

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MURILO FRANCISCO TRAVENÇOLI ROSSETIM

CONSÓRCIOS MICROBIANOS MULTIFUNCIONAIS NA PROMOÇÃO DO
CRESCIMENTO DE SOJA

CURITIBA

2023

MURILO FRANCISCO TRAVENÇOLI ROSSETIM

CONSÓRCIOS MICROBIANOS MULTIFUNCIONAIS NA PROMOÇÃO DO
CRESCIMENTO DE SOJA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora: Profa. Dra. Glaciela Kaschuk

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Vargas Motta

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA

Rossetim, Murilo Francisco Travençoli

Consórcios microbianos multifuncionais na promoção do crescimento de soja. / Murilo Francisco Travençoli Rossetim. – Curitiba, 2023.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação Ciência do Solo.

Orientadora: Prof.^a Dra. Glaciela Kaschuk.

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Vargas Motta.

1. Bradyrhizobium. 2. Azospirillum brasilense. 3. Bacillus subtilis. 4. Soja – Inoculação. I. Kaschuk, Glaciela. II. Motta, Antonio Carlos Vargas. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação Ciência do Solo. IV. Título.

Bibliotecário: Douglas Alex Jankoski CRB-9/1167

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA DO SOLO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **MURILO FRANCISCO TRAVENÇOLI ROSSETIM** intitulada: **CONSÓRCIOS MICROBIANOS MULTIFUNCIONAIS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE SOJA**, sob orientação da Profa. Dra. GLACIELA KASCHUK, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2023.

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 18:47:34.0

GLACIELA KASCHUK

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 17:23:32.0

ANTONIO CARLOS VARGAS MOTTA

Coordenador(a)

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 17:05:51.0

MARIANGELA HUNGRIA DA CUNHA

Avaliador Externo (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA
AGROPECUÁRIA)

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 17:21:34.0

SONIA PURIN DA CRUZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Aos meus pais Ari e Maria Rosa, à minha irmã Aline e à minha sobrinha Alice,
dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora pelo dom da vida;

Aos meus pais, irmã, cunhado e sobrinha por todo amor e apoio;

À minha orientadora professora Glaciela Kaschuk, por aceitar me orientar e mostrar o caminho da pesquisa de qualidade e por ter compartilhado o seu amor pela docência, pesquisa e, principalmente, pela microbiologia do solo, pela qual nutro uma grande amizade;

Ao meu coorientador professor Antonio Carlos Vargas Motta por me fascinar ainda mais pela fertilidade do solo;

Aos meus professores da graduação, em especial, Marcos Antonio Dolinski, Bruna Ramalho e Marcelle Michelotti Bettoni, por incentivarem-me a seguir os caminhos da pós-graduação;

À Doutora Araina Hulmann Batista, minha orientadora de iniciação científica na graduação, e muito mais do que isso, uma verdadeira amiga, que esteve presente em cada momento de dúvida e sempre disposta a me ouvir sobre os desafios da pós-graduação e da vida;

Aos meus tios, Antonio Seguro Mikos “in memoriam” e Maria Rosa Domingues Mikos, e meu padrinho Marcio Domingues Mikos, pela disponibilização da área para implantação do experimento de campo em Campo Largo, PR, e por toda a sua ajuda incondicional nesta pesquisa;

Ao agricultor Mauricio Domingues Mikos, pelo seu apoio durante a condução do experimento de campo;

Aos professores da pós-graduação em Ciência do Solo – UFPR, em especial, Jairo Calderari de Oliveira Júnior, Fabiane Machado Vezzani, Volnei Pauletti e André Carlos Auler, por suas aulas e discussões que contribuíram para o desenvolvimento dessa dissertação.

Aos funcionários, professores e demais servidores do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola – UFPR, em especial, à Denise de Conti, pelo apoio

administrativo e amizade, e às técnicas Heila Silva de Araújo, Carla Gomes Albuquerque, Fabiana Gavelaki, Josianne Meyer e Maria Aparecida Carvalho Santos, pelo auxílio nas análises laboratoriais e sua amizade em cada atividade realizada;

À professora Christiane de Queiroz Pereira Pinto e ao técnico de laboratório Jair José de Lima do Departamento de Nutrição – UFPR, pelo auxílio em análises laboratoriais;

À professora Maristela Panobianco Vasconcellos e à técnica de laboratório Roseli do Rocio Beggiora do Departamento de Fitotecnica e Fitossanitarismo – UFPR, pelo auxílio em análises laboratoriais;

Aos meus amigos e colegas da pós-graduação, em especial, Yanka Rocha Kondo, Bárbara Elis Santos Ruthes, Rafael Hennel Túlio, Ana Paula Marés Mikosik, Nicolas dos Santos Trentin e Pedro Henrique Malucelli Mariotto, por sua amizade e companheirismo;

Aos amigos Marcelo Trybek, Leticia Tinoco Vieira, Regiane Leal e Antonio Carlos Dallabrida Filho;

À Universidade Federal do Paraná, ao Departamento de Solos e Engenharia Agrícola e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, pela oportunidade de cursar o Mestrado em Ciência do Solo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante todo o período de estudos;

Às Doutoradas Mariangela Hungria e Sônia Purin da Cruz e ao Doutor Antonio Carlos Vargas Motta por comporem a banca de defesa e suas contribuições para a finalização desse trabalho;

A todos, muito obrigado!

“...O homem destrói a terra, rasgando-a, queimando-a e esta, por vingança,
dá-lhe flores e frutos...”. (Autor Desconhecido)

RESUMO

A inoculação com microrganismos promotores crescimento vegetal é uma prática agrônômica que visa melhorar a nutrição, a saúde e o rendimento das culturas agrícolas. A inoculação da soja com bactérias simbióticas do gênero *Bradyrhizobium* spp., que fixam N₂, pode garantir todo o N requerido pela cultura. Além disso, a coinoculação de *Bradyrhizobium* spp. com *Azospirillum* spp., e/ou com *Bacillus* spp., e/ou com *Trichoderma* spp. pode aumentar o rendimento de grãos por mecanismos complementares de promoção de crescimento vegetal. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar as respostas da cultura da soja às inoculações múltiplas com microrganismos dos gêneros *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus* e *Trichoderma*, a fim de estabelecer estratégias que permitam o uso combinado de bioinsumos com múltiplas funções, e diminuir o uso de insumos químicos. Foram conduzidos testes de germinação em câmara controlada, e ensaios em casa de vegetação e a campo com 12 diferentes tratamentos de inoculações múltiplas em soja, durante a safra 2021/2022. O experimento de campo foi conduzido em Campo Largo, PR, Brasil, até o estágio de maturação fisiológica. As sementes também foram inoculadas e incubadas em câmara controlada para medir a taxa de germinação. O experimento de casa de vegetação foi conduzido em Curitiba, PR, Brasil, sendo as avaliações de massa das raízes, parte aérea e nódulos e número de nódulos foram feitas nos estádios V4 e R1. As variáveis avaliadas no campo foram: número de plantas emergidas por parcela, massa das raízes, parte aérea e nódulos secos, número de nódulos, concentração e conteúdo de N e P no tecido da parte aérea no estágio R1 (início do florescimento), rendimento de grãos, concentração de proteína e lipídeos nos grãos no estágio de maturação fisiológico. No campo e na casa de vegetação, os tratamentos com mais de dois microrganismos resultaram em diminuição no número de plantas emergidas por parcela. No teste de germinação em câmara, a inoculação de apenas *Bradyrhizobium* aumentou em 50% a germinação em relação à média dos tratamentos com múltiplas inoculações onde foram avaliados os menores índices de germinação. Além disso, no campo e na casa de vegetação, os tratamentos de inoculação afetaram a massa e o número de nódulos, sendo que a inoculação apenas com *Bradyrhizobium* resultou em maior nodulação do que os tratamentos com inoculações múltiplas. Os tratamentos com *Trichoderma* resultaram em grãos com menores teores de lipídeos. A coinoculação de *Bradyrhizobium* com mais microrganismos resultou na diminuição de plantas emergidas e/ou germinadas, porém não houve diferença no rendimento de grãos quando comparado com a inoculação somente com *Bradyrhizobium*, o que sugere que a inoculação múltipla pode reduzir o número de plantas por área, mas que durante o desenvolvimento vegetal pode haver uma compensação de crescimento.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium diazoefficiens*. *Azospirillum brasilense*. *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Trichoderma harzianum*. lipídeos nos grãos. Germinação. Densidade de plantas.

ABSTRACT

The inoculation with plant growth-promoting microorganisms is an agronomic practice aimed at improving nutrition, health, and yield of agricultural crops. Inoculating soybeans with symbiotic bacteria of the genus *Bradyrhizobium* that fix N₂ can ensure all the N required by the crop. Additionally, the co-inoculation of *Bradyrhizobium* spp. with *Azospirillum*, and/or with *Bacillus*, and/or with *Trichoderma* can increase grain yield through complementary mechanisms of plant growth promotion. The objective of this study was to evaluate the responses of soybean crops to multiple inoculations with microorganisms of the genera *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, and *Trichoderma*, in order to establish strategies that allow for the combined use of multi-functional bio-inputs and decrease the use of chemical inputs. Germination tests were conducted in controlled chamber, greenhouse, and field trials with 12 different multiple inoculation treatments on soybeans were carried out during the 2021/2022 growing season. The field experiment was carried out in Campo Largo, PR, Brazil, until the physiological maturity stage, while the greenhouse experiment was conducted in Curitiba, PR, Brazil. In the controlled chamber, the seeds were inoculated and incubated to measure the germination rate. At the V4 and R1 stages, evaluations were made of root mass, shoot mass, nodule mass, and number of nodules. In the field, several variables were evaluated, including the number of emerged plants per plot, root mass, shoot mass, and dry nodules mass, as well as the N and P concentration and content in shoot tissue at the R1 stage (beginning of flowering), grain yield, and protein and lipid concentration in grains at the physiological maturity stage. The results from both the field and greenhouse experiments showed that treatments containing more than two microorganisms led to a decrease in the number of emerged plants per plot. During the germination test in the chamber, the inoculation with only *Bradyrhizobium* increased the germination rate by 50% when compared to the average of the multiple inoculation treatments, where the lowest germination rates were observed. Furthermore, the inoculation treatments in both the field and greenhouse experiments influenced the mass and number of nodules, with the inoculation of only *Bradyrhizobium* resulting in greater nodulation compared to treatments with multiple inoculations. The use of *Trichoderma* in the inoculation treatments resulted in lower lipid content in the grains. The results suggest that co-inoculation of *Bradyrhizobium* with additional microorganisms led to a decrease in the number of emerged and/or germinated plants. However, there was no significant difference in grain yield between multiple inoculation treatments and inoculation with only *Bradyrhizobium*. These findings indicate that while multiple inoculation may reduce the number of plants per area, but compensatory growth during vegetative development may occur.

Keywords: *Bradyrhizobium diazoefficiens*. *Azospirillum brasilense*. *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Trichoderma harzianum*. Grain lipids. Germination. Plant density.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1 RESULTADOS	26
3.2 DISCUSSÃO	34
4 CONCLUSÕES	39
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	40
6 REFERÊNCIAS.....	41
APÊNDICE 1 – TABELAS	47
APÊNDICE 2 – FIGURAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

A semente da cultura agrícola é introduzida no solo, um ambiente rico em diversidade de microrganismos (GARBEVA, VAN VEEN e VAN VELDAS, 2004), onde ao germinar tende a estimular os microrganismos rizosféricos que sejam benéficos para o seu crescimento (SOKOLOVA, AKIMOVA e VAISHLYA, 2011). No entanto, nem sempre esses microrganismos estão presentes e, portanto, para estabelecer relações rizosféricas benéficas para o crescimento das plantas, nesses casos é necessário que o agricultor introduza microrganismos selecionados na forma de inoculantes.

Os inoculantes têm papel importante no crescimento vegetal porque contribuem com o fornecimento de nutrientes para as diferentes culturas e, por isso, são de vital importância para a construção de uma agricultura mais sustentável e de menor custo. A fixação biológica de nitrogênio (FBN), a solubilização de fosfatos, a produção de fitormônios e o controle biológico estão entre os principais processos associados aos microrganismos promotores de crescimento vegetal mais utilizados em inoculantes na atualidade, aumentando a produtividade das culturas e, por consequência, melhorando os níveis de carbono (C) orgânico do solo e a qualidade do solo (KAWALEKAR, 2013). Existem inúmeras evidências de que a inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal favorece a nutrição de plantas (VASSILEV e MALUSA, 2021; HÖFLICH, WIEHE e KÜHN, 1994), a sua capacidade de resistir às intempéries biofísicas (HRYNKIEWICZ e BAUM, 2012) e incrementa a produtividade das culturas (CALERO HURTADO et al., 2019).

Neste estudo, quatro grupos de microrganismos promotores do crescimento vegetal foram testados em soja (*Glycine max* L. Merrill), sendo inoculados sozinhos ou em consórcio durante o plantio. A soja é considerada uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo, sendo produzida em larga escala por países como Brasil, EUA, Argentina e China (PAGANO e MIRANSARI, 2016) principalmente devido ao seu alto teor de proteico e lipídico (SUGIYAMA et al., 2015), que só é possível devido à alta capacidade de realizar fotossíntese (RODRÍGUEZ-NAVARRO et al., 2011; KASCHUK et al. 2010; 2012) e de suprir toda a sua demanda de N através da simbiose com rizóbios, bactérias simbiontes que se associam à soja e assimilam compostos de C fornecidos pela planta e, através desse processo, catalisam a FBN (HUNGRIA et al., 2006; KASCHUK et al., 2016).

No caso da soja, os principais rizóbios pertencem ao gênero *Bradyrhizobium*. A inoculação da soja com estirpes eficientes de *Bradyrhizobium* é altamente recomendável, pois essa prática reduz os custos de produção e aumenta a competitividade da cultura no mercado internacional (ZILLI et al., 2010). Além de aumentar a produtividade (LEGGETT et al., 2017), a inoculação de *Bradyrhizobium* auxilia na mitigação da emissão de gases do efeito estufa (HÉNAULT e REVELLIN, 2011), visto que diminui a utilização de adubos químicos como a ureia, que é sintetizada com grande impacto para o meio ambiente (ALFIAN e PURWANTO, 2019).

Recentemente, os agricultores começaram a testar a coinoculação, que consiste na adição de dois ou mais microrganismos no processo de inoculação. Zeffa et al. (2020) concluíram, através de uma meta-análise, que a coinoculação de *Bradyrhizobium* com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) (*Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*) aumentou o número de nódulos em 11,4% e a biomassa das raízes em até 12,8%, mas não o teor de N da parte aérea e a produtividade de grãos.

Em experimentos envolvendo *Azospirillum brasilense*, a coinoculação *Bradyrhizobium*-*Azospirillum* resultou em um aumento de 39% de leghemoglobina nos nódulos, mostrando a alta atividade da FBN pelas bactérias, e de 23% do teor de N da matéria seca da soja em relação ao tratamento com apenas *Bradyrhizobium* (GROPPIA, ZAWOZNIK, TOMARO, 1998). A coinoculação de bactérias *Bradyrhizobium*-*Azospirillum* traz benefícios como o aumento do crescimento radicular e da quantidade de nódulos na cultura da soja, conforme também demonstrado por Barbosa et al. (2021) em uma meta-análise.

Da mesma forma, a seleção de bactérias rizosféricas do milho (*Zea mays* L.) do gênero *Bacillus* sp. (por exemplo. *B. subtilis* e *B. megaterium* (reclassificada como *B. Priestia*)) auxiliam na nutrição de plantas, visto que podem contribuir com a solubilização do fósforo (P) retido pelas cargas elétricas do solo adsorvido especificamente e precipitado com Al e Fe (SAXENA et al. 2020; OLIVEIRA-PAIVA et al. 2020). O P é um elemento que fica altamente retido pelo solo na forma PO_4^{3-} , sendo convertido para formas disponíveis (HPO_4^{2-} e H_2PO_4^-) pelas bactérias pela atividade fosfatase ácida, produção de ácidos orgânicos, sideróforos e prótons (SAEID, PROCHOWNIK e DOBROWOLSKA-IWANEK, 2018). *Bacillus* spp. são bactérias que aumentam a solubilização do P e, conseqüentemente, conseguem

promover o crescimento da raiz (ARAÚJO, HENNING e HUNGRIA, 2005; KASCHUK et al. 2022). A utilização do *Bacillus* em coinoculação com o *Bradyrhizobium* incrementa a nodulação e o rendimento da cultura da soja (ARAÚJO e HUNGRIA, 1999). Kaschuk et al. (2022) confirmaram, através de meta-análise, que a coinoculação de *Bradyrhizobium-Bacillus* em soja aumenta o tamanho das raízes, da parte aérea, dos nódulos e o conteúdo de N, de forma geral demonstrando que a coinoculação é uma prática viável para aumentar a produtividade da cultura.

A busca por novas tecnologias, que substituíssem o uso de pesticidas químicos levou ao desenvolvimento de inoculantes à base de microrganismos do gênero *Trichoderma* para o controle de doenças de raízes (WOO et al., 2014) e, indiretamente, o aumento do rendimento das culturas. A coinoculação de *Bradyrhizobium-Trichoderma* em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) estimulou o crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como aumentou os teores de P e N (MENDES et al., 2020). Iturralde et al. (2020) relacionaram o aumento da nodulação em soja por *Bradyrhizobium* com a liberação de auxinas por *Trichoderma*, mesmo na presença de nitrato em alta concentração. Além disso, em outro estudo (BONONI et al., 2020), a inoculação de *Trichoderma* na soja em solos ácidos da região amazônica incrementou o crescimento das plantas e auxiliou na solubilização de P. Finalmente, a meta-análise de Barbosa et al. (2022) demonstrou que a coinoculação de *Bradyrhizobium-Trichoderma* pode ser uma prática promissora de sustentabilidade agrícola, porque resulta em aumento o tamanho de raízes e o rendimento de grãos, enquanto reduz a incidência de patógenos e o consumo de agrotóxicos.

Os argumentos acima evidenciam que a coinoculação envolvendo *Bradyrhizobium* e outro microrganismo promotor de crescimento vegetal pode ser muito benéfica à cultura da soja. O produtor rural, ao saber de inoculantes com diferentes espécies pode tentar usá-los simultaneamente, na crença de que quanto mais microrganismos, melhor, porém, isso pode não ser verdade. A eficácia comprovada de cada um deles, como demonstrada nesta revisão e mesmo nas coinoculações demonstradas não garantem a eficiência deles nas combinações realizadas no trabalho a seguir.

É preciso ter em mente que o solo rizosférico é um ecossistema rico em diversidade e determinado por relações ecológicas que incluem a competição por recursos, o parasitismo e a antibiose (JAYARAMAN et al., 2021). É possível que o

efeito do incremento na produção vegetal devido à inoculação de um microrganismo possa estar muito mais relacionado com a supressão de populações microbianas locais do que efetivamente por alguma característica diretamente agrônômica da estirpe, posto que pode haver antagonismo e antibiose entre os microrganismos inoculados e a população local (TRABELSI e MHAMDI, 2013). Alguns inoculantes deixam populações transientes dos microrganismos introduzidos e não afetam a rizosfera a longo prazo, como é o caso da inoculação de *Azospirillum*, que afeta muito pouco a comunidade microbiana de solos agrícolas apesar de seu papel imprescindível na promoção do crescimento vegetal (AMBROSINI, SOUZA e PASSAGLIA, 2016). Já outros inoculantes deixam resíduos de populações resilientes, capazes de sobreviver depois que o ciclo da cultura é encerrado, como é o caso das inoculações de *Bradyrhizobium*, fazendo com que o solo inoculado continue tendo populações vivas dos microrganismos introduzidos (AMBROSINI, SOUZA e PASSAGLIA, 2016). Nesse sentido, é possível que a aplicação múltipla de diferentes inoculantes traga consequências negativas ao estabelecimento inicial da cultura devido ao impacto das relações ecológicas entre os microrganismos da rizosfera, mas talvez não tenha consequências na produção final de grãos, devido aos ajustes metabólicos das plantas e das comunidades microbianas da rizosfera.

Apesar de todos os processos ecológicos da rizosfera, é importante destacar que os benefícios que as múltiplas inoculações têm trazido à agricultura mundial devido à indução de nódulos em leguminosas e FBN, à produção de fitormônios, à solubilização de P e ao controle biológico demonstram que há um crescimento constante na busca por uma agricultura cada vez mais eficiente e sustentável. Todavia, isso o que não significa uma linha de chegada, mais sim um longo caminho a percorrer para avaliar o impacto da utilização destes produtos a curto, médio e longo prazo.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar as respostas da cultura da soja às inoculações múltiplas com microrganismos dos gêneros *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus* e *Trichoderma*, e testar a hipótese de que as relações de competição entre microrganismos inoculados na rizosfera resultam em efeitos aditivos para o crescimento vegetal, a fim de estabelecer estratégias que permitam o uso de bioinsumos multifuncionais, diminuindo o uso de insumos químicos, sem prejudicar a produção agrícola.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Tratamentos microbianos

Os tratamentos foram delineados priorizando o *Bradyrhizobium*, que reconhecidamente substitui a adubação nitrogenada na cultura da soja e, a partir dele, inserindo a coinoculação com os demais microrganismos propostos, gerando ao total 12 tratamentos para os diferentes experimentos conduzidos. Os microrganismos utilizados, suas formulações e dosagens utilizadas estão dispostos na tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos de coinoculações de microrganismos promotores de crescimento vegetal em soja submetida aos experimentos de campo, casa de vegetação e incubadora B.O.D. em Campo Largo, PR, e Curitiba, PR, Brasil.

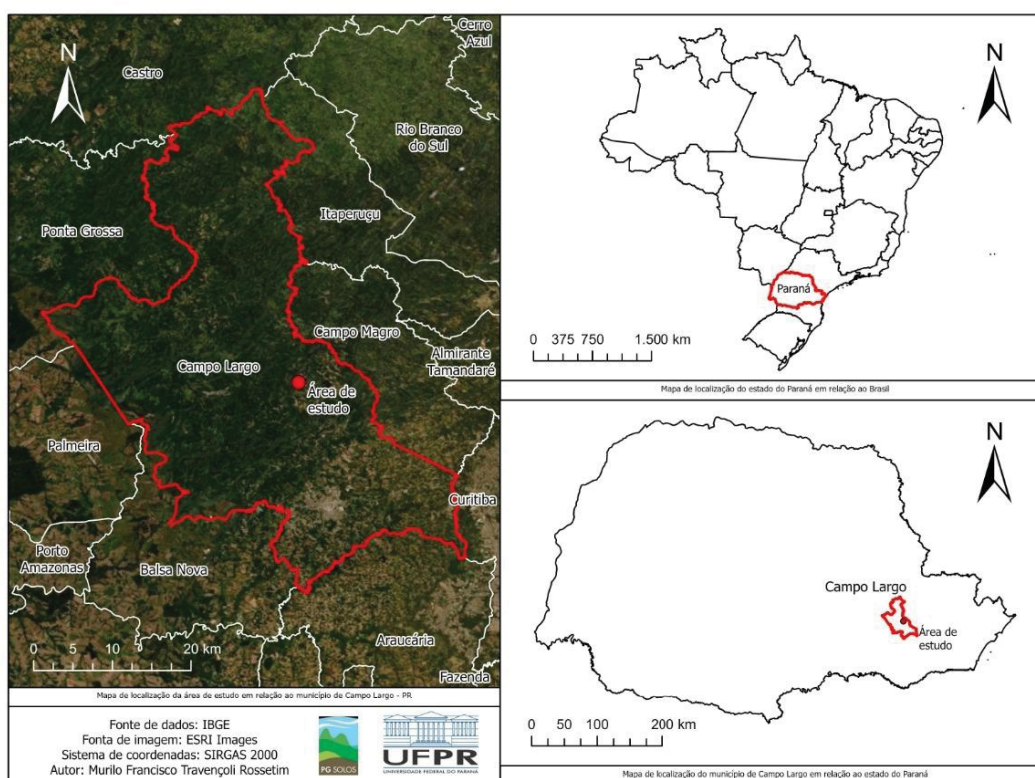
Inoculante	A	B	C	D
Função	Nodulação e Fixação Biológica de N ₂	Produção de Fitormônios	Solubilização de P	Controle biológico de fitopatógenos
Microrganismos	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA 5079=CPAC 15 + <i>B. diazoefficiens</i> SEMIA 5080=CPAC 7	<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5 + A. <i>brasilense</i> Ab-V6	<i>Bacillus subtilis</i> CNPMS B2084 + <i>B. megaterium</i> CNPMS B119	<i>Trichoderma harzaianum</i> Simbi-T5
Concentração	7,2x10 ⁹ células viáveis mL ⁻¹	4x10 ⁸ células viáveis mL ⁻¹	4x10 ⁹ células viáveis mL ⁻¹	1x10 ⁹ UFC (unidades formadoras de colônia) mL ⁻¹
Dose recomendada	1 mL Kg ⁻¹	2 mL Kg ⁻¹	1,4 mL Kg ⁻¹	2 mL Kg ⁻¹
Tratamento	Inoculação: mL em 450 g de sementes			
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 Indústria, Comércio e Distribuição Ltda. e tinham menos de um mês de fabricação. b) À mistura de inoculação, foi adicionado 0,5 mL de selante e espessante à base de maltodextrina para dar maior aderência dos inoculantes às sementes.

2.1. Experimento de Campo

O experimento foi conduzido no município de Campo Largo – PR nas coordenadas 25°18'49.0"S 49°33'49.7"W (Figura 1) em Cambissolo Húmico Distrófico Típico (SiBCS, 2018), a altitude de 934 m. A área está sob manejo de plantio direto há mais de 8 anos. O produtor utiliza anualmente inoculantes nas culturas da soja e milho.

Figura 1 Área de estudo no município de Campo Largo-PR, e sua localização em relação ao estado do Paraná e ao Brasil.



Fonte: O Autor, (2023).

Na classificação de Alvares et al. (2013), o clima na área é do tipo Cfb. A sucessão de culturas foi de soja, cebola (*Allium cepa* L.) e milho nas três safras anteriores a instalação do experimento. Cerca de duas semanas antes da colheita do milho (14 de abril de 2021) realizou-se a amostragem de solo da área na camada de 0-20 cm, com pá de corte, para análise química e de granulometria dividindo a área

total em três amostras para melhor caracterização. Para cada amostra foram coletados cinco pontos amostrais (Apêndice 1 e 2, Tabela 1 e Figura 1).

Considerando a média do resultado das análises químicas, granulométricas e teores totais (Tabela 2) não foi necessária a recomendação de adubação e calagem para a área, com base em NEPAR (2019).

Entre a cultura do milho e a instalação do experimento a área recebeu a introdução de Aveia Preta (*Avena strigosa* L.), para que a área não ficasse descoberta durante o pousio (Apêndice 2, Figura 2).

Para a implantação foi utilizado um conjunto trator New Holland modelo TL75E e plantadora Vence Tudo modelo Panther SM 6000 para abertura de linhas com 0,45 cm de espaçamento em sistema de plantio direto em 16 de novembro de 2021.

A soja de cultivar AS 3590IPRO de ciclo indeterminado foi implantada no período de 23 a 26 de novembro de 2021, em parcelas anteriormente delimitadas, juntamente com os diferentes tratamentos. Após a abertura, a semeadura ocorreu com uma plantadora manual e a inoculação ocorreu sobre as sementes. As sementes utilizadas para cada tratamento foram dispostas em sacos plásticos identificados e em sequência, antes do plantio os inoculantes foram misturados com as sementes respeitando as recomendações do fabricante com o auxílio de uma pipeta automática para maior precisão.

Entre um tratamento e outro a plantadora manual foi desinfetada com álcool 70% para diminuir ao máximo possíveis contaminações entre os tratamentos.

O experimento foi dividido em blocos em delineamento de blocos casualizados (DBC) (Figura 4), com cinco repetições. Foram utilizados diferentes microrganismos em forma de inoculantes comerciais, em diferentes combinações e gerando, ao final, juntamente com o controle, 12 tratamentos.

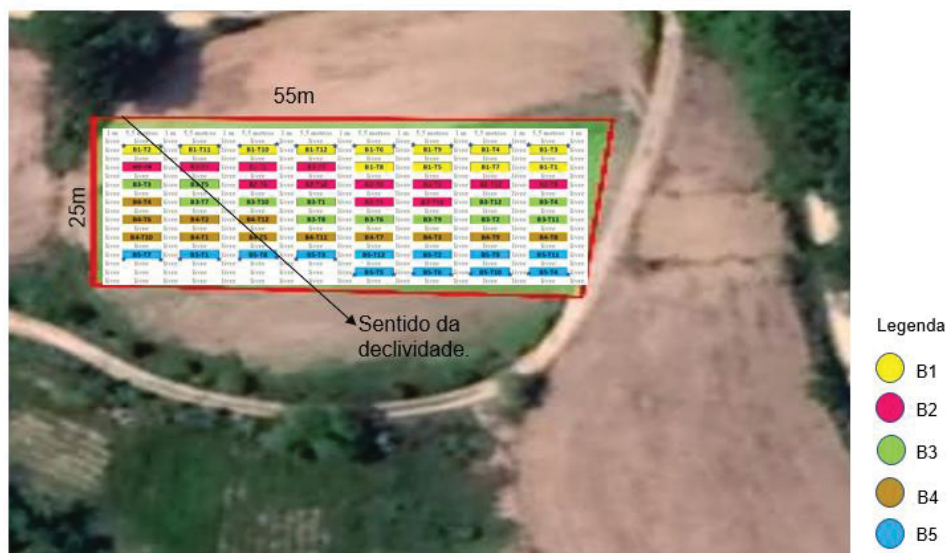
As doses foram aplicadas de acordo com as recomendações do fabricante e ajustadas para a quantidade de sementes utilizadas em cada parcela por tratamento. Considerando uma população ótima de 350.000 plantas por hectare, foi ajustada a quantidade de sementes a ser utilizada por tratamento chegando a um valor ótimo de 450 g.

Tabela 2. Análise química, granulométrica e classificação taxonômica dos solos utilizados em experimentos com inoculações múltiplas em soja cultivada em campo, em Campo Largo, PR, e casa de vegetação, em Curitiba, PR, durante a safra de 2021/2022. ^{a,b,c}

		Campo		Casa de vegetação		
Coleta		Pousio	Colheita	Solo nativo	V4	R1
Profundidade		0-20 cm	0-10 cm			
Indicador	Unidade					
pH CaCl ₂		5,7	5,5	4,33	5,2	5,08
pH SMP		6,8	6,6	4,88	5,62	5,61
M.O	g dm ⁻³	61	69	66	74	75
C.O. total	g dm ⁻³	36	40	38,4	43,2	43,7
P Mehlich-1	mg dm ⁻³	112	112,3	6,5	36,0	26,7
P total	mg Kg ⁻¹	973	975	246,9	489,9	454,9
Ca trocável	cmol _c dm ⁻³	7,6	7,9	3,7	13,6	12,3
Ca total	g Kg ⁻¹	0,9	0,86	0,4	1,2	1,5
Mg trocável	cmol _c dm ⁻³	1,9	1,62	1,5	6,6	5,7
Mg total	g Kg ⁻¹	0,4	0,38	1,1	1,6	1,5
K trocável	cmol _c dm ⁻³	0,4	0,63	0,1	0,5	0,4
K total	g Kg ⁻¹	0,4	0,56	2,0	2,5	2,4
Na	cmol _c dm ⁻³	0,02	0,01	0,02	0,06	0,08
Fe	g Kg ⁻¹	12,7	12,14	25,1	24,5	25,2
Mn	mg Kg ⁻¹	144	130,6	122,2	131,4	122,5
Cu	mg Kg ⁻¹	11,9	7,8	16,8	16,3	16,2
Al trocável	cmol _c dm ⁻³	0	0	2,5	0	0
H+Al	cmol _c dm ⁻³	2,7	3,16	13,2	1,9	1,9
CTC	cmol _c dm ⁻³	9,9	10,1	7,8	20,7	18,4
CTC pH 7,0	cmol _c dm ⁻³	12,6	13,33	18,5	22,6	20,3
SB	cmol _c dm ⁻³	9,9	10,1	5,3	20,7	18,4
V	%	78	76	28	91	90
Argila	g Kg ⁻¹	425	437	638	638	675
Silte	g Kg ⁻¹	108	120	150	163	175
Areia Total	g Kg ⁻¹	466	443	213	200	150
Areia Fina	g Kg ⁻¹	82	94	***	***	***
Areia Grossa	g Kg ⁻¹	384	348	***	***	***
Classificação	SiBCS	Cambissolo Húmico Distrófico Típico		Cambissolo		
Classificação	NRCS	Inceptisol		Inceptisol		

Notas: a) pH CaCl₂, pH SMP, M.O.= teor de matéria orgânica do solo, C.O.= C orgânico total, elementos trocáveis P (Mehlich-1), Na, K, Ca, Mg e Al, Al+H (acidez potencial), CTC=capacidade de troca catiônica, CTC pH 7, SB=Soma de bases, m= Saturação por Al e V=saturação por bases foram determinados conforme Marques e Motta (2003); os conteúdos totais de Ca, Mg, P, Fe, Mn e Cu foram extraídos em microondas e determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado; e, as frações texturais foram determinadas conforme Gee e Bauder (1986). b) Médias do campo foram obtidas a partir de três amostras compostas no pousio e cinco amostras compostas (uma por bloco) na colheita; médias da casa de vegetação foram obtidas com uma amostra composta no solo nativo, uma amostra composta de todos os vasos nos estádios V4 e R1. c) Classificação do solo em SiBCS segundo "Sistema Brasileiro de Classificação do Solo" (Santos et al., 2018) e, em NRCS, segundo "Chave para Taxonomia do Solo" (Soil Survey Staff, 2022).

Figura 2 Croqui do desenho experimental, mostrando a localização das unidades experimentais na área destinada ao plantio conforme o delineamento em blocos ao acaso, indicadas por cores diferentes em Campo Largo-PR.



Fonte: Google Maps, Modificado pelo autor (2023).

As unidades experimentais foram parcelas com 5,5 m de comprimento e 2,25 m de largura (5 linhas de plantio com 0,45 m entre linhas), espaçadas por 1 m entre parcelas. A área útil foi constituída por 5,5 m e 3 linhas centrais, com a retirada da bordadura de cada uma das linhas paralelas a área útil.

Após o plantio seria feita uma contagem de plantas para garantir a uniformidade do plantio, porém, devido à seca que ocorreu em dezembro de 2021 e a germinação desuniforme do plantio não foi possível realizar esse procedimento. A temperatura média diária e precipitação acumulada foram de 20,8 °C e 314 mm entre o plantio e o R1, sendo que nos primeiros 30 dias foi de apenas 53 mm e de 20,5 °C e 345 mm entre o estágio R1 e a colheita (Gráfico 1).

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



Nota: *Temperatura e precipitação da estação meteorológica mais próxima do Simepar em Curitiba, PR. Legenda: Gráfico A, 1: Plantio; 2: R1; 3: Colheita., Gráfico B, 1: Plantio; 2: Desbaste; 3: V4; 4: R1

Fonte: Dados Simepar, adaptados pelo autor (2023).

Durante o estágio de desenvolvimento R1 (início da floração), foram retiradas cinco plantas por parcela em 1 de fevereiro de 2022, para determinação do comprimento e massa de parte aérea seca e de raiz, número e massa de nódulos seco, e teor de N e de P da parte aérea.

Os tratamentos fitossanitários, quando necessários, foram feitos de acordo com as recomendações para a cultura da soja (SEIXAS et al. 2020), porém, não foram identificados grandes problemas em relação a doenças na condução do experimento, provavelmente devido à seca durante a condução do experimento (Gráfico 1), que diminuiram a incidência de doenças. Foram utilizados os seguintes defensivos de forma preventiva: prothioconazol (triazolinthione) + trifloxistrobina (estrobilurina) e o acetamiprido (neonicotinóide) + bifentrina (piretróide) com atuação fungicida juntamente com óleo de laranja como selante em 05 de janeiro de 2022. Já o herbicida glifosato foi utilizado antes da colheita no início de abril de 2022.

Durante o estágio de maturação fisiológica no período de 18 a 27 de abril de 2022, foi colhida a área útil da parcela para determinação do rendimento de grãos, massa de mil grãos, teor de proteínas, lipídeos e carboidratos dos grãos. No mesmo período foi realizada coleta na camada de 0-10 cm nas entrelinhas das parcelas, para avaliar o teor de fertilidade geral da área com uma média dos cinco blocos (Tabela 1) por bloco (Apêndice 1, Tabela 1) e de cada unidade experimental.

2.2. Experimento de casa de vegetação.

O experimento foi conduzido no período de 15 de março de 2022 até o dia 06 de junho de 2022 em casa de vegetação do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, no setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná em Curitiba – PR.

O solo utilizado no experimento foi classificado como Cambissolo, proveniente da Fazenda experimental Canguiri de Pinhais – PR, da Universidade Federal do Paraná, enquanto a cultivar utilizada foi a mesma do experimento de campo. Os teores de fertilidade, textura do solo e teores totais (Tabela 1) demonstraram a necessidade de adubação e calagem. O solo foi primeiramente peneirado em peneira 4 mm e

posteriormente corrigido em relação a calagem com Cal virgem com PRNT de 90% com base em NEPAR (2019), enquanto os teores de Fósforo e Potássio foram corrigidos com Superfosfato Triplo e Cloreto de Potássio com base na recomendação de adubação para vasos de Malavolta (1980).

A necessidade de calagem foi corrigida para se chegar a uma saturação de bases acima de 60% chegando ao valor de 5g/dm^3 . A adubação foi realizada para P e K em 200 e 150 mg/dm^3 , respectivamente, sendo então utilizado os adubos superfosfato triplo e cloreto de potássio na proporção 1,5 g e 0,5 g/dm^3 respectivamente.

Os mesmos tratamentos do campo foram utilizados em sementes de soja para cultivo em casa de vegetação, em um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições experimentais, sendo cada unidade experimental constituída por um vaso de sete litros, no qual foram semeadas 6 sementes de soja, sendo ao final do período de germinação em 04 de abril de 2022 realizado o desbaste mantendo a planta mais vigorosa por vaso, por tratamento e por coleta, sendo que as duas coletas foram realizadas nos seguintes estádios: V4= 4 folhas verdadeiras completamente expandidas e R1= início do florescimento. A primeira ocorreu em 05 de maio de 2022 e a segunda em 06 de junho de 2022.

Na coleta das plantas em V4 e em R1 ocorreu a coleta de amostra composta para análise da fertilidade, textura e teores totais (Tabela 1) após a calagem e adubação, para verificar a eficiência da correção realizada antes do plantio, enquanto no estágio R1 foram coletadas amostras por unidade amostral, para análise da fertilidade, para verificar possíveis efeitos dos tratamentos na composição química do solo.

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

Nos estádios V4 e R1, as plantas foram submetidas às análises de: comprimento das raízes, altura das partes aéreas, massa das raízes e das partes aéreas seca, número e massa de nódulos seco e teor de N e P da parte aérea.

2.3. Experimento de Teste de Germinação.

O experimento de teste de germinação foi conduzido em duas etapas, sendo a primeira a avaliação da germinação das sementes plantadas do experimento de casa de vegetação descrito no item 2.2, conduzido em DIC, sendo avaliada a germinação aos 7,10,15, 18 e 21 dias após o plantio. Os dados coletados em relação ao número de sementes germinadas foram transformados em percentagem para a avaliação estatística.

A segunda etapa foi o teste de germinação conduzido em estufa do tipo BOD no período de 03 a 09 de março de 2022 em delineamento inteiramente casualizado (DIC) no laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná conforme procedimento para regras de análises de sementes, descrita por Brasil (2009).

2.4. Análises Laboratoriais.

Nos experimentos de campo e casa de vegetação, o comprimento e massa seca de parte aérea e raiz (sendo a raiz no campo a massa de arranquio e de casa de vegetação a massa total presente no vaso), a massa seca e o número de nódulos para os experimentos de campo e casa de vegetação foram secas em estufa com ventilação forçada a 60 °C por 72 horas, determinada a massa em balança analítica, e a fração aérea moída em fragmentos menores de 2 mm, enquanto o teor de nitrogênio e fósforo foram determinados pelo método de Kjeldahl e de digestão via seca respectivamente, conforme descrito por da Silva et al. (2009).

Cinzas, umidade, proteína e lipídeos dos grãos foram determinados por digestão seca, secagem em estufa sem ventilação a 100 °C, método de Kjeldahl e extração por soxhlet, respectivamente, conforme Pregnoatto e Pregnoatto (1985), enquanto o teor de carboidratos totais foi determinado por diferença (TERRA et al.,

2010). A massa de mil grãos foi determinada pela contagem dos mesmos e verificado sua massa em balança analítica.

As metodologias para análises químicas para os experimentos de campo e casa de vegetação são descritas por Marques e Motta (2003), enquanto a respiração microbiana da camada 0-10 cm do experimento de campo coletada na entre linha foi determinada conforme descrito por Anderson e Domsch (1985).

2.4. Análise Estatística.

As análises estatísticas foram realizadas para todos os experimentos realizados em DBC e DIC e os dados submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para confirmação das premissas de análise de variância (ANOVA), utilizando o pacote ExpDes.pt (FERREIRA, CAVALCANTI, NOGUEIRA, 2018) no software de acesso livre R (TEAM, 2013). Quando não estavam normais os dados foram transformados em raiz e quando normais as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS

Germinação

As sementes germinaram em diferentes tempos na casa de vegetação e no campo. Por isso, a contagem de plantas emergidas no campo foi feita no final do estágio vegetativo. Na casa de vegetação, as plantas emergidas foram contadas a 3 ou 5 dias, até 21 dias, quando o estágio de germinação acabou. Na B.O.D., todas as sementes germinaram ao mesmo tempo aos seis dias, e a germinação foi estimada no mesmo dia. Nas três condições experimentais (campo, casa de vegetação e B.O.D), as coinoculações afetaram a germinação das sementes de soja. No campo, os tratamentos de coinoculação envolvendo *Azospirillum* e *Trichoderma* (i.e. T3, T4, T10 e T12) diminuíram o número de plantas emergidas, enquanto os tratamentos de coinoculação com *Bacillus* não prejudicaram a germinação no campo e a inoculação de apenas *Bradyrhizobium* garantiu as maiores taxa de germinação nas três condições avaliadas (campo, casa de vegetação e B.O.D) (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de germinação de sementes de soja em B.O.D. e plantas emergidas em casa de vegetação e a campo em tratamentos com coinoculações de quatro diferentes tipos de inoculantes microbianos^{a,b,c}

Experimento	B.O.D.	Casa de Vegetação					Campo
	% emergên cia	% de plantas emergidas					Plantas por parcela
Dias	7	7	10	15	18	21	150
T1	78,0ab	44,4a	55,6a	66,5a	69,2a	70,7a	95,8ab
T2	86,0a	44,5a	54,2a	68,0a	70,8a	70,8a	134,4a
T3	68,0bc	32,0ab	45,8ab	59,7ab	62,5ab	65,3ab	93,6b
T4	40,5d	14,1bc	25,1bc	36,0bc	40,2bc	44,3bc	91,4b
T5	38,5d	9,8c	19,5c	26,5c	27,9c	29,3c	103,6ab
T6	48,0d	7,1c	12,7c	27,8c	27,7c	27,8c	93,2b
T7	78,0ab	7,0c	11,2c	18,0c	18,0c	19,4c	109,4ab
T8	74,5abc	5,7c	9,8c	18,1c	18,1c	22,3c	102,0ab
T9	66,5bc	9,8c	15,3c	27,8c	29,2c	32,0c	104,6ab
T10	65,5c	5,7c	11,3c	18,0c	18,0c	19,4c	81,8b
T11	45,5d	2,8c	9,8c	19,5c	20,8c	22,3c	98,2ab
T12	43,5d	7,0c	16,8c	23,7c	23,7c	23,8c	85,6b
CV %	7,8	90,8	71,3	57,3	53,14	50,6	18,7

Notas: a) os tratamentos T2 a T12 combinam os inoculantes à base de *Bradyrhizobium* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp, conforme especificados na Tabela 1. b) O experimento de campo foi realizado com 5 repetições, em casa de vegetação com 6 repetições dependentes, e na B.O.D. com 4 repetições independentes. c) As parcelas no campo tinham 7,4 m² de área cada. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (teste de Tukey a 5 % de probabilidade)

Crescimento Vegetal

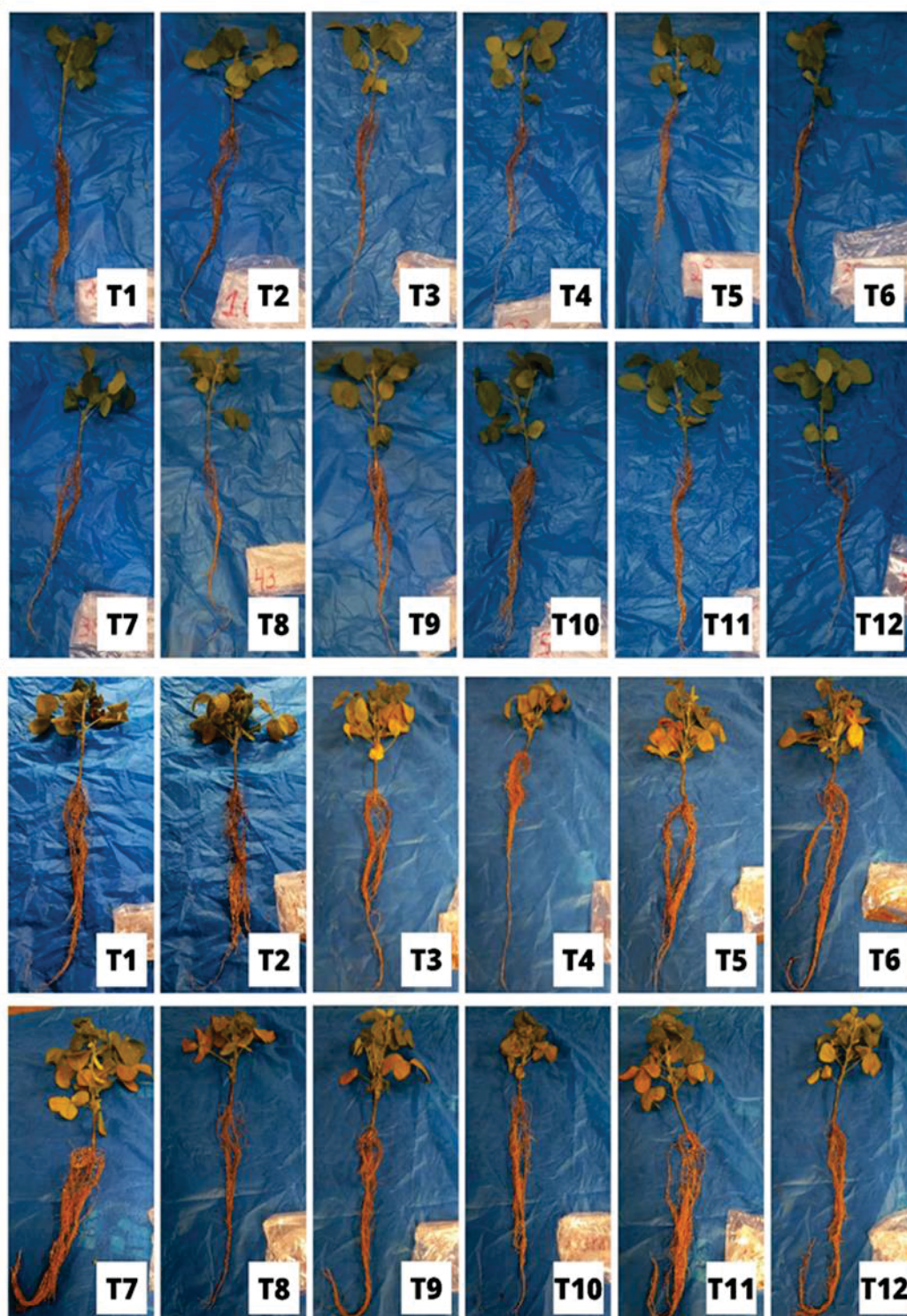
Em casa de vegetação, as diferentes coinoculações não afetaram a altura de plantas e o comprimento de raízes até o estágio V4. Entretanto, a coinoculação de *Bradyrhizobium* com *Azospirillum* (T6) aumentou, enquanto a inoculação de *Bacillus* e a coinoculação múltipla de *Bradyrhizobium*, *Bacillus* e *Trichoderma* diminuíram o comprimento de raízes em R1 (Tabela 4). Além disso, a inoculação de apenas *Bradyrhizobium* resultou na maior massa de nódulos (em V4 e R1), e as coinoculações de *Bradyrhizobium* com *Azospirillum* (T6; V4) e de *Bradyrhizobium* e *Trichoderma* (T8; R1) resultaram nas menores massas de nódulos (Tabela 4). A figura 3 mostra uma imagem de cada tratamento para os estádios V4 e R1.

Tabela 4. 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.^{a,b,c,d}

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
CV %	18,0	28,6	19,8	18,9	29,3	53,2	35,6	49,3	62,9	114,1	37,6	59,4

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.

Figura 3. Amostras das plantas de soja no estágio fenológico V4 e R1 avaliadas do experimento de casa de vegetação em Curitiba, PR.



Nota: Grupo A: V4, Grupo B: R1. A figura das plantas nos vasos encontra-se no apêndice 2.

Fonte: O autor (2023).

No campo, a inoculação múltipla de *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* e *Trichoderma* (T10) diminui a altura das plantas em 12% em relação à média das demais plantas (Tabela 5), mas nenhum tratamento afetou a massa da parte aérea, o comprimento e a massa de raízes no R1. A figura 4 mostra uma imagem de cada tratamento.

Tabela 5. Indicadores de crescimento vegetal de soja submetida às várias coinoculações de quatro diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal, e cultivadas sob condições de campo em Campo Largo, PR, Brasil.^{a,b,c,d}

Tratamento	Altura	Comprimento de Raiz	Massa da parte aérea seca	Massa de raízes seca	Número de nódulos	Massa de Nódulos
	cm		g planta ⁻¹		por planta	mg planta ⁻¹
T1	61,9a	14,3	31,8	5,0	16,9ab	108
T2	60,7a	12,3	23,7	3,9	21,2ab	158
T3	57,2ab	14,8	26,4	4,4	22,1ab	148
T4	59,7a	12,8	27,8	4,2	14,5ab	108
T5	60,8a	13,7	28,5	4,5	23,2a	166
T6	62,4a	14,7	31,9	4,7	15,7ab	116
T7	61,4a	14,1	27,4	4,2	20,4ab	142
T8	59,8a	13,9	30,9	4,9	20,3ab	126
T9	61,6a	15,8	31,6	4,8	16,8ab	118
T10	47,8b	12,2	24,4	4,0	13,6ab	84
T11	53,5ab	11,5	27,0	3,8	10,3b	74
T12	54ab	13,3	27,6	4,1	18,7ab	122
CV %	9,1	19,3	19,3	19,0	36,9	42,5

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 comprimento de raiz, massa de parte aérea seca e número de nódulos 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 cinco repetições, sendo cada repetição composta pela média de cinco plantas. d) As plantas foram colhidas no estágio R1 (início da floração), e processadas após terem sido secas a 60 °C com ventilação forçada.

Figura 4. Amostras das plantas de soja no estágio fenológico R1 avaliadas do experimento de campo em Campo Largo, PR.



Fonte: O autor (2023).

Nutrição de N e P

Os tratamentos não afetaram as concentrações e os conteúdos de N e P nas plantas do campo (Tabela 6, Figura 5). Entretanto, na casa de vegetação, 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 6). Além disso, os tratamentos afetaram as concentrações e conteúdos totais de P nas plantas em estágio R1. A maior concentração de P ($3,7 \text{ g kg}^{-1}$) foi observada no tratamento sem inoculação e a menor no tratamento inoculado apenas com *Bradyrhizobium* (T2) (Tabela 6). O T11 produziu plantas com maior acúmulo de P do que os tratamentos T1, T2, T3 e T4 em casa de vegetação (Tabela 6), embora as massas da parte aérea destes tratamentos não tenham diferido estatisticamente entre si (Tabela 5).

Tabela 6. Nutrientes da parte aérea de soja submetida às várias coinoculações de quatro diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal, e cultivadas sob condições de campo, em Campo Largo, PR, e de casa de vegetação em Curitiba, PR, Brasil.^{a,b,c}

Tratamento	Casa de vegetação								Campo			
	Concentração (g kg ⁻¹)				Conteúdo (mg planta ⁻¹)				Concentração (g kg ⁻¹)		Conteúdo (g área útil ⁻¹)	
	N		P		N		P		N	P	N	P
	V4	R1	V4	R1	V4	R1	V4	R1	R1	R1	R1	R1
T1	36,6b	32,0	3,6	3,7a	140	131	13	15	27,8	3,3	79	9
T2	35,5b	31,2	3,8	2,8bc	120	160	13	13	32,4	3,5	104	11
T3	37,3ab	29,6	3,9	2,4c	141	226	15	18	30,1	3,6	77	8
T4	38,8ab	31,6	3,5	2,7bc	135	163	11	13	32,3	3,5	82	8
T5	39,3ab	30,4	4,1	2,6bc	128	131	15	11	31,9	3,4	90	9
T6	37,3ab	30,1	3,7	2,6bc	103	201	8	18	31,6	3,5	95	10
T7	38,9ab	29,9	4,6	2,6bc	135	170	15	15	32,0	3,7	98	10
T8	40,2ab	30,7	4,1	3,3ab	118	116	13	13	29,3	3,5	91	10
T9	40,9ab	30,2	4,4	2,7bc	128	143	15	11	30,4	3,6	100	11
T10	37,9ab	30,2	3,9	2,6bc	128	120	13	11	31,0	3,4	63	7
T11	42,7a	29,8	5,1	2,4bc	115	116	15	8	31,2	3,5	83	9
T12	42,5a	30,4	4	2,7bc	131	153	15	13	30,6	3,5	73	8
CV %	7,6	10,7	21,0	16,2	31,7	51,0	50,1	62,4	10,0	9,0	31,3	26,7

Notas: a) Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. b) Os valores de campo representam a média de cinco repetições e as de casa de vegetação, 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.

Figura 5. Experimento de campo no estágio R1 em Campo Largo – PR.



Fonte: O autor, 2023.

Rendimento e composição de lipídeos e proteínas

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para o rendimento de grãos observado por parcela (Tabela 7), mesmo com as diferentes densidades observadas (Tabela 3). A menor massa de 1000 grãos foi obtida nas parcelas sem nenhuma inoculação (T1) e nas parcelas coinoculadas com *Bradyrhizobium* e *Bacillus* (T7) e *Bradyrhizobium* e *Trichoderma* (T8). Porém, a múltipla coinoculação de *Bradyrhizobium*, *Bacillus* e *Trichoderma* (T11) (Tabela 7) resultou na maior massa de grãos do experimento.

Com relação à composição dos grãos, as concentrações de proteínas e carboidratos não foram afetadas pelos tratamentos de coinoculações (Tabela 7). Por outro lado, a maior concentração de lipídeos foi encontrada no tratamento sem inoculação, que teve os menores grãos, e a menor concentração foi no tratamento T11, que teve grãos maiores (Tabela 7).

Tabela 7. Componentes de rendimento e composição dos grãos de soja submetida às várias coinoculações de quatro diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal e cultivadas sob condições de campo em Campo Largo, PR, Brasil, na safra de 2021/2022.^{a,b,c}

Tratamento	Rendimento dos grãos	Massa de 1000 grãos	Composição dos grãos		
	kg parcela ⁻¹	g	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos
			%		
T1	2,91	161,7b	12,6a	27,0	40,7
T2	2,58	167,6ab	11,1ab	28,6	40,2
T3	2,78	163,6ab	10,6ab	29,2	40,9
T4	2,74	166,9ab	11,5ab	30,1	39,1
T5	2,43	165,1ab	11,6ab	29,5	39,4
T6	2,29	163,6ab	10,7ab	28,3	42,0
T7	2,83	161,8b	10,1ab	29,1	41,0
T8	3,20	159,9b	8,9ab	30,4	41,7
T9	2,81	165,4ab	8,8ab	29,4	42,2
T10	2,04	167,5ab	8,8ab	30,5	41,2
T11	3,15	175,1a	8,3b	30,3	42,5
T12	3,05	164,9ab	9,2ab	29,4	42,4
CV %	26,5	3,7	17,2	6,5	7,4

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 proteínas e carboidratos 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 cinco repetições.

Análises complementares

Os resultados das análises de fertilidade por unidade experimental de campo e casa de vegetação não apresentaram diferenças significativas, bem como para os teores de umidade, cinzas e respiração microbiana do campo (Apêndice 1, Tabelas 2, 3 e 4).

3.2 DISCUSSÃO

A coinoculação de *Bradyrhizobium* com um outro microrganismo promotor de crescimento vegetal (fungo micorrízico arbuscular, *Bacillus*, *Azospirillum* e *Trichoderma*) já é uma prática exaltada na literatura e recomendada na prática (vide meta-análises KASCHUK et al. 2010; 2022; ZEFFA et al. 2020; BARBOSA et al., 2021, 2022). A literatura também revela que múltiplas inoculações podem trazer benefícios às culturas agrícolas pelos mecanismos complementares de promoção de crescimento vegetal. Neste estudo, plantas de soja foram submetidas a inoculações isoladas ou múltiplas de quatro microrganismos (*Bradyrhizobium*, *Azospirillum*,

Bacillus e *Trichoderma*), diferindo em funções rizosféricas: FBN, produção de fitormônios, solubilização de P e controle de fitopatógenos (Tabela 1). De maneira geral, os resultados dos experimentos sugerem que a prática de inoculação múltipla é viável, mas alguns aspectos precisam ser considerados.

O primeiro aspecto é que os tratamentos com múltiplas inoculações afetaram negativamente a emergência de plantas no campo, resultando em baixa densidade de plantas nas parcelas, em plantas emergidas em casa de vegetação e baixo número de sementes germinadas na câmara incubadora (Tabela 3). A germinação das sementes depende, entre outras coisas, da qualidade das sementes, resultante dos fatores ambientais durante a sua produção (TEKRONY, EGLI, PHILLIPS, 1980; DE LUCA E HUNGRIA, 2014; DE LUCA, NOGUEIRA e HUNGRIA, 2014;), mas também pode ser afetada pelos insumos aplicados (inclusive inoculantes) na etapa da semeadura (QUEIROZ-REGO et al., 2018). As baixas taxas de germinação nas plantas com inoculações múltiplas podem ter sido resultado do número excessivo de células microbianas dos inoculantes, que sobrecarregou a rizosfera com compostos bioquímicos produzidos durante o processo de estabelecimento da associação simbiótica ou comensalista (KONDO, KASCHUK e DA CRUZ, 2021). É possível também que os microrganismos realizaram antibiose entre suas próprias populações (BESSET-MANZONI et al., 2018), como no caso de cultivo em meio de cultura, em que o crescimento conjunto de *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* resultou em um menor crescimento do *Rhizobium* em meio de cultura (SUNEJA, DUDEJA e NARULA, 2007). É interessante comentar que a baixa densidade de plantas no campo deveria ser negativa, porque o aumento de densidade de plantas na lavoura está entre as práticas que mais incrementam a produtividade agrícola de diversas culturas (EGLI, 1988). Entretanto, no caso particular da soja, as menores densidades de plantas podem resultar em aumento da fotossíntese e da FBN, que compensam as falhas do dossel e resultam em maiores produtividades (DE LUCA e HUNGRIA, 2014).

No decorrer do desenvolvendo da cultura, as múltiplas inoculações de microrganismos afetaram diretamente o crescimento das plantas nos experimentos: por exemplo, o T10 (*Bradyrhizobium*, *Azospirillum* e *Trichoderma*) resultou em plantas com raízes mais curtas na casa de vegetação e menor altura no campo em relação ao T6 (*Bradyrhizobium* e *Azospirillum*) (Tabela 4 e 5). Isso corrobora o fato de que a

coinoculação de *Bradyrhizobium* com *Azospirillum* já é prática consolidada na agronomia (BARBOSA et al., 2021), enquanto a prática de múltiplas inoculações ainda está em desenvolvimento tecnológico. Evidências de outros estudos sugerem que a inoculação múltipla é uma prática promissora de aumento da produtividade agrícola. Por exemplo, de *Azospirillum*, *Pseudomonas* e fungos micorrízicos do gênero *Glomus* em milho estimulou o crescimento de forma precoce (COUILLEROT et al., 2013); de *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter* em milho melhorou o crescimento das plantas em relação à inoculação de apenas *Azospirillum* (MOLINA-ROMERO et al., 2017); enquanto que com *Bradyrhizobium*, *Bacillus* e fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus intraradices*) incrementou a produtividade de soja em relação à inoculação apenas com *Bradyrhizobium* (LEITE et al., 2022). No entanto, os resultados neste estudo sugerem que as múltiplas inoculações suprimem o crescimento vegetal no estágio vegetativo em relação aos tratamentos não inoculados ou inoculados com mais de um de microrganismo, o que corrobora com o estudo no qual, a inoculação de um consórcio envolvendo *Trichoderma asperellum*, *Azospirillum* com várias outras cepas na soja diminuiu a massa de parte aérea em relação ao controle não inoculado (SILVA et al., 2020).

Seguindo a tendência anterior, a inoculação apenas com *Trichoderma* ou as inoculações múltiplas de *Trichoderma* coinoculado com *Bacillus* (T5, T8, T11 e T12) diminuíram significativamente a massa de nódulos no estágio R1 em relação ao tratamento inoculado apenas com *Azospirillum* (T3) nas condições de casa de vegetação (Tabela 4). Nesse caso, porém, os resultados deste estudo não corroboraram os resultados de uma recente meta-análise, que demonstrou que a coinoculação de *Bradyrhizobium* com *Trichoderma* é capaz de aumentar massa e número de nódulos de diversas leguminosas, inclusive a soja (BARBOSA et al., 2022). Por outro lado, a inexistência de diferenças nos tratamentos inoculados e coinoculados com *Bradyrhizobium* pode ter ocorrido devido à presença de rizóbios endofíticos na semente ou mesmo pela ocorrência natural no solo (HUNGRIA, NOGUEIRA e ARAÚJO, 2013), devido inoculação em safras anteriores.

As inoculações múltiplas favoreceram a nutrição de N nas plantas (Tabela 6). De fato, as plantas que receberam inoculações múltiplas (i.e. T11 e T12) tiveram uma concentração de N significativamente maior do que aquelas inoculadas apenas com *Bradyrhizobium*, ou sem nenhuma inoculação (Tabela 6), apesar das menores

massas de nódulos (Tabela 4). As diferenças em nodulação podem indicar que *Trichoderma* pode ter regulado a distribuição de fotossintatos das plantas e resultou em menor massa nodular. Porém, a sua atividade metabólica, por exemplo, pela produção de fitormônios (ITURRALDE et al. 2020) pode ter estimulado a atividade metabólica dos bacteróides e incrementado a FBN (fitormônio pode ter incrementado o crescimento de raízes, aproveitando melhor o N).

No caso das estirpes utilizadas no inoculante com *Bacillus*, a recomendação é para aumentar a solubilização de P rizosférico e melhorar a nutrição de P nas plantas (SAXENA et al. 2020; OLIVEIRA-PAIVA et al. 2020). Entretanto, as análises de P nas plantas de casa de vegetação não evidenciaram um efeito positivo e significativo do *Bacillus* quando inoculado sozinho (Tabela 6). Porém, é preciso enfatizar que a múltipla inoculação de *Bacillus* com *Bradyrhizobium* e *Trichoderma* resultou em aumento significativo do conteúdo total de P na planta, no estágio R1 (T11; Tabela 6), apesar do menor comprimento de raiz (Tabela 4), o que pode evidenciar que as raízes foram mais eficientes para absorver o P do solo. Assim como no caso do N, é possível supor que as inoculações múltiplas estimularam a atividade do sistema radicular e contribuíram para um melhor estado nutricional das plantas. A ausência de respostas das inoculações múltiplas na absorção de plantas no campo (Tabela 6) pode estar relacionada à alta disponibilidade de P no solo em comparação ao solo da casa de vegetação (Tabela 2).

As inoculações múltiplas parecem ter alterado o funcionamento fisiológico da cultura da soja, trazendo consequências negativas para o desenvolvimento vegetativo da cultura, como observado no experimento de campo (diminuição da altura e número de nódulos; Tabela 5) e em casa de vegetação (diminuição do comprimento de raiz, massa e número de nódulos; Tabela 4). Porém, as supostas consequências negativas foram efeitos transientes, uma vez que essa cultivar de soja (de ciclo indeterminado) apresentou alta plasticidade fenotípica para compensar adversidades iniciais, recuperando a capacidade produtora até níveis agronômicos satisfatórios. O tratamento da inoculação de apenas *Bradyrhizobium* produziu as maiores plantas em ambos os experimentos (Tabela 4, 5), embora tenha apresentado diferença no número de plantas (Tabela 3), não apresentou diferença na produtividade (Tabela 7). Já o tratamento com inoculação múltipla contendo *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus* e *Trichoderma* produziu plantas menores no estágio vegetativo, mas teve

maior rendimento de grãos no estágio reprodutivo. Similarmente, Moretti et al. (2020) demonstraram que a inoculação múltipla (no caso, de *Bradyrhizobium* spp., *Rhizobium* spp., *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*) pode resultar em incrementos no rendimento de grãos até 485 kg ha⁻¹ em comparação ao tratamento inoculado apenas com *Bradyrhizobium* spp. Diante disso, é possível pressupor que a inoculação múltipla de *Bradyrhizobium* com microrganismos promotores de crescimento vegetal é uma prática que pode aumentar a produtividade da cultura da soja, apesar de reduzir o crescimento inicial, porque a cultura tem plasticidade fenotípica (KASCHUK et al., 2010; 2012; DE LUCA e HUNGRIA, 2014; DE LUCA, NOGUEIRA e HUNGRIA, 2014;).

As análises da composição dos grãos mostraram que as inoculações múltiplas alteraram a redistribuição de fotossintatos durante o período reprodutivo da cultura. No caso, o T11 (responsável pela maior massa de grãos) produziu grãos com menores valores de lipídeos em relação ao T1 não inoculado (Tabela 7), o que é um indicativo de efeito de diluição da composição. Sobretudo, é possível que o elevado número de microrganismos na rizosfera tenha diminuído a concentração de lipídeos nos grãos porque microrganismos rizosféricos drenaram parte dos fotossintatos da planta para a respiração da rizosfera (MARSCHNER, 1995). No entanto, Kaschuk et al. (2010; 2012) demonstraram que as taxas fotossintéticas podem ser compensadas pela atividade de rizóbios e fungos micorrízicos na rizosfera, resultando em ausência de diferenças na concentração de lipídeos dos grãos devido à inoculação de bradirrizóbios. Além disso, Marra et al. (2019) mostraram que inoculação de apenas *Trichoderma* e seus metabólitos inoculados em soja foram capazes de aumentar a concentração de lipídeos nos grãos. De qualquer forma, o que os resultados evidenciam é que as inoculações múltiplas afetam fortemente a distribuição de fotossintatos nas plantas colonizadas. O crescimento e o acúmulo da massa de plantas e de nutrientes foram ajustados pelos diferentes tratamentos de acordo com o espaçamento e o ambiente em que as plantas ficaram dispostas (em função das falhas de germinação). Isso ocorre porque a biomassa de plantas de soja pode se recompor quando há uma semeadura de densidades de plantas mais baixas (COX e CHERNEY, 2011), tanto que menores densidades de plantas foram capazes de aumentar o teor de lipídeos nos grãos (DE LUCA, NOGUEIRA e HUNGRIA, 2014; DE LUCA, NOGUEIRA e HUNGRIA, 2014).

Contudo, apesar de que os resultados neste estudo tenham dado uma perspectiva potencialmente favorável à recomendação de múltiplas inoculações com diferentes microrganismos promotores de crescimento vegetal na soja, ainda há muitos aspectos a serem compreendidos. Marinkovic et al. (2018) mostraram que inoculações múltiplas afetam mais a comunidade microbiana da rizosfera do que os rendimentos para a cultura da soja. Existe um grande interesse em pesquisas que trabalhem com diferentes consórcios microbianos a fim de garantir uma agricultura mais sustentável e com menor impacto para o meio ambiente através da utilização dos microrganismos (PANDEY et al. 2012). Vários fatores modulam a biomassa e diversidade microbiana do solo, tais como, manejo do solo (ANZALONE et al. 2020), riqueza de espécies nas rotações de cultura (CEZAR et al. 2021), a fertilidade do solo (LIU et al. 2021), e claro, as inoculações, que aumentam a população de microrganismos de interesse agrícola (AMBROSINI, SOUZA e PASSAGLIA, 2016; MARINKOVIC et al. 2018).

4 CONCLUSÕES

É necessário ter cautela ao recomendar inoculações múltiplas para os produtores rurais, uma vez que ainda são necessários estudos mais aprofundados. Além disso, os experimentos realizados mostraram uma diminuição no crescimento vegetativo e o uso generalizado de *Trichoderma*, o que pode afetar negativamente os teores de lipídeos na cultura da soja. Embora a recuperação da produtividade tenha sido demonstrada pela não diferença entre os tratamentos com diferentes densidades, investir nesta técnica neste momento pode representar um risco muito alto devido à baixa germinação das sementes. No entanto, a técnica de inoculações múltiplas tem um futuro promissor e mais estudos devem ser realizados para aprimorar sua aplicação na agricultura.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliar continuamente as inoculações múltiplas é de extrema importância no panorama agrícola atual pois, com os aumentos contínuos nos preços dos insumos torna-se necessário prever e recomendar possíveis alternativas para os produtores rurais.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com os diferentes experimentos foi possível identificar que a sobrecarga de microrganismos nas sementes ocasionada pelas falhas na germinação das três diferentes combinações de coinoculação, mesmo com os contrastes da seca no campo e as baixas temperaturas na casa de vegetação, a condução do teste de germinação em B.O.D em ambiente controlado demonstrou estas diferenças.

Para trabalhos futuros, seria necessário incluir outras variáveis, como diferentes cultivares, para tentar diminuir efeitos das sementes, bem como utilizar diferentes doses dos inoculantes para garantir que os problemas de inoculação não são ocasionados por essa possível sobrecarga e, assim, talvez demonstrar os reais benefícios da múltipla inoculação para a cultura da soja.

Também é recomendável a realização desses estudos em diferentes biomas e classes de solos para avaliar o comportamento dos inoculantes em outras condições climáticas e de fertilidade que podem ter exercido influência na condução deste trabalho.

6 REFERÊNCIAS

- Alfian, M., & Purwanto, W. W. (2019). Multi-objective optimization of green urea production. *Energy Science & Engineering*, 7(2), 292-304. doi.org/10.1002/ese3.281
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. D. M., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711-728. doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507
- Ambrosini, A., de Souza, R., & Passaglia, L. M. (2016). Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. *Plant and Soil*, 400(1), 193-207. doi.org/10.1007/s11104-015-2727-7
- Anderson, T. H., & Domsch, K. H. (1985). Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. *Biology and Fertility of soils*, 1, 81-89. doi.org/10.1007/BF00255134
- Anzalone, R. A., Vezzani, F. M., Kaschuk, G., Hungria, M., Vargas, L. K., & Nogueira, M. A. (2020). Establishing reference values for soil microbial biomass-C in agroecosystems in the Atlantic Forest Biome in Southern Brazil. *Ecological Indicators*, 117, 106586. doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106586
- Araújo, F. F. D., & Hungria, M. (1999). Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 34, 1633-1643. doi.org/10.1590/S0100-204X1999000900014
- Araújo, F. F., Henning, A. A., & Hungria, M. (2005). Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8), 1639-1645. doi.org/10.1007/s11274-005-3621-x
- 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
- Besset-Manzoni, Y., Rieusset, L., Joly, P., Comte, G., & Prigent-Combaret, C. (2018). Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 29953-29970. doi.org/10.1007/s11356-017-1152-2
- Bononi, L., Chiamonte, J. B., Pansa, C. C., Moitinho, M. A., & Melo, I. S. (2020). Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Scientific Reports*, 10(1), 1-13. doi.org/10.1038/s41598-020-59793-8
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. (2009). Regras para análise de sementes.

https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf

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

Cezar, R. M., Vezzani, F. M., Kaschuk, G., Balsanelli, E., de Souza, E. M., Vargas, L. K., & Molin, R. (2021). Crop rotation reduces the frequency of anaerobic soil bacteria in Red Latosol of Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 2169-2177. doi.org/10.1007/s42770-021-00578-0

Couillerot, O., Ramírez-Trujillo, A., Walker, V., von Felten, A., Jansa, J., Maurhofer, M., ... & Moëgne-Loccoz, Y. (2013). Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum*–*Pseudomonas*–*Glomus* consortia for promotion of maize growth. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(10), 4639-4649. doi.org/10.1007/s00253-012-4249-z

Cox, W. J., & Cherney, J. H. (2011). Growth and yield responses of soybean to row spacing and seeding rate. *Agronomy Journal*, 103(1), 123-128. doi.org/10.2134/agronj2010.0316

da Silva, F. C. (2009). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica.

de Luca, M. J., & Hungria, M. (2014). Plant densities and modulation of symbiotic nitrogen fixation in soybean. *Scientia Agricola*, 71, 181-187. doi.org/10.1590/S0103-90162014000300002

de Luca, M. J., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2014). Feasibility of lowering soybean planting density without compromising nitrogen fixation and yield. *Agronomy Journal*, 106(6), 2118-2124. doi.org/10.2134/agronj14.0234

Egli, D. B. (1988). Plant density and soybean yield. *Crop Science*, 28(6), 977-981. doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800060023x

Ferreira, E. B., Cavalcanti, P. P., & Nogueira, D. A. (2018). ExpDes. pt: pacote experimental designs (Portuguese). R package version 1.2. 0.

Garbeva, P. V., Van Veen, J. A., & van Elsas, J. D. (2004). MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppression. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 243. doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455

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.

Groppa, M. D., Zawoznik, M. S., & Tomaro, M. L. (1998). Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. *European Journal of Soil Biology*, 34(2), 75-80. doi.org/10.1016/S1164-5563(99)90004-3

- Hénault, C., & Revellin, C. (2011). Inoculants of leguminous crops for mitigating soil emissions of the greenhouse gas nitrous oxide. *Plant and soil*, 346(1), 289-296. doi.org/10.1007/s11104-011-0820-0
- Höflich, G., Wiehe, W., & Kühn, G. (1994). Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. *Experientia*, 50(10), 897-905. doi.org/10.1007/BF01923476
- Hryniewicz, K., & Baum, C. (2012). The potential of rhizosphere microorganisms to promote the plant growth in disturbed soils. *Environmental protection strategies for sustainable development*, 35-64. doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2_2
- 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 N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(4), 927-939. doi.org/10.4141/P05-098
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2013). Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, 49(7), 791-801. doi.org/10.1007/s00374-012-0771-5
- Iturralde, E. T., Stocco, M. C., Faura, A., Mónaco, C. I., Cordo, C., Pérez-Giménez, J., & Lodeiro, A. R. (2020). Coinoculation of soybean plants with *Bradyrhizobium japonicum* and *Trichoderma harzianum*: coexistence of both microbes and relief of nitrate inhibition of nodulation. *Biotechnology reports*, 26, e00461. doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00461
- Jayaraman, S., Naorem, A. K., Lal, R., Dalal, R. C., Sinha, N. K., Patra, A. K., & Chaudhari, S. K. (2021). Disease-suppressive soils—beyond food production: a critical review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 1437-1465. doi.org/10.1007/s42729-021-00451-x
- 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., Yin, X., Hungria, M., Leffelaar, P. A., Giller, K. E., & Kuyper, T. W. (2012). Photosynthetic adaptation of soybean due to varying effectiveness of N₂ fixation by two distinct *Bradyrhizobium japonicum* strains. *Environmental and Experimental Botany*, 76, 1-6. doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.10.002
- Kaschuk, G., Nogueira, M.A., De Luca, M.J., Hungria, M. (2016) Response of determinate and indeterminate soybean cultivars to basal and topdressing N fertilization compared to sole inoculation with *Bradyrhizobium*. *Field Crops Research*, v. 195, p. 21-27, 2016. doi.org/10.1016/j.fcr.2016.05.010
- 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

- Kawalekar, J. S. (2013). Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture. *J Bio Innov*, 2(3), 73-78.
- Kondo, Y. R., Kaschuk, G., & da Cruz, S. P. (2021). Inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas para mudas de *Pinus taeda* L. *Agropecuária Catarinense*, 34(3), 93-98. [dx.doi.org/10.52945/rac.v34i3.1251](https://doi.org/10.52945/rac.v34i3.1251)
- Leggett, M., Diaz-Zorita, M., Koivunen, M., Bowman, R., Pesek, R., Stevenson, C., & Leister, T. (2017). Soybean response to inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* in the United States and Argentina. *Agronomy journal*, 109(3), 1031-1038. doi.org/10.2134/agronj2016.04.0214
- Leite, R. D. C., Pereira, Y. C., Oliveira-Paiva, C. A. D., Moraes, A. J. G. D., & Silva, G. B. D. (2022). Increase in yield, leaf nutrient, and profitability of soybean co-inoculated with *Bacillus* strains and arbuscular mycorrhizal fungi. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 46. doi.org/10.36783/18069657rbcs20220007
- Liu, B., Bei, Q., Wang, X., Liu, Q., Hu, S., Lin, Z., ... & Xie, Z. (2021). Microbial metabolic efficiency and community stability in high and low fertility soils following wheat residue addition. *Applied Soil Ecology*, 159, 103848. doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103848
- Malavolta, E. (1980). *Elementos de nutrição mineral de plantas* (Vol. 1). São Paulo: Agronômica Ceres.
- Marschner, H. Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, London (1995), p. 889
- Marinkovic, J., Bjelic, D., Tintor, B., Miladinovic, J., Dukic, V., & Dorđević, V. (2018). Effects of soybean co-inoculation with plant growth promoting rhizobacteria in field trial. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(2), 13401.
- 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.
- Marra, R., Lombardi, N., d'Errico, G., Troisi, J., Scala, G., Vinale, F., ... & Lorito, M. (2019). Application of *Trichoderma* strains and metabolites enhances soybean productivity and nutrient content. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(7), 1814-1822. doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06503
- Mendes, J. B. S., da Costa Neto, V. P., de Sousa, C. D. A., de Carvalho Filho, M. R., Rodrigues, A. C., & Bonifacio, A. (2020). *Trichoderma* and bradyrhizobia act synergistically and enhance the growth rate, biomass and photosynthetic pigments of cowpea (*Vigna unguiculata*) grown in controlled conditions. *Symbiosis*, 80(2), 133-143. doi.org/10.1007/s13199-019-00662-y
- Molina-Romero, D., Baez, A., Quintero-Hernández, V., Castañeda-Lucio, M., Fuentes-Ramírez, L. E., Bustillos-Cristales, M. D. R., ... & Muñoz-Rojas, J. (2017). Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *PLoS one*, 12(11), e0187913. doi.org/10.1371/journal.pone.0187913
- Moretti, L. G., Crusciol, C. A., Kuramae, E. E., Bossolani, J. W., Moreira, A., Costa, N. R., ... & Hungria, M. (2020). Effects of growth-promoting bacteria on soybean root

activity, plant development, and yield. *Agronomy Journal*, 112(1), 418-428. doi.org/10.1002/agj2.20010

NEPAR, N. E. P. (2019). Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. Curitiba, PR. SBCS, Nepar.

Oliveira-Paiva, C. A., Cota, L. V., Marriel, I. E., Gomes, E. A., de SOUSA, S. M., Lana, U. D. P., ... & Alves, V. M. C. (2020). Viabilidade técnica e econômica do Biomaphos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) nas culturas de milho e soja. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 20p.

Pagano, M. C., & Miransari, M. (2016). The importance of soybean production worldwide. *Abiotic and biotic stresses in soybean production*. Academic Press, 1, 1-26. doi.org/10.1016/B978-0-12-801536-0.00001-3

Pandey, P., Bisht, S., Sood, A., Aeron, A., Sharma, G.D., Maheshwari, D.K. (2012). Consortium of Plant-Growth-Promoting Bacteria: Future Perspective in Agriculture. In: Maheshwari, D. (eds) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics*. Springer, Berlin, Heidelberg. doi.org/10.1007/978-3-642-27515-9_10

Pregnoatto, W., & Pregnoatto, N. P. (1985). Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz.

Queiroz-Rego, C. H., Cardoso, F. B., da Silva Cândido, A. C., Teodoro, P. E., & Alves, C. Z. (2018). Co-inoculation with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* Increases Yield and Quality of Soybean Seeds. *Agronomy Journal*, 110(6), 2302-2309. doi.org/10.2134/agronj2018.04.0278

Rodríguez-Navarro, D. N., Margaret Oliver, I., Albareda Contreras, M., & Ruiz-Sainz, J. E. (2011). Soybean interactions with soil microbes, agronomical and molecular aspects. *Agronomy for Sustainable Development*, 31(1), 173-190. doi.org/10.1051/agro/2010023

Saeid, A., Prochownik, E., & Dobrowolska-Iwanek, J. (2018). Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. *Molecules*, 23(11), 2897. doi.org/10.3390/molecules23112897

Santos, H. G. dos, Jacomine, P. K. T., Anjos, L. H. C. dos, Oliveira, V. A. de, Lumberras, J. F., Coelho, M. R., Almeida, J. A. de, Araujo Filho, J. C. de, Oliveira, J. B. de, & Cunha, T. J. F. (2018). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. In www.infoteca.cnptia.embrapa.br. Brasília, DF: Embrapa, 2018. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/10940037>

Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). Bacillus species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of applied microbiology*, 128(6), 1583-1594. doi.org/10.1111/jam.14506

Seixas, C. D. S., Neumaier, N., Balbinot Junior, A. A., Krzyzanowski, F. C., & Leite, R. D. C. (2020). Tecnologias de produção de soja. *Embrapa Soja-Sistema de Produção (INFOTEC-A-E)*. Londrina: Embrapa Soja, 347p.

Silva, M. A., Nascente, A. S., filippi, M. C. C. D., Lanna, A. C., Silva, G. B. D., & Silva, J. F. A. E. (2020). Individual and combined growth-promoting microorganisms affect biomass production, gas exchange and nutrient content in soybean plants. *Revista Caatinga*, 33, 619-632. doi.org/10.1590/1983-21252020v33n305rc

- Sokolova, M. G., Akimova, G. P., & Vaishlya, O. B. (2011). Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(3), 274-278. doi.org/10.1134/S0003683811030148
- Soil Survey Staff. (2022). Keys to Soil Taxonomy, 13th ed. USDA-Natural Resources Conservation Service.
- Sugiyama, A., Ueda, Y., Takase, H., & Yazaki, K. (2015). Do soybeans select specific species of *Bradyrhizobium* during growth? *Communicative & Integrative Biology*, 8(1), e992734. doi.org/10.4161/19420889.2014.992734
- Suneja, P., Dudeja, S. S., & Narula, N. (2007). Development of multiple co-inoculants of different biofertilizers and their interaction with plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 53(2), 221-230. doi.org/10.1080/03650340601183723
- Taiz, L. e Zeiger, E. (2009) Fisiologia Vegetal. 4 º edição, Artmed, Porto Alegre, 848 p.
- Team, R. C. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
- Tekrony, D. M., Egli, D. B., & Phillips, A. D. (1980). Effect of field weathering on the viability and vigor of soybean seed 1. *Agronomy Journal*, 72(5), 749-753. doi.org/10.2134/agronj1980.00021962007200050014x
- Terra, J., Antunes, A. M., Bueno, M. I. M. S., & Prado, M. A. (2010). Um método verde, rápido e simples para determinar o valor energético de farinhas e cereais matinais. *Química Nova*, 33, 1098-1103. doi.org/10.1590/S0100-40422010000500017
- Trabelsi, D., & Mhamdi, R. (2013). Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. *BioMed research international*, vol. 2013. 1-11. doi.org/10.1155/2013/863240
- Vassilev, N., & Malusà, E. (2021). Microorganisms and Plant Nutrition. *Microorganisms*, 9(12), 2571. doi.org/10.3390/microorganisms9122571
- Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., ... & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal*, 8(1). dx.doi.org/10.2174/1874437001408010071
- Zeffa, D. M., Fantin, L. H., Koltun, A., de Oliveira, A. L., Nunes, M. P., Canteri, M. G., & Gonçalves, L. S. (2020). Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on co-inoculation with *Bradyrhizobium* in soybean crop: a meta-analysis of studies from 1987 to 2018. *PeerJ*, 8, e7905. doi.org/10.7717/peerj.7905
- Zilli, J. É., Gianluppi, V., Campo, R. J., Rouws, J. R. C., & Hungria, M. (2010). Inoculação da soja com *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34, 1875-1881. doi.org/10.1590/S0100-06832010000600011

APÊNDICE 1 – TABELAS

Tabela 1. Análises químicas, granulométricas e teores totais para as amostras anteriores a instalação (A, B e Borda) e compostas dos Blocos do experimento em Campo Largo, PR.

Amostra		A	B	Borda	B1	B2	B3	B4	B5
Profundidade		0-20cm			0-10cm				
pH CaCl ₂		5,79	5,57	5,74	5,52	5,42	5,49	5,5	5,63
pH SMP		6,83	6,76	6,93	6,76	6,65	6,52	6,66	6,77
P Mehlich-1	mg/dm ³	98,12	126,5	11,6	103,5	123	118,9	115	101,5
M.O.	g/dm ³	59,2	67,2	59,3	58,1	63,3	73,2	67,8	84,2
C.O.	g/dm ³	34,42	39,12	34,5	33,82	36,86	42,59	39,4	48,99
Ca disponível	cmol _c /dm ³	8,66	7,36	6,92	7,36	7,46	7,26	8,4	9,06
Mg disponível	cmol _c /dm ³	2,14	1,66	1,82	1,79	1,34	1,6	1,6	1,79
K disponível	cmol _c /dm ³	0,43	0,35	0,28	0,52	0,56	0,63	0,65	0,76
Na disponível	cmol _c /dm ³	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
H+Al	cmol _c /dm ³	2,7	3	2,5	3	3,2	3,4	3,2	3
CTC	cmol _c /dm ³	11,26	9,39	9,05	9,69	9,38	9,51	10,7	11,62
CTC pH 7,0	cmol _c /dm ³	13,96	12,39	11,55	12,69	12,58	12,91	13,9	14,62
Soma de Bases	cmol _c /dm ³	11,26	9,39	9,05	9,69	9,38	9,51	10,7	11,62
Al	cmol _c /dm ³	0	0	0	0	0	0	0	0
m	%	0	0	0	0	0	0	0	0
V	%	80	75	78	76	74	73	76	79
Argila	g/Kg	413	400	463	450	425	450	438	425
Silte	g/Kg	113	100	113	138	113	113	125	113
Areia Total	g/Kg	475	500	425	413	463	438	438	463
Areia Fina	g/Kg	83	89	74	87	105	92	95	92
Areia Grossa	g/Kg	392	411	351	326	357	346	342	370
K total	g/Kg	0,45	0,39	0,38	0,55	0,52	0,64	0,51	0,6
Ca total	g/Kg	1,19	0,77	0,78	0,57	0,61	0,79	1,11	1,27
Fe total	g/Kg	11,47	12,31	14,49	12,93	12,48	11,65	12,3	11,39
Mg total	g/Kg	0,49	0,39	0,42	0,39	0,34	0,39	0,33	0,46
P total	mg/Kg	1046,3	929,2	945,8	880,8	921,4	1045	994	1037
Mn total	mg/Kg	167,49	139,4	125,7	110,8	103,2	124,5	137	177,9
Cu total	mg/Kg	13,16	12,76	9,93	8,1	7,12	8,95	7,1	7,8

Notas: a) pH CaCl₂, pH SMP, M.O.= teor de matéria orgânica do solo, C.O.= C orgânico total, elementos trocáveis P (Mehlich-1), Na, K, Ca, Mg e Al, Al+H (acidez potencial), CTC=capacidade de troca catiônica, CTC pH 7, SB=Soma de bases, m=Saturação por Al e V=saturação por bases foram determinados conforme Marques e Motta (2003); os conteúdos totais de Ca, Mg, P, Fe, Mn e Cu foram extraídos em micro-ondas e determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado; e, as frações texturais foram determinadas conforme Gee e Bauder (1986).

Tabela 2. Análises químicas das amostras de solo do experimento em Campo Largo, PR, na safra 2021/2022.

Trat.	pH CaCl ₂	pH SMP	P	M.O.	C.O.	Ca	Mg	K	Na	Al	H+Al	CTC	CTC pH 7,0	SB	V
			mg/dm ³	g/dm ³	cmolc/dm ³										%
T1	5,4	6,7	126	86	50	4,5	1,2	0,8	0,01	0	3,1	6,9	10	6,9	69
T2	5,5	6,8	108	62	36	5,4	1,2	0,6	0,02	0	2,9	7,3	10,2	7,3	69
T3	5,7	6,8	112	60	35	6,2	1,4	0,7	0,02	0	2,9	8,3	11,2	8,3	74
T4	5,6	6,8	115	63	37	6,2	1,5	0,6	0,02	0	2,8	8,3	11,1	8,3	74
T5	5,5	6,7	111	62	36	5,4	1,3	0,6	0,02	0	3,1	7,3	10,4	7,3	70
T6	5,5	6,7	111	60	35	5,9	1,4	0,8	0,02	0	3,0	8,2	11,2	8,2	71
T7	5,4	6,7	101	64	37	5,7	1,3	0,6	0,02	0	3,1	7,7	10,8	7,7	71
T8	5,5	6,7	120	66	38	5,7	1,5	0,7	0,02	0	3,0	7,9	11	7,9	72
T9	5,7	6,8	116	71	41	6,3	1,4	0,8	0,02	0	2,9	8,5	11,4	8,5	74
T10	5,5	6,6	110	68	40	5,8	1,3	0,6	0,02	0	3,3	7,8	11	7,8	69
T11	5,6	6,8	119	62	36	5,9	1,5	0,7	0,02	0	2,9	8,1	11	8,1	72
T12	5,6	6,7	122	72	42	5,2	1,5	0,8	0,02	0	3,0	7,5	10,5	7,5	71
CV %	3,9	2,3	15	28	28	24	29	24	40	-	12	23	16	23	8

Notas: a) pH CaCl₂, pH SMP, M.O.= teor de matéria orgânica do solo, C.O.= C orgânico total, elementos trocáveis P (Mehlich-1), Na, K, Ca, Mg e Al, Al+H (acidez potencial), CTC=capacidade de troca catiônica, CTC pH 7, SB=Soma de bases, m=Saturação por Al e V=saturação por bases foram determinados conforme Marques e Motta (2003). b) Não houveram diferenças estatísticas entre as médias. c) média de 5 repetições. d) Trat.=tratamento

Tabela 3. Análises químicas do solo usado no experimento de casa de vegetação em Curitiba – PR.

Trat.	pH CaCl ₂	pH SMP	P	M.O.	C.O.	Ca	Mg	K	Na	H+Al	CTC	Al	CTC pH 7,0 ¹	SB	m	V
			mg/dm ³	g/dm ³		cmolc/dm ³										%
T1	5,3	5,8	42,9	71	41,4	10,1	4,6ab	0,44	0,08	6,1	15,2	0b	21,3	15,2a	0b	70
T2	5,0	5,4	28,0	72	41,7	8,6	3,9b	0,39	0,09	8,0	13,1	0,2ab	20,9	12,9a	1,8ab	61
T3	5,0	5,5	33,0	83	48,1	10,2	4,5ab	0,42	0,10	7,6	15,4	0,1ab	22,8	15,2	1,0ab	66
T4	5,4	5,8	36,7	73	42,6	12,8	6,2a	0,40	0,09	6,2	19,6	0,08ab	25,7	19,5	0,5ab	75
T5	5,4	5,8	30,7	75	43,7	9,4	5,3ab	0,41	0,09	6,2	15,3	0,1ab	21,4	15,2	1,1ab	70
T6	4,8	5,3	36,0	75	43,9	8,6	3,7b	0,48	0,10	8,5	13,4	0,4a	21,4	12,9	4,3a	60
T7	5,0	5,5	44,8	108	62,7	9,6	4,8ab	0,51	0,10	7,6	15,2	0,1ab	22,6	15,0	1,4ab	65
T8	5,4	5,9	36,8	97	56,2	13,2	6,3a	0,50	0,09	6,4	20,1	0,04ab	26,4	20,1	0,2ab	76
T9	5,1	5,6	28,7	75	43,3	9,8	5,2ab	0,37	0,08	7,1	15,6	0,1ab	22,6	15,4	1,4ab	68
T10	5,0	5,5	34,0	78	45,4	10,9	5,0ab	0,42	0,09	8,1	16,6	0,2ab	24,4	16,3	1,4ab	66
T11	5,2	5,6	29,7	75	43,6	11,2	5,3ab	0,40	0,08	6,7	16,9	0,02ab	23,6	16,9	0,1ab	71
T12	5,2	5,6	31,6	74	43,2	12,1	5,4ab	0,44	0,09	6,9	18,0	0b	24,9	18,0	0b	72
CV %	6	5,5	38	35	36	31	22	24	12	23	24	162	15	24	189	13

Notas: a) pH CaCl₂, pH SMP, M.O.= teor de matéria orgânica do solo, C.O.= C orgânico total, elementos trocáveis P (Mehlich-1), Na, K, Ca, Mg e Al, Al+H (acidez potencial), CTC=capacidade de troca catiônica, CTC pH 7, SB=Soma de bases, m=Saturação por Al e V=saturação por bases foram determinados conforme Marques e Motta (2003). b) Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. c) Durante a ANOVA, os valores originais de Mg e Al foram extraídos de suas raízes quadradas para garantia das requeridas distribuições normais, mas, depois, as resultantes médias foram retornadas às suas potências. d) Médias de 6 repetições. e) Trat.=tratamento

Tabela 4. Teores de cinzas e umidade nos grãos e respiração microbiana do experimento de campo conduzido em Campo Largo – PR.

	Cinzas	Umidade	Respiração
Unidade	%		mg de C-CO ₂ Kg ⁻¹
Tratamento			
1	14,28	5,684	11,16
2	14,35	5,824	11,28
3	13,87	5,378	13,5
4	13,68	5,522	12,3
5	13,86	5,588	11,52
6	13,39	5,574	12,6
7	14,49	5,354	13,44
8	13,43	5,53	15,06
9	13,95	5,616	13,38
10	13,98	5,438	13,92
11	13,53	5,416	12,54
12	13,39	5,632	14,16
CV%	10,03	5,4	18,43

Nota: Amostras para respiração coletadas na camada 0-10 cm nas entrelinhas das parcelas no momento da colheita.

APÊNDICE 2 – FIGURAS

Figura 1. Divisão da área para coleta de amostras de fertilidade do solo, para fins de recomendação anterior ao plantio em Campo Largo – PR.



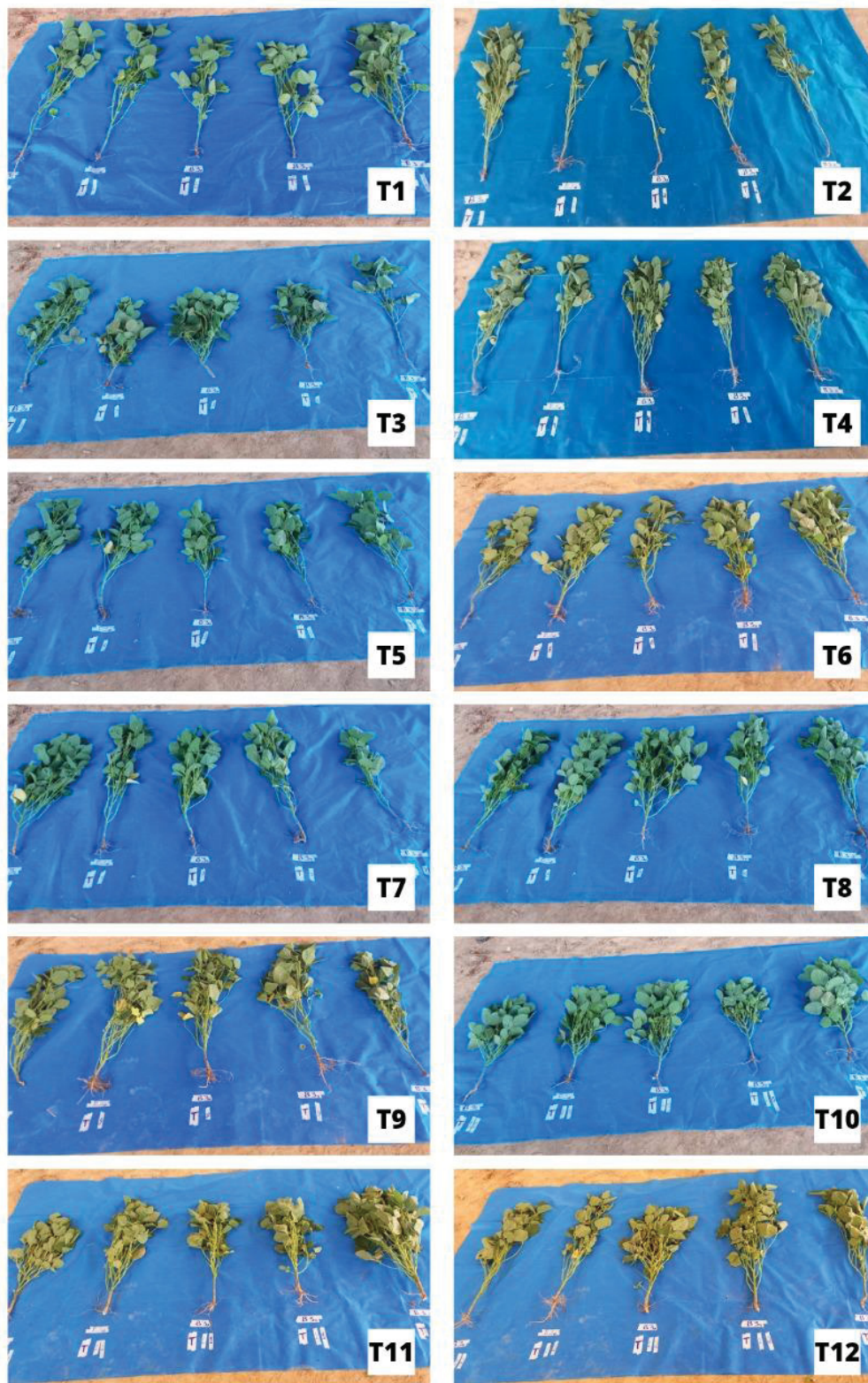
Fonte: Google Maps, modificado pelo autor (2023).

Figura 2. Aveia preta instalada anterior a implantação do experimento de campo em Campo Largo – PR.



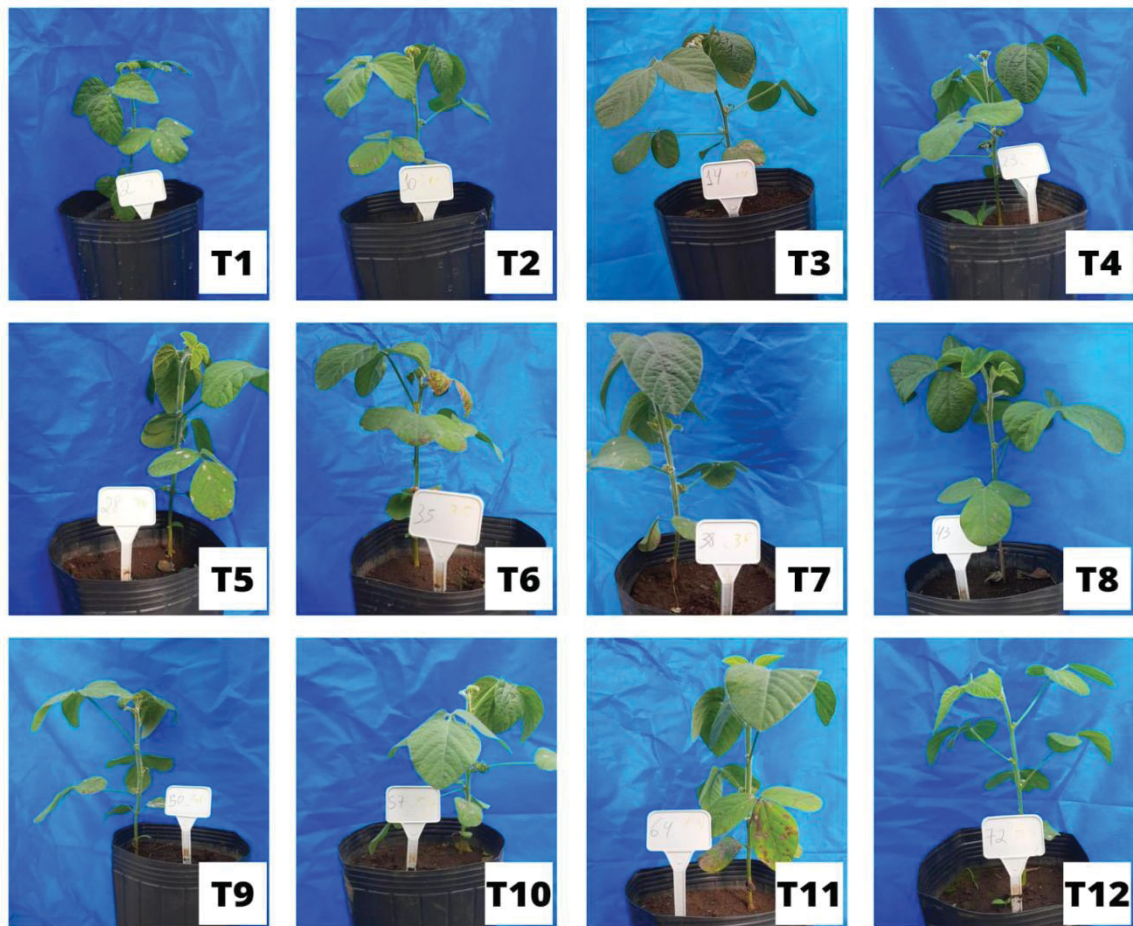
Fonte: O autor, 2023.

Figura 3. Comparação do conjunto de 5 plantas amostradas de soja por tratamento de bloco aleatório no estágio R1 do experimento conduzido em Campo Largo, PR



Fonte: O autor, 2023.

Figura 4. Comparação das plantas de soja do experimento de casa de vegetação por tratamento no estágio V4 posicionadas nos vasos, conduzido em Curitiba, PR



Fonte: O autor, 2023.

Figura 5. Comparação das plantas de soja do experimento de casa de vegetação por tratamento no estágio R1 posicionadas nos vasos, conduzido em Curitiba, PR.



Fonte: O autor, 2023.

