

## CONSÓRCIOS MICROBIANOS MULTIFUNCIONAIS EM SOJA EM CASA DE VEGETAÇÃO

Murilo Francisco Travençoli Rossetim<sup>1</sup>, Letícia Tinoco Vieira<sup>2</sup>, Eryca Tiemi Okuda<sup>2</sup>, Antonio Carlos Vargas Motta<sup>3</sup>, Mariangela Hungria<sup>4</sup>, Glaciela Kaschuk<sup>3</sup>

1: Doutorando em Ciência do Solo, UFPR, [murilorossetim@hotmail.com](mailto:murilorossetim@hotmail.com)

2: Graduanda em Agronomia, UFPR.

3: Professor (a) do PPG em Ciência do Solo, UFPR, [glaciela.kaschuk@ufpr.br](mailto:glaciela.kaschuk@ufpr.br)

4: Pesquisadora da Embrapa Soja

### Introdução

A soja (*Glycine max* L. Merril) está entre as principais culturas agrícolas do mundo devido a sua alta capacidade produtiva, que só é possível devido à alta capacidade de realizar fotossíntese (KASCHUK et al., 2010) e de suprir toda a sua demanda de N através da simbiose com rizóbios (HUNGRIA et al., 2006), porém a simbiose está condicionada a presença de microrganismos na rizosfera.

A introdução dos microrganismos se dá através de inoculantes que incrementam a produtividade das culturas (CALERO HURTADO et al., 2019), sendo os produtos à base de *Bradyrhizobium* spp., *Azospirillum brasilense*, *Bacillus* spp. e *Trichoderma Harzianum* os mais comuns no mercado nacional.

As coinoculações *Bradyrhizobium-Azospirillum* (BARBOSA et al., 2021), *Bradyrhizobium-Trichoderma* (BARBOSA et al., 2022), e *Bradyrhizobium-Bacillus* (KASCHUK et al., 2022) aumenta o crescimento radicular e a quantidade de nódulos na cultura da soja e de outras leguminosas, sendo capaz assim de aumentar a produção.

Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas da cultura da soja às inoculações múltiplas com diferentes microrganismos e testar a hipótese de que as relações de competição entre microrganismos inoculados na rizosfera resultam em efeitos aditivos para o crescimento vegetal.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (Tabela 1), entre março e junho de 2022 em casa de vegetação, no setor de Ciências Agrárias da UFPR em Curitiba, PR, o solo utilizado no experimento foi classificado como Cambissolo, proveniente da Fazenda experimental Canguiri de Pinhais, PR, e a cultivar de soja utilizada foi AS 3590IPRO de ciclo indeterminado.

Análise de fertilidade foi determinada conforme Marques e Motta (2003) com os seguintes resultados para a amostra composta de solo nativo: pH CaCl<sub>2</sub> 4,33, pH SMP 4,88, M.O e C.O total (g dm<sup>-3</sup>) 66 e 38,4 e Ca, Mg, K e Al trocável e Na, CTC, CTC pH 7,0, H+Al e SB (cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) 3,7, 1,5, 0,1, 2,5, 0,02, 7,8, 18,5, 13,2 e 5,3 respectivamente, V % de 28, enquanto a textura foi determinada conforme Gee e Bauder (1986) para Argila, Silte e Areia (g Kg<sup>-1</sup>) em 638, 150 e 213.

Os teores de fertilidade demonstraram a necessidade de adubação e calagem. O solo foi primeiramente peneirado em peneira 4 mm e posteriormente feito a calagem com base em NEPAR (2019), os teores de P e K na recomendação para vasos de Malavolta (1980).

Cada unidade foi constituída por um vaso de sete litros, no qual foram semeadas 6 sementes, sendo ao final do período de germinação em 04 de abril, realizado o desbaste mantendo a planta mais vigorosa, com as duas coletas sendo realizadas nos seguintes estádios: V4= 4 folhas verdadeiras completamente expandidas e R1= início do florescimento. A primeira ocorreu em 05 de maio e a segunda em 06 de junho de 2022.

Durante a condução do experimento foi observado um atraso no crescimento, o que se deve ao fato de estar em uma casa de vegetação não climatizada, ficando suscetíveis às condições climáticas e, embora não estivessem expostas à chuva, os dias chuvosos ocasionaram uma menor incidência da luz solar. A temperatura média diária e a precipitação acumulada foi de 18,4° C e 186 mm para as plantas coletadas em V4 e de 16,8° C e 365 mm para as plantas em R1 (Gráfico 1).

Nos estádios V4 e R1, foram avaliados os índices de crescimento (Comprimento, massa de parte aérea, raiz e nódulos secos e número de nódulos), e a fração aérea moída em fragmentos menores de 2 mm, para determinação dos teores de nitrogênio e fósforo, sendo determinados pelo método de Kjeldahl e de digestão via seca respectivamente, conforme descrito por da Silva et al. (2009).

Foi avaliada a germinação a emergência das plantas, e os dados foram transformados em percentagem para a avaliação estatística.

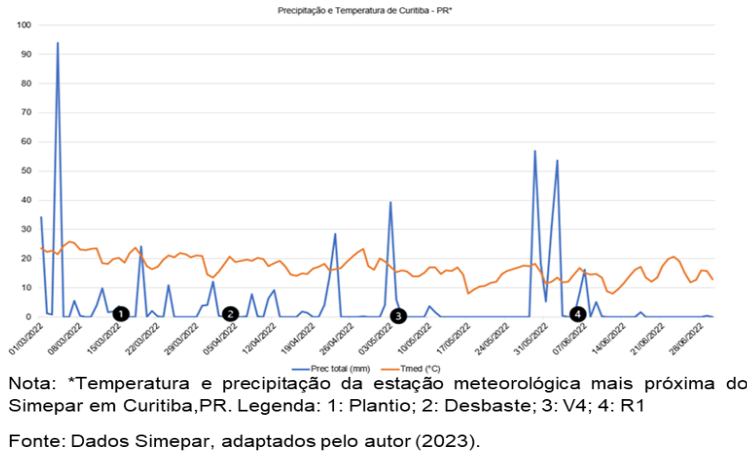
A análise estatística foi realizada para todas as variáveis e os dados submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para confirmação das premissas ANOVA, no software de acesso livre R (TEAM, 2013).

**Tabela 1.** Tratamentos de coinoculações de microrganismos promotores de crescimento vegetal em soja submetida ao experimento de casa de vegetação em Curitiba, PR, Brasil.

Inoculante	A	B	C	D
<b>Função</b>	Nodulação e Fixação Biológica de N <sub>2</sub>	Produção de Fitormônios	Solubilização de P	Controle biológico de fitopatógenos
<b>Microrganismos</b>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA 5079=CPAC 15 + <i>B. diazoefficiens</i> SEMIA 5080=CPAC 7	<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5 + <i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>Bacillus subtilis</i> CNPMS B2084 + <i>B. megaterium</i> CNPMS B119	<i>Trichoderma harzianum</i> Simbi-T5
<b>Concentração</b>	7,2x10 <sup>9</sup> células viáveis mL <sup>-1</sup>	4x10 <sup>8</sup> células viáveis mL <sup>-1</sup>	4x10 <sup>9</sup> células viáveis mL <sup>-1</sup>	1x10 <sup>9</sup> UFC (unidades formadoras de colônia) mL <sup>-1</sup>
<b>Dose recomendada</b>	1 mL Kg <sup>-1</sup>	2 mL Kg <sup>-1</sup>	1,4 mL Kg <sup>-1</sup>	2 mL Kg <sup>-1</sup>
<b>Tratamento</b>	<b>Inoculação: mL em 450 g de sementes</b>			
T1 = nenhum	-	-	-	-
T2 = A	0,32	-	-	-
T3 = B	-	0,9	-	-
T4 = C	-	-	0,65	-
T5 = D	-	-	-	0,9
T6 = A + B	0,32	0,9	-	-
T7 = A + C	0,32	-	0,65	-
T8 = A + D	0,32	-	-	0,9
T9 = A + B + C	0,32	0,9	0,65	-
T10 = A + B + D	0,32	0,9	-	0,9
T11 = A + C + D	0,32	-	0,65	0,9
T12 = A + B + C + D	0,32	0,9	0,65	0,9

Notas: a) Os inoculantes foram produzidos pela Bioma Industria, Comercio e Distribuição Ltda. e tinham menos de um mês de fabricação. b) A mistura de inoculação, foi adicionado 0,5 mL de selante e espessante à base de maltodextrina para dar maior aderência dos inoculantes às sementes.

**Gráfico 1.** Precipitação total (Prec total) e Temperatura média (Tmed) para o experimento de casa de vegetação em Curitiba, PR.



## Resultados e Discussões

As diferentes coinoculações não afetaram a altura e o comprimento de raízes em V4. Entretanto o T6 aumentou, enquanto T5 e T11 diminuíram o comprimento de raízes em R1. Além disso, a inoculação de apenas *Bradyrhizobium* resultou na maior massa de nódulos, e as coinoculações de *Bradyrhizobium* com *Azospirillum* (V4) e de *Bradyrhizobium* e *Trichoderma* (R1) resultaram nas menores massas de nódulos (Tabela 2), diferente do que foi demonstrado por Barbosa et al., (2022) onde a coinoculação entre *Bradyrhizobium* e *Trichoderma* seria capaz de aumentar o índice de crescimento de leguminosas.

As coinoculações dos tratamentos 11 e 12 resultaram em plantas com maior concentração de N na parte aérea no estágio V4, mas não no R1 (Tabela 3). Além disso, os tratamentos afetaram as concentrações e conteúdos totais de P nas plantas em estágio R1, (Tabela 3), embora as massas da parte aérea destes tratamentos não tenham diferido estatisticamente entre si (Tabela 2), o que pode sugerir que os microrganismos atuaram diretamente na distribuição dos fotossintatos para as plantas.

As plantas emergidas demonstraram baixa germinação para tratamentos com múltiplas inoculações (Tabela 3), porém fatores como o excesso de microrganismos no processo de inoculação ou mesmo a utilização de uma única cultivar podem justificar essa baixa germinação.

**Tabela 2.** Indicadores de crescimento vegetal de soja submetida às várias coinoculações de quatro diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal, e cultivadas sob condições de casa de vegetação em Curitiba, PR, Brasil.<sup>a,b,c,d</sup>

Tratamento	Altura (cm)		Comprimento de raiz (cm)		Massa de parte aérea seca (g)		Massa de raízes seca (g)		Massa de nódulos seca (mg)		Número de nódulos	
	V4	R1	V4	R1	V4	R1	V4	R1	V4	R1	V4	R1
T1	22,5	28,5	34,7	34,5ab	3,7	4,1	0,93a	1,17	22,0ab	40,3ab	10,5ab	14,0
T2	21,8	26,4	31,7	35,0ab	3,3	5,3	0,82a	1,29	24,0a	43,7ab	15,5a	14,7
T3	22,5	34,7	40,5	39,2ab	3,8	7,6	0,88a	1,71	23,0ab	179,8a	14,5ab	20,3
T4	19,4	30,3	35,2	31,5b	3,4	5,4	0,82a	1,13	11,0ab	71,5ab	7,7ab	13,8
T5	21,7	27,3	38,2	37,0ab	3,3	4,3	0,91a	1,21	15,3ab	25,2b	12,8ab	11,2
T6	18,7	32,5	32,3	46,5a	2,7	6,9	0,52a	1,73	6,3b	114,4ab	8,0ab	17,8
T7	18,7	26,2	31,0	41,0ab	3,2	5,4	0,73a	1,15	10,7ab	43,2ab	10,7ab	7,7
T8	20,3	21,5	33,3	34,5ab	2,9	3,9	0,64a	0,88	12,4ab	26,6b	9,3ab	8,2
T9	21,5	27,2	35,8	39,5ab	3,13	5,0	0,72a	1,22	17,0ab	75,2ab	15,0a	11,0
T10	21,2	26,3	36,3	41,3ab	3,3	4,2	0,83a	1,31	10,4ab	104,2ab	12,2ab	14,3
T11	20,2	22,5	29,8	30,8b	2,7	4,0	0,48a	0,89	8,5ab	26,5b	7,8ab	6,8
T12	20	27,5	32,7	41,0ab	3,0	5,1	0,56a	1,24	8,3ab	39,8b	6,7b	13,8

Notas: a) Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. b) Durante a ANOVA, os valores originais de massa de raízes seca e massa de nódulos seca (V4) e massa de raízes seca, massa de nódulos seca e número de nódulos (R1) foram extraídos de suas raízes quadradas para garantia das requeridas distribuições normais, mas, depois, as resultantes médias foram retornadas às suas potências. c) Os valores representam a média de seis repetições. d) O estágio V4 significa que pelo menos 50% das plantas já formaram o quarto trifólio. O estágio R1 significa que as plantas estão no início do florescimento.

**Tabela 3.** Nutrientes da parte aérea e plantas emergidas de soja submetida às várias coinoculações de quatro diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal, e cultivadas sob condições de casa de vegetação em Curitiba, PR, Brasil.<sup>a,b,c</sup>

Tratamento	Concentração (g kg <sup>-1</sup> )				Conteúdo (mg planta <sup>-1</sup> )				Plantas emergidas				
	N		P		N		P		%				
	V4	R1	V4	R1	V4	R1	V4	R1	7	10	15	18	21
T1	36,6b	32,0	3,6	3,7a	140	131	13	15	44,4a	55,6a	66,5a	69,2a	70,7a
T2	35,5b	31,2	3,8	2,8bc	120	160	13	13	44,5a	54,2a	68,0a	70,8a	70,8a
T3	37,3ab	29,6	3,9	2,4c	141	226	15	18	32,0ab	45,8ab	59,7a	62,5a	65,3ab
T4	38,8ab	31,6	3,5	2,7bc	135	163	11	13	14,1bc	25,1bc	36,0b	40,2bc	44,3bc
T5	39,3ab	30,4	4,1	2,6bc	128	131	15	11	9,8c	19,5c	26,5c	27,9c	29,3c
T6	37,3ab	30,1	3,7	2,6bc	103	201	8	18	7,1c	12,7c	27,8c	27,7c	27,8c
T7	38,9ab	29,9	4,6	2,6bc	135	170	15	15	7,0c	11,2c	18,0c	18,0c	19,4c
T8	40,2ab	30,7	4,1	3,3ab	118	116	13	13	5,7c	9,8c	18,1c	18,1c	22,3c
T9	40,9ab	30,2	4,4	2,7bc	128	143	15	11	9,8c	15,3c	27,8c	29,2c	32,0c
T10	37,9ab	30,2	3,9	2,6bc	128	120	13	11	5,7c	11,3c	18,0c	18,0c	19,4c
T11	42,7a	29,8	5,1	2,4bc	115	116	15	8	2,8c	9,8c	19,5c	20,8c	22,3c
T12	42,5a	30,4	4	2,7bc	131	153	15	13	7,0c	16,8c	23,7c	23,7c	23,8c

Notas: a) Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. b) Os valores representam a média de seis repetições. c) O estágio V4 significa que pelo menos 50% das plantas já formaram o quarto trifólio. O estágio R1 significa que as plantas estão no início do florescimento.

## Conclusões

A prática de múltiplas inoculações deve ser utilizada com cautela, uma vez que ocorre diminuição do crescimento vegetal no crescimento das plantas. O futuro é promissor, porém há um grande risco devido a baixa germinação das sementes, resultando em decréscimo produtivo mesmo com a capacidade de recuperação da cultura.

## Agradecimentos

Agradecemos a Capes, a Universidade Federal do Paraná, ao Departamento de Solos e Engenharia Agrícola e a Técnica do Laboratório de Biologia do Solo Heila Araújo Silva por seus auxílios na condução deste projeto de pesquisa.

## Referências

- Barbosa, J. Z., Hungria, M., Prior, S. A., Moura, M. C., Poggere, G., & Motta, A. C. V. (2022). Improving yield and health of legume crops via co-inoculation with rhizobia and *Trichoderma*: A global meta-analysis. *Applied Soil Ecology*, 176, 104493. doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104493
- Barbosa, J. Z., Hungria, M., da Silva Sena, J. V., Poggere, G., dos Reis, A. R., & Corrêa, R. S. (2021). Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. *Applied Soil Ecology*, 163, 103913. doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103913
- Calero Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., Olivera Viciado, D., Quintero Rodríguez, E., Peña Calzada, K., Theodore Nedd, L. L., & Jiménez Hernández, J. (2019). Effect of different application forms of efficient microorganisms on the agricultural productive of two bean cultivars. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8927-8935. doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76272
- da Silva, F. C. (2009). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica.
- Gee, G.W. and Bauder, J.W. (1986) Particle-Size Analysis. In: Klute, A., Ed., Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods, Agronomy Monograph No. 9, 2nd Edition, American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, WI, 383-411.
- Hungria, M., Franchini, J. C., Campo, R. J., Crispino, C. C., Moraes, J. Z., Sibaldelli, R. N. & Arihara, J. (2006). Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N<sub>2</sub> fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(4), 927-939. doi.org/10.4141/P05-098
- Kaschuk, G., Leffelaar, P. A., Giller, K. E., Alberton, O., Hungria, M., & Kuyper, T. W. (2010). Responses of legumes to rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis of potential photosynthate limitation of symbioses. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(1), 125-127. doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.017
- Kaschuk, G., Auler, A. C., Vieira, C. E., Dakora, F. D., Jaiswal, S. K., & da Cruz, S. P. (2022). Coinoculation impact on plant growth promotion: a review and meta-analysis on coinoculation of rhizobia and plant growth-promoting bacilli in grain legumes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(4), 2027-2037. doi.org/10.1007/s42770-022-00800-7
- Malavolta, E. (1980). *Elementos de nutrição mineral de plantas* (Vol. 1). São Paulo: Agronômica Ceres.
- Marques, R., & Motta, A. C. V. (2003). Análise química do solo para fins de fertilidade. in: Universidade Federal do Paraná. Departamento de Solos e Engenharia Agrícola. (2003). Curitiba, PR, Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas, 2, 81-102.
- NEPAR, N. E. P. (2019). Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. Curitiba, PR. SBCS, Nepar.