

## **Interação de inoculantes nitrogenados com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* em soja**

Eduardo Felipe Schwaab\*;<sup>1</sup> Celso Gonçalves de Aguiar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário Assiz Gurgacz, Colegiado de Agronomia, Cascavel, Paraná.

\*eduardoschwaab15@hotmail.com

**Resumo:** A inoculação de sementes de soja (*Glycine max L.*) com microrganismos é uma estratégia que pode contribuir para o aumento da produtividade de grãos e redução de custos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação de sementes de soja com bactérias nos componentes da produção e na produtividade de grãos. O experimento foi realizado em uma propriedade rural, no município de Santa Helena – PR, entre outubro de 2019 a março de 2020, com delineamento em blocos casualizados (DBC), com oito tratamentos e quatro repetições. Utilizou-se o teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de significância, com o auxílio do programa estatístico SISVAR 5.6. Os tratamento foram: T1- Testemunha, T2- *Bradyrhizobium*, T3- *Azospirillum*, T4-*Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, T5- *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*, T6- *Bradyrhizobium* + *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, T6-*Bradyrhizobium* + *Azospirillum*+ *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, T7 - *Bradyrhizobium* + *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* e T8- *Azospirillum* + *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*. Foram avaliados altura de planta, inserção da primeira vagem, número de vagens por planta, número de grãos por planta, peso de mil grãos, produtividade e umidade. A combinação de *Azospirillum* + *B. megaterium* e *B. subtilis*, proporcionou maior produtividade de grãos de soja em relação aos demais tratamentos e a testemunha. As variáveis altura de plantas, número de grãos por planta, número de vagens por planta e peso de mil grãos não foram afetadas pelos tratamentos.

**Palavras-chave:** *Glycine Max L.*; microrganismos; bactérias.

## **Interaction of nitrogen inoculants with *Bacillus megaterium* and *Bacillus Subtilis* in soybean**

**Abstract:** The inoculation of soybean seeds (*Glycine Max L.*) with microorganisms is a strategy that can contribute to increase grain productivity and reduce costs. The objective of this work was to evaluate the influence of inoculation of soybean seeds with bacteria on the components of production and grain yield. The experiment was carried out on a rural property, in the municipality of Santa Helena - PR, between October 2019 and March 2020, with a randomized block design, with eight treatments and four replications. He used the Scott-Knott test at the level of 5% of significance, with the aid of the statistical program SISVAR 5.6. The treatments were: T1 - Control, T2-*Bradyrhizobium*, T3- *Azospirillum*, T4- *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis*, T5 - *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*, T6 - *Bradyrhizobium* + *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis*, T6 -*Bradyrhizobium* + *Bacillus subtilis* + *Azillus* and *Azillus subtilis*, T7 - *Bradyrhizobium* + *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis* and T8 - *Azospirillum* + *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis*. Plant height, insertion of the first pod, number of pods per plant, number of grains per pod, weight of a thousand grains, productivity and moisture were evaluated. The combination of *Azospirillum* + *B. megaterium* and *B. subtilis*, provided greater productivity of soybeans in relation to the other treatments and the control. The variables plant height, number of grains per plant, number of pods per plant and weight of a thousand grains were not affected by the treatments.

**Keywords:** *Glycine Max L.*; microorganisms; bacteria.

## Introdução

O emprego de inoculação da soja se faz importante por ser uma prática sustentável e pela economia em fertilizantes químicos. Um grande exemplo é a inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* via semente para disponibilização de nitrogênio. Inoculantes a base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* podem solubilizar o fósforo, deixando disponível para a planta. Um estudo buscando avaliar a influência na produtividade da soja com essas bactérias e sua interação com os demais inoculantes se faz importante para garantir o melhor manejo para o produtor no período do plantio.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja com 115,1 milhões de toneladas com uma área de 35.875,8 milhões de hectares e produtividade média de 3.206 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB 2019). Segundo o levantamento de junho de 2019 da CONAB, o estado do Paraná ocupa a terceira colocação em níveis de área e produção no país, com 16,253 milhões de toneladas com área total de 5,438 milhões de hectares ficando atrás apenas do Mato Grosso e Rio Grande do Sul.

A soja é a cultura mais importante do país, pelo fato de abastecer o mercado interno com óleo comestível, produção de biodiesel, farelo na produção de suínos e aves, além de contribuir em peso nas exportações (CONTINI *et al.*, 2018).

Bactérias do gênero *Bacillus*, *Azospirillum* e *Rizobium* agem sobre o crescimento e promoção das plantas, pelos resultados positivos na germinação em sementes, emergência de plântulas e crescimento de plantas (ARAUJO, 2008). Os microrganismos também exercem função importante quando se trata do aumento da disponibilidade de fósforo presente no solo para as plantas, através de métodos que influenciam na estrutura, química, bioquímica e a fisiologia da rizosfera (MARRA, 2012).

Microrganismo do gênero *Bacillus megaterium* elevaram a produtividade e desenvolvimento da canola, mas em contrapartida, não houve absorção de fósforo, no entanto, *Bacillus firmus* ampliou a produtividade e ainda proporcionou acréscimo de absorção de fósforo na cultura do arroz (CARMO; ZANUZO; VIEIRA, 2016). Segundo os mesmos autores há relatos que *Bacillus subtilis* promovem maior fisiologia de metabólicos, fazendo com que a planta tenha maior absorção de nutrientes e ainda promove ajuste de hormônios da planta e influi na produção de hormônios como a auxina, giberelina e citocinina.

Em relação as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, são as consideradas associativas ou simbióticas, pois complementam na formação de estruturas especializadas na parte radicular da soja, onde desencadeia a fixação biológica (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2001).

Por sua vez o *Azospirillum* traz efeitos positivos em leguminosas quando associado com outros microrganismos, pois tem grande competência de desenvolver fito hormônios que estimulam o desenvolvimento radicular (ZUFFO, 2016).

Com a junção de *Bradyrhizobium* com *Azospirillum*, em inoculação da soja, ocorre maior número de nódulos presentes na raiz principal e na secundária, fazendo com que haja maior volume de solo explorado, e eficiência elevada na absorção de nutrientes (FILHO; SILVA; SOUZA, 2018).

Segundo Carmo, Zanuzo e Vieira (2016), a co-inoculação de *Bacillus subtilis* e *Rizobium* na cultura da soja, apresentou benefícios na fase de germinação e vigor, bem como aumento da massa de mil grãos, entretanto não apresentou ganhos em relação ao rendimento.

Os microrganismos podem produzir sideróforos, que são compostos metabólicos secundários, tendo como principal função a solubilização de fósforo, complexando metais como o ferro em estado insolúvel, com isso, o fósforo fixado em moléculas de ferro é solubilizado por meio dos sideróforos (BATISTA *et al.*, 2018). Em experimento realizado por estes mesmos autores, chegaram à conclusão que *Bacillus cereus*, *Burkholderia gladioli* e *Bacillus megaterium* foram mais competentes para a produção de sideróforos.

Conforme o descrito acima, o uso de microrganismos na agricultura, com destaque na soja, traz benefícios como maior desenvolvimento e economia de insumos. Tendo em vista que as bactérias do gênero *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, são menos exploradas que as do gênero *Rizobium*, o presente estudo tem a intenção de avaliar parâmetros de produtividade da soja com a inoculação de *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*, isolado e associados com outros microrganismos.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado em uma propriedade rural situada no município de Santa Helena, Paraná, Brasil ( $24^{\circ}57'07.39''S$ ,  $54^{\circ}19'40.4''W$  e com altitude de 258 m) no período de outubro de 2019 a março de 2020. O solo utilizado no estudo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico típico, segundo o sistema brasileiro de classificação de solos da EMBRAPA (SANTOS *et al.*, 2013). O clima da região é Cfa, subtropical mesotérmico úmido de acordo com a classificação de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados (DBC), com oito tratamentos e quatro repetições, totalizando 32 parcelas. Cada parcela foi constituída por  $6\text{ m}^2$  de área útil. Os tratamentos utilizados são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1 – Descrição dos tratamentos.**

Tratamentos	Doses (50 kg)
1 Testemunha	0 mL
2 <i>Bradyrhizobium</i>	150 mL
3 <i>Azospirillum</i>	150 mL
4 <i>Bacillus megaterium</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	150 mL
5 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	150+150 mL
6 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i>	150+150+150 mL
7 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i>	150+150 mL
8 <i>Azospirillum</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i>	150+150 mL

Nos tratamentos onde são utilizados a bactéria do gênero *Bradyrhizobium*, a espécie é a *japonicum*, sendo de fato *Bradyrhizobium japonicum* e para o *Azospirillum* sendo o *Azospirillum brasiliense*.

A área para o plantio do experimento foi realizada em solo revolvido por subsolador e grade niveladora. A semeadura foi realizada na segunda quinzena de outubro de 2019. O espaçamento entre linhas da semeadura foi de 0,50 m com deposição de 10,2 sementes por m da cultivar BS2606. A semeadura mecanizada foi realizada em área total de 55 m de comprimento por 21 m de largura. Para adubação de base utilizada foi utilizado 247,93 kg ha<sup>-1</sup> do formulado NPK 02-20-18, mesma adubação utilizada comumente pelo produtor. As sementes foram inoculadas no momento do plantio. Para cada tratamento foram inoculadas 5 kg de sementes para maior homogeneização do inoculante.

Foram realizados manejos, como aplicação de herbicida, inseticidas e fungicidas de acordo com o padrão do produtor e capinas quando necessário.

Os parâmetros avaliados foram: estande final, altura de planta, inserção da primeira vagem, número de vagens por planta, número de grãos por planta, peso de mil grãos (PMG), produtividade de grãos e umidade. A altura de plantas foi avaliada com trena manual milimétrica quando a planta atingiu o estádio de enchimento de grãos completo (estádio R<sub>7</sub>). A altura de inserção da primeira vagem foi obtida através de medição com régua milimétrica após sua formação. Número de vagens por planta e número de grãos por planta foi avaliado através da contagem manual com 10 plantas por parcela. O PMG e peso por parcela foi obtido através de balança digital. A umidade de cada parcela foi avaliada logo após a colheita.

Os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e caso significativo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de significância, com o auxílio do programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2010)

## Resultados e Discussão

Devidamente representado na Tabela 2, observa-se o resumo da análise de variância dos quadrados médios, abrangendo todos os parâmetros avaliados.

**Tabela 2** – Resumo da análise de variância dos parâmetros avaliados.

FV	GL	IV --cm--	GP	VP	PMG ---g---	ALT --cm--	PRO --kg--
<b>Tratamento</b>	7	4.13 *	506.19 ns	209.12 ns	107.62 ns	17.35 ns	513490
<b>Bloco</b>	3	0.84	302.61	136.6	133.26	96.12	276860
<b>Erro</b>	21	1.63	639.78	171.72	87.64	22.97	113409
<b>CV (%)</b>		9.31	12.5	13.32	6.39	4.7	8.81

ALT=Altura da planta em cm; PRO= produtividade por ha.

A inserção de primeira vagem e a produtividade de grãos foram influenciados pelos tratamentos ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 3). A altura de plantas, número de grãos por planta, número de vagens por planta e peso de mil grãos não foram afetados pelos tratamentos.

A média para os parâmetros onde não houve diferença estatística, foi de 101,9 cm para altura de plantas, 202,3 grãos por planta, 98,4 vagens por planta e PMG de 146,5 g.

De acordo com a Tabela 3, observou-se que a combinação de *Azospirillum* + *B. megaterium* e *B. subtilis*, proporcionou maior produtividade de grãos de soja (4520,1 kg/ha) em relação aos demais tratamentos inclusive a testemunha. Este resultado pode ser devido a associação de dois gêneros de bactérias, que é conhecida por inoculação mista ou co-inoculação, a qual pode resultar em um efeito sinérgico, e resultar em melhores do que quando utilizados de forma isolada (BÁRBARO *et al.*, 2009). Esses feitos benéficos provenientes da co-inoculação estão associados à produção de fito-hormônios, especialmente auxinas, citocininas e giberelinas (TIEN *et al.*, 1979). As alterações na morfologia do sistema radicular das plantas inoculadas com *Azospirillum* estão relacionadas com o aumento na produção e secreção de auxinas, que são fito-hormônios envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas (DOBBELAERE; OKON, 2007).

**Tabela 3** - Média da produtividade em kg/ha. Inserção primeira vagem (cm).

Tratamentos	Pro (kg ha <sup>-1</sup> )	Inserção (cm)
1 Testemunha	3825,6 b	14,5 a
2 <i>Bradyrhizobium</i>	3223,1 b	14,7 a
3 <i>Azospirillum</i>	3637,4 b	14,3 a
4 <i>Bacillus megaterium</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	3898,4 b	12,6 b
5 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	3911,8 b	12,5 b
6 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + <i>Bacillus</i>	3754,7 b	12,5 b
7 <i>Bradyrhizobium</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i>	3809,8 b	14,7 a
8 <i>Azospirillum</i> + <i>B. megaterium</i> e <i>B. subtilis</i>	4520,1 a	14,5 a
P Valor	0,0033	0,0475
CV (%)	8,81	9,31

Fonte: Arquivo pessoal (2020).

Segundo Fipke (2015), de forma geral, a co-inoculação em plantas aumenta a inserção de primeira vagem, o que não se observa neste trabalho, onde a co-inoculação de *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* + *Bacillus*, reduziram a inserção da primeira vagem na haste da planta (Tabela 3 ).

Araújo e Hungria (1999), observaram que a co-inoculação de metabólitos de *Bacillus* junto com as estirpes de *Bradyrhizobium* resultaram em ganhos no rendimento superando a testemunha. No entanto no presente trabalho a combinação que propiciou maior rendimento de grãos foi *Azospirillum* + *B. megaterium* e *B. subtilis* (Tabela 3). Essas variações são devidas aos fatores do local de implantação do experimento (BASHAN; BASHAN, 2010).

Estudos realizados por Battisti e Simonetti (2015) e Fachinelli (2018), utilizando inoculação e co-inoculação com *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* na cultura da soja, não verificaram efeito significativo dos tratamentos em relação ao número de vagens por planta e na produtividade.

Resultados de experimento de co-inoculação têm apresentado variabilidade no aumento de produtividade, o que pode ser devido as populações das bactérias existentes no solo já apresentarem estirpes eficientes e em número adequados (BIZARRO, 2008).

Um dos principais motivos para os casos de resultados não satisfatórios para a altura de plantas, número de grãos por planta, número de vagens por planta e peso de mil grãos se deve a fatores abióticos, que estão interagindo com as bactérias (BASHAN; DE BASHAN, 2010).

Mendes, Hungria e Vargas (2000), também não verificaram efeito da co-inoculação de *Azospirillum brasiliense* com *Bradyrhizobium japonicum* na altura de plantas.

### Conclusões

A combinação de *Azospirillum* + *B. megaterium* e *B. subtilis*, proporcionou maior produtividade de grãos de soja em relação aos demais tratamentos inclusive a testemunha.

As variáveis altura de plantas, número de grãos por planta, número de vagens por planta e peso de mil grãos não foram afetadas pelos tratamentos.

### Referências

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. de M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, p.711-728, 2013.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum/Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, 1999.

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 456–462, 2008.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth. A critical assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, p. 77–136, 2010

BATISTA, F. C.; FERNANDES, T. A.; ABREU, C S DE.; OLIVEIRA, M. C. DE.; RIBEIRO, V. P.; GOMES, E. A.; PAULA, U. G. DE.; MARIEL, L. I. E.; PAIVA, C. A. DE. O. Potencial de microrganismos rizosféricos e endofíticos de milho em solubilizar o fosfato de ferro e produzir sideróforos. **EMBRAPA** 2018.

BATTISTI, A. M; SIMONETTI, A.P.M. Inoculação e Co inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasiliense* na cultura da soja. **Revista Cultivando o Saber**, v.8, n.3, p. 249-301, 2015.

BIZARRO, M. J. **Simbiose e variabilidade de estírpes de Bradyrhizobium associadas à cultura da soja em diferentes manejos do solo**. UniversidadeFederal do Rio Grande do Sul, RS. Brasil. (97p), 2008.

CARMO, V. M. M.; ZANUZO, M. R.; VIEIRA, C. V. **Doses de Bacillus subtilis na cultura da**

**soja.** 2016. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso - bacharel em agronomia) Universidade Federal de Mato Grosso campus de Sinop, Sinop.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos – nono levantamento.** Disponível em:. Acesso em setembro/2019.

CONTINI, E.; GAZZONI, D.; ARAGÃO, A.; MOTA, M.; MARRA, R. **Série, desafios do agronegócio brasileiro: Parte 1, complexo soja - Caracterização e desafios tecnológicos.** Disponível em:  
<<https://www.embrapa.br/documents/10180/0/COMPLEXO+SOJA++Caracterização+e+Desafios+Tecnológicos/709e1453-e409-4ef7-374c-4743ab3bdcd6>>. Acesso em: outubro/2019.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses.In: Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. **Elmerich, C. & Newton, E.** (Eds), p. 145-170, 2007.

FACHINELLI, R. **Influência da inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja.** 2018. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados 2018.

FERREIRA, D. F Sistemas de análises estísticas - Sisvar 5.6 **Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2010.**

FILHO, J. M.; SILVA, C. H. S.; SOUZA, J. E. B. DE. Desempenho Agronômico e produtividade da cultura da soja com a co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasiliense*. **Agronomic Journal**, v. 2, n. 2, p. 48–59, 2018.

FIPKE, G. M. **Co-Inoculação e pré-inoculação em sementes em soja.** 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria 2015.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação Biológica Do Nitrogênio na cultura da soja. **Embrapa Soja**, n. 35, p. 48, 2001.

MARRA, L. M. **Solubilização de fosfatos por bactérias e sua contribuição no crescimento de leguminosas e gramíneas.** 2012. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MENDES, C.I.; HUNGRIA, M.; VARGAS, T. A.M. Resposta da soja à adubação nitrogenada na semeadura, em sistemas de plantio direto e convencional na região do cerrado. **Embrapa Cerrados**, 15p, 2000.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; DOS ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; FILHO, J. C. A.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. 3 ed. Brasília, DF: **Embrapa**,2013.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasiliense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979

ZUFFO, A. M. **Aplicações de Azospirillum brasiliense na cultura da soja.** 2016. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras.