabilidade genética a ser explorada, principalmente no que diz respeito aos parâmetros de FBN que não constam nas avaliações realizadas pelos programas de melhoramento genético de soja no Brasil.

4. Conclusões

A co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 20,78% ou 9,51 sacas ha⁻¹. A cultivar 16- TFC 6702 IPRO quando co-inoculada foi a mais produtiva com 3.985,85 kg ha⁻¹.

As variáveis APF, MSPA, MSR, MSNODT, NV e PG foram as mais apropriadas para selecionar cultivares de soja com base em parâmetros de FBN e componentes de produtividade.

As cultivares 1-BRS 7380 RR, 6- DS 5916 IPRO, 9- CZ 36B31 IPRO, 12- BMX GARRA IPRO, 13- BMX ÍCONE IPRO, 16- TFC 6702 IPRO, 18- CD 2720 IPRO, 20- AS3680 IPRO, 21- AS3730 IPRO, 27- 5G 7315 IPRO e 29- SYN 1560 IPRO apresentaram melhor relação simbiótica, demonstrando sinergismo entre cultivar e bactéria.

Os resultados obtidos enfatizam a existência de variabilidade genética a ser explorada pelos programas de melhoramento de soja, por meio de estudos envolvendo a avaliação dos parâmetros de FBN, bem como a sua relação com os componentes de produtividade de grãos.

5. Referências bibliográficas

Alcantara Neto F, Gravina GA, Monteiro MMS, Morais FB; Petten FA, Albuquerque J AA (2011) Análise de trilha do rendimento de grãos de soja na microrregião do Alto Médio Gurguéia. **Comunicata Scientiae** 2:107-112.

Arunachalam V (1981) Genetic distance in plant breeding. **Indian Journal Genetics & Plant Breeding** 41:226-236.

Bárbaro IM, Machado PC, Bárbaro Junior LS, Ticelli M, Miguel FB., Silva, JD (2009, January). Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e co-inoculação. In **Colloquium Agrariae** 5: 1-7.

Bárbaro IM, Bárbaro Junior LS, Ticelli, M., Machado, P., & Miguel, F. (2011). Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Apta Regional-Pesquisa e Tecnologia, Colina-SP** 8:1-6.

Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.

Bataglia OC, Teixeira JPF, Furlani PR, Furlani AMC, Gallo JR (1978) **Métodos de análise química de plantas**. IAC -Instituto Agrônomo de Campinas.

Beale EML, Kendall MG, Mann DW (1967) The discarding of variables in multivariate analysis. **Biometrika** 54:357-366.

Benin G, da Silva GO, Pagliosa ES, Lemes C, Signorini A, Beche E, Capelin MA (2010) Capacidade de combinação em genótipos de trigo estimada por meio de análise multivariada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 44:145-1151.

Benitez LC, da Silva Rodrigues IC, Arge LWP, Ribeiro MV, Braga EJB (2011) Análise multivariada da divergência genética de genótipos de arroz sob estresse salino durante a fase vegetativa. **Revista Ciência Agrônoma** 42: 409-416.

Bertini CHCM et al. (2010) Análise multivariada e índice de seleção na identificação de genótipos superiores de feijão-caupi. **Acta Scientiarum Agronomy** 32: 4.

Bohrer TRJ, Hungria M (1998) Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33: 937-952.

Bulegon LG, Rampim L, Klein J, Kestring D, Guimarães VF, Battistus AG, Inagaki AM (2016) Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, 34:169-176.

Campos BC, Hungria M, Tedesco V. (2001) Eficiência da fixação biológica de N₂ por estirpes de *Bradyrhizobium* na soja em plantio direto. **Revista brasileira de ciência do solo** 25:583-591.

Carvalho FG, Selbach PA, Bizarro MJ (2005) Eficiência e competitividade de variantes espontâneos isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp recomendadas para a cultura da soja (*Glycine max*) **Revista brasileira de ciência do solo**, 29: 883-891.

Carvalho ER, Rezende PD, Ogoshi FGA, Botrel EP, Alcantara HD, Santos JP (2010) Desempenho de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em cultivo de verão no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia** 34:892-899, 2010.

Cassán F et al. (2008) **Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal.** In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.61-86.

CIAGRO - CENTRO INTEGRADO DE INFORMAÇÕES AGROMETEOROLÓGICAS. Balanço hídrico semanal de Guaíra-SP, no período de 01/11/2017 a 01/03/2018. São Paulo, 2018. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/>>

Compagnon AM, da Silva RP, Cassia MT, Graat D, Voltarelli MA (2012) Comparação entre métodos de perdas na colheita mecanizada de soja. **Scientia Agropecuária**, 3:215-223.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento Agrícola – (2019) **Quarto levantamento de grãos. Safra 2018/19.** Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10/01/2019.

COSTA MM (2008) **Herança quali-quantitativa e marcadores moleculares para seleção assistida de genótipos de soja resistentes à ferrugem asiática.** 77 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP Campus Jaboticabal.

Chibeba AM, Guimarães MF, Brito OR, Nogueira MA, Araujo RS, Hungria M (2015) Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences** 6: 1641.

Cruz CD, Regazzi AJ, Carneiro, PCS (2004) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético** 3 ed Viçosa: UFV 1:480 p.

Cruz, C. D. (2013). Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(3), 271-276.

Daher RF, Moraes CF et al. (1997) Seleção de caracteres morfológicos discriminantes em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia** 26:247-254.

Dallastra A, Unêda-Trevisoli SH, Ferraudo AS, Di Mauro AO (2014) Multivariate approach in the selection of superior soybean progeny which carry the RR gene. **Revista Ciência Agrônômica** 45:588-597.

Day PR (1965) Particle fractionation and particle size analysis. In: BLACK, C. A.; EVANS, D. D.; ENSMINGER, L. E.; WHITE, J. L.; CLARK, F. E. (Ed.). *Methods of soils analysis*. **American Society of Agronomy** 1:545-567.

De Alcântara Neto F, De Amaral Gravina G, De Sousa Monteiro MM, de Moraes FB, Petter FA, De Albuquerque JAA (2011) Análise de trilha do rendimento de grãos de soja na microrregião do Alto Médio Gurguéia. **Comunicata Scientiae** 2:107-112.

De Souza RA, Hungria M, Franchini, JC, Maciel, CD, Campo, RJ, e Zaia DAM (2008) Conjunto mínimo de parâmetros para avaliação da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 43, n. 1, p. 83-91, 2008.

Döbereiner J, Baldani VL, Reis VM (1995) Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In *Azospirillum VI and related microorganisms* Springer p. 3-14

Dourado DP, Peluzio JM, Reina E, Albernás KK, De Lázari TM, Muraishi CT (2018) Protein content in *Glycine max* grains influenced by the mixed inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. **Journal of bioenergy and food science** 5: 32-43.

Fehr WR e Caviness JA. Stages of soybean development. Ames: Iowa State University, 1977. 11p. (Special Report, 80).

Ferraudo AS (2014) **Técnicas de Análise Multivariada – uma introdução**. Treinamento. Jaboticabal, SP.76p.

Florencio VHR (2017) **Caracterização de variedades cultivadas de soja de diferentes grupos de maturação em função dos atributos morfológicos, fenológicos e a produtividade**. 69 f.- Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Galindo FS, Teixeira Filho M, Buzetti S, Ludkiewicz, MG, Rosa PA, Tritapepe CA (2018) Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 22: 51-56.

Gitti DDC (2014) **Inoculação e Co-inoculação na Cultura da Soja**. Tecnologia & Produção Soja, 2015.

Hair Junior, Joseph F, et al. (2005) **Análise multivariada de dados**. Trad. Adonai Schlup Sant'Anna e Anselmo Chaves Neto.

Hair JF, Black WC, Babin BJ, Anderson RE, Tatham RL (2009) **Análise multivariada de dados**. Bookman editora.

Hair JF, Hult TM, Ringle CM, Sarstedt MA (2014). Primer on Partial Least Squares Structural Equation Modeling (PLS-SEM). Los Angeles: SAGE.

Huergo LF, Monteiro RA et al. (2008) Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. Cassán FD, García salomone. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. **Asociación Argentina de Microbiología**, p.17-35.

Hungria M, Bohrer TRJ. (2000) Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils** 31:45-52.

Hungria M, Campo RJ, Mendes IDC (2001) **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Embrapa Soja; Brasília, DF: Embrapa Cerrados.

Hungria M, Campo RJ, Mendes IC (2007) **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, 80p (Embrapa Soja Documentos, 283).

Hungria M, Mendes LC, Mercante FM (2013) **Tecnologia de fixação biológica do nitrogênio com o feijoeiro: viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas**. Embrapa Soja.

Hungria M, Mendes IC et al. (2014) Effects of the glyphosate-resistance gene and herbicides on soybean: Field trials monitoring biological nitrogen fixation and yield. **Field Crops Research** 158: 43-54.

Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS (2015) Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences** 6: 811.

Jiang H, Egli DB. (1993) Shade induced changes in flower and pod number and flower and fruit abscission in soybean. **Agronomy Journal** 85: 221-225.

Jolliffe IT (1973) **Discarding variables in a principal component analysis; II** Real data. Applied Statistics.

Kaiser, H. F. (1958). The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika** 23:187-200.

Koga LJ et al. (2008) Análise multivariada dos componentes da resistência à ferrugem asiática em genótipos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43:1277-1286.

Köpen W (1948) **Climatologia**. Buenos Aires: Gráfica Panamericana.

Leite WDS, Pavan BE, Alcântara Neto FD, Matos Filho CHA, Feitosa FS, Oliveira C B (2016) Multivariate exploratory approach and influence of six agronomic traits on soybean genotypes selection. **Nativa** 4: 206-210.

Magalhães Guedes J, Martins Vilela DJ, Costa Rezende J, Lopes Silva F, Botelho C E, Pereira Carvalho S (2013) Divergência genética entre cafeeiros do germoplasma Maragogipe. **Bragantia** 72:2.

Mercante FM, Hungria M, MENDES IDC, REIS JUNIOR FB (2011) **Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja**. Embrapa Agropecuária Oeste-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Mojena R (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal** 20: 359-363.

Nogueira MA, Hungria M. **Boas Práticas de Inoculação em Soja**. Atas e Resumos, p. 40, 2014.

Pardinho. JP, Primieri C (2015) Produtividade da soja em relação a inoculação e co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. Revista Cultivando o Saber, Paraná, edição especial, p. 109-114.

Peixoto, CP et al. (2010) Crescimento e produtividade de soja em diferentes épocas de semeadura no Oeste da Bahia. **Scientia Agraria** 11: 33-42.

Pereira MC et al. (2010) Multivariate analysis of sensory characteristics of coffee grains (*Coffea arabica* L.) in the region of upper Paranaíba. **Acta Scientiarum Agronomy** 32: 635-641.

Perina EF et al. (2010) Avaliação da estabilidade e adaptabilidade de genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) baseada na análise multivariada da “performance” genotípica. **Ciência e Agrotecnologia** 34:398-406.

Raij BV, Quaggio JA, Cantarella H, Abreu CA (2001) Em Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.

Regazzi AJ (2002) Análise multivariada. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, (INF-766 - notas de aula).

Reis VM, Baldani JI, Baldani VLD, Dobereiner J (2000) Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Science** 19: 227-247, 2000.

Ryle GJA, Powell CE, Gordon AJ (1979) The Respiratory Costs of Nitrogen Fixation in Soyabean, Cowpea, and White Clover: II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany** 30:145-153.

Santos MAD, Nicolás MF, Hungria M (2006) Identification of QTL associated with the symbiosis of *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* and soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41: 67-75.

Santos HG et al. (2013) Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa 3: 353.

Scapim CA, Pires IE, Cruz CD, do Amaral Júnior AT, de Lucca A, Oliveira VR (2015) Avaliação da diversidade genética em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, por meio da análise multivariada. **Ceres** 46:266.

Schneider F, Panizzon LC, Sordi A, Lajús CR, Cericato A, Klein C (2017) Eficiência agrônômica da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) submetida a co-inoculação. **Scientia Agraria** 18:72-79.

Sediyama T, Teixeira RC, Reis MS (1999) Melhoramento da soja. In: BORÉM, A. (ed). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV. p.478-533.

Shapiro SS e Wilk MB (1965) - An analysis of variance test for normality: complete samples. **Biometrika** 52:591-611.

Suhre JJ et al (2014) Soybean yield partitioning changes revealed by genetic gain and seeding rate interactions. **Agronomy Journal** 106:1631-1642.

Silva FM da. (2015). **Estratégias de condução de populações segregantes de soja portadoras do gene RR e seleção por meio de análises uni e multivariada**. 76 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal.

Singh JS (2013) Plant growth promoting rhizobacteria. **Resonance** 18: 275-281.

Statsoft, Inc. (2010) **Statistica, versão 10**. www.statsoft.com.

Taiz L e Zeiger E (2002) Photosynthesis: the light reactions. **Plant physiology**. Sinauer Associates 134-135.

Taiz L e Zeiger E (2013) **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed.

USDA - United States Department of Agriculture (2018). Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/worldag-production/worldag-production-09-12-2018.pdf>> Acesso em: 11/09/2018.

Vianna VF, Unêda-Trevisoli SH, Desidério JA, Santiago S, CHARNAI K, Ferreira Junior JÁ, Ferraudo AS, Mauro AO (2013) The multivariate approach and influence of characters in selecting superior soybean genotypes. **African Journal of Biotechnology** 8: 4162-4169.

Wysmierski PT (2010) **Contribuição genética dos ancestrais da soja às cultivares brasileiras**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Zenzen IL et al. (2007) Nodulação em Soja Inoculada com Diferentes Estirpes de *Bradyrhizobium* Sob Alagamento. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 606-608.

Zilli JE, Marson LC, Marson BF, Rumjanek NG, Xavier GR (2009) **Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima**. Embrapa Agrobiologia-Artigo em periódico indexado (ALICE).

Zilli JE, Gianluppi V, Campo RJ, Rouws JRC, Hungria M (2010) Inoculação da soja com *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 34:1875-1881.

CAPÍTULO 3 - Caracterização de cultivares de soja quanto ao potencial simbiótico e produtivo por meio de análises univariadas e multivariadas de fatores

RESUMO – A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a leguminosa de maior importância econômica no mundo e a sua viabilidade pode ser atribuída em grande parte aos benefícios proporcionados através da fixação biológica de nitrogênio. Os incrementos obtidos com a fixação biológica de nitrogênio, podem ser maximizados através do melhoramento genético voltado para a obtenção de cultivares com simbioses mais eficientes, bem como a inserção de tecnologias a exemplo da co-inoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum*) aplicada em sulco de semeadura. No entanto, as características associadas aos parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, não tem sido contempladas pelos programas de melhoramento genético de soja. Mediante o exposto, o presente estudo objetivou avaliar o desempenho simbiótico e agrônômico de cultivares de soja utilizando parâmetros de fixação biológica do nitrogênio e componentes de produtividade por meio de análises uni e multivariadas. O delineamento experimental utilizado foi em esquema de faixas com três repetições. No estágio reprodutivo R₁, foram avaliados: índice de conteúdo de clorofila, altura da planta no florescimento e comprimento de raiz, massa seca da parte aérea e raiz, número de nódulos das raízes principal, secundárias e total, massa seca dos nódulos das raízes principal, secundárias e total e teor de nitrogênio total na parte aérea. No estágio reprodutivo R₈, foram avaliados: altura de planta na maturidade, altura de inserção da primeira vagem, número de nós, número de ramos, número de vagens, número de grãos, massa de mil grãos, produtividade de grãos e teor de nitrogênio total nos grãos. Para as análises univariadas os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5%. Para as análises multivariadas foi realizada a análise de fatores. Para os parâmetros de fixação biológica de nitrogênio, foram verificadas interações significativas (cultivar versus bactérias) para altura da planta no florescimento, massa seca da parte aérea, número de nódulos da raiz principal, secundárias e total, massa seca de nódulos das raízes secundárias e total. Com relação aos componentes de produtividade, interações significativas foram verificadas para a altura da planta na maturidade, altura de inserção da primeira vagem, número de ramos, massa de mil grãos, produtividade e teor de nitrogênio total nos grãos. As médias gerais obtidas para número de nódulos total e massa seca de nódulos total, foram de 40,66 nódulos planta⁻¹ e 269,30 mg planta⁻¹. As cultivares 4, 8, 9 e 20 quando co-inoculadas demonstraram-se superiores para ambos os parâmetros. A co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 16,87% ou 8,52 sacas ha⁻¹. As cultivares 1, 2, 8, 12 e 20 apresentaram melhor relação simbiótica para os parâmetros de fixação biológica de nitrogênio e produtividade, demonstrando sinergismo entre cultivar e bactérias. Pela análise multivariada de fatores, quatro processos conseguiram reter 60,20% da variância total e as variáveis que melhor caracterizaram a fixação biológica de nitrogênio e a produtividade foram: massa seca de nódulos total, teor de nitrogênio na parte aérea e grãos, altura de inserção da primeira vagem e produtividade de grãos.

Palavras-chave: análise de fatores, *Glycine max*, genótipos, nodulação, rendimento de grãos

1. Introdução

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui grande relevância para a agricultura e economia mundial. A produção chega a 369,32 milhões de toneladas, sendo os Estados Unidos e o Brasil o primeiro e segundo maior produtor, respectivamente (USDA, 2018). Na safra 2017/18, o Brasil produziu 115,40 milhões de toneladas com uma produtividade média de 3.394 kg ha⁻¹ (CONAB, 2019).

A cultura da soja só é viável economicamente graças ao uso de inoculantes com estirpes de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, que chegam a aportar mais de 300 kg de N/ha. O procedimento deve ser feito anualmente visando maximizar os benefícios proporcionados pelos microrganismos, resultando em incrementos médios no rendimento de soja da ordem de 8% (Hungria e Nogueira, 2014).

Atualmente os inoculantes líquidos são os mais utilizados, sendo em sua maioria constituídos pela combinação de duas das quatro estirpes: *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019 (29w) e, *B. japonicum* SEMIA 5079 (CPAC-15) e SEMIA 5080 (CPAC-7) (Zilli et al., 2006; Santana et al., 2011). A aplicação dos inoculantes líquidos têm sido recomendada em sulco de semeadura, como forma de evitar seu contato com o pacote tecnológico inserido nas cultivares, que podem reduzir a eficiência da inoculação, ocasionando baixa sobrevivência das bactérias envolvidas (Santana et al., 2011).

Com o intuito de elevar os benefícios obtidos com a FBN envolvendo as bactérias *Bradyrhizobium*, bem como otimiza-la, as pesquisas têm reportado incrementos com a tecnologia denominada de co-inoculação, que consiste em adicionar o microrganismo *Azospirillum brasilense*, que além da FBN é conhecido por sua ação promotora de crescimento em gramíneas (Bárbaro et al., 2011; Hungria et al. 2013).

Com vistas em incrementos nos patamares de produtividade, pesquisas envolvendo a identificação de caracteres que auxiliem no processo de seleção de genótipos mais eficientes quanto a capacidade simbiótica devem ser contemplados pelos programas de melhoramento genético de soja, necessitando-se para isso, de uma maior compreensão da interação entre diferentes genótipos e bactérias envolvidas no processo (Santos et al., 2006; Bárbaro et al., 2009).

Ressalta-se também a necessidade de pesquisas com semelhante finalidade para a prática de co-inoculação, que ainda se mostra com grande variabilidade nos resultados obtidos na literatura. Em estudos realizados por Bárbaro et al. (2009), Hungria et al. (2013b), Embrapa (2014), Hungria et al. (2015), Bárbaro-Torneli et al. (2017), Bárbaro-Torneli et al. (2018), Dourados et al. (2018), Galindo et al. (2018), são verificadas influências positivas da co-inoculação sobre as características agronômicas de soja, porém, nos resultados obtidos por Gitti et al. (2012), Zuffo et al. (2016), Finoto et al. (2017) e Mundim et al. (2018) não foram verificadas diferenças significativas para esta prática.

As análises multivariadas de fatores, permitem reduzir um grande número de variáveis originais a um pequeno número de variáveis abstratas, também chamadas de fatores. Dessa forma, dentro de cada fator, são reunidas variáveis originais fortemente correlacionados entre si, mas fracamente correlacionadas com as dos demais fatores (Ferraudo, 2014).

Mediante o exposto, objetivou-se analisar o desempenho de cultivares de soja submetidas à co-inoculação quanto a parâmetros de FBN e componentes de produtividade por meio de análises univariadas e multivariadas de fatores.

2. Material e métodos

2.1. Descrição do experimento

O experimento de campo foi instalado no ano agrícola 2017/2018 no município de Guaíra-SP, à 20°20'55" de latitude sul, 48°19'57" de longitude oeste e altitude de 568 m. O solo da área experimental de Guaíra-SP é um Latossolo Vermelho distrófico (Santos et al., 2013). O clima é subtropical Cwa, com verão quente e úmido, inverno seco (Koppen, 1948). Nos meses de novembro a março, durante a condução do experimento a temperatura média verificada foi de 25,7°C e a precipitação acumulada foi de 1.050,1 mm (CIIAGRO, 2018).

Antes da instalação do experimento, foram realizadas análises química e física. As amostras de solo para caracterização química (Raij et al. 2001) e granulométrica (Day, 1965) foram coletadas na camada de 0-0,20m de profundidade, onde foram obtidos os seguintes resultados: pH (CaCl₂) = 5,68; M.O = 36 g dm⁻³; P = 94,23 mg dm⁻³; K = 4,98 mmolc dm⁻³; Ca = 63,54 mmolc dm⁻³; Mg = 16,13 mmolc dm⁻³; H + Al = 29,56 mmolc dm⁻³; V = 74,12%, S-SO₄ = 72,71 mg dm⁻³; Areia Total = 245 g.kg⁻¹ de solo; Argila = 500 g.kg⁻¹ de solo e Silte = 253 g.kg⁻¹ de solo.

O delineamento experimental utilizado foi em esquema de faixas, com três repetições. As fontes de variação da análise de variância foram compostas por 23 cultivares de soja e a aplicação ou não das bactérias *Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*. As parcelas experimentais constituíram-se de 60 metros de comprimento e 4 metros de largura, com espaçamento entre linhas de 0,5 m. Estas parcelas foram divididas, sendo utilizados 30 metros para o tratamento de co-inoculação (*Bradyrhizobium* + *Azospirillum brasilense*) e 30 metros para o controle (sem co-inoculação). Como área útil, foram utilizadas as duas linhas centrais, onde foram coletadas 10 plantas por repetição, totalizando 30 plantas avaliadas.

2.2. Material genético e condução experimental

Na Tabela 1, estão listadas as 23 cultivares portadoras das tecnologias RR e IPRO. As cultivares foram submetidas a co-inoculação e controle (sem inoculação).

Tabela 1. Identificação das 23 cultivares submetidas a co-inoculação (I) e controle (SI). Ano agrícola 2017/18. Guaíra-SP.

Identificação	Cultivar	Tratamento	Bactérias
1	ADV 4672 IPRO	1I	Co-inoculação
1	ADV 4672 IPRO	1SI	Controle
2	GDM 16I024 IPRO	2I	Co-inoculação
2	GDM 16I024 IPRO	2SI	Controle
3	CD2728 IPRO	3I	Co-inoculação
3	CD2728 IPRO	3SI	Controle
4	CD14BR 716418 IPRO	4I	Co-inoculação
4	CD14BR 716418 IPRO	4SI	Controle
5	CD2591 IPRO	5I	Co-inoculação
5	CD2591 IPRO	5SI	Controle
6	AS3680 IPRO	6I	Co-inoculação
6	AS3680 IPRO	6SI	Controle
7	AS3590 IPRO	7I	Co-inoculação
7	AS3590 IPRO	7SI	Controle
8	CZ36 B31 IPRO	8I	Co-inoculação
8	CZ36 B31 IPRO	8SI	Controle
9	BRS7380 RR	9I	Co-inoculação
9	BRS7380 RR	9SI	Controle
10	NS6700 IPRO	10I	Co-inoculação
10	NS6700 IPRO	10SI	Controle
11	NS7100 IPRO	11I	Co-inoculação
11	NS7100 IPRO	11SI	Controle
12	NS6300 RR	12I	Co-inoculação
12	NS6300 RR	12SI	Controle
13	M7198 IPRO	13I	Co-inoculação
13	M7198 IPRO	13SI	Controle
14	TMG 70G7 IPRO	14I	Co-inoculação
14	TMG 70G7 IPRO	14SI	Controle
15	PRECOZ IPRO	15I	Co-inoculação
15	PRECOZ IPRO	15SI	Controle
16	TMG 1264 RR	16I	Co-inoculação
16	TMG 1264 RR	16SI	Controle
17	ÍCONE IPRO	17I	Co-inoculação
17	ÍCONE IPRO	17SI	Controle
18	RK6813 RR	18I	Co-inoculação
18	RK6813 RR	18SI	Controle
19	RK6316 RR	19I	Co-inoculação
19	RK6316 RR	19SI	Controle
20	96Y90 RR	20I	Co-inoculação
20	96Y90 RR	20SI	Controle
21	95R95 IPRO	21I	Co-inoculação
21	95R95 IPRO	21SI	Controle
22	HO PIRAPÓ IPRO	22I	Co-inoculação
22	HO PIRAPÓ IPRO	22SI	Controle
23	HO IVAÍ IPRO	23I	Co-inoculação
23	HO IVAÍ IPRO	23SI	Controle

A área experimental utilizada possui um sistema de plantio direto consolidado, sendo a semeadura realizada sob palhada de milho. A adubação de base foi realizada com 330 kg ha⁻¹ da formulação de adubo 04-23-23. As cultivares (na co-inoculação e controle), foram submetidas ao pré-tratamento com inseticida/fungicida contendo fipronil e piraclostrobina na dose de 200 mL/100 kg sementes.

Para a co-inoculação, foi utilizada a formulação de inoculante BA Dual Core, que se encontra em fase de registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A formulação de inoculante líquido para soja (registro requerido ao MAPA) e produzido pela Stoller do Brasil Ltda, assegura a presença de duas espécies de bactérias, sendo elas: *Bradyrhizobium japonicum* (cepa SEMIA 5079), na concentração de 1 x 10⁹ UFC/mL e *Azospirillum brasilense* (cepas AbV5 e AbV6), na concentração de 1 x 10⁷ UFC/mL. O inoculante foi aplicado no sulco de semeadura na dose recomendada pelo fabricante de 0,45 L ha⁻¹.

A aplicação do inoculante, foi realizada através de pulverizador Orion®, acoplado na semeadora-adubadora. Foram adotados alguns cuidados para garantir uma maior eficiência da co-inoculação, como preparo da calda à sombra, averiguação do pH da calda e calibração adequada dos bicos de pulverização para a distribuição uniforme do inoculante.

No estágio de desenvolvimento V₅ (Fehr e Caviness, 1977) foram aplicados os micronutrientes cobalto e molibdênio via pulverização foliar na co-inoculação e controle na dose de 100 mL ha⁻¹. Cabe ressaltar, a importância do controle de fatores edáficos como acidez do solo e a deficiência dos micronutrientes cobalto e molibdênio, além de outros nutrientes que podem afetar a FBN em soja (Vargas e Hungria, 1997).

2.3. Avaliações realizadas

2.3.1. Parâmetros de FBN

Os parâmetros avaliados no início do florescimento, no estágio reprodutivo R₁ (Fehr e Caviness, 1977) foram: índice de conteúdo de clorofila (ICC); altura da planta no florescimento (APF) e comprimento da raiz (CR) em cm; massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) em g planta⁻¹; número de nódulos das raízes principal, secundárias e total (NNODP), (NNODS) e (NNODT) em número planta⁻¹; massa seca de nódulos das raízes principal, secundária e total (MSNODP),

(MSNODS) e (MSNODT) em mg planta^{-1} e nitrogênio total na parte aérea (NPA) em g kg^{-1} .

O teor de clorofila foliar foi analisado indiretamente por clorofilômetro, medidor portátil. A leitura foi realizada em clorofilômetro modelo CCM-200 (Opti-Scienses, Inc). O teor de nitrogênio total na massa seca da parte aérea (NPA) foi determinado pela metodologia descrita por Bataglia et al. (1983).

2.3.2. Componentes de Produtividade

Os caracteres agrônômicos, avaliados no estágio reprodutivo R_8 (Fehr e Caviness, 1977) foram: altura de planta na maturação (APM) e altura de inserção da primeira vagem (AIV) em cm; número de nós por planta (NN); número de ramos por planta (NR); número de vagens por planta (NV); número de grãos por planta (NG); massa de mil grãos (M1000); produtividade de grãos (PG) em kg.ha^{-1} (valores corrigidos para 13% de umidade) e teor de nitrogênio total nos grãos em g kg^{-1} (NTG), seguindo a metodologia descrita por Bataglia et al. (1983).

2.4. Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram avaliados através do Teste de normalidade de Shapiro e Wilk (1965) a 5% de probabilidade. Quando diferenças significativas foram detectadas, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, sendo que não foi necessária a transformações dos dados. As análises univariadas foram executadas com auxílio do software AgroEstat (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015).

Para as análises multivariadas, foi realizada a análise de fatores que foi executada com auxílio do software Statistica versão 10 (Statsoft, 2010).

2.4.1. Análise de fatores

A análise de fatores tem por objetivo condensar a informação contida em um determinado número de variáveis originais em um conjunto menor, os fatores, com uma perda mínima de informação (Ferraudo, 2014).

$$X_i = a_{i1} F_1 + a_{i2} F_2 + \dots + a_{im} F_m + e_i$$

Onde:

X_i é a i -ésima variável com média zero e variância unitária;

a_{i1} a a_{im} são as cargas dos fatores para a i -ésima variável;

F_1 a F_m são os m fatores comuns não correlacionados, cada um com média zero e variância unitária;

e_i é um fator específico somente para a i -ésima variável que é não correlacionado com qualquer dos fatores comuns e tem média zero.

3. Resultados e discussão

Na Tabela 2, encontram-se os resultados da análise de variância para os parâmetros de FBN: índice de conteúdo de clorofila (ICC), altura da planta no florescimento (APF), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e nitrogênio total na parte aérea (NPA), avaliados no início do florescimento considerando 23 cultivares de soja em relação a aplicação ou não da co-inoculação no sulco de semeadura.

O ICC e MSR foram significativos apenas para cultivares F(A). A APF apresentou significância estatística para todas as fontes de variação da análise de variância. Para o CR e NPA, as cultivares F(A) e as bactérias F(B) se diferenciaram estatisticamente. Para MSPA, verificou significância estatística para cultivares F(A) e interação cultivar versus bactérias F(C) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de fixação biológica de nitrogênio (ICC, APF, CR, MSPA, MSR e NPA) em cultivares de soja, avaliados no início do florescimento. Guaíra-SP. Ano agrícola 2017/18.

Cultivares	ICC	APF	CR	MSPA	MSR	NPA		
	-	cm	cm	g pl ⁻¹	g pl ⁻¹	g kg ⁻¹		
	I	SI	I	SI	-	-		
1	14,23 c	51,00 bA	51,00 aA	19,64 a	6,78 aA	5,31 aB	1,14 a	30,16 a
2	17,34 a	57,33 aA	51,66 aB	18,17 a	5,71 aA	5,44 aA	1,18 a	26,23 b
3	17,22 a	47,45 cA	46,00 bA	16,56 b	3,22 cA	3,67 bA	0,77 b	28,84 a
4	15,75 b	44,33 cA	44,22 bA	14,72 b	4,14 bA	3,83 bA	0,70 b	32,52 a
5	15,55 b	44,22 cA	47,33 bA	15,61 b	2,77 cB	4,11 bA	0,73 b	22,06 b
6	14,44 c	40,55 dA	36,78 cA	14,06 b	3,34 cA	3,17 cA	0,70 b	23,96 b
7	13,12 d	27,22 fA	25,33 eA	12,56 c	1,95 dA	2,02 cA	0,53 b	27,97 a
8	14,26 c	41,56 dA	40,22 cA	14,34 c	4,35 bA	3,58 bA	0,71 b	23,44 b
9	17,83 a	45,78 cA	21,22 eB	17,45 c	4,68 bA	3,51 bB	0,67 b	29,64 a
10	12,62 d	37,45 eA	14,78 fB	13,33 c	2,36 dA	2,05 cA	0,56 b	26,31 b
11	14,26 c	40,89 dA	40,11 cA	12,17 c	3,83 bA	2,92 cA	0,69 b	25,90 b
12	14,29 c	41,89 dA	42,89 bA	12,83 d	3,43 cA	4,42 bA	0,46 b	23,70 b
13	12,05 d	44,11 cA	40,45 cA	14,78 d	1,84 dA	1,99 cA	0,47 b	27,91 a
14	15,02 c	42,78 cA	46,33 bA	12,28 d	4,23 bA	3,82 bA	0,56 b	26,19 b
15	16,14 b	49,55 bA	42,89 bB	12,95 d	3,59 cA	3,32 cA	0,71 b	26,40 b
16	14,62 c	45,11 cA	39,67 cB	12,11 d	2,00 dA	2,15 cA	0,57 b	25,68 b
17	14,71 c	37,00 eA	38,56 cA	13,34 d	4,28 bA	3,12 cA	0,55 b	23,34 b
18	12,03 d	39,89 dA	37,67 cA	12,34 d	2,70 cA	2,77 cA	0,44 b	26,57 b
19	13,84 c	35,33 eA	13,34 fB	12,17 d	3,21 cA	2,14 cA	0,64 b	22,83 b
20	14,81 c	49,11 bA	44,78 bA	11,44 d	4,00 bA	3,53 bA	0,52 b	26,55 b
21	15,76 b	34,45 eA	34,45 cA	12,28 d	2,66 cA	2,60 cA	0,56 b	26,25 b
22	15,40 b	38,56 dA	31,11 dB	16,97 d	1,93 dB	4,98 aA	0,61 b	28,62 a
23	17,79 a	43,11 cA	44,00 bA	14,89 d	3,02 cA	3,37 cA	0,67 b	28,67 a
I	15,09 a	42,55 a	14,80 a	3,48 a	0,67 a	29,85 a		
SI	14,74 a	38,03 a	13,63 b	3,38 a	0,64 a	23,17 b		
F (A)	5,34**	38,74**	7,58**	8,29**	3,23**	2,84**		
F (B)	1,34ns	86,32*	5,76**	0,51ns	0,71ns	61,46*		
F(C)	1,37ns	11,53**	1,47ns	2,84**	0,80ns	1,32ns		
Média Geral	14,92	40,29	14,22	3,43	0,66	26,51		
CV % (A)	11,72	7,50	14,05	25,24	17,9	14,15		
CV % (B)	11,85	7,09	2,10	22,78	18,61	18,87		
CV % (C)	10,04	7,09	19,47	20,37	18,37	10,82		

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C) = interação cultivar versus bactérias. 1- ADV 4672 IPRO, 2- GDM 16I024 IPRO, 3- CD2728 IPRO, 4 - CD14BR 716418 IPRO, 5 - CD2591 IPRO, 6- AS3680 IPRO, 7 - AS3590 IPRO, 8 - CZ36 B31 IPRO, 9 - BRS7380 RR, 10 - NS6700 IPRO, 11 - NS7100 IPRO, 12 - NS6300 RR, 13 - M7198 IPRO, 14 - TMG 70G7 IPRO, 15 - PRECOZ IPRO, 16 - TMG 1264 RR, 17 - ICONE IPRO, 18 - RK6813 RR, 19 - RK6316 RR, 20 - 96Y90 RR, 21 - 95R95 IPRO, 22 - HO PIRAPÓ IPRO e 23 - HO IVAÍ IPRO. I= Co-inoculação; SI= Controle. ICC=Índice de conteúdo de clorofila; APF = altura de planta no florescimento; CR = comprimento da raiz; MSPA = massa seca da parte aérea por planta; MSR = massa seca da raiz; NPA= nitrogênio na parte aérea.

Os valores obtidos para o ICC provavelmente foram baixos, por conta de fatores ambientais, como restrição hídrica que ocorreu no período de avaliação. No processo fotossintético, a água é requerida na liberação de prótons e elétrons da etapa fotoquímica, assim como na regulação da abertura estomática, possibilitando a absorção de dióxido de carbono e a mobilização de fotoassimilados (Chavarria e Santos, 2012).

Com relação ao comprimento da raiz (CR) as cultivares 1 e 2, se destacaram com 19,64 e 18,17 cm, respectivamente. Essas duas cultivares também apresentaram maior MSR, de 1,14 e 1,18 g planta⁻¹, respectivamente (Tabela 2).

No desdobramento da interação para a altura da planta no florescimento (APF), dentro da co-inoculação a cultivar 2 apresentou maior média e no controle as cultivares 2 e 1. As cultivares 2, 9, 10, 15, 16, 19 e 22 apresentaram incrementos significativos quando coinoculadas (Tabela 2). Esse resultado pode estar associado ao benefício promovido pelas bactérias do gênero *A. brasilense* que estimulam a produção de fitohormônios de crescimento vegetal (Fukami et al., 2017).

Para a massa seca da parte aérea (MSPA) dentro da co-inoculação as cultivares 1 e 2 foram superiores e no controle as cultivares 2, 1 e 22. As cultivares 1 e 9 foram superiores quando co-inoculadas com 6,78 e 4,68 g planta⁻¹ e as cultivares 5 e 22 apresentaram melhores resultados na ausência das bactérias com 4,11 e 4,98 g planta⁻¹ (Tabela 2). A excreção e regulação hormonal promovida pelas bactérias promotoras de crescimento vegetal, afeta diretamente os tecidos responsáveis pela fotossíntese, suscitando em acúmulo de massa em diversos tecidos (Battistus, 2014).

Na tabela 3, encontram-se dispostos os parâmetros de FBN, número de nódulos das raízes principal, secundárias e total (NNODP, NNODS e NNODT) e suas respectivas massas secas (MSNODP, MSNODS e MSNODT). Apenas para a MSNDOP não foram observadas diferenças estatísticas significativas para nenhuma das fontes de variação analisadas.

Tabela 3. Parâmetros de fixação biológica de nitrogênio (NNODP, NNODS, NNODT, MSNODP, MSNODS e MSNODT) em cultivares de soja, avaliados no início do florescimento. Guaíra-SP. Ano agrícola 2017/18.

Cultivares	NNODP		NNODS		NNODT		MSNODP	MDNODS		MSNODT	
	n°pl ⁻¹		n°pl ⁻¹		n°pl ⁻¹		mg pl ⁻¹	mg pl ⁻¹		mg pl ⁻¹	
	I	SI	I	SI	I	SI		I	SI	I	SI
1	10,44 bA	8,11 cA	42,22 bA	25,33 cB	52,67 bA	33,45 cB	150,18 a	133,33 aA	103,33 bA	290,98 bA	246,05 bA
2	10,55 bA	8,33 cA	44,78 bA	32,11 cA	55,33 bA	40,44 cA	165,52 a	164,67 aA	78,33 bB	366,95 aA	207,09 bB
3	14,11 aA	12,70 bA	34,56 cA	25,78 cA	48,67 cA	38,56 cA	198,85 a	168,41 aA	145,91 aA	372,06 aA	339,96 aA
4	8,16 bA	9,66 cA	48,33 bA	18,22 dB	56,50 bA	27,89 dB	155,38 a	164,00 aA	63,70 bB	323,92 aA	214,53 bB
5	11,22 bB	18,20 aA	63,22 aA	63,78 aA	74,45 aA	82,00 aA	174,65 a	84,36 bA	103,30 bA	279,72 bA	257,23 bA
6	6,72 bA	6,44 cA	24,33 cA	25,67 cA	31,05 dA	32,11 dA	165,77 a	149,18 aA	110,67 aA	302,80 bA	288,59 aA
7	12,11 aA	7,89 cA	27,78 cA	13,00 dB	39,89 cA	20,89 dB	164,86 a	80,00 bA	82,92 bA	267,59 bA	225,05 bA
8	16,00 aA	9,66 cA	44,67 bA	30,55 cA	60,67 bA	40,22 cB	179,88 a	171,33 aA	129,68 aA	382,02 aA	278,76 aB
9	16,00 aA	9,66 cB	70,00 aA	51,55 bB	86,00 aA	61,22 bB	150,27 a	87,27 bA	38,33 bA	252,49 bA	173,65 bB
10	14,11 aA	10,00 cA	21,67 cA	15,11 dA	35,78 dA	25,11 dA	171,09 a	86,03 bA	92,73 bA	291,79 bA	229,15 bA
11	16,00 aA	12,50 bA	17,33 cA	15,00 dA	33,33 dA	27,55 dA	155,12 a	88,04 bA	47,06 bA	234,76 bA	210,58 bA
12	14,00 aA	4,77 cB	22,44 cA	14,22 dA	36,44 dA	19,00 dB	167,49 a	94,82 bA	94,82 bA	272,65 bA	251,98 bA
13	12,22 aA	11,00 cA	23,66 cA	17,44 dA	35,89 dA	28,44 dA	150,88 a	154,96 aA	71,30 bB	306,72 bA	221,30 bB
14	10,00 bA	7,44 cA	18,67 cA	19,33 dA	28,67 dA	26,78 dA	157,71 a	120,27 bA	132,18 aA	246,90 bA	320,97 aA
15	14,11 aA	16,00 bA	31,22 cA	32,11 cA	45,33 cA	48,11 cA	143,81 a	83,93 bA	86,71 bA	207,83 bA	250,42 bA
16	10,44 bA	8,00 cA	17,00 cB	31,44 cA	27,44 dA	39,44 cA	150,35 a	149,68 aA	60,61 bB	291,84 bA	219,15 bA
17	5,27 bA	7,44 cA	18,67 cA	19,33 dA	23,94 dA	26,78 dA	157,71 a	106,86 bA	91,86 bA	282,52 bA	231,61 bA
18	7,33 bA	4,00 cA	17,67 cA	12,33 dA	25,00 dA	16,34 dA	129,58 a	147,33 aA	147,99 aA	282,10 bA	272,39 aA
19	10,89 bA	8,22 cA	27,00 cA	16,67 dA	37,89 dA	24,89 dA	136,26 a	124,16 bA	42,67 bB	266,59 bA	172,75 bB
20	10,22 bA	10,50 cA	36,33 cA	19,00 dB	46,55 cA	29,55 dB	141,84 a	178,11 aA	95,15 bB	329,28 aA	227,66 bB
21	11,83 aA	14,00 bA	22,45 cA	10,67 dA	34,28 dA	24,67 dA	153,7 a	86,72 bB	155,29 aA	232,27 bB	317,16 aA
22	7,11 bA	10,70 cA	40,11 bB	62,45 aA	47,22 cB	73,22 aA	142,73 a	179,10 aA	84,63 bB	304,57 bA	244,63 bA
23	10,66 bB	21,40 aA	48,22 bA	40,66 bA	58,89 bA	62,11 bA	153,46 a	145,00 aA	146,67 aA	307,35 bA	291,23 aA
I	11,29 a		33,15 a		44,42 a		162,96 a	128,15 a		291,12 a	
SI	10,30 a		26,60 b		36,90 b		151,57 a	95,91 a		247,47 b	
F (A)	3,46**		13,76**		13,81**		0,86ns	3,92**		1,96*	
F (B)	1,55ns		86,89*		55,50*		1,81 ns	4,06ns		27,60*	
F(C)	2,13*		2,41**		2,47**		1,40ns	3,89**		2,37**	
Média Geral	10,79		29,87		40,66		157,26	112,03		269,30	
CV % (A)	35,05		30,94		24,87		25,56	29,68		21,48	
CV % (B)	42,83		13,81		14,59		31,69	39,91		18,12	
CV % (C)	34,31		29,26		24,67		23,00	25,13		17,13	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C) = interação cultivar versus bactérias. 1- ADV 4672 IPRO, 2- GDM 16I024 IPRO, 3- CD2728 IPRO, 4 - CD14BR 716418 IPRO, 5 - CD2591 IPRO, 6- AS3680 IPRO, 7 - AS3590 IPRO, 8 - CZ36 B31 IPRO, 9 - BRS7380 RR, 10 - NS6700 IPRO, 11 - NS7100 IPRO, 12 - NS6300 RR, 13 - M7198 IPRO, 14 - TMG 70G7 IPRO, 15 - PRECOZ IPRO, 16 - TMG 1264 RR, 17 - ÍCONE IPRO, 18 - RK6813 RR, 19 - RK6316 RR, 20 - 96Y90 RR, 21 - 95R95 IPRO, 22 - HO PIRAPÓ IPRO e 23 - HO IVAÍ IPRO. I= Co-inoculação; SI= Controle. NNODP = número de nódulos na raiz principal; NNODS= número de nódulos da raiz secundária; NNODT= número de nódulos total; MSNODP = massa seca de nódulos na raiz principal; MSNODS = massa seca de nódulos nas raízes secundárias por planta; e MSNODT = massa seca de nódulos totais.

Para o número de nódulos da raiz principal (NNDOP) dentro da co-inoculação as cultivares 8, 9, 11, 3, 15, 10, 12, 13, 7 e 21 apresentaram maiores médias. No controle as cultivares de melhor desempenho foram 23 e 5. As cultivares 8, 9 e 12 foram superiores com a co-inoculação e as cultivares 5 e 23 com o controle. No desdobramento da interação para os nódulos das raízes secundárias (NNDOS), dentro da co-inoculação as cultivares 5 e 9 foram superiores e no controle as cultivares 5 e 22. As cultivares 1, 4, 7, 9 e 20 foram incrementadas pela co-inoculação e as cultivares 16 e 22 pelo controle (Tabela 3).

Na avaliação da eficiência de um inoculante, deve-se observar, principalmente, os nódulos formados na coroa da raiz principal, que resultam do contato direto da raiz com a bactéria (Hungria e Campo, 2005). No entanto, a nodulação decorrente da inoculação nas sementes, termina antes da formação completa dos grãos, com isso, quando a inoculação é realizada via sulco de semeadura, obtém-se uma maior população estabelecida de bactérias podendo ocorrer maior nodulação secundária (Hungria et al., 2007).

Para o número de nódulos total (NNODT), dentro da co-inoculação as cultivares 9 e 5 apresentaram médias superiores e no controle as cultivares 5 e 22. As cultivares 1, 4, 7, 8, 9, 12 e 20 foram melhores na co-inoculação, obtendo 52,67; 56,50; 39,89; 60,67; 86,00, 36,44 e 46,55 nódulos planta⁻¹. No controle apenas a cultivar 22 foi beneficiada, apresentando 73,22 nódulos plantas. A prática da co-inoculação incrementou em 20,38% a nodulação total das cultivares analisadas (Tabela 3).

De toda a população microbiana do solo, estima-se que apenas 10% dos microrganismos se encontrem no estágio ativo (Hungria et al., 2007). Além disso, a literatura menciona que a quantidade e o número de nódulos por sistema radicular também sofrem variação de acordo com o genótipo da planta e o ambiente (Reis et al., 2000; Hungria et al., 2013).

Com relação a massa seca dos nódulos das raízes secundárias (MSNODS), dentro da co-inoculação se destacaram as cultivares 22, 20, 8, 3, 2, 4, 13, 16, 6, 18, 23 e 1 e no controle as cultivares 21, 18, 23, 3, 14, 8 e 6. Já as cultivares 2, 4, 13, 16, 19, 20 e 22 responderam melhor quando submetidas a co-inoculação e no controle, apenas a cultivar 21 foi favorecida (Tabela 3).

Quando analisada a média geral das cultivares para a massa seca dos nódulos total (MSNODT), no desdobramento da interação dentro da co-inoculação as cultivares 8, 3, 2, 20 e 4 foram superiores e no controle as cultivares 3, 14, 21, 23, 6, 8 e 18 apresentaram maiores médias.

As maiores médias para MSNODT foram obtidas pelas cultivares 3, 8 e 23, contudo, apenas a 8 apresentou incremento com a co-inoculação, o que demonstra novamente a diferença entre cultivares quanto a capacidade simbiótica. As cultivares 2, 4, 8, 9, 13, 19 e 20 foram melhores na co-inoculação. Já no controle apenas a cultivar 21 sobressaiu-se. As cultivares 4, 8, 9 e 20 quando co-inoculadas demonstraram-se superiores para ambos os parâmetros NNODT e MSNODT (Tabela 3).

A quantidade de N fixado pela simbiose leguminosa-rizóbio poderia ser expandida em 300% em virtude do melhoramento genético e do manejo cultural (Vance, 1998). Fato este, que poderia ser viabilizado, caso os programas de melhoramento incluíssem os parâmetros de FBN em suas avaliações.

Na Tabela 4, constam os resultados obtidos para os componentes de produtividade: altura da planta na maturidade (APM), altura de inserção da primeira vagem (AIV), número de nós (NN), número de ramos (NR), número de vagens (NV) e número de grãos (NG), avaliados na maturidade fisiológica, considerando 23 cultivares de soja em relação a aplicação ou não da co-inoculação no sulco de semeadura. Para NN, NV e NG apenas as cultivares F(A) apresentaram diferença estatística significativa. A interação F(C), foi significativa para APM, AIV e NR.

Para APM a média geral das 23 cultivares avaliadas foi de 72,13 cm, sendo este valor considerado adequado para a colheita mecanizada da soja. A literatura relata que plantas com APM superior a 100 cm tendem ao acamamento e dificultam a eficiência das máquinas colhedoras, além de favorecer o acamamento (Carvalho et al., 2010). No desdobramento da interação, na co-inoculação as cultivares 2, 9 e 10 sobressaíram-se e no controle as cultivares 13 e 17 foram favorecidas.

Tabela 4. Caracteres agronômicos de soja (APM, AIV, NN, NR, NV e NG), avaliados na maturidade fisiológica em resposta a co-inoculação via sulco de semeadura. Guaira-SP. Ano Agrícola 2017/18.

Cultivares	APM		AIV		NN	NR	NV	NG	
	cm		cm		-	-	-	g kg ⁻¹	
	I	SI	I	SI	-	I	SI	-	
1	107,11 aA	105,11 aA	17,22 aA	12,67 bB	19,22 a	3,11 aA	3,67 aA	66,56 a	132,34 a
2	90,22 bA	88,22 bB	14,33 bA	12,22 bA	18,56 a	2,44 bA	2,89 aA	44,17 b	75,22 b
3	73,78 cA	74,33 cA	12,22 cA	14,11 aA	18,28 a	3,78 aA	3,56 aA	48,56 b	102,50 a
4	68,33 dA	60,89 eA	11,67 cA	10,22 cA	18,11 a	3,44 aA	3,55 aA	57,50 a	107,89 a
5	60,11 eA	60,11 eA	10,33 cA	9,00 dA	18,00 a	1,33 cA	1,11 bA	41,22 b	85,39 b
6	75,22 cA	82,11 bA	10,33 cA	8,44 dA	17,83 a	2,44 bA	2,78 bA	61,61 a	118,56 a
7	62,11 eA	64,22 dA	9,89 cA	11,22 cA	17,55 a	2,67 bA	3,00 aA	64,67 a	107,06 a
8	76,56 cA	77,67 cA	12,00 cA	11,00 cA	17,50 a	3,67 aA	2,67 bA	64,78 a	146,44 a
9	92,67 bA	85,00 bB	15,33 aA	15,00 aA	17,39 a	2,33 bB	4,33 aA	53,89 b	106,33 a
10	80,22 cA	68,33 dB	13,44 bA	10,66 cB	17,22 a	1,89 bA	1,22 bA	52,11 b	110,78 a
11	67,55 dA	65,78 dA	10,44 cA	11,22 cA	17,00 a	3,67 aA	2,89 aA	48,72 b	77,89 b
12	73,00 cA	74,00 cA	14,45 bA	14,33 aA	16,89 a	3,44 aA	2,33 bA	52,89 b	114,33 a
13	71,11 dB	80,00 cA	15,56 aA	14,55 aA	16,89 a	3,44 aA	2,44 bA	45,95 b	81,17 b
14	71 ,00 dA	76,89 cA	13,11 bA	11 ,00 cA	16,56 b	4,00 aA	2,55 bB	58,28 a	106,78 a
15	70,00 dA	71,00 dA	10,67 cA	7,67 dB	16,50 b	2,45 bA	2,00 bA	50,28 b	100,06 a
16	75,55 cA	72,33 cA	10,89 cA	9,89 cA	16,44 b	1 ,00 cA	1,67 bA	44,83 b	99,17 a
17	70,33 dB	78,89 cA	11,11 cA	12,22 bA	16,22 b	3,78 aA	3,56 aA	63,06 a	105,28 a
18	55,44 fA	56,67 eA	9,56 cA	9,78 cA	16,11 b	3,45 aA	3,78 aA	37,89 b	110,11 a
19	55,55 fA	51,78 eA	12,11 cA	11,11 cA	15,72 b	3,67 aA	3,22 aA	49,45 b	122,06 a
20	74,22 cA	68,33 dA	10,33 cA	11,11 cA	15,61 b	1 ,00 cB	2,45 bA	45,50 b	89,39 b
21	65,44 dA	70,33 dA	10,22 cA	8,33 dA	15,33 b	3,11 aA	3,56 aA	58,61 a	121,28 a
22	52,22 fA	54,22 eA	10,33 cA	10,66 cA	15,28 b	3,67 aA	2,33 bB	46,78 b	80,28 b
23	68,33 dA	75,56 cA	11,33 cA	11,00 cA	15,00 b	1,22 cA	2,44 bA	37,00 b	67,50 b
I	72,00 a		12,04 a		16,94 a		2,83 a	52,70 a	103,18 a
SI	72,25 a		11,19 b		16,90 a		2,78 a	51,15 a	102,71 a
F (A)	49,58**		9,23**		3,04**		5,26**	4,98**	2,69**
F (B)	0,16ns		157,39**		0,03ns		4,00ns	0,29ns	0,02ns
F (C)	2,08*		1,89*		0,33ns		2,03*	1,39ns	0,58ns
Média Geral	72,13		11,62		16,92		2,80	51,93	102,95
CV % (A)	5,74		13,13		9,37		29,63	18,35	27,94
CV % (B)	5,09		3,41		7,86		4,58	32,20	17,82
CV % (C)	6,40		11,91		10,68		27,55	21,20	26,68

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C)= interação cultivar versus bactérias. 1- ADV 4672 IPRO, 2- GDM 16I024 IPRO, 3- CD2728 IPRO, 4 - CD14BR 716418 IPRO, 5 - CD2591 IPRO, 6- AS3680 IPRO, 7 - AS3590 IPRO, 8 - CZ36 B31 IPRO, 9 - BRS7380 RR, 10 - NS6700 IPRO, 11 - NS7100 IPRO, 12 - NS6300 RR, 13 - M7198 IPRO, 14 - TMG 70G7 IPRO, 15 - PRECOZ IPRO, 16 - TMG 1264 RR, 17 - ÍCONE IPRO, 18 - RK6813 RR, 19 - RK6316 RR, 20 - 96Y90 RR, 21 - 95R95 IPRO, 22 - HO PIRAPÓ IPRO e 23 - HO IVAÍ IPRO. I= Co-inoculação; SI= Controle. APM=altura da planta na maturação; AIV=altura da inserção da primeira vagem; NN=número de nós; NR=número de ramos; NV= número de vagens; NG= número de grãos.

Para a AIV, a média geral foi de 11,62 cm, estando dentro do limite recomendado para a colheita mecanizada da cultura. Em condições de declividade, a altura satisfatória permanece próxima a 15 cm, entretanto, em terrenos planos, as colhedoras modernas podem realizar a colheita com alturas inferiores a 10 cm (Carvalho et al., 2010). No desdobramento da interação, dentro da co-inoculação as cultivares 1, 13 e 9 apresentaram médias superiores e no controle as cultivares 9, 13, 12 e 3. As cultivares 1, 10 e 15 apresentaram maior altura de inserção da primeira vagem quando co-inoculadas. Dentre essas cultivares, apenas a cultivar 1 apresentou 17,22 cm, valor este acima do recomendado para a cultura (Tabela 4).

Para o número de ramos (NR), no desdobramento da interação, dentro da co-inoculação as cultivares 14, 3, 17, 19, 11, 8, 22, 18, 13, 4, 12, 21 e 1 apresentaram maior número de ramificações e no controle as cultivares 9, 18, 1, 17, 3, 21, 4, 19, 7, 2 e 11. As cultivares 14 e 22 quando co-inoculadas destacaram-se e no controle, apenas a cultivar 20 (Tabela 4). De acordo com Pereira-Peixoto et al. (2008) a planta da soja pode atingir de um, até 10 ramos por planta, com o maior deles inserido na parte mais baixa da haste principal. O NR relaciona-se diretamente com a competição que ocorre entre as plantas de soja pelos fatores de crescimento do ambiente, em especial a luz, que determina o maior ou menor número de ramificações.

Na Tabela 5, o valor médio obtido para a massa de mil grãos (M1000), foi de 143,22 g. Com relação as bactérias, verificou-se incrementos significativos com a prática de co-inoculação com 164,39 g, enquanto o controle apresentou 122,04 g. No desdobramento da interação, dentro da co-inoculação a cultivar 2 apresentou maior massa de mil grãos e no controle destacou-se a cultivar 23. As cultivares 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 14, 16, 17, 18 e 21 apresentaram desempenho mais satisfatórios quando co-inoculadas e no controle apenas a cultivar 22.

A produtividade (PG) média das 23 cultivares avaliadas em área de sequeiro foi 3.284,84 kg ha⁻¹. Na média geral, as cultivares 9 e 2 foram as mais produtivas com 4.209,01 e 4.116,22 kg ha⁻¹, sendo que apenas a cultivar 2 obteve o incremento com a prática de co-inoculação (Tabela 5). As diferenças no comportamento produtivo das cultivares, ocorrem em função da grande variabilidade existente entre as estirpes que nodulam a soja e genótipos quanto a capacidade simbiótica (Reis et al., 2000; Carvalho, 2003).

Tabela 5. Componentes de produtividade de soja (M1000, PG e NTG), avaliados na maturidade fisiológica em resposta a co-inoculação via sulco de semeadura. Guaíra-SP. Ano Agrícola 2017/18.

Cultivares	M1000		PG		NTG	
	g pl ⁻¹		kg ha ⁻¹		g kg ⁻¹	
	I	SI	I	SI	I	SI
1	208,33 bA	112,33 eB	3375,27 cA	2328,42 bB	53,28 aA	41,28 bB
2	232,67 aA	160,67 bB	4554,24 aA	3678,2 aB	42,90 bA	43,75 bA
3	150,00 eA	86,67 fB	3758,48 bA	3393,71 aA	57,90 aA	40,94 bB
4	194,33 cA	94,33 fB	3378,22 cA	3572,83 aA	47,73 bA	42,67 bA
5	174,33 dA	82,67 fB	3344,19 cA	3329,42 aA	54,06 aA	45,97 aA
6	180,67 dA	103,00 eB	3260,19 cA	3526,66 aA	42,56 bA	36,36 bA
7	178,33 dA	80,00 fB	3829,24 bA	3213,90 aA	43,23 bA	41,25 bA
8	164,33 dA	115,67 eB	4391,39 aA	3171,60 aB	49,71 bA	37,99 bB
9	158,00 eA	145,00 cA	4316,11 aA	4101,91 aA	47,58 bA	41,03 bA
10	136,67 fA	128,33 dA	3900,11 bA	3431,87 aA	51,95 aA	45,34 aA
11	130,33 fA	133,67 dA	2441,98 dA	2779,19 bA	43,47 bB	58,88 aA
12	137,67 fA	131,00 dA	3337,64 cA	2599,14 bB	56,65 aA	47,87 aA
13	171,67 dA	175,67 aA	3353,6 cA	2932,11 bA	61,44 aA	37,42 bB
14	184,67 cA	123,67 dB	3885,95 bA	3182,78 aB	51,46 aA	36,59 bB
15	121,33 fA	131,67 dA	2932,71 dA	2505,85 bA	52,81 aA	40,76 bB
16	176,00 dA	95,00 fB	2876,83 dA	2561,33 bA	60,40 aA	36,36 bB
17	176,67 dA	124,00 dB	4488,28 aA	2894,16 bB	46,77 bA	44,53 aA
18	200,67 bA	90,33 fB	2842,33 dA	2730,00 bA	36,33 bA	38,3 bA
19	130,00 fA	122,33 dA	2734,62 dA	2454,08 bA	42,07 bA	35,93 bA
20	130,00 fA	127,33 dA	3591,66 cA	3366,81 aA	49,23 bA	35,38 bB
21	134,33 fA	109,67 eB	3471,92 cA	2382,87 bB	61,15 aA	50,60 aB
22	118,00 fB	149,67 cA	3470,27 cA	2203,7 bB	62,05 aA	46,79 aB
23	192,00 cA	184,33 aA	3891,69 bA	3334,98 aA	43,42 bA	52,11 aA
I	164,39 a		3540,30 a		50,35 a	
SI	122,04 b		3029,37 b		42,53 b	
F (A)	22,36**		9,78**		3,33**	
F (B)	159,78**		37,10*		100,64**	
F (C)	27,50**		2,52**		3,73**	
Média Geral	143,22		3.284,84		46,44	
CV % (A)	7,35		11,31		13,80	
CV % (B)	13,74		14,99		9,87	
CV % (C)	7,04		11,87		12,60	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. F(A) = cultivares; F(B) = bactérias; F(C)= interação cultivar versus bactérias. 1- ADV 4672 IPRO, 2- GDM 16I024 IPRO, 3- CD2728 IPRO, 4 - CD14BR 716418 IPRO, 5 - CD2591 IPRO, 6- AS3680 IPRO, 7 - AS3590 IPRO, 8 - CZ36 B31 IPRO, 9 - BRS7380 RR, 10 - NS6700 IPRO, 11 - NS7100 IPRO, 12 - NS6300 RR, 13 - M7198 IPRO, 14 - TMG 70G7 IPRO, 15 - PRECOZ IPRO, 16 - TMG 1264 RR, 17 - ÍCONE IPRO, 18 - RK6813 RR, 19 - RK6316 RR, 20 - 96Y90 RR, 21 - 95R95 IPRO, 22 - HO PIRAPÓ IPRO e 23 - HO IVAÍ IPRO. I= Co-inoculação; SI= Controle. M1000= massa de mil grãos; PG= produtividade de grãos; NTG = nitrogênio total nos grãos.

A co-inoculação apresentou maior produtividade de grãos, com 3.540,30 kg ha⁻¹, em comparação ao controle com 3.029,37 kg. ha⁻¹, o que equivale a 16,87% ou 8,52 sacas a mais por hectare. No desdobramento da interação dentro da co-inoculação as cultivares 2, 17, 8 e 9 foram superiores e no controle as cultivares 9, 2, 4, 6, 10, 3, 20, 23, 5, 7, 14 e 8 se sobressaíram. As cultivares 1, 2, 8, 12, 14, 17, 21 e 22 apresentaram incrementos na PG, quando submetidas a co-inoculação, em relação às mesmas cultivares no controle (Tabela 5).

Os resultados encontrados no presente trabalho estão de acordo com aqueles reportados pela literatura, com a obtenção de incrementos significativos em produtividade de grãos por meio da prática da co-inoculação (Bárbaro et al., 2011; Hungria et al., 2013; Embrapa, 2014). As plantas de soja, co-inoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* apresentam uma nodulação mais abundante e precoce (Hungria et al., 2015; Chibeba et al., 2015), com ganhos médios de produtividade de 16% (Hungria et al., 2013).

Com relação ao NTG, dentro da co-inoculação as cultivares 22, 13, 21, 16, 3, 12, 5, 1, 15, 10 e 14 foram superiores e no controle as cultivares 11, 23, 21, 12, 22, 5, 10 e 17 destacaram-se. As cultivares 1, 3, 8, 13, 14, 15, 16, 20, 21 e 22 na co-inoculação obtiveram maiores médias de 53,28; 57,90; 49,71; 61,44; 51,46; 52,81; 60,40; 42,89; 61,15 e 62,05 e no controle, apenas a cultivar 11 foi superior.

O N-fertilizante é facilmente absorvido pela planta, pois já se encontra prontamente disponível. Já no caso do N-biológico, o gasto energético da planta é mais elevado, pois requer um despendimento maior de energia inicial para a formação dos nódulos (Hungria et al., 2007). Por isso, a importância da identificação de genótipos de soja com uma simbiose altamente eficiente, visando a obtenção de um desempenho igual, ou superior, ao de uma planta suprida com fertilizantes nitrogenados sintéticos.

Para a análise multivariada de fatores, as variáveis foram padronizadas e a extração das cargas fatoriais foi feita pelo método dos componentes principais, sendo os fatores estabelecidos pelo método de rotação varimax (Cruz e Carneiro, 2003).

As variáveis que apresentaram relevância para a formação dos processos foram: APF, CR, MSPA, MSR, NN, NV, NG, M1000, MSNODT, NPA, NTG, AIV e PG.

As demais variáveis, foram inexpressivas de acordo com o critério de Kaiser (1958), que considera somente autovalores acima de 1, pois geram componentes com quantidade relevante de informação das variáveis originais. Abaixo de 1,0 (um) a quantidade de informação retida no componente não é relevante, e por isso, tais variáveis foram descartadas para essa análise.

Com base nos sinais e nas magnitudes das cargas fatoriais, foram formados quatro grupos de caracteres, denominados de processos. Verificou-se que os quatro primeiros processos conseguiram reter em conjunto, 60,20% da variância total e apresentaram informações relevantes, com autovalores superiores a 1,0 (Kaiser, 1958).

Devido a estrutura de dependência das variáveis, dentro dos processos, cada um apresentou uma denominação. O processo 1, foi denominado de “crescimento vegetativo”, e a proporção de variância do conjunto original retida por esse processo foi de aproximadamente 18,10%, o processo 2 “crescimento reprodutivo”, reteve 16,70% da variância, o processo 3 “Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN)”, reteve 14,50% da variância e o processo 4 “Produtividade de grãos”, 10,90% da variância (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de fatores das 23 cultivares de soja submetidas a co-inoculação no sulco de semeadura e Controle. Ano agrícola 2016/17.

Atributos	Crescimento vegetativo	Crescimento reprodutivo	FBN	Produtividade de grãos
APF	0,71	-0,25	0,33	-0,15
CR	0,64	0,05	0,16	0,15
MSPA	0,78	0,09	-0,09	0,27
MSR	0,79	0,20	-0,03	0,13
NN	0,25	0,63	-0,01	-0,24
NV	0,13	0,76	-0,06	-0,05
NG	-0,05	0,86	0,00	0,03
M1000	-0,04	0,60	0,37	0,39
MSNODT	0,23	0,03	0,67	-0,18
NPA	0,05	0,00	0,76	0,25
NTG	-0,06	0,02	0,71	0,10
AIV	0,26	-0,02	0,03	0,77
PG	0,11	-0,03	0,27	0,61
Total var. expl.	2,354	2,177	1,890	1,413
% Var. expl..	0,181	0,167	0,145	0,109

APF=altura da planta no florescimento; CR=comprimento de raiz; MSPA=massa seca da parte aérea; MSR=massa seca da raiz; NN=número de nós; NV=número de vagens; NG=número de grãos; M1000=massa de mil grãos; MSNODT= massa seca dos nódulos da raiz total; NPA=nitrogênio total na parte aérea; NTG=nitrogênio total nos grãos; AIV=altura da inserção da primeira vagem e PG=produtividade de grãos. Total var. expl. = Total da variância explicada; % Var. expl.= Porcentagem da variância explicada.

As variáveis consideradas importantes foram aquelas que apresentaram valores de correlações acima de 0,6, independentemente do sinal (Ferraudo, 2014).

No processo “crescimento vegetativo” as variáveis que apresentaram coeficiente de correlação acima de 0,6 foram altura de planta no florescimento (APF), comprimento de raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR). Como todos os sinais foram positivos, as variáveis apresentaram correlação direta com o processo e entre si, ou seja, o incremento de uma leva ao incremento das demais. Em todos os demais processos as variáveis correlacionadas, também apresentaram dependência direta entre si (Tabela 6).

O processo “crescimento reprodutivo”, correlacionou as variáveis número de nós (NN), número de vagens (NV), número de grãos (NG) e massa de mil grãos (M1000). Para o processo “FBN” as variáveis massa seca de nódulos total (MSNODT), nitrogênio na parte aérea (NPA) e nitrogênio total nos grãos (NTG) se correlacionaram de forma positiva (Tabela 6).

O efeito da parte aérea sobre a nodulação de soja foi avaliado por Sheng e Harper (1997), os quais constataram que as folhas são órgãos que dominam a regulação da produção de sinais para nodulação em soja.

No processo “produtividade de grãos”, as variáveis altura da inserção da primeira vagem (AIV) e produtividade de grãos (PG) apresentaram correlação positiva. Por se tratarem de cultivares comerciais, que já possuem características selecionadas para a produtividade, verificou-se menor variabilidade para esse processo, fato confirmado por ser o processo com menor explicação total da variância (10,90%) (Tabela 6).

A análise de fatores apresenta-se como uma técnica alternativa e viável para a obtenção de escores a serem utilizados pelos programas de melhoramento sob diversos critérios de seleção (Granate et al., 2001). Os resultados obtidos no presente trabalho vão de encontro aos obtidos pela literatura, que evidencia a eficiência das análises multivariadas na identificação de caracteres de maior relevância para a indicação de genótipos promissores de soja (Iqbal et al., 2008; Dallastra et al., 2014; Ulzen et al., 2016). No entanto, a avaliação fenotípica de linhagens de soja com maior desempenho simbiótico, ainda carece de informações sobre os caracteres mais adequadas para a seleção.

4. Conclusões

A co-inoculação proporcionou maior rendimento de grãos, o que correspondeu a um acréscimo de 16,87% ou 8,52 sacas ha⁻¹. As cultivares 1-ADV 4672, 2-GDM 16I024 IPRO, 8- CZ36 B31 IPRO, 12-NS6300 RR e 20- 96Y90 RR apresentaram melhor relação simbiótica para os parâmetros de FBN e produtividade de grãos, demonstrando sinergismo entre cultivar e bactérias, sugerindo que a seleção concomitante dos parceiros simbióticos deveria ser priorizada.

Pela análise multivariada de fatores, verificou-se que os quatro primeiros processos conseguiram reter em conjunto 60,20% da variância total e as variáveis que melhor caracterizaram a fixação biológica de nitrogênio e produtividade de grãos foram: massa seca de nódulos total, teor de nitrogênio na parte área e grãos, altura de inserção da primeira vagem e produtividade de grãos.

O desenvolvimento de tecnologias, a exemplo da co-inoculação em soja, envolvendo ações de inovação em sintonia com o meio ambiente, são ações já alcançadas, mas que necessitam da inclusão de novos estudos principalmente no tocante à sua interação com diferentes cultivares, quanto ao potencial de nodulação e eficiência na capacidade simbiótica.

5. Referências bibliográficas

- Bárbaro IM, Machado, PC, Bárbaro Junior, LS, Ticelli, M, Miguel, F. B., & Silva, JD. (2009). Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. In **Colloquium Agrariae**. 1:1-7.
- Bárbaro IM, Bárbaro Junior, LS, Ticelli, M, Machado, P, Miguel F (2011) Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Apta Regional-Pesquisa e Tecnologia, Colina-SP** 8:1-11.
- Barbosa JC e Maldonado Júnior W (2015) **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp.
- Bárbaro IM, Miguel FB, da Silva JAA, Libório PHS, Sobrinho RM, Finoto EL, Mateus GP, Borges WLB, De Freitas RS (2017) Viabilidade Técnica e Econômica da co-inoculação de soja no estado de São Paulo. **Nucleus** 45-58.
- Bárbaro-Torneli IM, Finoto EL et al. (2018) Avaliação de cultivares de soja no estado de São Paulo em resposta à aplicação de inoculantes no sulco de semeadura. **Nucleus** 55-62.
- Bataglia OC, Teixeira JPF, Furlani PR, Furlani AMC, Gallo JR (1978) **Métodos de análise química de plantas**. IAC -Instituto Agrônômico de Campinas.
- Battistus AG et al. (2014) Synergistic action of *Azospirillum brasilense* combined with thiamethoxam on the physiological quality of maize seedlings. **African Journal of Biotechnology** 13: 4501–4507.
- Carvalho ER, Rezende PD, Ogoshi FGA., Botrel EP, Alcantara HD, Santos JP. (2010). Desempenho de cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em cultivo de verão no sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia** 34: 892-899.
- Carvalho FGD (2003) **Variabilidade de isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp recomendadas para a cultura da soja**. 85f. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Chavarria G; Santos HP Plant water relations: absorption, transport and control mechanisms. In: MONTANARO, G.; DICHIO, B. (Org.). **Advances in selected plant physiology aspects** Rijeka: Intech, 2012. v.1, p.105-132.

Chibeba AM, De Fátima Guimarães, M, Brito OR, Nogueira, MA, Araujo RS, Hungria, M (2015) Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences** 6:1641.

CIAGRO - Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. (2018) <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/Listagens/BH/LBalancoHidricoLocal.asp>>

Compagnon AM, da Silva, RP, Cassia, MT, Graat D, Voltarelli MA (2012) Comparação entre métodos de perdas na colheita mecanizada de soja. **Scientia agropecuária**, 3: 215-223.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento Agrícola – (2019) **Quarto levantamento de grãos. Safra 2018/19.** Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 10/01/2019.

Cruz CD e Carneiro PCS Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 2003. v.2, 585p.

Day PR (1965) Particle fractionation and particle size analysis. In: BLACK, C. A.; EVANS, D. D.; ENSMINGER, L. E.; WHITE, J. L.; CLARK, F. E. (Ed.). Methods of soils analysis. **American Society of Agronomy** 1:545-567.

Dallastra A; Unêda-Trevisoli SH; Ferraudo AS; Mauro AO (2014) Multivariate approach in the selection of superior soybean progeny wich carry the RR gene. **Revista Ciência Agronômica** 45:588-597.

Dourado DP, Peluzio JM, Reina E., Albernás KK, De Lázari TM, Muraishi CT (2018) Protein content in Glycine max grains influenced by the mixed inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. **Journal of bioenergy and food science** 32-43.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Tecnologia dos Agronegócios (2014). **Tecnologia de co-inoculação combina alto rendimento com sustentabilidade na produção de soja e do feijoeiro.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1580416/tecnologia-de-coinoculacao-combina-alto-rendimento-com->

sustentabilidade-na-producao-de-soja-e-do-feijoeiro >. Acesso em 12 de outubro de 2014.

Fehr WR e Caviness JA. Stages of soybean development. Ames: Iowa State University, 1977. 11p. (Special Report, 80).

Ferraud AS (2014) **Técnicas de Análise Multivariada – uma introdução**. Treinamento. Jaboticabal, SP.76p.

Finoto E L, Júnior P S C, Bárbaro-Torneli I M, Martins M H, Soares M BB, Martins A L M (2017) Desenvolvimento e produção de soja co-inoculada com *Azospirillum brasilense* em semeadura direta sobre palhço de cana crua **Nucleus**, 9-14.

Fukami J, Ollero FJ, Megías M, Hungria M (2017). 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**. 7:153.

Galindo FS, Teixeira Filho, M, Buzetti S, Ludkiewicz MG, Rosa, PA, Tritapepe, CA (2018) Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 22:51-56.

Gitti DC., Arf O, Kaneko, FH, Rodrigues, RAF., Buzetti S, Portugal, JR, Corsini D. C. (2012) Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Agrarian** 5: 36-46.

Granate, MJ, Cruz CD, Cecon PR, Pacheco CAP (2001) A análise de fatores na predição de ganhos por seleção em milho (*Zea mays* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy** 23: 1271-1279.

Hungria M e Campo RJ (2005) **Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas**. In: Congresso brasileiro de ciência do solo.

Hungria M; Campo RJ; Mendes IC (2007) **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, 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

Hungria M, Mendes LC, Mercante FM (2013) **Tecnologia de fixação biológica do nitrogênio com o feijoeiro: viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas.** Embrapa Soja.

Hungria M e Nogueira MA (2014) **Tecnologia de co-inoculação: rizóbios e *Azospirillum* em soja e feijoeiro.** Embrapa Soja-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E).

Iqbal Z, Arshad M, Ashraf M, Mahmood T, Waheed A (2008) Evaluation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasm for some important morphological traits using multivariate analysis. **Pakistan Journal of Botany** 40: 2323-2328.

Kaiser, H. F. (1958). The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika** 23:187-200.

Köpen W (1948) **Climatologia.** Buenos Aires: Gráfica Panamericana.

Hungria M; Nogueira MA; Araujo RS (2015) Soybean seed co-inoculation with Kaiser HF (1958) The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, 23:187-200.

Mundim LMF et al. (2018) Co-inoculação de *Azospirillum brasilense* E Bradyrhizobium via sementes de soja no cerrado **Global Science and technology** 11:3.

Pereira Peixoto C, Gonçalves J, da Silva Pinto Peixoto MDF, Oliveira do Carmo D. (2008) Características agronômicas e produtividade de amendoim em diferentes espaçamentos e épocas de semeadura no recôncavo baiano. **Bragantia** 67:3.

Raij BV et al. (2001) **Os métodos de análise química do sistema IAC de análise de solo no contexto nacional.** Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.

Reis VM, Ji. Baldani, VL, Baldani, Döbereiner J. (2000) Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Revista Plant Science** 19: 227-247.

Santana, MJ; De Souza, FCA.; Silveira AL; Silva, CA (2011) Aplicação de cobalto, molibdênio e inoculante na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) **Global Science and Technology** 4:1.

Santos MA; Nicolas MF; Hungria M (2006) Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa agropecuária Brasileira**. 41:67-75.

Santos HG et al. (2013) Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa 3: 353.

Shapiro SS e Wilk MB (1965) - An analysis of variance test for normality: complete samples. **Biometrika** 52:591-611.

Sheng C e Harper JE. (1997) Shoot versus root signal involvement in nodulation and vegetative growth in wild-type and hypernodulating soybean genotypes. **Plant physiology** 113: 825-831.

Statsoft, Inc. (2010) **Statistica, versão 10**. www.statsoft.com.

USDA - United States Department of Agriculture (2018) Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/worldag-production/worldag-production-09-12-2018.pdf>> Acesso em: 11/09/2018.

Vance CP (1998) Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects. In: **The rhizobiaceae**. Springer, Dordrecht p. 509-530.

Vargas MAT; Hungria M (1997) **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. In: **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.295-360.

Zilli JE, Marson LC, Campo RJ, Gianluppi V Hungria M (2006) **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Soja-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Zuffo AM, Bruzi AT, de Rezende PM, Bianchi MC, Zambiazzi EV, Soares IO, Vilela GLD (2016) Morphoagronomic and productive traits of RR soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. **African Journal of Microbiology Research**, 10:438-444.

CAPÍTULO 4 – Considerações finais

Os resultados apresentados enfatizam a viabilidade da prática de co-inoculação com *Azospirillum brasilense* para a cultura da soja, de modo a contribuir para aumentar a renda do produtor e a sustentabilidade do sistema de produção. Foram obtidos incrementos em produtividade de grãos na ordem de 20,78% e 16,87% nos anos agrícolas 2016/17 e 2017/18, respectivamente.

Para que esses benefícios sejam atingidos, deve-se sempre levar em consideração, o emprego das boas práticas de inoculação para que a sobrevivência das bactérias seja assegurada, a exemplo da aplicação dos inoculantes em sulco de semeadura.

Apesar das cultivares comerciais serem em sua maioria oriundas de cruzamentos aparentados, foram verificadas diferenças marcantes, o que evidencia a existência de variabilidade genética a ser explorada, principalmente para as características de nodulação.

O desenvolvimento de estudos que englobem a identificação de genótipos com maior capacidade simbiótica para utilização nos programas de melhoramento genético de soja, são de suma importância para melhor compreensão do processo. As análises multivariadas, demonstraram-se eficientes na seleção de cultivares com simbioses promissoras, assim como, para a indicação das variáveis de maior contribuição.

Os programas de melhoramento genético, devem contemplar os parâmetros relacionados a FBN em suas avaliações, com foco na obtenção de novas linhagens com maior capacidade simbiótica.