



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira

ARIANI GARCIA

Engenheiro Agrônomo

**DOSES DE *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense* NO
DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS, NA PRODUÇÃO E NA QUALIDADE
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

Ilha Solteira

2015

**DOSES DE *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense* NO
DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS, NA PRODUÇÃO E NA QUALIDADE
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

ARIANI GARCIA

Engenheiro Agrônomo

Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá
Orientador

Prof. Dr. Edson Lazarini
Co-orientador

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia – UNESP, Campus de Ilha
Solteira, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Agronomia.

Especialidade: Sistemas de Produção.

Ilha Solteira

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Garcia, Ariani.

G216d Doses de Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense no desenvolvimento das plantas, na produção e na qualidade fisiológica de sementes de soja / Ariani Garcia. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2015 54 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistema de Produção, 2015

Orientador: Marco Eustáquio de Sá

Co-orientador: Edson Lazarini Inclui bibliografia

1. Glycine Max (L.) Merrill. 2. Fixação biológica de nitrogênio.
3. Co-inoculação.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Doses de Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense no desenvolvimento das plantas, na produção e na qualidade fisiológica de sementes de soja

AUTORA: ARIANI GARCIA

ORIENTADOR: Prof. Dr. MARCO EUSTAQUIO DE SA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCO EUSTAQUIO DE SA
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. SALATIER BUZETTI
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Profa. Dra. CHARLINE ZARATIM ALVES
Campus de Chapadão do Sul / Departamento de Agronomia / Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Data da realização: 13 de fevereiro de 2015.

A vocês, que me deram a vida e ensinaram-me a vivê-la com dignidade, não bastaria um obrigada. A vocês, que iluminaram os caminhos por onde caminhei, com afeto e dedicação, para que eu o trilhasse sem medo e cheia de esperanças, não bastaria um muito obrigada. A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram aos vossos sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus, não bastaria um muitíssimo obrigada. A vocês, pais por natureza, por opção e amor, não bastaria dizer, que não tenho palavras para agradecer tudo isso, mas é o que me acontece agora, quando procuro arduamente uma forma verbal de exprimir uma emoção ímpar, uma emoção que jamais seria traduzida por palavras.

A vocês, poderia escrever um livro, e não conseguiria dizer o quanto sou grata por todo esforço empregado a mim. A vocês, que me viram nascer, crescer, dizer a primeira palavra, dar o primeiro passo, e caminharam comigo até hoje; que dedicaram cada gota de suor em um futuro incerto, mas sempre depositando esperança; que não se deixam vencer pelo cansaço para me dar força; que são meus verdadeiros amigos, e que mesmo quando distantes estão sempre presentes; que me guiam, me protegem, e me abençoam, é para vocês e por vocês que cheguei até aqui, para dizer que tudo o que tenho e o que sou, devo a vocês e a Deus. E é por isso que ao meu futuro me dedicarei e honrarei toda esperança em mim depositada.

A vocês pais, que acreditaram e apostaram em mim,

DEDICO.

Amo vocês.

Quero agradecer-te. Obrigada por acreditar em mim quando eu achei difícil acreditar em mim mesmo. Por dizer, algumas vezes, o que eu realmente precisava ouvir, ao em vez do que eu queria que você dissesse. Por ter me mostrado outro lado a considerar.

Obrigada por se abrir comigo, por confiar-me seus pensamentos, suas decepções e seus sonhos, por saber que você podia contar comigo e por ter pedido minha ajuda quando precisou. Por ter posto tanta sabedoria, tanto cuidado na nossa relação, por compartilhar tantas coisas boas e por marcar tantas lembranças sobre nós.

Obrigada por ter sido meu melhor amigo, de tantas diferentes e significativas formas, por todas as vezes que você esteve ao meu lado, toda a verdade que você me fez ver, toda a alegria que você trouxe para a minha vida nos oito anos de convívio, todos os sonhos que você tornou realidade, e por todo amor que encontrei em você e em sua família, a qual serei eternamente grata.

Obrigada por ter sido minha força quando estava fraca, minha voz quando não pude falar, meus olhos quando eu não pude ver, minha lua na escuridão. Você viu o melhor que havia em mim, me levantou quando não pode alcançar, me mostrou que eu tinha asas, segurou a minha mão e me fez tocar o céu.

A você que trouxe minha fé de volta todas as vezes que a perdi, meu muito obrigada.

Você me disse uma vez que nenhuma estrela estava fora de alcance, e vi você tocar a sua constelação. Você foi minha inspiração, meu orgulho, o meu viver. Com você ao meu lado me senti maior, capaz de realizar todos os meus sonhos, e hoje realizo mais um. Você não está aqui para presenciar, mas tenho certeza que, onde quer que esteja, ficará feliz por mais essa conquista.

A tí Rafael Simões Gonçalves,
OFEREÇO.

"I know you're somewhere out there, somewhere far away".

AGRADECIMENTOS

A Divindade, acima de tudo, que com sua presença e misericórdia, permitiu que eu trilhasse o caminho por mim escolhido. Obrigada senhor pela presença nos momentos de angústia e de dor, por amparar e confortar meu coração. Agradeço-te pelas lições que tenho aprendido ao longo da vida, pela família e amigos que estão comigo a cada instante, fortalecendo os meus alicerces e me edificando como rocha. Obrigada meu pai misericordioso por estar comigo a cada passo, por me amar mesmo sendo falha, por não me deixar desanimar frente às dificuldades.

Aos meus orientadores Prof^o. Dr^o. Marco Eustáquio de Sá e Edson Lazarini pelo apoio e pela amizade construída. Sou imensamente grata por terem me proporcionado conhecimento não apenas racional, mas pelas manifestações de caráter e afetividade. Obrigada pela confiança e crédito à mim depositados, pelos ensinamentos científicos e filosóficos, por se manterem sempre ao meu lado compreensivos e pacientes rumo à formação e a realização deste trabalho. Obrigada a vocês por toda a disponibilidade, toda orientação e por todos os esclarecimentos.

Ao meu grandioso e querido amigo Marcelo Fernando Pereira Souza pela amizade, pelo exemplo de profissional e de pessoa, por estar sempre presente mesmo nos momentos tumultuados, pelo incentivador de pessoas que é, pela generosidade e por depositar-me tanto apressado. Obrigada por me empurrar sempre para o melhor, por me guiar pelo caminho do bem, por me dar suporte. Você reforça minha fé todos os dias no ser humano e merece tudo de mais bonito que a vida em a oferecer.

Aos meus amigos e companheiros de estágio pelo auxílio e dedicação concedidos na condução deste experimento. Estes que me mostraram o valor do trabalho em grupo. Fazer parte da Equipe “Lazarini de Sá” foi à parte mais gratificante nesses dois anos de mestrado. A vocês, meus queridos amigos, um agradecimento especial e cheio de carinho. Eu agradeço a Deus por ter tido a sorte de conhecer vocês, que são pessoas incríveis que eu admiro e respeito. Obrigada Luiz Gustavo Moretti, João Willian Bossolani, Carina Oliveira e Oliveira, Luis Fernando Merloti, João Victor Trombeta Bettioli, Gustavo Fonseca, Gustavo Nadai, Gabriela Noronha, Raul Pivetta e Renato Goes por fazerem parte da minha vida. Espero que a nossa amizade perdure e que os nossos laços se mantenham sempre firmes.

Aos meus amigos pessoais Daiene Camila, Carolina Cipriano, Rodrigo, Ana Paula, Fabiana, Renata, Giovanna, Andria, Natália, Beatriz e Mariana. Eu tenho a sorte

de ter os melhores amigos do mundo. Amigos que são poucos, mas que valem muito na minha vida. Amigos que estão comigo para o que der e vier, que me apoiam naquilo que eu acredito, que me incentivam. Amigos que partilham comigo as suas vidas, que escrevem histórias junto comigo, e que guardam em seus corações parte das minhas lembranças.

A técnica de laboratório e matriarca Selma Buzetti por toda a dedicação e por todo carinho que sempre nos ajudou. Obrigada pela disposição empregada a mim, por seu coração bondoso, e por se preocupar tanto com nós estagiários. É muito bom trabalhar com pessoas das quais nos dão prazer em tê-las como companhia. Pessoa grandiosa a qual aprendi a amar.

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (SP), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – FEIS/UNESP, pela oportunidade concedida da realização e obtenção do título de Mestre em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Sistemas de Produção).

Aos professores que fazem parte do programa de Sistemas de Produção da UNESP/FEIS, os quais dedicaram várias tardes de seus afazeres para nos auxiliar, sempre demonstrando muito carinho, respeito e atenção às nossas dúvidas.

Aos funcionários dos departamentos DFTASE e DEFERS e da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da FEIS/UNESP, pelo exemplo de simplicidade e amizade e pelos esforços perante a realização deste trabalho, em especial ao Alvino da Silva que sempre foi um exemplo de profissional.

Aos bibliotecários da FEIS/UNESP, pela dedicação e atenção concedida.

Aos funcionários da seção de Pós-Graduação da FEIS/UNESP.

A todas as pessoas que de uma maneira ou outra, contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, e que mesmo não mencionados neste agradecimento sabem da sua importância em algum momento da minha vida.

Muito obrigada!

Ilha Solteira, São Paulo,

Fevereiro de 2015.

Ariani Garcia

“Podem queimar livros, mas não se queimam ideias; as chamas das fogueiras as superexcitam em vez de extingui-las. Ademais, as ideias estão no ar, e não há Pirineus bastante elevados para detê-las. Quando uma ideia é grande e generosa, encontra milhares de corações dispostos a almejá-la.”

—Allan Kardec

RESUMO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das mais importantes culturas na economia mundial. No Brasil, a inoculação de sementes de soja com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico é essencial, e dispensa a necessidade de adubação complementar com nitrogênio, gerando uma economia de aproximadamente 3 milhões de dólares para o país. O uso de *Azospirillum brasilense* tem sido utilizado em conjunto com o *Bradyrhizobium* a fim de otimizar a nodulação e gerar respostas positivas em produtividade e qualidade de grãos. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas, produção e qualidade fisiológica de sementes de soja. O trabalho foi desenvolvido em área experimental da UNESP - Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria (MS), com delineamento experimental de blocos casualizados dispostos em um esquema fatorial 3x4, com quatro repetições, em dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182). Os tratamentos foram constituídos por: *Bradyrhizobium japonicum* (testemunha sem inoculação, 100 ml ha⁻¹ e 200 ml ml ha⁻¹) e *Azospirillum brasilense* (testemunha sem inoculação, 100 ml ha⁻¹, 200 ml ha⁻¹ e 400 ml ha⁻¹). A semeadura foi realizada em dezembro de 2013, manualmente. Foram analisados: os teores nutricionais foliares, sistema radicular, componentes de produção, produtividade e qualidade fisiológica de sementes de soja obtidas. Concluiu-se que: O *Azospirillum brasilense* aumentou o teor foliar de cálcio e o teor de nitrogênio e proteína bruta das sementes da soja TMG 1179RR; a inoculação da soja com *Azospirillum brasilense* isolada ou em co-inoculação influencia significativamente o desempenho morfofisiológico das raízes e proporciona maior nodulação pelas plantas da soja; o uso de *Azospirillum brasilense* em co-inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* na dose de 200 mL ha⁻¹ de cada inoculante proporcionou aumento de 2403,9 kg ha⁻¹ na produtividade da soja cv. TMG 1179RR comparado com a testemunha (sem inoculação de ambos); e que a inoculação não beneficiou o potencial fisiológico das sementes, porém houve indicativos que o uso de *A. brasilense* pode propiciar a obtenção de sementes de melhor qualidade na dose 400 mL ha⁻¹.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.) Merrill. Fixação biológica de nitrogênio.
Co-inoculação

Bradyrhizobium japonicum AND *Azospirillum brasilense* DOSES IN THE
DEVELOPMENT OF PLANTS, PRODUCTION AND QUALITY PHYSIOLOGIC
OF SOYA BEANS

SUMMARY

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is one of the most important crops in the world economy. In Brazil, soybean inoculation with fixing bacteria atmospheric nitrogen is essential, and eliminates the need to additional fertilizers with nitrogen, generating savings of approximately \$ 3 million for the country. Use of *Azospirillum brasilense* has been used in conjunction with *Bradyrhizobium* to optimize nodulation and generate positive responses in productivity and quality beans. Thus, the study aimed to evaluate the effects of doses of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in plant development, production and physiological quality of soybean seeds. The study was conducted at UNESP experimental area – Ilha Solteira, located in Selvíria (MS), with experimental design of arranged randomized blocks in a 3x4 factorial design with four replications, in two soybean cultivars (TMG 1179RR and TMG 4182). The treatments were: *Bradyrhizobium japonicum* (without inoculation, 100 mL ha⁻¹ and 200 mL ha⁻¹) and *Azospirillum brasilense* (without inoculation, 100 mL ha⁻¹, 200 mL ha⁻¹ and 400 mL ha⁻¹). Seeds were sown in December 2013, manually. They were analyzed: foliar nutritional content, root system, yield components, productivity and physiological quality of soybean seeds obtained. In conclusion: The *Azospirillum brasilense* increased the foliar content of calcium and nitrogen content and crude protein seed soy TMG 1179RR; inoculation of soybean isolated *Azospirillum brasilense* or co-inoculation significantly influences the performance of morphophysiological roots and provides increased nodulation by soybean plants; *Azospirillum brasilense* the use of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* at a dose of 200 mL ha⁻¹ of each inoculant gave increase of 2,403.9 kg ha⁻¹ in the yield of soybean cv. TMG 1179RR compared to the control (without inoculation of both); and that inoculation did not benefit the physiological potential of seeds, but there were indications that the use of *Azospirillum brasilense* can provide obtaining better quality seeds at a dose 400 mL ha⁻¹.

Key-words: *Glycine max* (L.) Merrill. Biological nitrogen fixation.
Co-inoculation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Figura 1. Dados diários de temperatura mínima e máxima (°C), umidade relativa (%) e precipitação média (mm) dos meses de dezembro de 2013 a abril de 2014, coletados na área experimental da Faculdade de Engenharia, UNESP – Campus de Ilha Solteira, Selvíria (MS) 2013/14 **26**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Análise química do solo da área experimental na camada de 0,00 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m em 2013/14. Selvíria, MS, Brasil, 2013/14	25
Tabela 2-	Modelo de análise de variância	31
Tabela 3-	Valores médios obtidos para teor de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e quadro de variância, obtidos em análise da massa seca das folhas de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e de <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	32
Tabela 4-	Valores médios obtidos para índice de clorofila foliar (ICF), número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MN), massa seca da raiz (MR) e quadro de variância de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e de <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	34
Tabela 5-	Valores médios do número de nódulos planta ⁻¹ de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	35
Tabela 6-	Valores médios da massa seca da raiz (g) de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	36
Tabela 7-	Valores médios obtidos para altura de inserção da primeira vagem (AI), altura da planta (AP), número de vagens chochas e cheias por planta (CHO e CHA, respectivamente), número de grãos por vagem (NG), massa de mil sementes (M100), produtividade (PD) e quadro de variância, obtidos de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e de <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	38
Tabela 8-	Valores médios de número de vagens cheias planta ⁻¹ de soja cv. TMG 1179RR, em função da interação entre <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e <i>Azospirillum brasilense</i> , inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.	39

- Tabela 9-** Valores médios da produtividade (kg ha⁻¹) de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014. 40
- Tabela 10-** Valores médios obtidos para primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), número de sementes mortas (M), índice da velocidade da germinação (IVG), envelhecimento acelerado (ENV), condutividade elétrica (COND), e quadro de variância, obtidos em análise das sementes de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 41
- Tabela 11-** Valores médios da primeira contagem de germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 42
- Tabela 12-** Valores médios da germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 43
- Tabela 13-** Valores médios de índice de velocidade de germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 44
- Tabela 14-** Valores médios do envelhecimento acelerado de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 45
- Tabela 15-** Valores médios da condutividade de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 46
- Tabela 16-** Valores médios obtidos para teor de nitrogênio (N), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), fósforo (P), enxofre (S), teor de proteína bruta (PB) e quadro de variância, obtidos em análise das sementes de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de 47

Bradyrhizobium japonicum e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014

Tabela 17- Valores médios do teor de nitrogênio e de proteína bruta nas sementes de soja cv. TMG 1179RR, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014 **48**

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	A SOJA.....	17
2.2	FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	20
2.3	<i>AZOSPIRILLUM sp.</i>	23
3	OBJETIVO	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	LOCAL.....	25
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO SOLO.....	25
4.3	CLIMA.....	26
4.4	TRATAMENTO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	26
4.5	EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	27
4.6	DESCRIÇÃO DOS CULTIVARES.....	27
4.7	AVALIAÇÕES.....	28
4.7.1	Nutricional foliar	28
4.7.2	Índice de clorofila foliar	28
4.7.3	Número de nódulos	28
4.7.4	Massa seca de nódulos	29
4.7.5	Massa seca das raízes	29
4.7.6	Componentes da produção	29
4.7.7	Produtividade	29
4.7.8	Qualidade fisiológica das sementes	29
4.7.8.1	Germinação	29
4.7.8.2	<i>Primeira contagem da germinação</i>	30
4.7.8.3	<i>Índice de velocidade de germinação</i>	30
4.7.8.4	<i>Envelhecimento acelerado</i>	30
4.7.8.5	<i>Condutividade elétrica</i>	30
4.7.8.6	<i>Massa seca de plântulas</i>	30
4.7.8.7	<i>Teor de Nitrogênio nas sementes</i>	31
4.7.8.8	<i>Teor nutricional das sementes</i>	31
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	31

5	RESULTADO E DISCUSSÃO	31
6	CONCLUSÕES	49
	REFERENCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tem grande importância no cenário mundial, tanto em questão alimentar quanto econômica, ao passo que seus grãos atendem o mercado de produção de farelo, farinhas, óleo, bebidas à base de soja (PAIVA et al., 2006), e recentemente, vem crescendo também o uso como fonte alternativa de biocombustível (COSTA NETO; ROSSI, 2000). No Brasil, é a principal cultura produtora de grãos e tem sido responsável pela grande expansão da agricultura para novas fronteiras agrícolas.

Nesta cultura, as pesquisas têm desenvolvido novas tecnologias de cultivo e materiais genéticos que resultam em incremento sucessivo de produtividade, são resistentes ou tolerantes a doenças, resistentes a nematoides, eficientes na absorção de nutrientes e adaptadas às mais variadas condições ambientais; por consequência disso, exigem solos mais férteis, e requerem maior quantidade de nitrogênio (ZILLI et al., 2006).

Com isso, a busca por novas tecnologias visando maior eficiência na fixação biológica de nitrogênio está acarretando em pesquisas de inoculantes mais efetivos, como alternativa para melhorar a produtividade da soja.

A eficiência da fixação simbiótica pelas bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tem sido um dos fatores importantes na economia de nutrientes, principalmente, sem perdas de produtividade. Buscas no sentido de melhorar a quantidade de N fixado tem sido preconizada, aliando métodos em conjunto que potencializem o desempenho das plantas, como a utilização de molibdênio e cobalto (isoladamente e em conjunto), uso de novas estirpes, e mais recentemente o uso de *Azospirillum brasilense*.

Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, aplicados de forma isolada ou em conjunto, no desenvolvimento, produtividade e qualidade fisiológica de sementes de dois cultivares de soja, semeada em sistema convencional.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A SOJA

No Brasil, a soja é a cultura que mais cresceu nas últimas três décadas em área plantada em grãos do país. O aumento da produtividade está associado ao desenvolvimento e estruturação de um sólido mercado internacional relacionado com o comércio de produtos do complexo soja. A consolidação da oleaginosa como importante

alimento para atender demandas crescentes dos setores ligados à produção de produtos de origem animal e a geração e oferta de tecnologias que viabilizaram a expansão da exploração sojícola para diversas regiões do mundo é uma realidade (BRASIL, 2012; HIRAKURI; LAZZAROTTO, 2010).

O levantamento realizado em janeiro de 2015 da safra brasileira de grãos, pela Companhia Nacional de abastecimento (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB, 2015) mostrou que a área plantada com soja no país foi de 31,62 milhões de hectares na safra 2014/2015, apresentando um incremento de mais de 4,8% comparado com 2013/2014, recorde na área desta oleaginosa. Segundo levantamento, as exportações brasileiras de 2014 fecharam o ano em aproximadamente 45,7 milhões de toneladas, ou seja, valor recorde, mais de 7% superior ao exportado no ano de 2013, com mais de 23,27 bilhões de dólares. Para 2015, com o aumento de importação chinesa e os preços internacionais em baixa, é esperada uma exportação próxima de 49,6 milhões de toneladas.

Nada indica que o acelerado ritmo de crescimento da produção no Brasil vá diminuir, pois a demanda global é crescente e os concorrentes já não contam com as mesmas facilidades para incrementar sua área de cultivo, o que é bom para o país, visto que essa fonte de renda não cessará tão cedo e deverá contribuir para o enriquecimento do campo, mas também dos brasileiros que vivem nas cidades (REETZ et al., 2012).

Assim, a soja tem se consolidado como um dos principais produtos de exportação do Brasil e uma das principais commodities do mundo (OLIVEIRA et al., 2012). Muito rico em proteína e com bom conteúdo de lipídeos, o grão de soja faz parte da alimentação animal, e está ganhando importância crescente na dieta humana (MACIEL; POLETINE, 2004), além da obtenção de outros produtos como adubos, revestimentos, papel, tintas e biodiesel (COSTAMILAN; BERTAGNOLLI, 2004). Ao lado do arroz, milho e trigo, a soja é uma das principais culturas do planeta, com produção anual superior a 100 milhões de toneladas, onde, desde o final do século XX, os maiores produtores são os Estados Unidos, Brasil, China e Argentina. (OLIVEIRA et al., 2012)

A expansão contínua em novos territórios do bioma Cerrado estabeleceu uma nova fronteira agrícola chamada de Mapitoba – Maranhão, Piauí, Tocantins e Bahia, no Norte e Nordeste do país (BRASIL, 2012), que apesar de possuir condições edafoclimáticas ideais para o cultivo da soja, o crescimento contínuo da área cultivada na região enfrenta desafios como avanço em logística para o transporte do grão e, além disso,

impasses na questão ambiental, na qual o código florestal tenta reduzir o desmatamento (FREITAS, 2011).

O estado do Mato Grosso, no centro-oeste do Brasil reforçou ainda mais, desde a safra 2011/2012, a sua posição de maior produtor nacional de soja no país (REETZ et al., 2012). De acordo com os dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015) a área dedicada ao grão nas lavouras mato-grossenses na safra 2014/2015 foi de 14,58 milhões de hectares, representando um aumento de 4,9% em relação à safra 2013/2014.

Esse avanço se deve, principalmente, pela implantação de programas de melhoramento de soja no Brasil, que possibilitou a introdução da cultura para as regiões de baixas latitudes, através do desenvolvimento de cultivares mais adaptados, por meio da incorporação de genes que atrasam o florescimento mesmo em condições de fotoperíodo indutor, conferindo a característica de período juvenil longo e permitindo assim a incorporação do processo produtivo agrícola às áreas do cerrado (FREITAS, 2011). Segundo este autor, avanços científicos em tecnologias para manejo de solos, pesquisas e programas de melhoramento, técnicas de correção da acidez do solo, inoculação das sementes com bactérias fixadoras do nitrogênio e a adubação balanceada com macro e micronutrientes, permitiram a cultura expressar a sua potencialidade nas diversas condições edafoclimáticas do território brasileiro.

Com o avanço territorial e o lançamento de cultivares mais produtivos, o estabelecimento de uma população adaptada de *Bradyrhizobium*. aos solos brasileiros, identificação de estirpes que combinassem alta capacidade de fixar N e tolerância às condições estressantes dos cerrados, e capacidade de competir com as estirpes já existentes no solo, passaram a ser os objetivos dos microbiologistas (CARVALHO, 2007).

Contudo, conhecer o processo de fixação biológica de nitrogênio, e fatores que o controlam, é de suma importância tanto para pesquisadores como para produtores, pois com este conhecimento é possível adequar o manejo da planta, aumentar a eficiência da simbiose e, conseqüentemente, incrementar a produtividade da cultura.

2.2 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pela cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], pois os grãos são muito ricos em proteínas, apresentando um teor médio de 6,5% de N. Desse modo, para produzir 1.000 kg de grãos de soja são necessários 65 kg de N, adicionem-se, a isso, pelo menos mais de 15 kg de N para as folhas, caule e raízes, e tem-se uma necessidade de 80 kg de N. Conseqüentemente, para a obtenção de rendimento de 3.000 kg de grãos ha⁻¹, são necessários 240 kg de N, dos quais 195 kg são retirados da lavoura pelos grãos. As fontes de fornecimento dessas doses elevadas de N são: 1- o solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica; 2 – a fixação não-biológica, resultante de descargas elétricas, combustão e vulcanismo; 3 – os fertilizantes nitrogenados; e 4 – o processo de fixação biológica de nitrogênio atmosférico (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2001).

Apesar de representar 78% da constituição gasosa da atmosfera, sob a forma de nitrogênio molecular (N₂), este elemento não é absorvido pelos eucariotos e pela maioria dos procariotos, que não dispõe de um sistema enzimático para quebrar a tripla ligação entre os átomos de N (CARVALHO, 2007; HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2001). Os procariontes, que possuem o complexo enzimático da nitrogenase são os únicos capazes de fixar o N₂ e convertê-lo em produtos assimiláveis pelos demais organismos (NH₃ ou aminoácidos). Estes microrganismos podem ser de vida livre ou associativa, e são denominados de diazotróficos ou fixadores de nitrogênio (CARVALHO, 2007).

No Brasil, a fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um dos exemplos de maior sucesso, uma vez que a utilização de inoculantes com *Bradyrhizobium* supre totalmente a exigência da planta por este nutriente, gerando uma economia para o país de aproximadamente 3 bilhões de dólares por ano (CARVALHO, 2007). Considerando o baixo aproveitamento dos fertilizantes nitrogenados pelas plantas (em torno de 50%) seria necessária uma quantidade estimada de 480 kg em N para obtenção da produtividade de 3.000 kg ha⁻¹. Essa quantidade de nitrogênio seria equivalente a 1.067 kg de ureia, o que tornaria a cultura da soja, economicamente, inviável para o Brasil (HUNGRIA; CAMPO, 2006), destacando assim mais uma vez a importância da FBN na produção dessa oleaginosa, que além de fornecer alimento à planta traz ganhos ambientais pela menor poluição de lagos, rios e lençóis freáticos, por nitrato (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA, 2011).

Em 1963 foi formada a Comissão Nacional da Soja. Uma determinação desta comissão foi que o melhoramento deveria considerar a FBN como um fator importante no desenvolvimento de cultivares, portanto, passou-se a omitir fertilizantes nitrogenados e a inocular as plantas com estirpes efetivas de *Bradyrhizobium* nos programas de melhoramento (HUNGRIA et al., 2005; ALVES, BODDEY; URQUIAGA, 2003)

Ao dispensar o uso de adubos nitrogenados na cultura da soja, obteve-se também um papel relevante na redução da emissão de gases de efeito estufa relacionado à fabricação e uso de adubos minerais. Nas etapas de produção e transporte de adubos nitrogenados, as emissões de gases de efeito estufa decorrentes do consumo de energia fóssil representam entre 40 e 50% das emissões totais pelo uso de fertilizantes nitrogenados nas lavouras. Em média, o uso de 1 kg de fertilizante nitrogenado emite o equivalente a 10 kg de CO₂ (EMBRAPA, 2011)

Os programas de melhoramento estão direcionados à obtenção de cultivares com alta produtividade e ao desenvolvimento em paralelo de inoculantes contendo rizóbios adaptados às condições e solos brasileiros (DÖBEREINER, 1990).

Atualmente, a RELARE, rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes de microrganismos agrícolas recomenda as estirpes SEMIA 587, CPAC15, CPAC7 e SEMIA5019 para a produção de inoculantes para a cultura da soja no Brasil, introduzidas aos pares nos inoculantes comerciais (CAMPOS; HUNGRIA; TEDESCO, 2001).

O processo de simbiose entre as leguminosas e os rizóbios é conhecido desde o início do século, e são visualmente observadas pela presença dos nódulos junto às raízes da planta. Sua coloração interna ativa é avermelhada, pois apresenta estruturas específicas contendo leghemoglobina, que supre as bactérias com baixas concentrações de O₂ para a geração de ATP, necessário ao processo de fixação de N₂, mas que, em concentrações mais elevadas, inativa a enzima nitrogenase. Esse processo é dependente de carboidratos, que são fornecidos pelas plantas aos microrganismos, e assim os mantém vivos (ALBINO; CAMPO, 2001).

Hungria, Campos e Mendes (2001) relataram que o início da formação dos nódulos é observado entre o 5º e 8º dias após a emergência, sendo que do 10º ao 12º dia estes já estão iniciando o processo de fixação. Porém, nestes primeiros dias as bactérias ainda estão começando suas atividades, e as plantas ficam amareladas devido à falta de nitrogênio. Aratani, Lazarini e Marques (2008) testaram 4 épocas de aplicação nitrogênio, uma testemunha (sem N), respectivamente 30 dias antes da dessecação das culturas de

cobertura, na dessecação, na semeadura e em cobertura, e concluíram que a adubação nitrogenada na cultura da soja, independente da época de aplicação, não proporciona aumento de produtividade em relação ao tratamento sem N. Mendes, Hungria e Vargas (2000) testaram a aplicação de pequenas doses (0, 10, 30, 40 kg ha⁻¹) de nitrogênio na semeadura e observaram que as plantas que receberam este “arranque” não apresentaram amarelecimento inicial, porém, estas doses não resultaram em nenhum incremento no desempenho das plantas e na produtividade, tanto quando semeadas em plantio convencional quanto em sistema de plantio direto.

Considerando-se o sistema solo – planta – bactéria, vários fatores podem interferir na nodulação e na fixação do N₂. A inoculação anual é uma prática recomendada na cultura da soja para garantir a formação de nódulos com estirpes altamente eficientes na fixação do nitrogênio atmosférico. Relatos de ensaios envolvendo a prática de reinoculação têm mostrado uma grande variabilidade nos resultados, ou seja, desde incremento em produtividade (BIZARRO, 2008), bem como, ausência de resposta, porque, provavelmente, as populações de *Bradyrhizobium* existentes no solo já apresentavam estirpes eficientes e em número adequado (CAMPOS; GNATTA, 2006; PAVANELLI; ARAÚJO, 2009).

A técnica alternativa de co-inoculação ou também denominada de inoculação mista consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem efeito sinérgico, em que se superam os resultados produtivos obtidos com os mesmos, quando utilizados na forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008).

Deste modo, produtos à base de *Azospirillum brasilense* tem sido preconizado para co-inoculação de soja, juntamente com *Bradyrhizobium* tanto na Argentina como na África do Sul (REIS, 2007). De maneira geral, ocorre a potencialização da nodulação e maior crescimento radicular, em resposta à interação positiva entre as bactérias simbióticas (*Bradyrhizobium*) e as bactérias diazotróficas, em especial as pertencentes ao gênero *Azospirillum* (FERLINI, 2006).

Para conseguir manter o esforço da pesquisa brasileira, que posicionou o Brasil, atualmente, como o país com maior contribuição do processo biológico para a cultura, é necessário não somente investir em reinoculação com as estirpes selecionadas, mas também desenvolver pesquisas sobre a dinâmica das populações de rizóbios nos solos, novas tecnologias de inoculação, bem como, outras alternativas, como co-inoculação de rizóbios com outras espécies de bactérias (BÁRBARO et al., 2011).

2.3 *AZOSPIRILLUM* sp.

As bactérias do gênero *Azospirillum*, principalmente a espécie *A. brasilense* tem sido usada como inoculante em diversas culturas como cereais, algodão, tomate, banana, cana-de-açúcar, café, forrageiras, etc (BÁRBARO et al., 2008).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da terra (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987; HUERGO et al., 2008). Estas bactérias correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOPPER et al., 1989). As BPCP podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO et al., 2008); o aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008); a produção de hormônios como auxinas, citocininas (TIEN et al., 1979), giberilinas (BOTTINI et al., 1989), etileno (STRZELCZYK et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (PERRIG et al., 2007); a solubilização de fosfato (RODRIGUEZ et al., 2004); e por atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008). Acredita-se que as BPCP beneficiam o crescimento das plantas por uma combinação de todos esses mecanismos (DOBBELAERE et al., 2003).

Ferlini (2006) citou que nos casos onde se tem utilizado *A. brasilense*, tem se obtido plantas com um sistema radicular mais desenvolvido, e portanto, capazes de explorar um volume mais amplo de solo, e isso deve-se, em maior parte, esta capacidade que as BPCP têm em produzir fito-hormônios. Burdman et al. (1996) verificaram que a estimulação da nodulação posterior pela inoculação de leguminosas com *A. brasilense* pode estar relacionada com o incremento na indução da produção de genes Nod, responsáveis pelo incremento de raízes laterais, da densidade de pêlos radiculares e das ramificações dos seus pêlos.

O cultivo de leguminosas com inoculação conjunta de rizóbios e *Azospirillum* tem sido retratado como um dos trabalhos mais prometedores que se tem conhecimento, onde já se tem observado, em alguns experimentos, efeitos positivos em produção de matéria seca, rendimento e teor de nitrogênio foliar quando comparados com leguminosas inoculadas somente com bradyrhizóbios (BENINTENDE et al., 2010; BURDMAN et al., 1996).

Benintende et al. (2010) observaram incrementos na massa de nódulos, tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva, e no rendimento de grãos em kg ha⁻¹ de soja quando co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* em relação à inoculação padrão. Os mesmos autores ainda relatam que houve aumento de 5% do N, proveniente da FBN, na soja co-inoculada.

Acredita-se que, nos próximos anos, haverá um incremento substancial no uso de fertilizantes no Brasil devido à intensificação da agricultura e à recuperação de áreas degradadas. O mercado brasileiro de fertilizantes, porém, é frágil e com grande dependência das importações, que hoje são responsáveis pelo fornecimento de 73% do nitrogênio, 49% do fósforo e 90% do potássio consumidos. Ainda que existam planos de instalação de novas indústrias e abertura de novas áreas de exploração de minerais, a situação nos próximos dez anos pode ser bastante crítica. Desse modo, o uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas que aumentem a eficiência da utilização dos nutrientes, e que aporte o nitrogênio via fixação biológica, representa uma estratégia viável economicamente, além dos benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2001)

3 OBJETIVO

Desta forma, o trabalho foi realizado com o objetivo de:

Avaliar o efeito de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, isolados e em conjunto, no desenvolvimento, produtividade e qualidade fisiológica das sementes de dois cultivares de soja, semeada em dezembro, em sistema convencional.

Serão testadas as seguintes hipóteses:

- As doses de *Azospirillum brasilense* podem influenciar na fixação de nitrogênio e estimular o desenvolvimento do sistema radicular da soja proporcionando aumento no número de nódulos e assim melhorar o fornecimento de nitrogênio do ar atmosférico para a cultura;
- O *Azospirillum* pode potencializar a fixação biológica do nitrogênio, aumentar o número de nódulos de *Bradyrhizobium* na soja e conseqüentemente potencializar a assimilação do nitrogênio atmosférico fornecido à planta, aumentando o rendimento, a concentração de proteína nos grãos, gerando sementes com maior poder germinativo e com maior vigor.
- O *Azospirillum* pode influenciar sobre o desenvolvimento do sistema radicular da soja, melhorando a nodulação, e por abranger camadas mais profundas do solo, melhora a

disponibilidade e absorção de nutrientes pelas plantas, obtendo sementes de melhor qualidade fisiológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL

O experimento foi desenvolvido na safra 2013/14, em área experimental pertencente à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, localizada no município de Selvíria (MS), apresentando como coordenadas geográficas 51° 22' de longitude Oeste de Greenwich e 20° 22' de latitude Sul, com altitude de 335 metros.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO SOLO

O solo do local é tipo LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico argiloso, A moderado, hipodistrófico, álico, caulínítico, férrico, compactado, muito profundo, e moderadamente ácido (EMBRAPA, 2006).

As características químicas do solo foram determinadas antes da instalação do experimento, nas camadas de 0,00 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m, seguindo a metodologia proposta por Raij e Quaggio (1983) cujas características encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1- Análise química do solo da área experimental na camada de 0,00 a 0,20 m e 0,20 a 0,40 m em 2013/14. Selvíria, MS, Brasil, 2013/14.

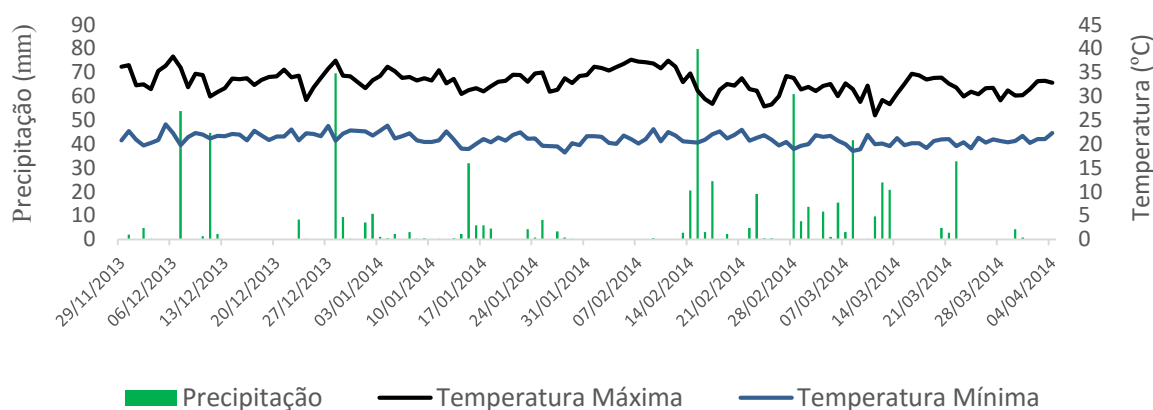
Macronutrientes e resultados complementares													
Camada (cm)	P ⁽¹⁾ --mg dm ⁻³ --	S ⁽²⁾	MO g dm ⁻³	pH CaCl ₂	K -----mmolc dm ⁻³ -----	Ca	Mg	H+Al mmolc dm ⁻³	Al	SB	CTC	m ---(%)--	V -
0-20	10	8	18	5,1	2,8	25	13	21	1	41	62	2	62
20-40	7	33	12	4,8	1,6	14	9	18	1	25	43	4	61

⁽¹⁾ Método da Resina; ⁽²⁾ SO₄⁻¹.

4.3 CLIMA

O clima da região é classificado como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A temperatura, precipitação pluvial e umidade relativa média anual é de 25°C, 1.330 mm e 66%, respectivamente (Centurion, 1982). Os dados climáticos durante a condução do experimento estão apresentados na Figura 1.

Figura 1- Dados diários de temperatura mínima e máxima (°C) e precipitação média (mm) dos meses de dezembro de 2013 a abril de 2014, coletados na área experimental da Faculdade de Engenharia, UNESP – Campus de Ilha Solteira, Selvíria (MS) 2013/14.



Fonte: elaboração do próprio autor.

4.4 TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso disposto em esquema fatorial 3 x 4, com 4 repetições, composto por: doses de *Bradyrhizobium japonicum*, (testemunha sem inoculação, 100 mL ha⁻¹ e 200 mL ha⁻¹) e doses de *Azospirillum brasilense* (testemunha sem inoculação, 100 mL ha⁻¹, 200 mL ha⁻¹ e 400 mL ha⁻¹), inoculados via semente. As parcelas constaram de 6 linhas de 5 m de comprimento espaçadas por 0,45 m, sendo consideradas como área útil as 2 linhas centrais, desprezando-se 0,5 m em ambas as extremidades de cada linha, e foi separado cada tratamento com terraços de 1,5 m para evitar contaminação.

4.5 EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

O solo foi preparado com uma aração e duas gradagens, sendo a segunda para nivelamento da área antes da semeadura da soja. Posteriormente a adubação foi realizada no sulco de semeadura utilizando 300 kg ha⁻¹ da fórmula 4-30-10 baseado na análise de solo da área experimental e seguindo recomendação de (RAIJ et al., 1997).

As sementes foram previamente esterilizadas em solução de hipoclorito de sódio a 3% por 10 minutos, e posteriormente enxaguadas três vezes em água deionizada. Doze sacos plásticos foram separados com 0,5 kg de sementes de soja de cada cultivar, onde foram adicionadas as doses dos inoculantes em função dos tratamentos. Adicionou-se 1 mL de solução açucarada a 10% (10 g de açúcar cristal em 900 ml de água) em cada saco para facilitar a adesão do inoculante nas sementes, e posteriormente os sacos foram fechados e as sementes misturadas. As sementes foram colocadas sobre folhas de papel toalha por 10 minutos para que secassem e em seguida foi realizada a semeadura.

As estirpes utilizadas para a inoculação de *A. brasilense* foram AbV5 e AbV6 com 2x10⁸ ufc g⁻¹, e para os tratamentos com *B. japonicum* foram utilizadas as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 - 5x10⁵ células viáveis mL⁻¹, obtidas de produtos comerciais registrados no Ministério da Agricultura e Pecuária.

A semeadura foi realizada dia 8 de dezembro de 2013, manualmente, colocando-se 15 sementes por metro de sulco de forma a se obter uma população de 333.330 plantas ha⁻¹. A emergência das plantas ocorreu uma semana após a semeadura. O florescimento pleno e a colheita ocorreram aos 42 e 46 DAE e aos 123 e 130 DAE, realizada manualmente, para a TMG 1179RR e a TMG 4182, respectivamente.

O fornecimento de água à cultura foi realizado por sistemas de irrigação por aspersão quando necessário, aplicando-se 15 mm. O controle de pragas e de doenças, assim como de plantas daninhas, foi realizado com produtos específicos e registrado para a cultura de acordo com a necessidade da lavoura.

4.6 DESCRIÇÃO DOS CULTIVARES UTILIZADOS

O cultivar TMG 1179RR pertence ao grupo de maturação tardia, altura média de plantas de 40 - 60 cm, hábito de crescimento determinado, alta adaptação à fertilidade do solo e resistência ao acamamento. Possui flor roxa, hilo marrom claro e pubescência

cinza. É resistente ao cancro da haste, mancha olho-de-rã e pústula bacteriana; moderadamente resistente ao nematóide de galhas e *Pratylenchus brachyurus*, sendo suscetível à mancha alvo.

O cultivar TMG 4182 também pertence ao grupo de maturação tardia, possui altura média de plantas de 90-100 cm, hábito de crescimento determinado, alta adaptação à fertilidade do solo, moderadamente resistente ao acamamento. Possui flor branca, hilo marrom claro e pubescência marrom, resistente ao cancro da haste e a mancha olho-de-rã, e moderadamente resistente ao nematóide *Pratylenchus brachyurus*.

4.7 AVALIAÇÕES

4.7.1 Nutricional foliar: Por ocasião do florescimento pleno foram coletadas folhas do 3º trifólio, do ápice para a base, de 5 plantas em local pré-determinado na área útil. As folhas foram acondicionadas em sacos de papel as quais foram submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar com temperatura média de 60°C, por 24 horas. As folhas secas foram moídas para em seguida serem analisadas, conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997), para determinação do teor de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S).

4.7.2 Índice de clorofila foliar: a estimativa do teor médio de clorofila foliar foi realizado em condições de campo na fase de desenvolvimento R₂ (florescimento), com a utilização de clorofilômetro portátil marca ClorofiLOG[®], modelo CFL 1030 (Falker Automação Agrícola[®]), que por meio de sensores, analisa três faixas de frequência de luz, e por meio de relações de absorção de diferentes frequências, fornece medições dos teores das clorofilas *a*, *b* e total (*a+b*), expressas em unidades dimensionais chamadas ICF (Índice de Clorofila Foliar) (FALKER, 2008). Cada medição foi realizada no limbo foliar do terceiro trifólio, contando do ápice para a base, obtendo-se 4 medições planta⁻¹, em quatro plantas parcela⁻¹.

4.7.3 Número de nódulos: o solo foi coletado na área experimental, com a ajuda de uma pá, contemplando o volume de solo ocupado pelo sistema radicular da soja, onde foram coletadas 4 plantas parcela⁻¹ para obtenção da média, na fase de desenvolvimento R₂ (florescimento). Após a separação e lavagem do sistema radicular, o número de nódulos foi determinado por meio da contagem de nódulos presentes nas raízes das plantas da soja.

4.7.4 Massa seca de nódulos: após a contagem de nódulos, os mesmos foram destacados e secados em estufa com ventilação forçada a 65°C, por 24 horas, onde foram pesadas e obtidas as massas secas de nódulos planta⁻¹.

4.7.5 Massa seca das raízes: Após a retirada dos nódulos, as raízes foram acondicionadas em sacos de papel, devidamente identificadas e levadas ao laboratório onde foram submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada à temperatura média de 60-70°C, por 24 horas. Posteriormente as amostras foram pesadas e os valores convertidos em g planta⁻¹.

4.7.6 Componentes da produção: foram coletadas 10 plantas, por ocasião da colheita, na área útil das parcelas para a avaliação de: altura da inserção da primeira vagem e altura das plantas: obtidas através da medição em régua graduada em centímetros; número de vagens planta⁻¹: foi determinado por meio da relação do número total de vagens número de plantas⁻¹; número médio de grãos vagem⁻¹: foi calculado por meio da relação do número total de grãos número total de vagens⁻¹; massa de 100 grãos: foi obtido por meio da coleta ao acaso e pesagem de 2 amostras de 100 grãos por parcela, onde foi calculada a média;

4.7.7 Produtividade: as plantas da área útil de cada parcela foram arrancadas e deixadas para secagem a pleno sol. Após a secagem, as mesmas foram submetidas a trilha mecânica, os grãos foram pesados e os dados transformados em kg ha⁻¹ (13 % base úmida).

4.7.8 Qualidade fisiológica das sementes:

4.7.8.1 Germinação: foi realizado com 4 repetições de 50 sementes em rolo de papel toalha (Germitest) a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), mantendo-se a temperatura constante. O papel foi umedecido com água deionizada, em uma quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel não hidratado. As contagens de plântulas normais foram realizadas aos 5 e 8 dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009)

O vigor das sementes: foi avaliado através dos testes:

4.7.8.2 Primeira contagem da germinação: realizado juntamente com o teste de germinação e constou do registro da porcentagem de plântulas normais, verificada 5 dias após a instalação do teste;

4.7.8.3 Índice de velocidade de germinação: foi realizado em conjunto com o teste de germinação, onde o índice de velocidade para cada tratamento foi calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962), apresentada a seguir:

$$IVG = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2}$$

Onde:

IVG= índice de velocidade de germinação

N_1 e N_2 = número de plântulas normais contadas na primeira contagem (5 dias) e na última contagem (8 dias), respectivamente;

D_1 e D_2 = número de dias da semente à primeira (5 dias) e à última contagem (8 dias), respectivamente

4.7.8.4 Envelhecimento acelerado: foi realizado segundo a metodologia descrita por Marcos Filho (1999), utilizando 4 repetições de 50 sementes para cada tratamento, pelo método de gerbox, onde 200 sementes foram colocadas sobre a tela de inox de uma caixa plástica (gerbox), contendo 40 mL de água destilada. Após a colocação da tampa, as caixas foram levadas ao germinador regulado à temperatura de 42°C, onde permaneceram por 48 horas. Transcorrido esse período, as sementes foram colocadas para germinar conforme descrição para o teste de germinação (BRASIL, 2009) e a avaliação das plântulas normais foi realizada 5 dias após a instalação do teste.

4.7.8.5 Condutividade elétrica: será conduzido com 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento, sendo estas pesadas em balança de precisão (0,01 g) posteriormente, colocadas para embeber em um recipiente contendo 75 mL de água destilada e mantida em uma câmara (germinador) à temperatura de 25°C durante 24 horas (KRZYZANOWSKY; VIEIRA, 1999). Após este período foi feita a leitura da condutividade elétrica na solução de embebição, usando-se um condutivímetro digital. O resultado obtido em $\mu\text{mhos/cm}$ foi dividido pelo peso da amostra (g), para que o valor final da condutividade elétrica fosse expresso com base no peso da amostra, ou seja, $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

4.7.8.6 Massa seca de plântulas: foram avaliadas as plântulas normais, obtidas a partir do teste de germinação, excluindo destas os cotilédones. As repetições de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel, identificados, e levados à estufa com circulação

de ar forçada, mantida à temperatura de 65°C, até que atingissem massa constante (NAKAGAWA, 1999). Após este período, cada repetição teve a massa avaliada em balança com precisão de 0,001g, e os resultados médios expressos em miligramas por plântula.

4.7.8.7 Teor de Nitrogênio nas sementes: das sementes obtidas na avaliação da produtividade, foi retirada uma amostra que foi moída em moinho tipo Willey, armazenadas em saquinhos plásticos e, posteriormente, foi determinado o teor de nitrogênio, segundo metodologia descrita por (MALAVOLTA et al., 1997).

4.7.8.8 Teor nutricional das sementes: o material moído para a determinação do teor de nitrogênio foi utilizado para a determinação do teor de proteína e nutrientes nas sementes. Obteve-se o teor de proteína pela multiplicação do teor de N pelo fator 6,25 (A.O.A.C., 1970) e conforme metodologia proposta por Malavolta et al. (1997), foi determinado o teor de cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), fósforo (P) e enxofre (S).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados por meio de análise de regressão polinomial para doses dos inoculantes, utilizando-se do programa SISVAR (FERREIRA, 2011). O quadro de análise de variância utilizado para cada cultivar encontra-se na tabela 2.

Tabela 2- Modelo de análise de variância

Fonte de variação	G.L.
Doses de <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	2
Doses de <i>Azospirillum brasilense</i>	3
Brd*Azo	6
Blocos	3
Resíduo	33
Total	47

Optou-se por analisar separadamente os cultivares em função da diferença genética entre eles para evitar que essa característica pudesse interferir nos resultados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por meio da avaliação do estado nutricional dos tecidos foliares dos cultivares de soja decorrentes da utilização de doses de *Bradyrhizobium*

japonicum e *Azospirillum brasilense* foram significativos para cálcio no cultivar TMG 1179RR (tabela 3).

Tabela 3- Valores médios obtidos para teor de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e quadro de variância, obtidos em análise da massa seca das folhas de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

Tratamentos	Doses (mL ha ⁻¹)	----- (g kg ⁻¹) -----					
		N	P	K	Ca	Mg	S
Cultivar TMG 1179RR							
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	41,8	2,9	19,9	7,7	3,8	2,0
	100	41,0	2,9	21,2	8,2	3,6	2,0
	200	38,4	3,0	21,2	7,9	3,5	2,0
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	40,8	2,9	22,0	7,1 ⁽¹⁾	3,8	1,8
	100	41,8	2,7	20,5	7,4	3,6	1,9
	200	38,8	3,2	20,6	7,8	3,5	2,1
	400	40,1	2,9	20,1	7,9	3,6	2,1
Valores de F							
Brd		3,0 ^{NS}	0,1 ^{NS}	2,5 ^{NS}	3,0 ^{NS}	1,8 ^{NS}	0,1 ^{NS}
Azo		1,2 ^{NS}	1,3 ^{NS}	2,3 ^{NS}	3,4*	2,1 ^{NS}	1,6 ^{NS}
Brd*Azo		1,38 ^{NS}	2,1 ^{NS}	0,2 ^{NS}	1,5 ^{NS}	0,5 ^{NS}	1,7 ^{NS}
CV(%)		9,8	23,2	9,2	9,22	9,7	20,42
Média Geral		40,4	2,9	20,8	7,6	3,6	2,0
Cultivar TMG 4182							
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	40,6	2,8	22,0	8,2	4,0	2,0
	100	39,9	3,0	22,3	8,3	3,9	2,0
	200	41,2	2,9	21,5	8,8	4,0	1,9
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	39,8	2,7	22,0	8,6	4,0	2,0
	100	40,6	2,8	22,2	8,9	4,0	1,9
	200	41,3	3,1	21,3	7,8	4,0	2,0
	400	40,6	3,0	22,1	8,5	4,0	2,0
Valores de F							
Brd		0,5 ^{NS}	0,7 ^{NS}	0,4 ^{NS}	1,4 ^{NS}	0,24 ^{NS}	0,7 ^{NS}
Azo		0,3 ^{NS}	3,7 ^{NS}	0,3 ^{NS}	2,3 ^{NS}	0,04 ^{NS}	2,0 ^{NS}
Brd*Azo		1,3 ^{NS}	1,2 ^{NS}	0,7 ^{NS}	1,5 ^{NS}	0,89 ^{NS}	3,5**
CV (%)		9,25	12,7	11,0	13,2	12,7	9,6
Média Geral		40,6	2,9	22,0	8,5	4,0	2,0

⁽¹⁾ $y=0,002x+7,2$ ($R^2=0,85$)

Os valores constatados para os teores foliares de Ca se ajustaram matematicamente ao modelo linear com respostas positivas à inoculação de *A. brasilense*.

Maiores teores médios do nutriente foram obtidos na dose de 400 mL ha⁻¹ do inoculante, com teor médio de cálcio de 7,9 g kg⁻¹ de matéria seca do cultivar em estudo, valor este 11% superior ao valor médio constatado na testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*).

Contudo, os teores nutricionais observados nas plantas em ambos os cultivares estão em média classificados dentro da faixa considerada como suficientes para o bom desenvolvimento da cultura da soja de acordo com Ambrosano et al. (1997), os quais sugerem que, para um desenvolvimento pleno das plantas sem prejuízo nutricional das mesmas, em qualquer fase do seu ciclo, devem apresentar nos tecidos foliares valores de 40 a 54 g kg⁻¹ de N, 4 a 20 g kg⁻¹ de Ca, 3,0 a 10,0 g kg⁻¹ de Mg, 17 a 25 g kg⁻¹ de K, 2,5 a 5,0 g kg⁻¹ de P e 2,1 a 4,0 g kg⁻¹ de S.

Não foi observado efeito das doses de *B. japonicum* e *A. brasilense* mesmo quando combinadas sobre o índice de clorofila foliar e massa seca dos nódulos planta⁻¹, entretanto, houve interação dos tratamentos para número de nódulos e massa seca das raízes (g), para ambos cultivares (Tabela 4).

Notou-se que houve aumento da nodulação das plantas proporcionalmente ao aumento nas doses de *A. brasilense*, para qualquer dose de *B. japonicum*, em ambos cultivares analisados. Em plantas que não foram inoculadas com *B. japonicum* foi obtido maior resultados ao se utilizar a maior dose de *A. brasilense* (400 mL ha⁻¹) tanto para a TMG 1179RR quanto para a TMG4182 (tabela 5)

Apesar disso, plantas que não receberam o tratamento com o *A. brasilense* obtiveram menor nodulação mesmo quando inoculadas com a maior dose de *B. japonicum* (200 mL há⁻¹) tanto para o cv. TMG 1179RR quanto para o TMG 4182. Para a dose de 400 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*, qualquer dose de *B. japonicum* utilizada proporcionou aumento significativo no número de nódulos planta⁻¹ quando comparado com a testemunha (não inoculada com *A. brasilense*). Isso pode ser devido ao *Azospirillum*, co-inoculado, assegurar a disponibilidade do tipo apropriado de raízes para a eficaz infecção pelo Bradyrhizobium em leguminosas, formando nódulos.

Molla et al. (2000) em estudo de laboratório, demonstrou que *Azospirillum* tem o potencial de estimular significativamente o crescimento da raiz, influenciando de forma positiva sobre o seu crescimento e desenvolvimento. Além disso, o mesmo autor afirmou que o *Azospirillum* não só estimulou o crescimento das raízes, mas também melhorou a iniciação e desenvolvimento de nódulos na soja co-inoculada com *Bradyrhizobium*, sugerindo que o *Azospirillum* pode atenuar o crescimento de pêlos radiculares”

aumentando os sítios de infecções pelo *Bradyrhizobium*, e conseqüentemente o número de nódulos por planta.

Tabela 4- Valores médios obtidos para índice de clorofila foliar (ICF), número de nódulos (NN), massa seca dos nódulos (MN), massa seca da raiz (MR) e quadro de variância de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

	Doses (mL ha ⁻¹)	ICF	NN	MN	MR
		-----planta ⁻¹ (1)-----			(g)
Cultivar TMG 1179RR					
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	46,6	8,0	0,04	2,3
	100	45,7	9,0	0,07	2,7
	200	45,4	8,0	0,03	3,4
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	45,0	7,0	0,04	2,7
	100	45,9	6,0	0,02	2,8
	200	46,5	8,0	0,05	3,2
	400	46,2	12,0	0,06	2,4
Valores de F					
Brd		0,73 ^{NS}	33,1**	1,4 ^{NS}	7,33**
Azo		0,55 ^{NS}	6,9**	3,0 ^{NS}	2,2 ^{NS}
Brd*Azo		0,88 ^{NS}	15,6**	0,3 ^{NS}	6,9**
CV(%)		6,6	17,7	4,2	28,16
Média Geral		45,9	8,0	0,04	2,8
Cultivar TMG 4182					
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	48,8	5,9	0,05	2,9
	100	48,3	6,5	0,05	3,1
	200	47,6	8,9	0,03	3,1
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	48,7	6,2	0,05	2,2
	100	48,2	7,1	0,05	3,2
	200	47,3	7,1	0,03	2,9
	400	48,8	8,0	0,05	3,9
Valores de F					
Brd		0,9 ^{NS}	13,4 ^{NS}	1,3 ^{NS}	0,5**
Azo		0,9 ^{NS}	2,21**	1,6 ^{NS}	18,4 ^{NS}
Brd*Azo		1,6 ^{NS}	4,9**	2,0 ^{NS}	7,4**
CV(%)		5,1	24,2	3,0	18,7
Média Geral		48,2	7,11	0,045	3,04

Além disso, Câmara (2000) relatou que plantas com 10 a 30 nódulos no florescimento apresentam condições suficientes para a obtenção de altos teores de

nitrogênio fixado e, conseqüentemente, alto rendimento de grãos, conciliando com os resultados obtidos pela aplicação de 400 mL ha⁻¹ *A. brasilense* nesse estudo.

Tabela 5- Valores médios do número de nódulos planta⁻¹ de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0 ⁽¹⁾	100	200 ⁽²⁾
		Número de nódulos planta ⁻¹		
<i>A. brasilense</i>	0	4	7	5
	100	5	7	4
	200	7	8	9
	400	14	10	12
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽³⁾	100	200
		Número de nódulos planta ⁻¹		
<i>A. brasilense</i>	0	3	7	9
	100	5	6	10
	200	6	6	9
	400	10	10	11

⁽¹⁾y=0,026x+3 (R²=0,95); ⁽²⁾y=0,02x+4 (R²=0,86); ⁽³⁾y=0,017x+3 (R²=0,99)

A massa seca das raízes das plantas de soja foi influenciada pelas doses de *A. brasilense* em todas as doses de *B. japonicum* utilizadas, tanto para o cv. TMG 1179RR quanto para o TMG 4182 (Tabela 6). É possível que o aumento da massa das raízes das plantas co-inoculadas seja uma resposta às alterações causadas pelo *A. brasilense* na morfologia radicular. Ferlini (2006) citou que nos casos onde se tem utilizado co-inoculação com bactérias diazotróficas, tem se observado plantas com sistema radicular mais desenvolvido devido à alta capacidade que as bactérias promotoras de crescimento têm em produzir fito-hormônios.

Quanto a interação dos tratamentos, para o cultivar TMG 4182 (Tabela 6), observou-se que ocorreu incremento na massa seca de raízes com a aplicação das doses de *A. brasilense* inclusive da testemunha (sem inoculação por *B. japonicum*) quando combinado com a inoculação em diferentes doses por *A. brasilense*, ou seja, os resultados obtidos independentes das doses utilizadas para a inoculação por *B. japonicum* se

adequaram em um modelo matemático linear e positivo em função do incremento das doses utilizadas para a inoculação das sementes por *A. brasilense*.

Estes resultados demonstram que o *A. brasilense* apresenta papel fundamental no ganho de massa pelo sistema radicular das plantas de soja, seja por proporcionar maior alongamento das raízes ou aumentar o volume dos tecidos radiculares dessa cultura. Isto porque mesmo onde não houve inoculação por *B. japonicum* houve aumento na massa seca das raízes à medida que se elevou as doses de *A. brasilense* utilizadas para a inoculação, em ambos cultivares.

Burdman et al. (1996) e Dardanelli et al. (2008) afirmaram que a presença do *A. brasilense*, tanto pela fixação de nitrogênio atmosférico quanto pela produção de fitohormônios, contribuem para o incremento do sistema radicular devido ao aumento de radicelas e/ou diâmetro das raízes, ratificando os resultados encontrados neste trabalho para os dois cultivares de soja estudadas.

Tabela 6- Valores médios da massa seca da raiz (g) de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100	200 ⁽¹⁾
		Massa seca da raiz (g)		
<i>A. brasilense</i>	0	1,3	1,9	2,1
	100	2,9	2,7	2,8
	200	3,0	3,1	3,5
	400	3,1	3,0	5,0
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽²⁾	100 ⁽³⁾	200 ⁽⁴⁾
		Massa seca da raiz (g)		
<i>A. brasilense</i>	0	2,2	2,2	2,3
	100	2,9	3,4	3,1
	200 ⁽⁵⁾	2,0	2,6	3,0
	400	4,6	4,1	4,0

⁽¹⁾ $y = 0,0073x + 2,08$ ($R^2=0,99$), ⁽²⁾ $y = 0,0055x + 1,96$ ($R^2=0,64$), ⁽³⁾ $y = 0,004x + 2,38$

($R^2=0,64$); ⁽⁴⁾ $y = -0,0039x + 2,42$ ($R^2=0,90$); ⁽⁵⁾ $y = 0,005x + 2,03$ ($R^2=0,98$).

Entretanto, Zuffo et al. (2015) não obtiveram respostas positivas com a inoculação conjunta com diferentes doses de *B. japonicum* e *A. brasilense* sobre a matéria seca de raízes, matéria seca dos nódulos e volume de raízes de soja cv. 'BRS Favorita RR', desenvolvido em condições controladas de laboratório. Do mesmo modo, Chibela et al.

(2015) sobre a avaliação de sementes de soja inoculadas com *B. japonicum* e *B. japonicum* + *A. brasilense*, em casa de vegetação, observaram que as plantas responderam de forma positiva, mas não de forma significativa para a dupla inoculação com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, quando foram analisados o número de nódulos, raiz e de peso seco de ambos, entretanto, quando avaliados em condições de campo, correlações positivas foram encontrados pelos mesmos autores com a inoculação conjunta das bactérias nas variáveis em questão.

A altura de inserção da primeira vagem, altura da planta, número de vagens chochas planta⁻¹, número de sementes vagem⁻¹ e a massa de 100 sementes não foram afetados pelas doses de *B. japonicum*, pelas doses de *A. brasilense*, ou pela combinação entre eles nos dois cultivares (Tabela 7).

O número de vagens cheias planta⁻¹ foi influenciado pela inoculação conjunta de *A. brasilense* e *B. japonicum* no cv. TMG 1179RR, o qual respondeu positivamente ao aumento das doses de *A. brasilense* nas doses 0 e 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*. Em plantas que não foram inoculadas com *A. brasilense* (testemunha) obteve-se maior número de vagens cheias com o uso da dose recomendada de *B. japonicum* para esta cultura (200 mL ha⁻¹).

Interação significativa para a inoculação conjunta de *A. brasilense* e *B. japonicum* foi observada na produtividade (kg ha⁻¹) nos dois cv. de soja utilizados. Para o TMG 1179RR houve aumento significativo com a co-inoculação nas três doses de *B. japonicum* utilizadas (0, 100 e 200 mL ha⁻¹) quando comparados com a testemunha (sem inoculação com *A. brasilense*). Com relação ao *A. brasilense*, observou-se que para as doses 100 e 200 mL ha⁻¹ houve aumento significativo da produtividade ao se utilizar 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum* (Tabela 9).

A produtividade da cv TMG 4182 também foi influenciada pelas doses de *A. brasilense* onde não foi utilizado o *B. japonicum*, havendo um aumento expressivo para a dose utilizada de 400 mL ha⁻¹. Em contrapartida, plantas que não receberam o tratamento com *A. brasilense* teve melhores produtividades com a utilização da dose recomendada de *B. japonicum*.

Tabela 7- Valores médios obtidos para altura de inserção da primeira vagem (AI), altura da planta (AP), número de vagens chochas e cheias por planta (CHO e CHA, respectivamente), número de grãos por vagem (NG), massa de mil sementes (M100), produtividade (PD) e quadro de variância, obtidos de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

	Doses (mL ha ⁻¹)	AI ------(cm)-----	AP	CHO	CHA	NS	M100 (g)	PD kg ha ⁻¹
Cultivar TMG 1179RR								
<i>B. japonicum</i>	0	7,99	49,70	2,82	46,14	2,48	11,53	2689,4
(Brd)	100	9,23	50,69	3,86	40,54	2,34	11,83	2365,9
	200	8,84	49,06	3,52	44,58	2,20	11,55	2287,5
<i>A. brasilense</i>	0	10,3	52,38	2,78	38,25	2,26	11,69	2113,4
(Azo)	100	7,91	49,08	2,59	40,85	2,39	11,62	2257,5
	200	8,66	49,37	4,24	49,49	2,46	11,61	2988,9
0-	400	7,90	48,43	3,99	46,41	2,25	11,63	2500,3
Valores de F								
Brd		2,9 ^{NS}	0,5 ^{NS}	0,6 ^{NS}	9,2 ^{**}	0,78 ^{NS}	0,05 ^{NS}	4,08 ^{**}
Azo		6,6 ^{NS}	1,8 ^{NS}	1,9 ^{NS}	21,6 ^{**}	2,12 ^{NS}	1,20 ^{NS}	9,18 ^{**}
Brd*Azo		0,7 ^{NS}	0,9 ^{NS}	0,9 ^{NS}	7,7 ^{**}	0,79 ^{NS}	1,28 ^{NS}	3,50 ^{**}
CV(%)		17,07	8,96	29,9	8,7	16,8	5,23	17,24
Média Geral		8,7	49,82	2,40	43,75	2,34	11,64	2447,6
Cultivar TMG 4182								
<i>B. japonicum</i>	0	11,7	73,1	9,58	43,94	2,12	13,2	2361,6
(Brd)	100	10,6	71,7	8,91	44,32	2,15	13,4	2362,3
	200	12,3	74,6	8,70	42,44	2,21	13,8	2532,8
<i>A. brasilense</i>	0	11,2	75,9	8,28	40,82	2,01	12,9	2199,8
(Azo)	100	12,0	74,6	9,02	43,26	2,06	13,4	2196,3
	200	10,9	71,4	10,5	44,18	2,11	13,7	2381,1
	400	12,0	70,6	8,48	46,00	2,18	14,0	2568,4
Valores de F								
Brd		2,6 ^{NS}	0,7 ^{NS}	0,4 ^{NS}	1,21 ^{NS}	0,98 ^{NS}	3,88 ^{NS}	0,98 ^{NS}
Azo		0,8 ^{NS}	1,5 ^{NS}	0,7 ^{NS}	4,23 ^{NS}	3,29 ^{NS}	2,04 ^{NS}	1,51 ^{NS}
Brd*Azo		1,1 ^{NS}	2,0 ^{NS}	0,6 ^{NS}	5,14 ^{NS}	2,27 ^{NS}	2,84 ^{NS}	3,4 ^{**}
CV(%)		18,8	9,6	29,0	8,3	8,67	6,18	13,9
Média Geral		11,5	73,1	90,6	43,56	2,16	13,49	2406,4

Hungria, Nogueira e Araújo (2013) também observaram incrementos adicionais estatisticamente significativos com a co-inoculação com *Azospirillum spp.*, na dose $2,5 \times 10^5$ células semente⁻¹ aplicado no sulco de semeadura, de 2,85% e 12,4% em comparação com tratamento somente inoculado com *Bradyrhizobium* na semente, em sojas cultivadas

em Londrina e Ponta Grossa (Paraná), respectivamente, no ano agrícola 2009/10, e, 9,2% e 4,8% no ano seguinte.

Tabela 8- Valores médios de número de vagens cheias planta⁻¹ de soja cv. TMG 1179RR, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

	Doses (mL ha ⁻¹)	<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽¹⁾	100 ⁽²⁾	200
		Vagens cheias planta ⁻¹		
	0 ⁽³⁾	35,0	37,0	42,0
<i>A. brasilense</i>	100	46,0	35,0	41,0
	200	57,0	41,0	51,0
	400 ⁽²⁾	46,0	49,0	45,0

⁽¹⁾ $y = -15,09x^2 + 35,9x + 34,5$ ($R^2 = 0,96$), ⁽²⁾ $y = 3,39x + 34,76$ ($R^2 = 0,915$), ⁽³⁾ $y = 7,0x + 34,76$ ($R^2 = 0,91$)

Segundo Hungria (2011) o maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em vários efeitos, como na melhor absorção da água e minerais pelas plantas, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, e conseqüentemente resultar em plantas mais vigorosas e produtivas, o que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho.

Os resultados obtidos por meio da avaliação da qualidade fisiológica das sementes, decorrentes da utilização de doses de *B. japonicum* e *A. brasilense*, bem como a interação entre eles foram significativas para primeira contagem (PC), germinação (G), massa de 100 sementes (M), índice de velocidade de germinação (IVG) e envelhecimento acelerado (ENV), para os dois cultivares de soja analisados (Tabela 10).

Para a PC, verificou-se pelo desdobramento entre os inoculantes que houve efeito significativo para o *B. japonicum* quando se utilizou a dose 100 mL ha⁻¹ no cv. TMG 1179RR (Tabela 11), havendo uma melhor germinação na primeira contagem, das sementes provenientes de plantas que não foram inoculadas com *A. brasilense*. Com a utilização do *A. brasilense*, observou-se que para a dose 100 mL ha⁻¹ houve uma melhor resposta onde se utilizou *B. japonicum* na dose 200 mL ha⁻¹, ao contrário para o uso de 200 e 400 mL ha⁻¹ que melhores respostas foram obtidas onde não se utilizou o *B. japonicum*.

Tabela 9- Valores médios da produtividade (kg ha⁻¹) de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0 ⁽¹⁾	100 ⁽²⁾	200 ⁽³⁾
		Produtividade kg ha ⁻¹		
<i>A. brasilense</i>	0 ⁽⁴⁾	1177,9	2316,6	2002,1
	100 ⁽⁵⁾	2226,8	2454,9	2858,1
	200 ⁽⁶⁾	2293,2	2743,1	3581,8
	400 ⁽⁷⁾	2298,8	2753,2	2479,2
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0	100	200
		Produtividade kg ha ⁻¹		
<i>A. brasilense</i>	0 ⁽⁸⁾	1239,0	2446,9	2802,9
	100	2165,0	2202,6	2062,2
	200 ⁽⁹⁾	1346,4	2184,9	2225,3
	400	2654,7	2285,8	2218,2

⁽¹⁾y= 140,4x+2076,3 (R²=0,6); ⁽²⁾y= 225,2x+2369,9 (R²=0,79); ⁽³⁾y=-1243,3x²+2764,3x+1943,4 (R²0,97); ⁽⁴⁾y= -1306,3x²+1330,5x+1977,9 (R²=1,0); ⁽⁵⁾y= 631,33x+2197,6 (R²=0,97); ⁽⁶⁾y=1288,6x+2228,4 (R²=0,97); ⁽⁷⁾y= -1456,8x²+1637,20x+2298,8 (R²=1,0); ⁽⁸⁾y=-1703,8x²+3267,7x+1239,0 (R²=1,0); ⁽⁹⁾y=-1596,5x²+2475,4+1346,4 (R²=1,0).

Para as sementes do cv. TMG 4182 os valores encontrados para PC mostraram que as sementes oriundas das plantas não inoculadas com o *B. japonicum* e para a utilização de 100 mL ha⁻¹ se ajustaram a um modelo quadrático, decorrentes das doses do co-inoculante utilizado, com melhor resposta onde se utilizou o *A. brasilense* na dose 400 m ha⁻¹.

A utilização do *A. brasilense* na dose 200 mL ha⁻¹, promoveu produção de sementes com melhor germinação na PC proporcionalmente ao aumento da dose do *B. japonicum*.

Tabela 10- Valores médios obtidos para primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), número de sementes mortas (M), índice da velocidade da germinação (IVG), envelhecimento acelerado (ENV), condutividade elétrica (COND), e quadro de variância, obtidos em análise das sementes de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

	Doses (mL ha ⁻¹)	PC -----(%)------	G	M (g)	IVG	ENV (%)	COND (μS cm ⁻¹ g ⁻¹)
Cultivar TMG 1179RR							
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	83,4	86,4	13,6	8,5	80,8	147,9
	100	75,1	76,4	23,6	7,6	73,9	159,4
	200	79,9	83,1	16,9	8,2	77,2	139,1
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	81,7	84,7	15,3	8,3	79,5	142,8(1)
	100	77,0	79,3	20,7	7,8	74,8	177,1
	200	79,0	81,2	18,8	8,0	77,0	144,1
	400	79,8	82,7	17,3	8,1	77,8	131,3
Valores de F							
Brd		18,8**	31,2**	31,2**	27,7**	21,4**	1,6 ^{NS}
Azo		2,7**	4,6**	4,6**	4,0**	5,1**	4,4**
Brd*Azo		8,0**	10,0**	10,0**	9,5**	16,6**	1,1 ^{NS}
CV(%)			12,3	20,0	4,4	38,5	21,7
Média Geral			2,3	0,14	8,08	77,3	148,8
Cultivar TMG 4182							
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	81,9	84,6	15,4	8,3	78,1	197,9
	100	79,3	82,9	17,1	8,1	77,3	187,9
	200	80,5	85,0	15,0	8,3	77,8	196,1
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	85,5	90,8	9,2	8,8	82,8	163,1
	100	76,2	77,5	22,5	7,7	72,5	233,7
	200	76,8	80,0	20,0	7,9	73,8	207,2
	400	83,7	88,3	11,7	8,6	81,7	171,9
Valores de F							
Brd		1,1 ^{NS}	1,3 ^{NS}	1,3 ^{NS}	1,3 ^{NS}	0,2 ^{NS}	0,8 ^{NS}
Azo		10,9**	30,8**	30,8**	24,5**	17,7**	22,4**
Brd*Azo		4,8**	8,3**	8,3**	7,8**	4,2**	20,1**
CV(%)		6,2	4,8	25,3	4,8	5,6	12,3
Média Geral		80,5	84,2	15,8	8,3	77,7	194,0

Notou-se que para a germinação total das sementes do cv. TMG 1179RR, com relação ao *B. japonicum* dentro de cada dose de *A. brasilense*, foi possível observar que para a dose 100 mL ha⁻¹ o valor médio de germinação mais expressivo foi obtido com o uso de 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, obtendo-se 85,5% das sementes geminadas (Tabela 12). Para as doses 200 e 400 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*, obteve-se sementes com maior poder germinativo onde não foi feita a co-inoculação com o *B. japonicum*.

Quanto a germinação do cv. TMG 4182, tanto onde não foi inoculado com *B. japonicum* quanto onde se utilizou a dose 100 mL ha⁻¹ obteve-se maiores valores da germinação com o uso de 400 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*. Entre tanto, observa-se que as sementes das plantas que receberam 200 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*, tanto na dose 0 quanto na dose 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, apresentaram baixa germinação.

Tabela 11- Valores médios da primeira contagem de germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100 ⁽¹⁾	200
		Primeira Contagem (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	84,0	79,0	82,0
	100 ⁽²⁾	75,0	72,0	85,0
	200 ⁽³⁾	89,5	73,0	74,5
	400 ⁽⁴⁾	85,0	76,5	78,0
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽⁵⁾	100 ⁽⁶⁾	200
		Primeira Contagem (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	84,5	84,5	83,5
	100	79,0	76,5	73,0
	200 ⁽⁷⁾	74,0	76,5	86,0
	400	86,0	85,5	83,0

⁽¹⁾ $y = -0,0001x^2 - 0,06x + 78,4$ ($R^2 = 0,85$), ⁽²⁾ $y = 0,0008x^2 - 0,11x + 75,0$ ($R^2 = 1,0$);

⁽³⁾ $y = 0,0009x^2 - 0,26x + 89,5$ ($R^2 = 1,0$), ⁽⁴⁾ $y = 0,0005x^2 - 0,135x + 85,0$ ($R^2 = 1,0$), ⁽⁵⁾ $y = 0,0003x^2 - 0,115x + 84,5$ ($R^2 = 0,99$), ⁽⁶⁾ $y = 0,0003x^2 - 0,135x + 91,0$ ($R^2 = 1,0$); ⁽⁷⁾ $y = 0,0004x^2 - 0,136x + 86,0$ ($R^2 = 1,0$)

O baixo poder germinativo das sementes dos dois cultivares pode ter sido influenciada pelas altas temperaturas observadas durante a execução do estudo, principalmente durante o período de transferência de matéria seca da planta para a semente, causando prejuízos na qualidade das mesmas. Marcos Filho (2005) relatou que temperaturas elevadas são consideradas as principais responsáveis pela maturação “forçada” em soja, provocando a translocação muito rápida das reservas, impedindo a destruição completa da clorofila e provocando a formação de sementes esverdeadas e com baixa qualidade fisiológica, fato observado após a colheita.

Tabela 12- Valores médios da germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100	200
		Germinação (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	88,0	79,5	86,5
	100 ⁽¹⁾	77,0	72,5	85,5
	200 ⁽²⁾	92,0	75,0	76,5
	400 ⁽³⁾	88,5	78,5	81,0
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽⁴⁾	100	200
		Germinação (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	87,0	89,5	88,5
	100	78,0	80,0	80,0
	200 ⁽⁵⁾	76,5	78,0	90,0
	400	89,5	90,0	89,0

⁽²⁾ $y = 0,001x^2 - 0,15x + 77,0$ ($R^2=1,0$); ⁽³⁾ $y = 0,0009x^2 - 0,26x + 92,0$ ($R^2=1,0$); ⁽⁴⁾ $y = 0,0006x^2 - 0,16x + 88,5$ ($R^2=1,0$); ⁽⁵⁾ $y = 0,001x^2 - 0,17x + 78,0$ ($R^2=0,99$)

Na Tabela 13 encontram-se os valores do índice de velocidade de germinação para os cultivares TMG 1179RR e TMG 4182. Nota-se que com o uso de 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, os dados da co-inoculação se ajustaram a um modelo matemático de ordem quadrática negativa na cv. TMG 1179RR. Para as quatro doses de *A. brasilense*, também se observaram ajuste dos dados a equações quadráticas negativas, porém, onde não foi feita inoculação com *B. japonicum*, com o uso de 200 mL ha de *A. brasilense* obteve-se sementes com maior índice de velocidade de germinação.

Para o cultivar convencional (TMG 4182) os valores obtidos para o tratamento testemunha (sem inoculação por *B. japonicum*) e inoculação por meio da aplicação de 100 mL ha⁻¹ do referido inoculante apresentaram, em ambos os casos, maior rapidez de germinação co-inoculados com 400mL ha⁻¹ de *A. brasilense*. O comportamento foi semelhante nesses tratamentos, sendo observado redução no índice de velocidade de germinação das sementes pela inoculação de até 200 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*.

Tabela 13- Valores médios de índice de velocidade de germinação de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100 ⁽¹⁾	200
		IVG		
<i>A. brasilense</i>	0 ⁽²⁾	7,6	7,9	8,4
	100 ⁽³⁾	7,6	7,2	8,7
	200 ⁽⁴⁾	9,1	7,4	8,6
	400	8,7	7,8	8,0
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽⁵⁾	100 ⁽⁶⁾	200
		IVG		
<i>A. brasilense</i>	0	7,8	8,5	8,6
	100	7,8	7,8	7,5
	200 ⁽⁷⁾	7,6	7,1	8,8
	400	8,8	8,8	8,3

⁽¹⁾ $y=0,00001x^2-0,006x+7,85$ ($R^2=0,80$), ⁽²⁾ $y=0,003x+7,7$ ($R^2=0,99$), ⁽³⁾ $y=0,00009x^2-0,013x+7,6$ ($R^2=1,0$), ⁽⁴⁾ $y=-0,00009x^2-0,03x+9,1$ ($R^2=1,0$), ⁽⁵⁾ $y=0,00004x^2-0,016x+8,8$ ($R^2=0,97$); ⁽⁶⁾ $y=0,00004x^2-0,015x+8,8$ ($R^2=0,97$); ⁽⁷⁾ $y=0,0001x^2-0,016x+7,6$ ($R^2=1,0$)

A aplicação de 100 mL ha⁻¹ do inoculante *B. japonicum*, associado à inoculação de doses do *A. brasilense* via semente, promoveu alterações nos valores do teste de envelhecimento acelerado do cultivar TMG 1179RR (Tabela 14). A interação entre os tratamentos proporcionou resultados de germinação que responderam de modo quadrático ao aumento das doses de *A. brasilense*, obtendo-se sementes com menor potencial fisiológico comparadas às não inoculadas por *A. brasilense*. Entretanto, para os tratamentos que não receberam o *B. japonicum*, obteve-se maior germinação das sementes com o aumento das doses de *A. brasilense* até a dose de 200 mL ha⁻¹, de forma que, possivelmente essas sementes estariam mais aptas a se desenvolverem em condições adversas

As sementes obtidas das plantas de soja transgênica, originárias da inoculação com 100, 200 e 400 mL ha⁻¹ de *A. brasilense* combinadas com as doses do inoculante *B. japonicum* apresentaram valores de germinação que também se ajustaram à um modo quadrático (Tabela 14). Com exceção para os resultados constatados para a inoculação de 100 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*, os valores de germinação e teste de envelhecimento acelerado apresentaram-se superiores para as plantas que não foram inoculadas por *B. japonicum*.

Os resultados médios da porcentagem de plântulas normais germinadas do cultivar TMG 4182 apresentou ajuste dos dados a equações quadráticas negativas para os tratamentos pelos quais, não houve inoculação das sementes (testemunha) e para as sementes obtidas das plantas inoculadas via semente por 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*. Deste modo, é possível observar que ao se utilizar a inoculação conjunta com *A. brasilense* na dose 400 mL ha⁻¹ obteve-se sementes com vigor igual ou maior as inoculadas somente com *B. japonicum* (Tabela 14).

Para o desdobramento da interação de *B. japonicum* dentro de cada dose de *A. brasilense* notou-se que a aplicação de 200 mL ha⁻¹ do inoculante apresentou valores mais expressivos de germinação (81,0%) quando associado com a inoculação de 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*. Contudo, onde se utilizou a dose de 400 mL ha⁻¹ do *A. brasilense* obteve-se sementes com maior vigor.

Tabela 14- Valores médios do envelhecimento acelerado de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100 ⁽¹⁾	200
		ENV (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	81,0	80,0	77,5
	100 ⁽²⁾	81,5	70,0	83,0
	200 ⁽³⁾	87,5	71,0	72,5
	400 ⁽⁴⁾	83,0	74,5	76,0
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0 ⁽⁵⁾	100 ⁽⁶⁾	200
		ENV (%)		
<i>A. brasilense</i>	0	84,5	82,5	81,5
	100	72,0	74,5	71,0
	200 ⁽⁷⁾	72,0	68,5	81,0
	400 ⁽⁸⁾	84,0	83,5	77,5

⁽¹⁾ $y=0,00019x^2-0,09x+79,1$ ($R^2=0,85$); ⁽²⁾ $y=0,0007x^2-0,09x+71,5$ ($R^2=1,0$); ⁽³⁾ $y=0,0009x^2-0,3x+87,5$ ($R^2=1,0$); ⁽⁴⁾ $y=0,0005x^2-0,1x+83,0$ ($R^2=1,0$); ⁽⁵⁾ $y=13,5x^2-26,6x+83,8$ ($R^2=0,96$); ⁽⁶⁾ $13,5x^2-27,0x+83,1$ ($R^2=0,97$); ⁽⁷⁾ $32,0x^2-23,0x+72,0$ ($R^2=1,0$); ⁽⁸⁾ $y=-6,5x+84,9$ ($R^2=0,81$).

No teste de CE, foi observado diferença estatística entre os tratamentos com as doses dos inoculantes utilizado (Tabela 15). No cultivar TMG 1179RR observou-se na análise de desdobramento do *A. brasilense* em função das diferentes doses de *B. japonicum* que, para a dose 100 mL ha⁻¹ os dados se ajustaram a uma função linear negativa, onde, obteve-se para a dose de 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, menor quantidade

de lixiviados liberados durante a análise de condutividade, indicando que as mesmas apresentaram melhor qualidade fisiológica e integridade das membranas.

Para a cultivar convencional, na dose 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum* houve ajuste dos dados a função quadrática positiva com ponto de máximo na dose 196 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*, tendência contrária quando comparada a dose 200 mL ha⁻¹ que combinada a dose 400 mL ha⁻¹ proporcionou sementes com menor condutividade elétrica observada na análise.

Tanto para as doses 100 mL ha⁻¹ quanto para as doses 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, obtiveram-se sementes com maior integridade das membranas quando combinadas a inoculação de 400 mL ha⁻¹ de *A. brasilense*.

Tabela 15- Valores médios da condutividade de sementes de soja cv. TMG 1179RR e TMG 4182, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0	100	200
		Condutividade elétrica (μS cm ⁻¹ g ⁻¹)		
<i>A. brasilense</i>	0	138,5	141,2	148,6
	100 ⁽¹⁾	193,9	192,0	145,4
	200	132,1	162,2	147,9
	400	127,0	152,2	114,6
		TMG 4182		
		<i>B. japonicum</i>		
		0	100 ⁽²⁾	200 ⁽³⁾
		Condutividade elétrica (μS cm ⁻¹ g ⁻¹)		
<i>A. brasilense</i>	0 ⁽⁴⁾	123,4	120,7	245,4
	100	219,6	247,8	233,6
	200 ⁽⁵⁾	224,8	231,9	164,9
	400	153,9	151,2	140,5

⁽¹⁾y= -0,24x²+201,3x (R²=0,78), ⁽²⁾y=-0,003x²+1,174x+131,07 (R²=0,88), ⁽³⁾y=-0,28x+245,56 (R²=0,88), ⁽⁴⁾y=0,61x+102,2 (R²=0,73), ⁽⁵⁾y=-0,004x²+0,44x+224,8 (R²=1,0), ⁽⁶⁾y=-0,4117x+213,57 (R²=0,84)

Os tratamentos combinados com *B. japonicum* e *A. brasilense*, no cultivar TMG 1179RR, influenciou o teor de nitrogênio e o valor da proteína bruta obtidos nas sementes deste cultivar (Tabela 16). Este comportamento não foi constatado para o cultivar convencional TMG 4182, o qual não foi observado qualquer tipo de influência dos tratamentos, sejam eles isolados ou combinados sobre o estado nutricional e bioquímico dos grãos de soja.

Tabela 16- Valores médios obtidos para teor de nitrogênio (N), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), fósforo (P), enxofre (S), teor de proteína bruta (PB) e quadro de variância, obtidos em análise das sementes de dois cultivares de soja (TMG 1179RR e TMG 4182), em função de doses de *Bradyrhizobium japonicum* e de *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selvíria-MS, 2014.

Tratamentos	Doses (mL ha ⁻¹)	----- (g kg ⁻¹) -----						
		N	Ca	Mg	K	P	S	PB
Cultivar TMG 1179RR								
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	68,5	15,7	8,8	4,8	3,3	3,0	428,1
	100	66,7	14,6	8,5	4,6	3,2	2,9	416,9
	200	67,9	14,9	8,5	4,8	3,1	2,9	424,8
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	66,8	15,4	8,6	4,8	3,0	2,8	417,5
	100	65,3	14,5	8,6	4,6	3,3	2,9	408,1
	200	67,2	15,2	8,7	4,8	3,3	3,0	420,0
	400	71,5	15,3	8,4	4,8	3,3	2,9	446,9
Valores de F								
Brd		1,0 ^{NS}	2,7	3,5	0,4	3,4 ^{NS}	2,5 ^{NS}	1,0 ^{NS}
Azo		6,1*	1,1	0,6	1,4	3,5 ^{NS}	1,9 ^{NS}	6,1**
Brd*Azo		9,4**	0,7	2,0	0,9	3,8 ^{NS}	1,9 ^{NS}	9,4**
CV(%)		4,73	7,8	4,63	7,8	6,0	5,3	4,73
Média Geral		67,72	15,1	8,56	4,8	3,2	2,9	423,2
Cultivar TMG 4182								
<i>B. japonicum</i> (Brd)	0	67,8	16,0	8,7	5,0	3,8	2,7	423,8
	100	69,3	14,0	8,4	4,9	3,7	2,8	433,1
	200	69,1	14,2	8,5	4,9	3,8	2,7	431,9
<i>A. brasilense</i> (Azo)	0	70,0	16,7	8,3	4,7	3,7	2,6	437,5
	100	68,4	13,7	8,4	4,5	3,8	2,8	427,5
	200	68,2	14,1	8,5	5,4	3,8	2,7	426,3
	400	68,0	14,3	8,6	5,1	3,8	2,8	425,0
Valores de F								
Brd		0,8 ^{NS}	2,5 ^{NS}	3,5 ^{NS}	0,1 ^{NS}	0,6 ^{NS}	1,6 ^{NS}	0,8 ^{NS}
Azo		1,0 ^{NS}	2,7 ^{NS}	1,8 ^{NS}	1,8 ^{NS}	0,7 ^{NS}	2,2 ^{NS}	1,0 ^{NS}
Brd*Azo		1,2 ^{NS}	1,9 ^{NS}	2,0 ^{NS}	0,8 ^{NS}	1,1 ^{NS}	0,7 ^{NS}	1,2 ^{NS}
CV (%)		4,7	16,9	2,9	10,0	4,9	6,1	4,7
Média Geral		68,7	14,7	8,4	4,9	3,8	2,7	429,4

Os resultados obtidos para o teor de nitrogênio nos grãos e proteína bruta, do cultivar TMG 1179RR (Tabela 17), aumentaram em função da aplicação de *A. brasilense*, com melhores resultados na dose de 400 mL ha⁻¹ nos tratamentos 0 mL ha⁻¹ (testemunha sem inoculação) e 100 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*, e até 200 mL ha⁻¹ de *A. brasilense* combinado com 200 mL ha⁻¹ de *B. japonicum*. Esse aumento nos valores de proteína bruta é consequência do incremento no teor de nitrogênio nas sementes, pois, o nutriente é

fundamental para a formação de aminoácidos nos tecidos celulares, que por sua vez é imprescindível na formação das longas cadeias polipeptídicas, que desempenharam suas funções proteicas nesses tecidos.

Tabela 17- Valores médios do teor de nitrogênio e de proteína bruta nas sementes de soja cv. TMG 1179RR, em função da interação entre *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, inoculados via semente. Selviria-MS, 2014.

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0 ⁽¹⁾	100 ⁽²⁾	200
		Teor de N		
<i>A. brasilense</i>	0 ⁽³⁾	64,4	64,6	64,9
	100 ⁽⁴⁾	70,4	61,2	64,9
	200 ⁽⁵⁾	58,5	70,1	73,1
	400	74,3	70,9	69,3

		TMG 1179RR		
		<i>B. japonicum</i>		
Doses (mL ha ⁻¹)		0 ⁽⁶⁾	100 ⁽⁷⁾	200
		Teor de Proteína Bruta (g kg ⁻¹)		
<i>A. brasilense</i>	0	402,5	403,8	405,6
	100 ⁽⁸⁾	440,0	382,5	405,6
	200 ⁽⁹⁾	365,6	438,1	456,8
	400	464,4	443,1	433,1

⁽¹⁾y= -0,24x²+201,3x (R²=0,78), ⁽²⁾y=0,02x+63,06 (R²=0,60), ⁽³⁾y= -0,03x+69,7 (R²=0,70), ⁽⁴⁾y=-0,03+69,3 (R²=0,73), ⁽⁵⁾y=0,07x+59,9 (R²=0,90),
⁽⁶⁾y=0,001x²-0,5x+439,9 (R²=0,55), ⁽⁷⁾y=0,13x+394,1 (R²=0,59), ⁽⁸⁾y=0,004x²-0,96x+439,98 (R²=1,0)
⁽⁹⁾y=0,455x+374,7 (R²=0,90)

A ausência de resultados no cultivar convencional para teor de N nas sementes e proteína bruta nos grãos pode ser um indicativo que exista uma diferença no grau de especificidade planta x bactéria. Dessa forma, estudos que possam elucidar esses fatos necessitam serem realizados em função da grande importância desse grão na alimentação humana e animal. Obviamente, ressalta-se que embora tenham ocorrido diferenças no comportamento dos dois materiais quanto à resposta, os teores observados foram muito semelhantes.

6 CONCLUSÕES

O *Azospirillum brasilense* aumentou o teor foliar de cálcio, o teor de nitrogênio e a proteína bruta das sementes da soja TMG 1179RR.

A inoculação da soja com *Azospirillum brasilense* isolada ou em co-inoculação influencia significativamente o desempenho morfofisiológico das raízes e proporciona maior nodulação pelas plantas da soja.

O uso de *Azospirillum brasilense* em co-inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* na dose de 200 mL ha⁻¹ de cada inoculante proporcionou aumento de 2403,9 kg ha⁻¹ na produtividade da soja cv. TMG 1179RR comparado com a testemunha (sem inoculação de ambos)

A inoculação não beneficiou o potencial fisiológico das sementes, porém houve indicativos que o uso de *Azospirillum brasilense* pode propiciar a obtenção de sementes de melhor qualidade na dose 400 mL ha⁻¹.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, U. B.; CAMPO, R. J. Efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência do *Bradyrhizobium* na fixação biológica de nitrogênio em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 527-534, 2001.
- AMBROSANO, E. J.; TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A.; RAIJ, B. V., QUAGGIO, J. A.; CANTARELLA, H. Leguminosas e oleaginosas. In: RAIJ et al. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1997. p. 189-191.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS- A.O.A.C. **Official methods of analysis of the A.O.A.C.** Washington: A.O.A.C., 1970. p.1015.
- ARATANI, R. G.; LAZARINI, E.; MARQUES, R. R. Adubação Nitrogenada em Soja na Implantação do Sistema Plantio Direto. **Biosc. J.**, Uberlândia, v. 24, n. 3, p. 31-38, 2008.
- BÁRBARO, I. M.; BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com Azospirillum e Bradyrhizobium visando incremento e produtividade.** [S. l.: s.n.], 2008. Disponível em: <www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculação/index.htm>. Acessado em: 2 fev. 2013.
- BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* em la nodulación, crecimiento y acumulación de N em el cultivo de soja. **Agriscientia**, Córdoba, v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Soja**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2012. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em: 5 jan 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395 p.
- BIZARRO, M. J. **Simbiose e variabilidade de estirpes de *Bradyrhizobium* associadas a cultura da soja em diferentes manejos de solo**. 2008. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, n. 1, p. 45-47, 1989.
- BURDMAN, S.; VOLPIN, H.; KIGEL, J.; KAPULNIK, Y.; OKON, Y. Promotion of nod gene inducers and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris*) roots inoculated with *Azospirillum brasilense* Cd, **American Society for Microbiology**, Washington, v. 62, n. 18, p. 3030 – 3033, 1996.
- CÂMARA, G. M. S. Nitrogênio e produtividade da soja. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). **Soja: tecnologia da produção II**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2000. p. 295-339.

CAMPOS, B. C.; HUNGRIA, M.; TEDESCO, V. Eficiência da fixação Biológica de N₂ por Estirpes de *Bradyrhizobium* na Soja em Plantio Direto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 583-592, 2001.

CAMPOS, B. H. C.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 30, n.1, p. 69-76, 2006.

CARVALHO, G. **As duas faces das espécies ativas de oxigênio (EAO's)**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2007. Disponível em:
<<http://www.genetica.esalq.usp.br/pub/seminar/GCarvalho-200701-Resumo.pdf>>. Acessado em: 8 fev 2013.

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. 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, 2008. p. 61-86.

CENTURION, J. F. Balanço hídrico na região de Ilha Solteira. **Científica**, Jaboticabal, v. 10, n. 1, p. 57-61, 1982.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. de F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v. 6, n.10, p. 1641-1649, 2015.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. 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, 2008. p. 87-95.

COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina 2004/2005**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 170 p.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 531-537, 2000.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2014/2015:** quarto levantamento – janeiro/2015. Brasília: Conab, 2015. v. 2, n. 4, 92 p.

DARDANELLI, M. S.; CÓRDOBA, F.; ESPUNY, R.; CARVAJAL, M. A. R.; DIAZ, M. E. S.; SERRANO, A. M. G.; OKON, Y. MEGIAS, M.; Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 11, p. 2713–2721. 2008.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, London, v. 6, n. 1, p. 282-286, 1988.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil, 1. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 4, n. 8, p. 144-152, 1990.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants**. Madison: Springer Verlag, 1987. p. 1-155.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 107- 149, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Tecnologia de produção de soja**: Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja, 2011. n. 15, 264 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA. **Manual do medidor eletrônico de teor de clorofila (ClorofiLOG / CFL 1030)**. Porto Alegre: Falker Automação Agrícola, 2008. p. 33.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***: artículos técnicos – agricultura. [S.l.: s.n.], 2006. Disponível em:
<http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glycine_s_articulos_800_AGR.htm>. Acessado: 2 fev 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FREITAS, M. C. M. A cultura da Soja no Brasil: O crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-12, 2011.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 46. (Documentos, 319).

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-35.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33., 2013, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa, 2013. p. 151-153.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, 395). Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>. Acesso em: 3 fev. 2013.

HUNGRIA, M.;CAMPOS, R. J. **Fixação biológica no Brasil é um exemplo de sucesso**: visão agrícola. Piracicaba: ESALQ, 2006. p. 152.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment**. Netherlands: Springer, 2005. p. 25-42.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 48. (Circular Técnica, 35).

KLOPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 39-43, 1989.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 4.

MACIEL, C. D. G.; POLETINE, J. P. Importância econômica e generalidade para o controle da ferrugem asiática na cultura da soja. **Revista Científica Eletrônica Agronomia**, Garça, v. 3, n. 5, p. 1-11, III, 2004.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. p. 319.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: Abrates, 1999, p.1-3.

MENDES, I. C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Resposta da soja à adubação nitrogenada na semeadura, em sistemas de plantio direto e convencional na Região do Cerrado. **Boletim de Pesquisa**, Brasília, v. 1, n. 12, p. 1-15, 2000.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M.; PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 33, n. 4, p. 457-463, 2001.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24

- OLIVEIRA, M. A.; LORINI, I.; HENNING, A. A.; MANDARINO, J. M. G.; CHIODELLI, A. Caracterização da qualidade comercial da soja colhida na safra 2011-2012 no Estado do Paraná e Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. **Anais...**Cuiabá: Brasília - DF, 2012. p. 1-5.
- PAIVA, B. M.; ALVES, R. M.; HELENO, N. M. Aspectos socioeconômicos da soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 230, p. 7-14, 2006.
- PAVANELLI, L. E.; ARAÚJO, F. F. Fixação biológica de nitrogênio em soja em solos cultivados com pastagens e culturas anuais no oeste paulista. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n.1, p. 21-29, 2009.
- PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 75, n. 5, p. 1143-1150, 2007.
- RAIJ, B. van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Estimulantes. In: RAIJ, B.van.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. rev. Campinas: IAC. 1997. p. 93-95 (Boletim Técnico, 100).
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A. **Métodos de análises de solo para fins de fertilidade**. Campinas: IAC, 1983. p. 1-31. (Boletim Técnico, 81).
- REETZ, E. R.; CARVALHO, C.; KIST, B. B.; POLL, H.; SANTOS, C. E.; SILVEIRA, D. N. **Anuário Brasileiro de Soja**. Santa Cruz: Gazeta, 2012. 156 p.
- REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.
- RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Wuppertal, v. 91, n. 11, p. 552-555, 2004.
- STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, Jena, v. 149, n. 1, p. 55-60, 1994.
- TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, n. 5, p. 1016–1024, 1979.
- ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; CAMPO, R. J.; GIANLUPPI, V.; HUNGRIA, M. **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2006. p. 9. (Comunicado Técnico, 20).
- ZUFFO, A. M.; REZENDE, P. M.; BRUZI, A. T.; OLIVEIRA, N. T.; SOARES, I. O.; GONTIJO NETO; G. F; CARDILLO, B. E. S.; SILVA, L. O. Co-inoculação of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.