

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Dionatas Rodrigues da Silva

**CO-INOCULAÇÃO NO SULCO, VOLUME DE CALDA, HORÁRIOS DE
SEMEADURA E CARGAS BACTERIANAS NA CULTURA DA SOJA**

Santa Maria, RS
2020

Dionatas Rodrigues da Silva

**CO-INOCULAÇÃO NO SULCO, VOLUME DE CALDA, HORÁRIOS DE
SEMEADURA E CARGAS BACTERIANAS NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS
2020

Silva, Dionatas Rodrigues da
Co-inoculação no sulco, volume de calda, horários de
semeadura e cargas bacterianas na cultura da soja /
Dionatas Rodrigues da Silva.- 2020.
78 p.; 30 cm

Orientador: Thomas Newton Martin
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2020

1. Bradyrhizobium spp. 2. Azospirillum spp. 3.
Nodulação. 4. Produtividade. I. Martin, Thomas Newton
II. Título.

Dionatas Rodrigues da Silva

**CO-INOCULAÇÃO NO SULCO, VOLUME DE CALDA, HORÁRIOS DE
SEMEADURA E CARGAS BACTERIANAS NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Aprovado em 6 de março de 2020:

Thomas Newton Martin, Dr. (UFSM)
(Presidente/orientador)

Gerusa Massuquini Conceição, Dra. (UNIJUÍ)

Marcos da Silva Brum, Dr. (Biosphera)

Santa Maria, RS
2020

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, João e Sulema, e à minha irmã, Priscila, que me apoiaram nos momentos de dificuldade e sempre me incentivaram a estudar e a me aperfeiçoar. Sou muito grato por todo esforço que vocês fizeram para eu chegar até aqui.

À minha noiva, Micheli, pelo carinho, amor, compreensão e companheirismo ao longo desta intensa jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde, segurança e força para superar as dificuldades, e também por ter me proporcionado estudar e ter me auxiliado na escolha do mestrado em Agronomia, o qual me proporcionou crescimento pessoal e profissional.

Ao curso de pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, pela qualidade do ensino transmitido.

À CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa.

Ao meu orientador, professor Dr. Thomas Newton Martin, quem muito estimo, pelos ensinamentos, paciência, confiança depositada em mim, assim como pela amizade e companheirismo.

Aos membros do comitê de orientação, Thomas Newton Martin, Enio Marchesan e Maria Laura Turino Mattos, pelo auxílio durante o planejamento das atividades.

Aos membros da banca avaliadora, Thomas Newton Martin, Gerusa Massuquini Conceição e Marcos da Silva Brum, pela disponibilidade e pelas contribuições no trabalho.

Aos colegas e amigos da pós-graduação, Joanei Cechin, Giovane Burg, Evandro Deak, Jéssica Stecca, Matheus Martins, Glauber Fipke, André Ebone, Rosana Taschetto Vey e Vinícius Cunha, pelas conversas e ajuda na elaboração da dissertação.

Aos bolsistas do Grupo de Pesquisa em Grandes Culturas, pela amizade e auxílio nas atividades desenvolvidas no campo e laboratório.

Aos meus pais, João e Sulema, minha irmã Priscila e minha noiva Micheli, pelo amor, incentivo e apoio constante nas horas difíceis, de desânimo e de cansaço. Sem eles eu não teria conseguido finalizar este percurso.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

CO-INOCULAÇÃO NO SULCO, VOLUME DE CALDA, HORÁRIOS DE SEMEADURA E CARGAS BACTERIANAS NA CULTURA DA SOJA

AUTOR: Dionatas Rodrigues da Silva
ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

A fixação biológica de nitrogênio é capaz de suprir a necessidade de nitrogênio na cultura da soja, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados. Na busca de suficiência no aporte nutricional, a técnica da co-inoculação no sulco de semeadura, consiste na utilização das bactérias *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. em volumes de calda, e propõe ser uma alternativa para a maior sobrevivência destas no solo. No entanto, o ambiente influencia a sobrevivência das mesmas, pois, quando submetidas a estresses, a sua população no solo é reduzida, afetando a nodulação nas raízes e a produtividade de grãos da soja. Assim, objetivou-se com a pesquisa, avaliar as respostas da co-inoculação realizada no sulco de semeadura sobre os componentes da produtividade da soja e nodulação, bem como verificar a relação da interação do volume de calda, temperatura e umidade na semeadura a concentração de bactérias. Foram realizados três experimentos na área experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Nos experimentos 1 e 2, a co-inoculação via sulco de semeadura foi avaliada nos volumes de calda 25, 50, 75, e 100 L ha⁻¹, em três horários de semeadura, sendo eles às 8, 13 e 18 horas, tendo duas testemunhas, uma com a co-inoculação turfosa na semente e a outra com as sementes sem adição de inoculantes, apenas com tratamento químico. No experimento 3, a co-inoculação foi avaliada nos volumes 25, 50, 75 L ha⁻¹, com semeadura às 9 e 15 horas em comparativo com duas testemunhas com co-inoculação turfosa na semente e outra apenas com tratamento químico. Em condições ambientais ideais para a soja, a co-inoculação via sulco de semeadura nos volumes de calda entre 25 e 50 L ha⁻¹ foi eficiente para a nodulação e a produtividade de grãos independente do horário de semeadura, sendo uma alternativa a co-inoculação via sementes. A utilização de 8,2 milhões de UFCs em volumes de calda não modificou os aspectos de nodulação e produtividade da soja.

Palavras chave: *Bradyrhizobium* spp.. *Azospirillum* spp.. Nodulação. Produtividade.

ABSTRACT

CO-INOCULATION IN THE GROOVE, SAW VOLUME, SEEDING TIMES AND BACTERIAL LOADS IN SOYBEAN CULTURE

AUTHOR: Dionatas Rodrigues da Silva

ADVISER: Thomas Newton Martin

The biological nitrogen fixation is able to supply all needs for this nutrient in soybean crops, eliminating the use of nitrogen fertilizers. The search by sufficiency on nutritional support depends on the technique of co-inoculation in the furrow sown which consists of the use of bacteria *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum* spp. with a syrup volume, with the proposes of being an alternative for the greater bacteria survival in the soil. However, the environmental influences can reduce survival due to the stress occurrence, decrease the soil population, reduce the root nodulation, and soybean grain yield. Thus, the objective of this research was to evaluate the responses of co-inoculation performed in the furrow sown on the yield components and soybean nodulation, as well as to evaluate the relation among the syrup volumes, temperature, soil moisture in the sowing, and the bacteria concentration. Three experiments were carried out in the experimental area belonging to the Crop Protection Department of the Federal University of Santa Maria. In the 1st and 2nd experiments, co-inoculation via the sowing furrow was evaluated with volumes of 25, 50, 75, and 100 L ha⁻¹, at three different sowing times, 8, 13 and 18 hours, and two different witnesses, with peat co-inoculation in the seed and without addition of inoculants in the seed, this one presenting only the chemical treatment. In the 3th experiment, co-inoculation was evaluated with volumes of 25, 50, 75 L ha⁻¹, with sowing at 9 and 15 hours and compared to two controls, one with co-inoculation in the seed and the other one only with chemical treatment. Under ideal environmental conditions for soybeans, co-inoculation via sowing furrow in the spray volumes between 25 and 50 L ha⁻¹ was efficient for nodulation and grain yield regardless of sowing time, being an alternative to co-inoculation via seeds. The use of 8.2 million UFCs in syrup volumes did not change the nodulation and productivity aspects in soybean culture.

Keywords: *Bradyrhizobium* spp.. *Azospirillum* spp.. Nodulation. Yeld.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Precipitação pluvial (barras), e temperatura média (linhas) para a cidade de Santa Maria, RS, Brasil.....	26
Figura 2 - Umidade do solo (A), e temperatura do solo (B) nos horários de semeadura.	32
Figura 3 - Umidade do solo (%) avaliadas às 24, 48 e 72 horas após a semeadura da soja em função dos volumes de calda e horários de semeadura.....	34
Figura 4 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de <i>Bradyrhizobium</i> 8h (A), 13h (B), 18h (C) e <i>Azospirillum</i> 8h (D), 13h (E), 18h (F), sob a co-inoculação, em volumes de calda e horários de semeadura.	37
Figura 5 - Emergência de plantas m^{-2} (EME)(A), número de nódulos planta $^{-1}$ (NNP)(B), em função da co-inoculação e sem co-inoculação em volumes de calda em relação ao horário de semeadura.	39
Figura 6 - Número de legumes por planta $^{-1}$ (NLP) às 8h (A), 13h (B) e 18h (C) em função da co-inoculação e sem co-inoculação para semeadura da soja nos diferentes horários do dia e volume de calda.....	41
Figura 7 - Umidade do solo (A), e temperatura do solo (B) nos horários de semeadura.	44
Figura 8 - Umidade do solo (%) avaliadas às 24, 48 e 72 horas após a semeadura da soja em função dos volumes de calda e horários de semeadura.....	46
Figura 9 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de <i>Bradyrhizobium</i> 8h (A), 13h (B), 18h (C) e <i>Azospirillum</i> 8h (D), 13h (E), 18h (F), sob a co-inoculação, em volumes de calda e horários de semeadura.	49
Figura 10 - Emergência de plantas m^{-2} (EME) em função da co-inoculação e sem co-inoculação as 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda.....	51
Figura 11 - População de plantas (PP) em função da co-inoculação e sem co-inoculação as 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda.	52
Figura 12 - Número de nódulos por planta $^{-1}$ (NNP) em função da co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) e volumes de calda.	54
Figura 13 - Massa seca de nódulos por planta $^{-1}$ (MSN) em função da co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.	55
Figura 14 - Massa de mil grãos (MMG) em função da co-inoculação e sem co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.....	56
Figura 15 - Número de legumes por planta $^{-1}$ (NLP) em função da co-inoculação e sem co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda.....	57
Figura 16 - Produtividade de grãos (PG) em função da co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.....	59
Figura 17 - Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de <i>Bradyrhizobium</i> 9h (A), 15h (B), e <i>Azospirillum</i> 9h (C), 15h (D) sob a co-inoculação, em volumes de calda e horários de semeadura.	61
Figura 18 - Número de nódulos por planta (NNP) em função da co-inoculação em volumes de calda e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS $\leq 0,05$).....	62
Figura 19 - Massa seca de nódulos por planta $^{-1}$ (MSN) em função da co-inoculação e sem co-inoculação em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS $\leq 0,05$).....	64
Figura 20 - Massa seca de parte aérea planta $^{-1}$ (MSP) em função da co-inoculação e sem co-inoculação em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS $\leq 0,05$).....	65
Figura 21 - Massa de mil grãos (MMG) em função da co-inoculação em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS $\leq 0,05$).....	66

Figura 22 - Produtividade de grãos (PG) em função do horário de semeadura em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS \leq 0,05)..... 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtividade de grãos (PG) em função da co-inoculação em volumes de calda aplicados via sulco de semeadura da soja em horários do dia.	42
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	NITROGÊNIO E A SOJA	14
2.2	CO-INOCULAÇÃO VIA SULCO DE SEMEADURA	16
2.3	UMIDADE E TEMPERATURA DO SOLO NA SOBREVIVÊNCIA DE BACTÉRIAS	18
2.4	PRODUTIVIDADE DE GRÃOS, TEMPERATURA E UMIDADE DO SOLO	20
3	ARTIGO I - VOLUME DE CALDA E CO-INOCULAÇÃO VIA SULCO NA SEMEADURA DA SOJA	22
	INTRODUÇÃO	22
	MATERIAL E MÉTODOS	24
	Experimento 1 e 2: Co-inoculação da soja, volumes de calda no sulco de semeadura e horários ao longo dia	26
	Experimento 3: Co-inoculação em volumes de calda e concentração de unidades formadoras de colônia via sulco de semeadura da soja	29
	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
	Experimento 1: Co-inoculação da soja em volumes de calda no sulco de semeadura e horários do dia	31
	Experimento 2: Co-inoculação da soja em volumes de calda no sulco de semeadura e horários do dia	42
	Experimento 3: Co-inoculação em volumes de calda e concentração de unidades formadoras de colônia via sulco de semeadura da soja	59
	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	67
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	APÊNDICE A - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 1, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019	76
	APÊNDICE B - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 2, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019	77
	APÊNDICE C - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 3, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019	78

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] apresenta relevante importância econômica no cenário nacional. Em 2019, estima-se que a área semeada com soja corresponda a 36,51 milhões de ha⁻¹ e tenha uma produtividade média de 3292 kg ha⁻¹, área superior às demais *commodities* produzidas no Brasil (CONAB, 2020). A produtividade da soja depende principalmente das condições ambientais e fatores ligados à nutrição e proteção de plantas. Dentre estes fatores, a demanda de nutrientes possui grande importância, especialmente o nitrogênio (N), elemento requerido em grande quantidade pela cultura e, normalmente fornecido via fixação biológica de nitrogênio (FBN).

A soja tem capacidade de realizar a simbiose e associação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp., respectivamente, sendo que as mesmas estão diretamente ligadas ao suprimento de N e às necessidades hídricas da cultura. Atualmente, a constante procura por práticas de cultivo que sejam capazes de promover uma adequada nodulação nas raízes da soja, a fim de contemplar as necessidades de N da cultura e também promover maior crescimento vegetal, tem sido um grande desafio. A co-inoculação tem sido uma prática realizada pelos agricultores, sendo que a mesma consiste na formulação de uma calda com de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. que, normalmente, são dispersadas diretamente nas sementes, para então serem dispostas ao sulco de semeadura por meio da semeadora.

A utilização das bactérias fixadoras de N, juntamente com as promotoras do crescimento, é uma estratégia comprovada e essencial para o aumento da produtividade de grãos. Entretanto, vários fatores ambientais podem interferir na atividade das bactérias como, por exemplo, a umidade e a temperatura do solo, fatores estes que podem afetar negativamente a persistência e viabilidade das mesmas, devido à morte por desidratação e desnaturação.

A incompatibilidade das bactérias com os tratamentos químicos de sementes também são um aspecto importante, pois, têm efeito deletério às mesmas. Com isso a sobrevivência das bactérias co-inoculadas pode ser comprometida, afetando diretamente a nodulação e, conseqüentemente a FBN na soja, acarretando e menor crescimento vegetal e produtividade de grãos na cultura.

Assim, a co-inoculação das bactérias e a aplicação das mesmas em volumes de calda no sulco de semeadura, pode ser uma alternativa eficaz na busca de maior sobrevivência de bactérias. Pois, além de propiciar às bactérias um ambiente com água, diminuindo assim a morte por desidratação e desnaturação, mesmo que momentaneamente, também evita o contato direto

das mesmas com os produtos químicos do tratamento de sementes. No entanto, a temperatura do solo ao longo do dia é variável, podendo atingir valores elevados nos horários de maior radiação solar. Aliado a isso, o baixo teor de água no solo também propicia um ambiente desfavorável para as bactérias co-inoculadas, evidenciando a necessidade do entendimento científico das relações, principalmente no que diz respeito ao volume de calda a ser utilizado nas variações de umidade e temperatura do solo no momento da semeadura, em condições ambientais que são encontradas nos horários ao longo do dia.

A busca de soluções para o processo de co-inoculação é fundamental para a agricultura, pois, em condições ambientais ideais, a sobrevivência e o desenvolvimento das bactérias é maior, assim como o potencial produtivo da cultura. Dessa forma, o uso da co-inoculação via sulco é dependente do volume de água na calda e, visto que alterações do microambiente para as bactérias podem ser impactantes quando modificadas, maiores volumes podem proporcionar melhores condições para a sobrevivência das mesmas no solo. Assim, a co-inoculação em volumes de calda no sulco de semeadura pode ser uma alternativa para contornar o contato direto de produtos químicos com as bactérias, bem como as condições ambientais desfavoráveis presentes nos diferentes horários de semeadura.

Com isso, objetivou-se com a pesquisa, avaliar a co-inoculação em volumes de calda e cargas bacterianas via sulco de semeadura, sob as variações de temperatura e umidade do solo nos horários ao longo do dia, a fim de incrementar a FBN, crescimento vegetal e produtividade na cultura da soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NITROGÊNIO E A SOJA

A soja é a principal cultura agrícola brasileira, encontrada em todas as regiões, em área superior a 35 milhões de ha⁻¹ e, produção anual de aproximadamente 90 milhões de toneladas (CONAB, 2020). Por ser uma planta oleaginosa rica em proteína, a demanda por nitrogênio é alta e essencial para obter elevado potencial produtivo. Por exemplo, para produzir 3000 kg de grãos de soja são necessários aproximadamente 240 kg de nitrogênio (N), quantidade que pode ser fornecida por meio da fixação biológica do nitrogênio atmosférico (N₂) num processo que envolve a simbiose entre a bactéria e a soja (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015).

O nitrogênio pode ser fornecido por diversas maneiras às plantas de soja, porém, sob algumas circunstâncias, e tais maneiras não são suficientes para contemplar as demandas da cultura. Temos como exemplo a matéria orgânica do solo, a qual fornece diversos nutrientes às plantas, em especial o N, porém, este é ofertado de maneira limitada e, principalmente quando a matéria orgânica é encontrada em baixos teores, não suprindo adequadamente as necessidades da cultura.

A fixação não biológica é muito relativa e depende das variáveis ambientais, além da sua quantidade ser mínima e muito variável nos diferentes anos de cultivo. Dessa forma, a utilização de fertilizantes nitrogenados podem ser uma opção para o suprimento da necessidade de N, porém, as perdas do insumo para o ecossistema por meio da lixiviação e volatilização são elevadas, e a dependência do insumo é inviável economicamente (CHIBEBA et al., 2018).

Caso o fornecimento de N para a cultura fosse necessário, precisaria aproximadamente 240 kg de N, sendo 533 kg de ureia ha⁻¹ (45% de N) para uma produção média de 3000 kg ha⁻¹ de grãos de soja. O custo médio da ureia corresponde a R\$ 1,50 kg⁻¹, representando um total de R\$ 800,00 ha⁻¹. Assim, se considerarmos a área de produção do Brasil (±35 milhões de hectares), o custo total dos adubos nitrogenados na cultura da soja corresponderia a R\$ 28 bilhões. Dessa forma é possível entender a importância da FBN na cultura da soja, principalmente, no que se refere ao aspecto econômico.

A fixação biológica de N (FBN) é realizada por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp que possuem como característica a associação simbiótica com a soja. Em geral, as bactérias deste gênero são caracterizadas por apresentar vida livre ou diazotróficas e por serem gram-negativas em forma de espiral, com formação de nódulos no processo de simbiose, utilizando em seu metabolismo fontes de N como amônia, nitrito, nitrato e nitrogênio molecular (LIN et

al., 2016). Parte do nitrogênio utilizado para metabolismo é oriundo da fixação biológica de N atmosférico, processo caracterizado pela quebra da ligação covalente existente no N atmosférico seguido de conversão a amônia (NH₃), forma intimamente ligada ao complexo enzimático da nitrogenase. Na formação do nódulo, primeiramente as raízes devem exsudar moléculas conhecidas como flavonóides, que têm como função sinalizar para as bactérias irem de encontro com as raízes da planta hospedeira e ativar os diversos genes da bactéria responsáveis pelo início da simbiose (DESBROSSES; STOUGAARD, 2011).

Os genes ativados na nodulação são conhecidos como fatores *Nod*, que propiciam que as bactérias e raízes tenham comunicação entre si. Com isso, a infecção das raízes ativa outros genes para formação do nódulo, que são estruturas especializadas em captar o N₂ atmosférico e disponibilizar em forma de amônia (NH₃) para as plantas de soja em diferentes graus de especificidade. Com o desenvolvimento da célula cortical, ocorre o encurvamento do pêlo radicular colonizado, denominado cordão de infecção. No interior do cordão de infecção as bactérias iniciam o processo de multiplicação e infeccionam outras células radiculares até chegarem em camadas mais profundas como o periciclo da raiz da soja. A presença desses cordões no parênquima cortical da raiz dá origem aos primórdios do nódulo, que com a ação dos hormônios auxinas e giberelinas, culminam na formação do nódulo, o qual vai abrigar a bactéria (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013).

As estruturas conhecidas como nódulos têm em seu interior o complexo enzima nitrogenase. Este que é formado por duas enzimas, a ferro-proteína e a ferro-molibdênio proteína, as quais são responsáveis pela fixação de N no nódulo. Também possuem a proteína leghemoglobina no citoplasma das células nodulares, a qual se liga ao oxigênio e o armazena em quantidades suficientes para a manutenção da respiração celular por alguns segundos. Devido a sua atividade, o nódulo fica com coloração rosada no seu interior, dessa forma, é possível verificar se os nódulos das raízes estão ativos na planta (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

Os nódulos estão visíveis nas plantas a partir dos estádios fenológicos V1 e V2, conforme a escala fenológica proposta por Fehr e Caviness (1977). Nos estádios V4 a V5, ocorre maior intensidade de nodulação, em R1 e R2 atinge-se o primeiro pico de nodulação, devido a maior taxa fotossintética nesta fase, refletindo em menor abortamento floral. Entre os estádios R5.1 e R5.2, a demanda por nutrientes e energia é superior, devido o enchimento dos grãos. Quando a planta entra em maturação fisiológica, entre R7 e R8, a FBN é reduzida e, com a diminuição da atividade dos nódulos ocorre a degradação dos mesmos (KOLLER; NYQUIST; CHORUSH, 1986).

A eficiência de fixação de nitrogênio também está relacionada a fatores como por

exemplo o pH e a disponibilidade de alguns nutrientes no solo. Para que as bactérias fixadoras tenham bom desempenho, o solo deve apresentar pH em torno de 6,5. O alumínio em teores elevados tem efeito prejudicial sobre desenvolvimento radicular das plantas, prejudicando assim infecção radicular e o crescimento do rizóbio. Nutrientes como fósforo, manganês, cobalto, e molibdênio estão diretamente ligados ao crescimento, funcionamento e manutenção dos nódulos, tendo efeito significativo na realização da FBN (SANTACHIARA; SALVAGIOTTI; ROTUNDO, 2019).

A inoculação da soja possibilita que os nódulos se concentram com mais intensidade na coroa da raiz, principalmente na raiz principal do que nas raízes secundárias. Essa proximidade dos nódulos com os tecidos vasculares do xilema é importante, pois propicia maior eficiência na FBN, sendo mais eficiente na transferência do nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) produzidos pelos nódulos a partir do N_2 (PATE, 1973).

A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio na cultura da soja, além de trazer benefícios para a produtividade de grãos, também é uma ótima opção em vista da sustentabilidade ambiental, como também da viabilidade econômica (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Dessa forma, é importante entender as relações das bactérias com o meio em que se desenvolvem, a fim de possibilitar ajustes no processo de FBN na obtenção de melhores produtividades da soja.

2.2 CO-INOCULAÇÃO VIA SULCO DE SEMEADURA

As bactérias selecionadas do gênero *Bradyrhizobium* spp. realizam a FBN em soja e, em troca, a planta disponibiliza os fotoassimilados para a sobrevivência dos microrganismos (MASCIARELLI; LLANES; LUNA, 2014). Mas também existem outras bactérias benéficas ao desenvolvimento de plantas, porém utilizadas com maior expressão em milho e trigo. As bactérias do gênero *Azospirillum* spp, são uma alternativa para a fixação biológica de N_2 e crescimento de plantas (BRUM et al., 2016). Esses microrganismos são diazotróficos ou fixadores de N_2 que se associam a diversas espécies de plantas, com diferentes graus de especificidade, sendo consideradas bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015).

Na soja os principais mecanismos de ação das bactérias *Azospirillum* spp. referem-se aos benefícios oriundos da produção de fitormônios, gerando grande impacto no crescimento das raízes, proporcionando um sistema radicular maior e mais volumoso. Dessa forma, existe o melhor aproveitamento de água e nutrientes, com resultados de menor suscetibilidade ao

estresse por déficit hídrico (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Além disso, vale ressaltar que o maior desenvolvimento do sistema radicular induzido pelo *Azospirillum* potencializa a nodulação e, conseqüentemente, ocorre maior contribuição na FBN com as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, acarretando em maiores produtividades (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

O incremento da FBN em soja depende do uso da co-inoculação, técnica que engloba a utilização das bactérias *Bradyrhizobium* ssp. e *Azospirillum* ssp. em uma mesma calda para o tratamento das sementes de soja. Estudos realizados comprovaram que a técnica de co-inoculação incrementa o número de nódulos em soja, pois quando comparado ao uso isolado da inoculação com *Bradyrhizobium*, mostrou incremento de 8,4% na produtividade de grãos (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013; FIPKE et al., 2016).

A co-inoculação normalmente é dispersada sobre as sementes que normalmente já possuem o tratamento químico, ou no sulco de semeadura, esta que tem se mostrado uma prática mais ajustada, principalmente sobre as respostas de nodulação (BOGINO et al., 2011). A co-inoculação via sulco é realizada no momento da semeadura, e por meio de um jato dirigido ou em forma de pulverização as bactérias são dispersadas no fundo do sulco com os inoculantes diluídos em água, em formato de calda. No mesmo instante, ocorre a distribuição das sementes, assim, a calda co-inoculada é dispersada próxima às sementes a fim de facilitar a aproximação das bactérias com as raízes das plantas.

A co-inoculação via sulco é uma alternativa ao método via sementes, embora não seja utilizada pela maior parte dos agricultores do Brasil. Isso se dá em parte pelo custo de investimento, pois existe a necessidade da aquisição do equipamento, além de ser necessário utilizar uma quantidade maior de inoculantes nesse processo (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015). As limitações do método de co-inoculação via sementes é conhecido, pois, o correto processo de co-inoculação nas propriedades rurais nem sempre é obtido. Isso, por inúmeros motivos, seja pelo contato com os tratamentos químicos na semente, ou pelo transporte e armazenamento dos inoculantes, como também na execução da atividade, onde muitas vezes as quantidades mínimas de bacterias (UFCs/semente) não são atendidas. Contudo, a utilização via sulco de semeadura deve ser analisado individualmente, dentro das necessidades de cada propriedade rural. Isso, porquê a capitalização dos produtores não é a mesma para todos, e do ponto de vista econômico, e o retorno com a utilização do sistema pode ser a médio prazo, o que implica planejamento por parte dos mesmos.

A vantagem do método via sulco, é que o mesmo possibilita resultados superiores sob condições mais restritivas se comparado ao tratamento via sementes. Em pesquisa, Müller et al.

(2016), concluíram que a inoculação com *Azospirillum* proporcionou incremento na produtividade de milho de 702 kg ha⁻¹ com a aplicação via sulco de semeadura, quando comparado ao tratamento controle sem inoculação. A co-inoculação via sulco propicia melhor desempenho que o tratamento via sementes em solos secos e quentes e, com sementes tratadas quimicamente com produtos deletérios às bactérias, pois, existe menor contato das bactérias com os inseticidas e fungicidas utilizados (DEAK et al., 2019). Porém, em contrapartida, existe a desvantagem em relação às bactérias não estarem em contato direto com a semente, pois as bactérias devem se deslocar para o estabelecimento da relações associativas e simbióticas.

Dessa forma, demanda-se estudos que envolvam a co-inoculação em volumes de calda no sulco de semeadura, para o ajuste do manejo ao ambiente em busca de sinergismo entre as bactérias, com reflexo na produtividade de grãos.

2.3 UMIDADE E TEMPERATURA DO SOLO NA SOBREVIVÊNCIA DE BACTÉRIAS

A capacidade das bactérias de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e promotoras de crescimento de plantas (BPCP) colonizarem o sistema radicular é de fundamental importância para o desenvolvimento das plantas de soja. No entanto, para que ocorra a sobrevivência das bactérias, os fatores ambientais devem ser favoráveis e, caso contrário, haverá uma diminuição significativa na associação e simbiose entre plantas e bactérias (SANTOS et al., 2012).

A co-inoculação via sulco, ou seja, a utilização de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp., juntamente com *Azospirillum* spp. As quais são diluídas em água, formando uma calda para serem pulverizadas sobre o sulco de semeadura, próximas às sementes, tornou-se uma opção que vem ganhando importância no cultivo da soja, pois proporciona sua utilização em condições ambientais mais restritas (DEAK et al., 2019). As bactérias *Bradyrhizobium* quando aplicadas em solos com temperaturas entre 25 e 30 °C, demonstram ótimo desenvolvimento assim como a cultura da soja. Já quando expostas a condições extremas de temperatura, as bactérias respondem com menor fixação biológica de N₂, e as plantas com menor crescimento vegetal (MIRANSARI et al., 2013).

No ambiente agrícola, a temperatura do solo depende de vários fatores, sejam eles relacionados a atmosfera ou às propriedades físicas do solo. A radiação solar, a umidade do ar e velocidade relativa do vento, juntamente com a densidade do solo, teor de água e presença de palhada como cobertura, caracterizam-se elementos importantes e condicionantes do comportamento térmico do solo (YAN et al., 2017). O aquecimento do solo pode reduzir a umidade, afetar a respiração dos microrganismos e o crescimento de raízes (BAO et al., 2016).

Assim, a temperatura e a umidade do solo se comportam diferentemente nos sistemas de produção agrícola.

A quantidade de palha que é dependente da cultura antecessora, e têm significativo impacto nesse sistema, principalmente sobre as variações da radiação solar ao longo do dia. As oscilações das temperaturas diárias do solo são mais expressivas quando o terreno se encontra sem cobertura facilitando a exposição à radiação solar (YAN et al., 2017), fator que deve ser observado para a sobrevivência das bactérias co-inoculadas via sulco de semeadura.

O déficit hídrico tem efeito negativo sobre o crescimento vegetal, a nodulação e, conseqüentemente, a produtividade de grãos. A ocorrência de déficit hídrico durante o estabelecimento das associações e simbioses com a plantas, afeta negativamente vários aspectos no crescimento e desenvolvimento da soja. Os prejuízos são visíveis no sistema radicular e a formação dos nódulos, nos estádios V₂ (segundo nó), no pleno florescimento (R₂) e no enchimento de grãos (R₅) (CHRISTOPHE et al., 2011). Fatores ambientais desfavoráveis como temperaturas altas, com oscilações durante o dia e, a baixa umidade de solo, bem como excesso da mesma, comprometem significativamente a nodulação da planta (SANTOS et al., 2012). Nessa via, a umidade é fundamental para a sobrevivência das bactérias podendo resultar na morte das bactérias por desidratação em caso de deficiência hídrica. Ademais, a falta de água no solo também afeta a atividade fotossintética das plantas devido fechamento dos estômatos, reduzindo assim a disponibilidade de fotoassimilados para os nódulos das raízes e conseqüentemente a FBN.

A deficiência hídrica no início do ciclo causa forte redução na emissão de novos ramos, reduzindo potencialmente o número de nós e a produção de legumes, ocasionando na diminuição de grãos e no teor de óleo e proteína na soja (MONDANI et al., 2019). Solos com teores de umidade ideais, próximos a 50% de capacidade de retenção, proporcionam as melhores condições para desenvolvimento de plantas juntamente com temperaturas mais amenas, quando comparados a solos secos e com alta temperatura (DEAK et al., 2019).

A formação do sulco de semeadura na cultura da soja é um aspecto importante a ser observado, pois o aumento da velocidade de semeadura tende a desfavorecer a cobertura com a palhada, aumentando a exposição do sulco à radiação solar (BARR; DESBIOLLES; FIELKE, 2016), contribuindo para a evaporação da água do solo e prejudicando a sobrevivência das bactérias e o desenvolvimento inicial da soja. Com isso, a capacidade de retenção de água no solo é um elemento chave para manutenção da microbiologia do solo e das plantas, pois a água atua em vários processos como solvente universal e como um transportador de gases, elementos e substâncias essenciais para animais e plantas (KUROMORI; SEO; SHINOZAKI, 2018).

Dessa forma, a sua presença se torna indispensável para as plantas realizarem associações simbióticas com as bactérias, a fim de proporcionar condições favoráveis para a busca de maiores produtividades na cultura da soja.

Pesquisas de campo envolvendo as relações de microrganismos em ambientes, permitem o aprimoramento da técnica de co-inoculação via sulco de semeadura. Assim, o entendimento científico propicia controle sobre as adversidades ambientais encontradas nos horários de semeadura, propiciando serem contornadas com práticas de manejo na cultura da soja.

2.4 PRODUTIVIDADE DE GRÃOS, TEMPERATURA E UMIDADE DO SOLO

A cultura da soja possibilita semeaduras em períodos superiores a 90 dias entre o início e o término do processo, situação que expõe as plantas em condições ambientais distintas, afetando de forma significativa o desenvolvimento e produtividade da cultura (KANDIL et al., 2012). Questões específicas no âmbito econômico ou agrônomo, permitem que a semeadura da soja seja feita em diferentes momentos, desde que seja respeitado o zoneamento de risco climático da região. Porém, variações nas condições ambientais podem ocorrer dentro de uma mesma região e/ou zoneamento. Assim, o desenvolvimento da soja pode ser afetado por fatores como a temperatura, precipitação, umidade do solo e do ar além do fotoperíodo, tendo forte influência sobre os componentes da produtividade e atributos qualitativos das sementes de soja (MONDANI et al., 2019).

Algumas características importantes nas semeaduras tardias necessitam ser observadas como, por exemplo, a redução do ciclo e alterações de características do seu desenvolvimento (NÓIA-JÚNIOR; SENTELHAS, 2019). Em soja, o déficit hídrico e temperaturas fora dos limites ótimos para o desenvolvimento, proporcionam reduções de produtividade superiores a 50% conforme a região e intensidade do estresse (BATTISTI et al., 2018). Assim, os estímulos ambientais são distintos entre as semeaduras precoces e tardias.

A variação da temperatura do solo é dependente dos fatores relacionados aos atributos físicos do solo, como textura, estrutura e teor de matéria orgânica (HUANG et al., 2020). Em solos arenosos, maiores amplitudes térmicas diárias nas camadas superficiais e menores em profundidade tendem a ocorrer comparado aos solos argilosos. As principais razões englobam o aumento da porosidade dos solos arenosos e com área superficial específica das partículas, dificultando o processo de retenção de água (AMOAKWAH et al., 2017).

O comportamento térmico do solo é determinado pelo aquecimento da superfície pela radiação solar, com variações diárias mais acentuadas de temperatura na camada de até cinco centímetros de profundidade (LORINI, 2017). Observações regulares de temperatura em diferentes profundidades e horários do dia, possibilitam identificar o seu comportamento térmico e, o conhecimento da influência do mesmo sobre os microrganismos e plantas, nas distintas regiões produtoras de soja. Com essa oscilação na camada superior do solo, as sementes e os inoculantes estão expostos a diferentes ambientes ao longo do dia. Considerando a semeadura da soja, principalmente a cultura e os microrganismos, a temperatura ideal está torno de 25°C, com mínima e máxima variando de 20 a 30°C na camada superior do solo, pois a mesma possibilita uma emergência rápida e uniforme da cultura (DEAK et al., 2019).

A duração das fases e do ciclo de desenvolvimento da soja também são reguladas por este fator, com variações específicas nas diferentes cultivares (FREIRIA et al., 2016). As características de cultivares de soja, como grupo de maturação, tipo de crescimento e a fase de desenvolvimento sob diferentes condições ambientais, principalmente de umidade, temperatura e fotoperíodo; afetam de maneira crítica os componentes da produtividade (ZHANG et al., 2020).

A temperatura do solo elevada aliada ao estresse hídrico pode limitar a sobrevivência das bactérias envolvidas na fixação biológica de N₂, resultando em menor número de nódulos e produtividade (HUNGRIA; KASCHUK, 2014). No entanto, as relações ambientais são específicas de cada região ou lavoura, devendo ser analisada com base em pesquisas científicas locais que descrevam o desenvolvimento da cultura em resposta aos diferentes estímulos ambientais, afim de entender as relações edafoclimáticas no desenvolvimento dos microrganismos benéficos à soja.

Assim, diante das variações ambientais presentes ao longo do dia, o desenvolvimento da soja e das bactérias co-inoculadas são fortemente afetadas e, o entendimento dessas relações é de fundamental interesse para a melhoria das técnicas de manejo. Com isso, o volume de calda no sulco de semeadura, sob níveis de temperatura e umidade solo ao longo do dia de semeadura, precisa ser entendido. Com isso, será possível ajustar o volume de calda a fim de propiciar as melhores condições para a sobrevivência das populações de bactérias no sulco de semeadura, favorecendo o a sobrevivência e desenvolvimento das mesmas, em função do aumento da produtividade de grãos da cultura da soja.

1 **3 ARTIGO I - VOLUME DE CALDA E CO-INOCULAÇÃO VIA SULCO NA** 2 **SEMEADURA DA SOJA**

3 **INTRODUÇÃO**

4 A inoculação de bactérias para fixação biológica de nitrogênio (FBN) e promoção de
5 crescimento de plantas (BPCP) aumentam o sistema radicular pela produção hormonal
6 (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2016), favorece a nodulação nas raízes (CHIBEBA et
7 al., 2015) e conseqüentemente a produtividade de grãos de soja (BOGINO et al., 2011). A co-
8 inoculação é uma alternativa que consiste na utilização de bactérias do gênero
9 *Bradyrhizobium* spp e *Azospirillum* spp na mesma calda, podendo ser aplicada diretamente
10 nas sementes ou via sulco de semeadura.

11 Contudo, a co-inoculação envolve organismos vivos e, quando expostos a ambientes
12 com radiação solar, baixos teores de umidade do solo e altas temperaturas, podem resultar em
13 morte de bactérias (CEREZINI et al., 2016). Além disso, a exposição das bactérias à
14 toxicidade de alguns pesticidas empregados no tratamento de sementes, afetam a
15 sobrevivência das mesmas (MOHIUDDIN; MOHAMMED, 2013), e em vista dos inúmeros
16 produtos disponíveis, a compreensão da compatibilidade entre produtos e inoculantes muitas
17 vezes é desconhecida (YANG et al., 2011). Ainda, para que a co-inoculação via sementes seja
18 eficiente demanda-se tempo e planejamento, bem como organização por parte dos agricultores
19 no momento de semeadura. Em função da necessidade de mão de obra qualificada,
20 equipamentos exclusivos para os inoculantes, exigindo assim maiores cuidados e
21 investimentos por parte do produtor, a co-inoculação nem sempre é feita de maneira
22 satisfatória (STECCA et al., 2019). Para solucionar esses problemas tem-se como alternativa a
23 co-inoculação via sulco de semeadura, pois do ponto de vista operacional, o processo tornou-
24 se mais simples e prático sem causar prejuízos a FBN (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO,
25 2015).

26 A busca por melhorias no processo de co-inoculação vêm sendo pesquisada, de forma a
27 ajustar o seu manejo, pois o ambiente tem sido um fator limitante na sobrevivência, interação
28 e desenvolvimento dessas bactérias (DEAK et al., 2019). Dessa forma, estratégias que visem
29 reduzir a influência negativa do ambiente sobre o processo co-inoculação tornou-se uma
30 demanda, pois, quando realizada de forma ineficiente, causa reflexos diretos sobre a FBN,
31 diminuindo assim o potencial de N a ser fixado para as plantas (HUNGRIA; NOGUEIRA;
32 ARAÚJO, 2015).

33 A morte de bactérias está relacionada ao ambiente pelos efeitos da temperatura e
34 umidade, porém, existem outros motivos que também causam prejuízos sobre a sobrevivência
35 de bactérias (BULYABA; LENSSEN, 2017). A co-inoculação quando realizada via sementes
36 possui limitações, pois normalmente as bactérias são co-inoculadas em contato com outros
37 tratamentos usados para proteção de plantas, como fungicidas e inseticidas, estes que em
38 contato com as bactérias causam a morte das mesmas (STECICA et al., 2019), reduzindo
39 significativamente sua população na semente e conseqüentemente reduzindo o potencial na
40 FBN (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015). Para isso, a recomendação da co-
41 inoculação via sementes é que seja feita no prazo máximo de 24 horas antes da semeadura, a
42 fim de manter o maior número possível de bactérias viáveis e aumentar as chances de
43 ocorrência da simbiose, pois quando ultrapassado esse prazo, as mortes podem ocorrer em até
44 90% quando comparado ao recomendado (DEAKER; HARTLEY; GEMELL, 2012).

45 Todavia, existem indefinições no processo co-inoculação via sulco, estes que estão
46 diretamente ligados ao volume de calda em distintos ambientes, principalmente sob à variação
47 de temperatura e umidade do solo, condições estas encontradas ao longo do dia de semeadura
48 (FUKAMI et al., 2016). Além do volume de calda, a concentração de bactérias no sistema via
49 sulco também é um aspecto a ser ajustado, pois a mesma deve apresentar vantagem numérica,
50 visto que a estirpes inoculadas são mais eficientes em fixar N quando comparadas a bactérias

51 autóctones no solo (KUMAR; RAWAT; RAO, 2017). O ajuste do volume de calda e a
52 concentração de bactérias é uma necessidade, assim, evita-se o gasto desnecessário com
53 inoculantes, e também propicia operacionalidade na semeadura, pois, se o volume de calda
54 estiver superestimado e, esteja demandando mais água que o necessário, o processo de
55 semeadura torna-se lento. Assim, as vantagens da co-inoculação via sulco serão efetivas,
56 permitindo que exista maior sobrevivência às bactérias, bem como maiores nodulações e
57 produtividades na cultura da soja (BOGINO et al., 2011).

58 Diante das variações de temperatura e umidade do solo encontradas no ambiente no
59 processo de semeadura da soja, e a competitividade entre bactérias inoculadas e autóctones do
60 solo, sob o processo de simbiose e FBN, é importante ser estudado alternativas que visem
61 contornar esses problemas, em vista do aumento da eficiência do processo. Com isso
62 objetivou-se com a pesquisa determinar o volume de calda a ser utilizado nas variações de
63 temperatura e umidade do solo encontradas durante o dia de semeadura, bem como ajustar a
64 concentração de bactérias no volume de calda afim de contribuir no processo de FBN,
65 crescimento vegetal e produtividade da cultura da soja.

66 MATERIAL E MÉTODOS

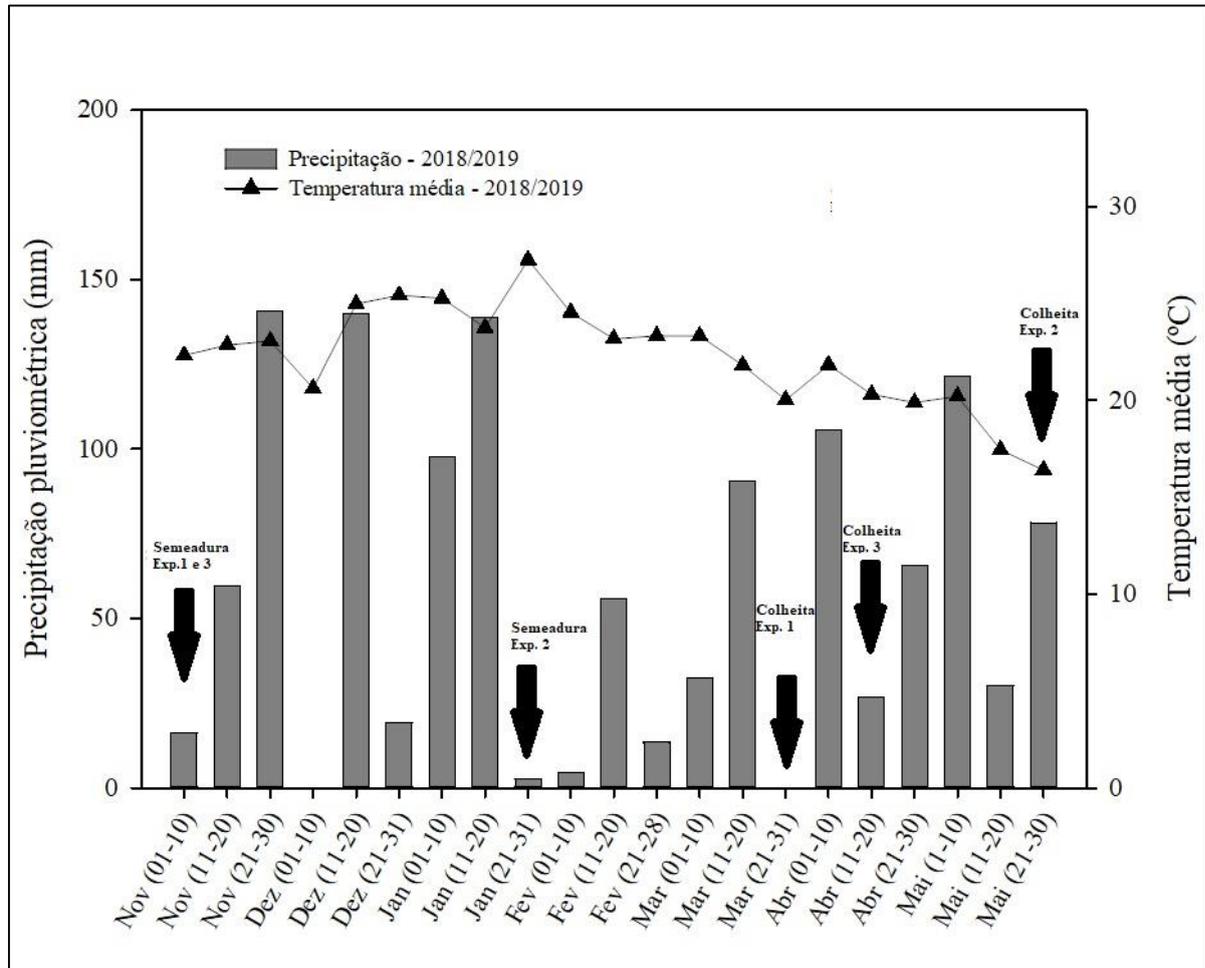
67 Três experimentos de campo foram instalados na área experimental da Universidade
68 Federal de Santa Maria, localizado sob as coordenadas geográficas 29°43'07" S e 53°43'59"
69 O, com elevação de 116m em relação ao nível do mar. O solo da área foi classificado como
70 Argissolo Vermelho Distrófico arênico (EMBRAPA, 2018), definido como Ultisol Aeric
71 Albaquults por USDA (2014). A análise química de solo apresentou as seguintes
72 características: $\text{pH}_{\text{água}} = 5,5$; matéria orgânica = 2,2%; argila = 26%; $\text{P} = 11,8 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K} =$
73 $0,164 \text{ cmol}_c/\text{dm}^{-3}$; $\text{H+Al} = 3,9 \text{ cmol}_c/\text{dm}^{-3}$; $\text{CTC}_{\text{pH}=7,0} = 12,2 \text{ cmol}_c/\text{dm}^{-3}$ e saturação de bases =
74 67,9%. A classificação climática da região, de acordo com Köppen é do tipo Cfa (ALVARES
75 et al., 2013), caracterizada como subtropical úmido com verões quentes e sem estação seca

76 definida. A precipitação média anual é de 1712,4 mm, distribuída de maneira uniforme nas
77 quatro estações do ano (HELDWEIN; BURIOL; STRECK, 2009).

78 O manejo fitossanitário e de adubação foi comum para os três experimentos. A
79 dessecação da área foi realizada em pré semeadura com os herbicidas glifosato (Glifosato
80 Nortox) e 2,4-D amina (2,4-D Nortox), seguido de aplicação sequencial com paraquat
81 (Gramoxone[®]). A adubação de base com P₂O₅ e K₂O foi realizada com sulcador da
82 semeadora, utilizando 300 kg ha⁻¹ da formulação NPK 00-23-30, fórmula obtida pela mistura
83 manual de superfosfato triplo com cloreto de potássio. O tratamento químico de sementes foi
84 realizado 10 dias antes da semeadura com produto formulado a base de piraclostrobina (25 g
85 L⁻¹) + tiofanato metílico (225 g L⁻¹) + fipronil (250 g L⁻¹) (Standak Top[®]) na dosagem de 200
86 mL para 100 kg de sementes⁻¹. Os demais tratos fitossanitários foram realizados conforme as
87 recomendações técnicas da cultura da soja (EMBRAPA, 2014). A co-inoculação das sementes
88 foi realizada via sulco, utilizando um sistema de pulverização em sulco acoplado a semeadora
89 SFIL PSM 5000.

90 As condições meteorológicas de temperatura média e precipitação, encontradas durante
91 o desenvolvimento dos experimentos, estão apresentadas na Figura 1.

92 Figura 1. Precipitação pluvial (barras), e temperatura média (linhas) para a cidade de Santa
 93 Maria, RS, Brasil.



94 Fonte: Dados representados por decêndios mensais durante o período do experimento na safra 2018/2019,
 95 (INMET, 2019).
 96

97 **Experimento 1 e 2: Co-inoculação da soja, volumes de calda no sulco de semeadura e**
 98 **horários ao longo dia**

99 Os experimentos 1 e 2 foram instalados nos dias 7 de novembro de 2018 e 23 de janeiro
 100 de 2019, respectivamente. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, em
 101 um fatorial de 5x2x3 (volume x co-inoculação x horários) com parcelas subdivididas no
 102 tempo e, quatro repetições. O fator (A) representou cinco volumes de calda para pulverização
 103 no sulco (0, 25, 50, 75 e 100 L ha⁻¹), o fator (D) foi constituído da co-inoculação com
 104 bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e sem co-inoculação, apenas
 105 com a aplicação de água no sulco de semeadura e tratamento químico na semente, o fator (C),
 106 foi composto por três horários de semeadura (8, 13 e 18h). A comparação entre os tratamentos

107 foi realizada com a testemunha sem a co-inoculação, apenas com o tratamento químico de
108 sementes (testemunha 1) e com a testemunha com co-inoculação turfosa na calda açucarada a
109 10% na semente (testemunha 2).

110 Para a co-inoculação via sulco de semeadura, foi utilizado o inoculante líquido com
111 concentração de 7×10^9 UFC mL⁻¹ de *Bradyrhizobium japonicum* estirpes semia 5079 e semia
112 5080, na dosagem de 6 mL kg de semente⁻¹ e, o inoculante *Azospirillum brasilense* estirpes
113 AbV5 e AbV6 com garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹ na dosagem de 2 mL kg de semente⁻¹. Na
114 testemunha co-inoculada, o inoculante turfoso de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium*
115 *japonicum* na concentração de 2×10^8 UFC mL⁻¹ e $5,5 \times 10^9$ UFC mL⁻¹, respectivamente, foi
116 utilizado na semente com calda açucarada a 10%. A cultivar utilizada foi a Nidera 5959 IPRO
117 pertencente ao grupo de maturação 5.9, com hábito de crescimento indeterminado. As
118 parcelas experimentais possuíam 8,75m² (3,87 x 2,25 m), constituídas por cinco fileiras
119 espaçadas 0,45 m entre si com população de 311 mil plantas ha⁻¹.

120 As variáveis experimentais avaliadas foram: umidade do solo (%), temperatura do solo
121 (°C), número de bactérias no solo (UFC g⁻¹), número de nódulos (n°), massa seca de nódulos
122 (g planta⁻¹). Componentes da produtividade: estande de plantas (plantas m⁻²), número de
123 legumes (legumes planta⁻¹), massa de 1000 grãos (g) e produtividade (kg ha⁻¹). Os níveis de
124 umidade do solo foram avaliados previamente, antes da semeadura da soja, coletando-se três
125 amostras de 100 gramas na profundidade de 6 cm nos diferentes horários propostos (8, 13 e
126 18h). A evolução da umidade do solo foi realizada no sulco da semeadora às 24, 48 e 72h
127 após a semeadura, visando analisar a umidade residual nos diferentes volumes de calda. As
128 amostras coletadas foram pesadas e secas em estufa na temperatura de 105°C. Após 24h de
129 secagem o solo, foi realizada a pesagem e, por meio da diferença das massas (método
130 gravimétrico), foi calculada a quantidade percentual de água presente nas amostras.

131 A temperatura do solo em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$) foi medida antes e depois de cada
132 semeadura, usando três termômetros do tipo espeto (12 cm de haste), instalados no sulco de
133 semeadura e na profundidade de três centímetros. Adicionalmente, a aferição da temperatura
134 da calda da co-inoculação no momento da semeadura foi realizada para garantir a mesma
135 temperatura de pulverização no sulco. Já a emergência de plantas foi obtida pela contagem
136 aos sete dias após a emergência da primeira plântula, pela contagem direta em três metros
137 lineares nas fileiras centrais de cada parcela. Para a obtenção da população final de plantas
138 (PP) a contagem foi realizada aos quatorze dias após a emergência.

139 No estágio fenológico R_2 (pleno florescimento) foi realizada a coleta das raízes das
140 plantas para contagem dos nódulos, utilizando-se quatro plantas por unidade experimental,
141 coletadas com o auxílio de uma pá. O número de nódulos planta^{-1} foi obtido após contagem
142 individual, e a massa seca dos nódulos (em g planta^{-1}) ocorreu após lavagem em água corrente
143 com o uso de peneiras, secagem em estufa de circulação de ar forçado a 60°C até atingir
144 massa constante, e pesagem em balança de precisão. A contagem do número de bactérias no
145 solo foi obtida por meio da coleta de amostras realizadas antes e após a semeadura, usando a
146 estimativa do número mais provável de acordo com SCHINNER (1996), metodologia que
147 contempla a contagem das células viáveis no solo. As amostras pós-semeadura foram
148 coletadas no estágio fenológico R_2 da soja.

149 No estágio R_8 (maturação plena) foi realizada a amostragem de quatro plantas por
150 parcela para determinação do número de legumes por planta (NLP, planta^{-1}). A colheita de
151 grãos da soja (PG), foi realizada com uma moto segadeira, sendo colhidas às três fileiras
152 centrais totalizando $5,22 \text{ m}^2$ de área útil que, foram trilhadas e limpas. Posteriormente, os
153 grãos foram pesados e aferido o teor de umidade, com correção para 13% para a obtenção da
154 produtividade de grãos e massa de mil grãos (em gramas).

155 Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Caso
156 significativo, as médias das variáveis qualitativas foram submetidas a comparação pelo teste
157 Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o software estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2008). Para as
158 variáveis quantitativas, análise de regressão polinomial foi realizada com o software Sigma
159 Plot 12.3 (SYSTAT, 2012). Com base nestas informações, para as regressões polinomiais de
160 segundo grau procedeu-se estimativa da máxima eficiência técnica ($MET = -b_1 / 2b_2$).

161 **Experimento 3: Co-inoculação em volumes de calda e concentração de unidades**
162 **formadoras de colônia via sulco de semeadura da soja**

163 O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso, em
164 que os tratamentos foram distribuídos em um fatorial de $3 \times 2 \times 2 + 4$ (volume x cargas x horário
165 + testemunhas) com parcelas subdivididas e quatro repetições por tratamento, totalizando 16
166 tratamentos. O fator A foi composto de três volumes de calda de co-inoculação (25, 50 e 75 L
167 ha^{-1}); o fator B representou as cargas bacterianas de *Bradyrhizobium* (4,1 e 8,2 milhões
168 UFCs/semente); e no fator D foram avaliados dois horários de semeadura (9 e 15 horas). Para
169 comparação dos efeitos foram usadas duas testemunhas adicionais que corresponderam a
170 ausência de co-inoculação na semente (testemunha 1) e co-inoculação turfosa na concentração
171 $1.200.000,00 \text{ UFC mL}^{-1} \text{ semente}^{-1}$ com calda açucarada a 10% no volume de 2 ml kg^{-1}
172 semente^{-1} (testemunha 2).

173 Para a co-inoculação via sulco de semeadura foi utilizado o inoculante líquido na
174 concentração de $7 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *Bradyrhizobium japonicum* estirpes semia 5079 e semia
175 5080, com duas cargas bacterianas referentes a $4.117.500 \text{ UFC mL}^{-1} \text{ semente}^{-1}$ (três vezes a
176 recomendação) e $8.235.000 \text{ UFC mL}^{-1} \text{ semente}^{-1}$, (seis vezes a recomendação). Juntamente
177 com o *Bradyrhizobium japonicum* inoculado, foi adicionado o inoculante contendo bactérias
178 promotoras de crescimento vegetal (BPCV) *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e AbV6,

179 com garantia de 2×10^8 UFC mL⁻¹. Além disso, foi adicionado um protetor bacteriano
180 (ProtegeTS) na calda de co-inoculação na dosagem de 2 mL kg de semente⁻¹.

181 A cultivar de soja utilizada foi TMG 7062 IPRO do grupo de maturação 6.2 e tipo de
182 crescimento indeterminado. A semadura foi realizada no dia nove de novembro de 2018 em
183 parcelas experimentais de 8,75m² (3,87 x 2,25 m), constituídas por cinco fileiras espaçadas 45
184 cm entre si e densidade de 266 mil sementes ha⁻¹.

185 As variáveis analisadas foram: número de unidades formadoras de colônia (UFC g⁻¹) de
186 *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, número de nódulos planta⁻¹ (n^o), massa seca de nódulos
187 planta⁻¹ (g planta⁻¹), massa seca da parte aérea planta⁻¹(g planta⁻¹), massa de mil grãos (g) e a
188 produtividade de grãos (kg ha⁻¹). O número e a massa de nódulos foram obtidos no estágio
189 fenológico R₂ (pleno florescimento) pela coleta das raízes das plantas, utilizando quatro
190 plantas por unidade experimental. Após contagem individual dos nódulos planta⁻¹, foi
191 realizada a lavagem em água corrente com o uso de peneiras, secagem em estufa de
192 circulação de ar forçado a 60°C até atingir massa constante, e pesagem em balança de precisão
193 para obter a massa seca dos nódulos. A contagem do número de bactérias no solo foi obtida
194 por meio da coleta de amostras realizadas antes e após a semeadura, usando-se a estimativa do
195 número mais provável de acordo com SCHINNER (1996), metodologia que contempla a
196 contagem das células viáveis no solo. As amostras pós-semeadura foram coletadas no estágio
197 fenológico R₂ da soja. A massa seca da parte aérea (em g planta⁻¹) foi obtida após coleta de
198 quatro plantas de soja de cada parcela, submetidas a secagem e pesagem.

199 O número de UFC de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* foi avaliado em estágio R5. Em
200 estágio R₈, a produtividade da soja foi realizada pela colheita de três fileiras centrais (5,22 m²
201 de área útil), seguida de trilha e limpeza. Posteriormente, os grãos foram pesados e aferido o
202 teor de umidade, com correção para 13% para a obtenção da produtividade de grãos. A massa
203 de mil grãos (g) foi avaliada por meio de cinco repetições de 100 sementes cada.

204 Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Caso
205 significativo, as médias das variáveis qualitativas foram submetidas a comparação pelo teste
206 Scott-Knott ($p \leq 0,05$) utilizando o software estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2008). Para as
207 variáveis quantitativas, análise de regressão polinomial foi realizada com o software Sigma
208 Plot 12.3 (SYSTAT, 2012).

209 **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

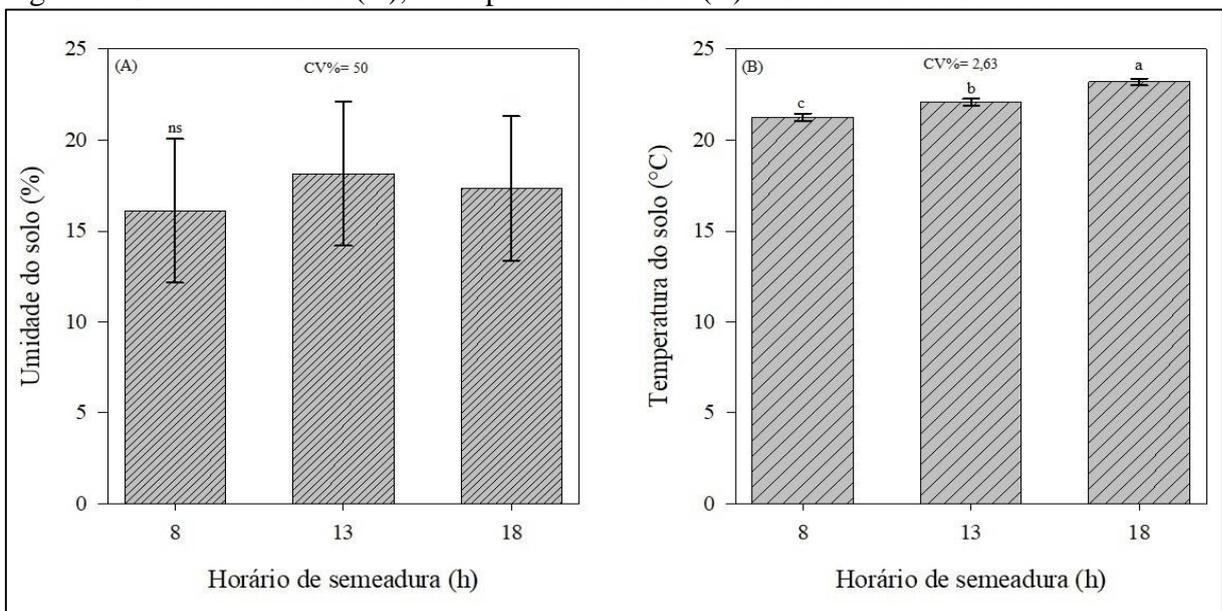
210 **Experimento 1: Co-inoculação da soja em volumes de calda no sulco de semeadura e** 211 **horários do dia**

212 Os resultados da análise de variância mostraram interação tripla entre horário de
213 semeadura, co-inoculação e volume de calda para a variável emergência de plantas (EME) e
214 número de legumes planta⁻¹ (NLP). Com a variação do volume de calda, o uso de co-
215 inoculação, nos horários de semeadura, podemos verificar que os três fatores possuem
216 contribuição nas respostas dos caracteres avaliados. Interações duplas significativas entre co-
217 inoculação e volume de calda ocorreram para número de nódulos planta⁻¹ (NNP) e massa de
218 nódulos planta⁻¹ (MSN). Neste caso, o volume de calda teve efeito quando utilizado ou não a
219 co-inoculação, e o horário de semeadura não teve influência sobre os respectivos caracteres de
220 avaliação. Efeito significativo para horário de semeadura foi encontrado para massa de mil
221 grãos (MMG), ou seja, neste caso teve diferença sobre a massa dos grãos nos momentos que
222 ocorreram a semeadura. Para população de plantas (PP) e produtividade de grãos (PG) não
223 foram verificados efeitos significativos entre os fatores avaliados.

224 No momento da semeadura como pode ser visto na Figura 2A, a umidade do solo teve
225 variações na camada de 0-6 cm, com valores entre 16 a 18%, porém, não foram diferentes
226 estatisticamente pela diferença mínima significativa (Figura 2A). Para a temperatura do solo,
227 houve aquecimento ao longo do dia, com temperaturas variando de 21,3 a 23,2°C entre às 8 e
228 18 horas, respectivamente. O fator de maior destaque no momento da semeadura foi a

229 umidade do solo, que foi encontrada em condições desfavoráveis ao desenvolvimento de
 230 plantas e sobrevivência de bactérias, esta que é favorável próximo a 50% de retenção de água
 231 no solo (DEAK et al., 2019). Isso por que a deficiência da mesma compromete a viabilidade
 232 celular em baixos níveis, pois adição de água regula a atividade metabólica dos oxidantes de
 233 amônia que respondem negativamente a perturbações em ambientes secos (HU et al., 2015).
 234 Ainda, a sobrevivência de bactérias pode ser comprometida em condições de déficit hídrico,
 235 resultando em morte por desidratação (MEISNER et al., 2017). Ao que diz respeito a
 236 temperatura, não foi verificada condições desfavoráveis a sobrevivência de bactérias, pois
 237 pesquisadores evidenciaram que rizóbios são capazes de sobreviver a uma temperatura de 35-
 238 40° C (ULZEN et al., 2018). Contudo, resultados encontrados por Romero-Perdomo et al.
 239 (2015), demonstraram que o crescimento de bactérias *Azospirillum brasilense*, submetidas a
 240 temperaturas do solo acima de 34°C são letais ao seu desenvolvimento, pois há redução de sua
 241 população no meio de cultivo. Com isso, pode-se ressaltar que nesta pesquisa, conforme os
 242 resultados apresentados na Figura 2, a temperatura do solo foi adequada para a sobrevivência
 243 de bactérias em todos os horários avaliados, pois foi encontrada na faixa entre os valores de
 244 25 a 30°C (SHIRO et al., 2016).

245 Figura 2. Umidade do solo (A), e temperatura do solo (B) nos horários de semeadura.



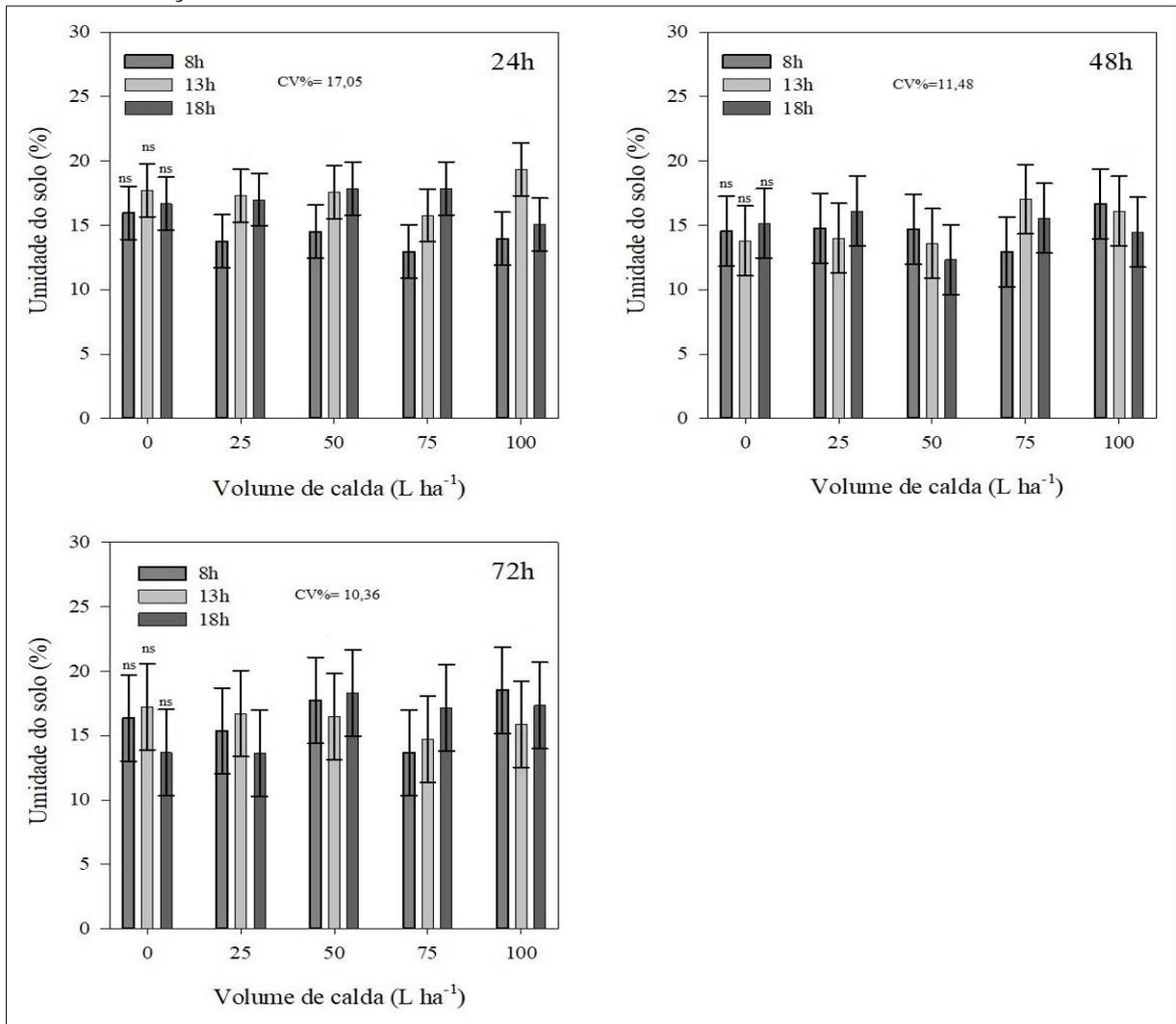
246
247

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

248 Ao avaliar a umidade do solo em função dos volumes de calda testados, não foram
249 encontradas diferenças estatísticas entre 24, 48 e 72 horas após a semeadura, quando
250 comparadas com as testemunhas, e as variações foram encontradas no intervalo entre 14-18%
251 de umidade (Figura 3). Porém, umidade do solo encontrada na semeadura do experimento foi
252 encontrada abaixo de 50% de retenção de água, sendo assim considerada desfavorável para a
253 sobrevivência de bactérias e a germinação da soja (DANTAS et al., 2017). O seu impacto
254 pode ser visualizado na ocorrência de estresse hídrico, pois a planta irá competir com as
255 bactérias pelo carbono assimilado e, com baixas taxas fotosintéticas, ocorrerá inibição na
256 formação de nódulos e também no tamanho dos mesmos, reduzindo assim a fixação
257 simbiótica de N₂ (PRUDENT et al., 2015). Além disso, a sua deficiência causa impacto direto
258 nos processos bioquímicos da germinação de sementes, propiciando prejuízos na síntese do
259 DNA, divisão celular e alongamento celular, que são fundamentais para o surgimento da raiz
260 primária (COSTA, BUENO, FERREIRA, 2011).

261 Contudo, apesar dos teores de umidade do solo não terem sido modificados com o uso
262 de volumes de calda, pode-se considerar uma estratégia relevante à sobrevivência de bactérias
263 em situações de maior restrição hídrica e ausência de palhada, pois à presença de água na
264 calda favorece a hidratação das bactérias (MEISNER et al., 2017), permitindo assim, um
265 ambiente mais favorável para a sobrevivência das mesmas no solo, e conseqüentemente maior
266 potencial produtivo para a soja (CRISTOPHE et al., 2011).

267 Figura 3. Umidade do solo (%) avaliadas às 24, 48 e 72 horas após a semeadura da soja em
 268 função dos volumes de calda e horários de semeadura.



269

270 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

271 As barras representam as médias dos volumes com a diferença mínima significativa em comparação as
 272 testemunhas. ns: não significativo.

273

A populações das bactérias de *Bradhyrizobium* tiveram diferenças estatísticas entre o

274

uso da co-inoculação via sulco e semente, em comparativo às testemunhas. Contudo, possível

275

observar que quando não utilizado a co-inoculação em volumes no sulco, os tratamentos

276

obtiveram médias consideradas altas (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013). Isso

277

provavelmente ocorreu devido a área do experimento ser conduzida com a prática da co-

278

inoculação ao longo de anos e, possibilitar altas populações de bactérias autóctones no solo,

279

que possuem alta eficiência simbiótica com a soja, propiciando aumento expressivo na

280

presença da planta hospedeira (PRÉVOST; GAUVIN-TRUDEL; JUGE, 2012). Ainda,

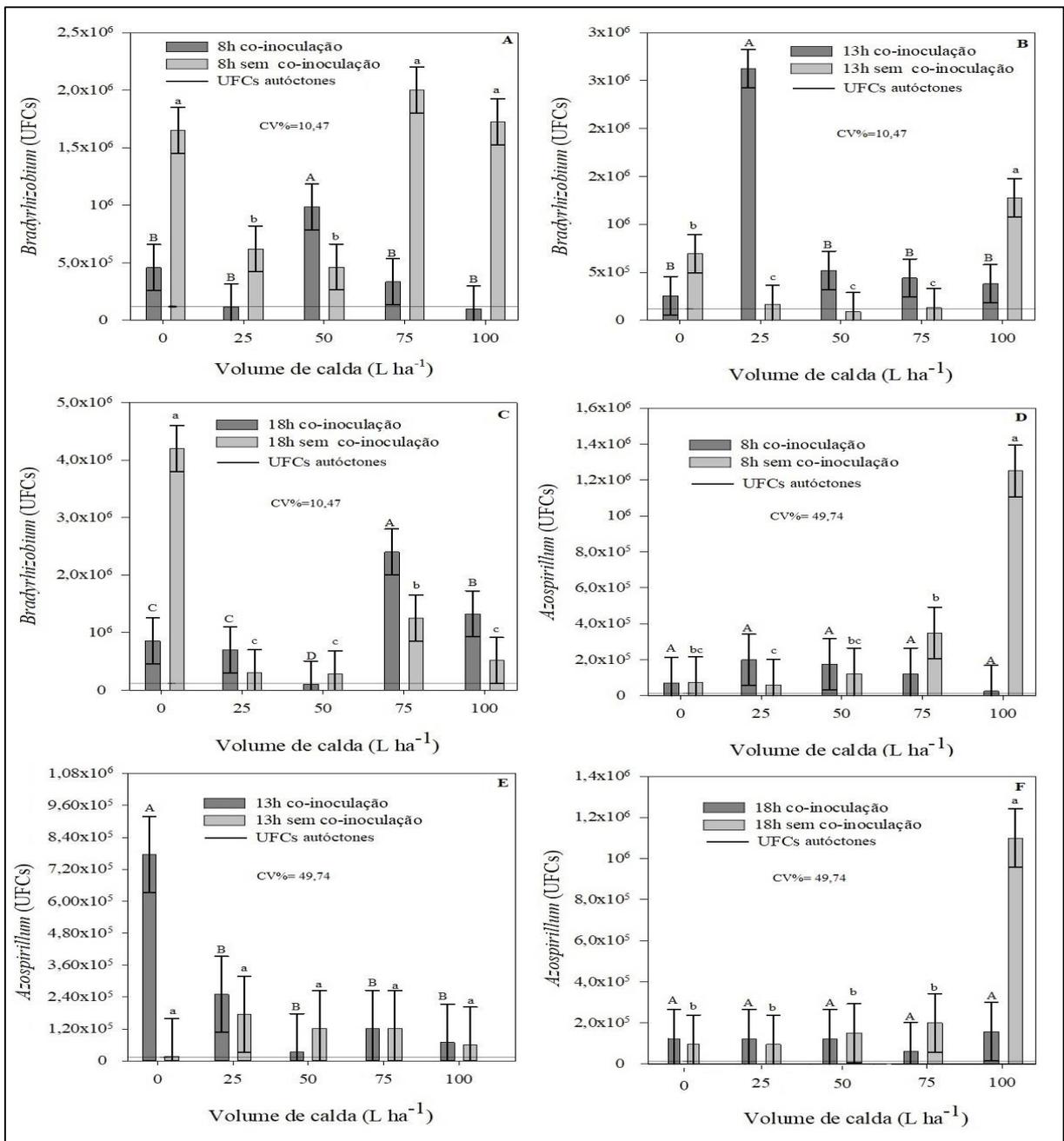
281 mesmo com número de UFCs inferior, a co-inoculação nos volumes de 25, 50, e 75 L ha⁻¹ de
282 calda nos diferentes horários de semeadura, propiciaram elevado número de bactérias
283 *Bradhyrizobium* quando comparado aos demais tratamentos co-inoculados, sendo todos acima
284 10⁶ UFCs g⁻¹ de solo (Figura 4A). Isso indica que o volume de calda auxiliou na
285 sobrevivência de bactérias co-inoculadas no sulco, porém não surtiu efeito sobre o aumento
286 populacional de bactérias na presença da planta hospedeira, isso por que a velocidade de
287 reprodução é uma característica intrínseca das diferentes cepas encontradas no solo e nos
288 inoculantes comercializados (ULZEN et al., 2018).

289 Para as populações das bactérias *Azospirillum*, o comportamento foi influenciado com
290 menor expressão em função dos tratamentos avaliados. (Figura 4). Porém, na ausência de co-
291 inoculação, os maiores valores de UFCs foram obtidos no volume de 100 L ha⁻¹ de calda,
292 quando comparado aos demais volumes testados e testemunhas. Esses resultados podem ter
293 sido influenciados pela utilização da calda no sulco de semeadura, que favoreceu a
294 sobrevivência de bactérias autóctones, pois a calda propiciou a hidratação de bactérias
295 próximas às sementes no sulco, garantindo maior número de bactérias viáveis para a simbiose
296 (MEISNER et al., 2017). A utilização de maiores volumes de calda auxilia na sobrevivência
297 de bactérias, pois foi reportado por autores que a sua utilização na cultura do milho e do trigo,
298 quando aplicado via sulco no volume de 150 L ha⁻¹ de calda, foi considerado altamente
299 satisfatório para proporcionar UFCs superiores a 10⁵ e, incrementar na fixação biológica de N
300 em níveis suficientes para garantir elevada produtividade de grãos (FUKAMI et al., 2016).

301 A eficiência da co-inoculação sob a manutenção das populações no solo é de grande
302 importância para o incremento na FBN, e a mesma é dependente de fatores relacionados ao
303 processo operacional e ao ambiente o qual as bactérias são submetidas. A incompatibilidade
304 com inseticidas, as respostas genéticas da cultivar utilizada, bem como as variações de
305 temperatura e umidade do solo são aspectos que afetam diretamente no número de UFCs

306 (BATTISTUS et al., 2014). Além disso, essas relações no campo ainda não estão bem
307 esclarecidas pela ciência, e por serem influenciadores nas repostas sobre as populações de
308 bactérias, demandam-se estudos principalmente em ambientes controlados, a fim de
309 compreender as repostas em função do crescimento de plantas (PRÉVOST; GAUVIN-
310 TRUDEL; JUGE, 2012). Contudo, a prática de co-inoculação no experimento permitiu a
311 manutenção das populações de bactérias no solo e, assim, na maioria dos casos serem
312 normalmente encontradas na ordem de 10^5 e 10^6 bactérias por grama de solo, contemplando
313 as demandas da cultura da soja (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013).

314 Figura 4. Número de unidades formadoras de colônia (UFC/g) de *Bradyrhizobium* 8h (A), 13h
 315 (B), 18h (C) e *Azospirillum* 8h (D), 13h (E), 18h (F), sob a co-inoculação, em
 316 volumes de calda e horários de semeadura.



317

318 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

319 **médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-
 320 Knott ($\alpha \leq 0,05$).

321

A EME não foi influenciada positivamente pelo aumento do volume de calda aplicado

322

no sulco, independente do processo de co-inoculação quando comparado com suas respectivas

323

testemunhas (Figura 5A). O estande inicial variou de 11 a 16 plantas m⁻² na co-inoculação

324

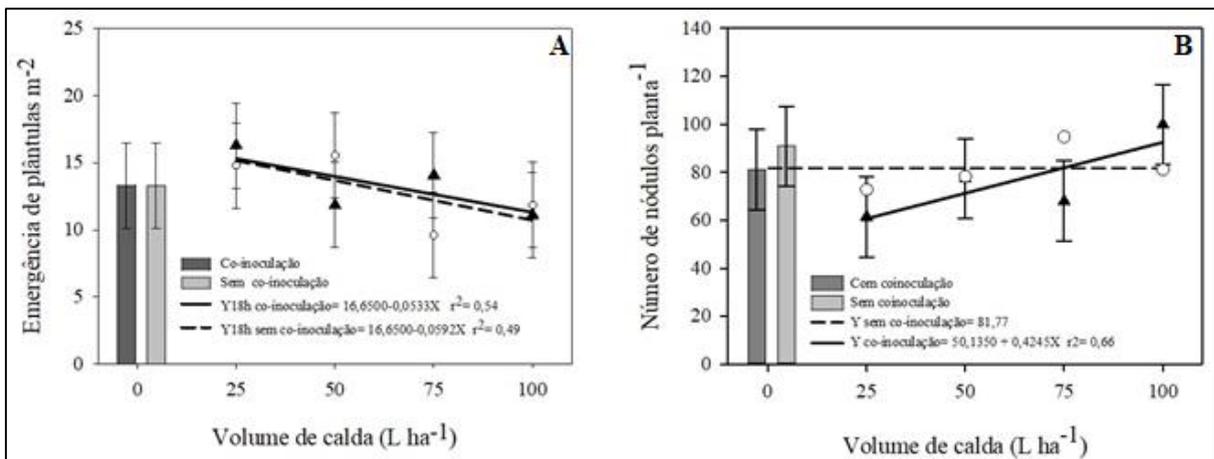
com volume de calda de 100 e 25 L ha⁻¹, respectivamente. Visto que para germinação de

325 sementes, a umidade e temperatura são parâmetros críticos que coordenam diversas reações
326 enzimáticas e hidrolíticas para assegurar o estabelecimento de uma plântula (FINCH-
327 SAVAGE; FOOTITT, 2017). Contudo, as sementes de soja co-inoculadas quando submetidas
328 a diferentes temperaturas na fase de germinação, respondem em maiores percentuais em
329 temperaturas próximas a 25°C (DEAK et al., 2019). Isso acontece por que a temperatura tem
330 influência sobre a velocidade das relações bioquímicas o qual possuem melhor desempenho
331 na faixa entre 20 e 30 °C, também encontra-se nesse intervalo a condição ideal para o
332 desenvolvimento de bactérias, tendo diferença entre as estirpes de bactérias dentro da mesma
333 espécie (SHIRO et al., 2016). Além disso, os teores de umidade do solo são importantes para
334 potencialização da nodulação em soja (DEAK et al., 2019), pois o impacto da baixa umidade
335 do solo sobre a sobrevivência das bactérias pode causar sérios prejuízos sobre a produtividade
336 de grãos, dependendo de sua intensidade, duração e do estágio de desenvolvimento das
337 plantas (CRISTOPHE et al., 2011).

338 Ao avaliar a co-inoculação, os resultados demonstraram que o maior volume de calda
339 testado proporcionou incremento no número de nódulos planta⁻¹, com valores até 25%
340 superiores à testemunha (Figura 5B). Assim, é possível verificar a influência positiva sob o
341 número de nódulos, visto que a água é fundamental em diversos processos seja para as plantas
342 em seu metabolismo (KUROMORI; SEO; SHINOZAKI, 2018), como também para a
343 sobrevivência e desenvolvimento das bactérias. Contudo, não houve diferença para o número
344 de nódulos sem o uso da co-inoculação, e quando aplicado apenas volumes de água no sulco,
345 a regressões polinomiais não foram significativas, tendo como valor médio a quantia de 81,77
346 nódulos planta⁻¹ (Figura 5B). Isso pode ser explicado por que a população de bactérias
347 autóctones no solo possui valores suficientes para a simbiose com a soja, acarretando em
348 número elevado de nódulos mesmo sem a introdução das bactérias via inoculantes no solo
349 (KUMAR; RAWAT; RAO, 2017).

350 A manutenção dos teores de umidade do solo por períodos mais longos após semeadura,
 351 por meio do aumento do volume de calda aplicado no sulco, pode garantir melhores condições
 352 para estabelecimento de plantas e favorecer a sinalização entre raiz-hospedeiro e bactérias.
 353 Além disso, proporciona melhor desempenho sob o número de nódulos, massa de raiz e
 354 comprimento da raiz principal (PUENTE et al., 2018). Ainda, existem resultados positivos
 355 sobre a associação de bactérias em trigo e milho quando introduzidas via sulco de semeadura,
 356 tornando-se uma alternativa viável para a incompatibilidade entre as bactérias e os produtos
 357 químicos utilizados no tratamento de sementes (FUKAMI et al., 2016).

358 Figura 5. Emergência de plantas m^{-2} (EME)(A), número de nódulos planta $^{-1}$ (NNP)(B), em
 359 função da co-inoculação e sem co-inoculação em volumes de calda em relação ao
 360 horário de semeadura.



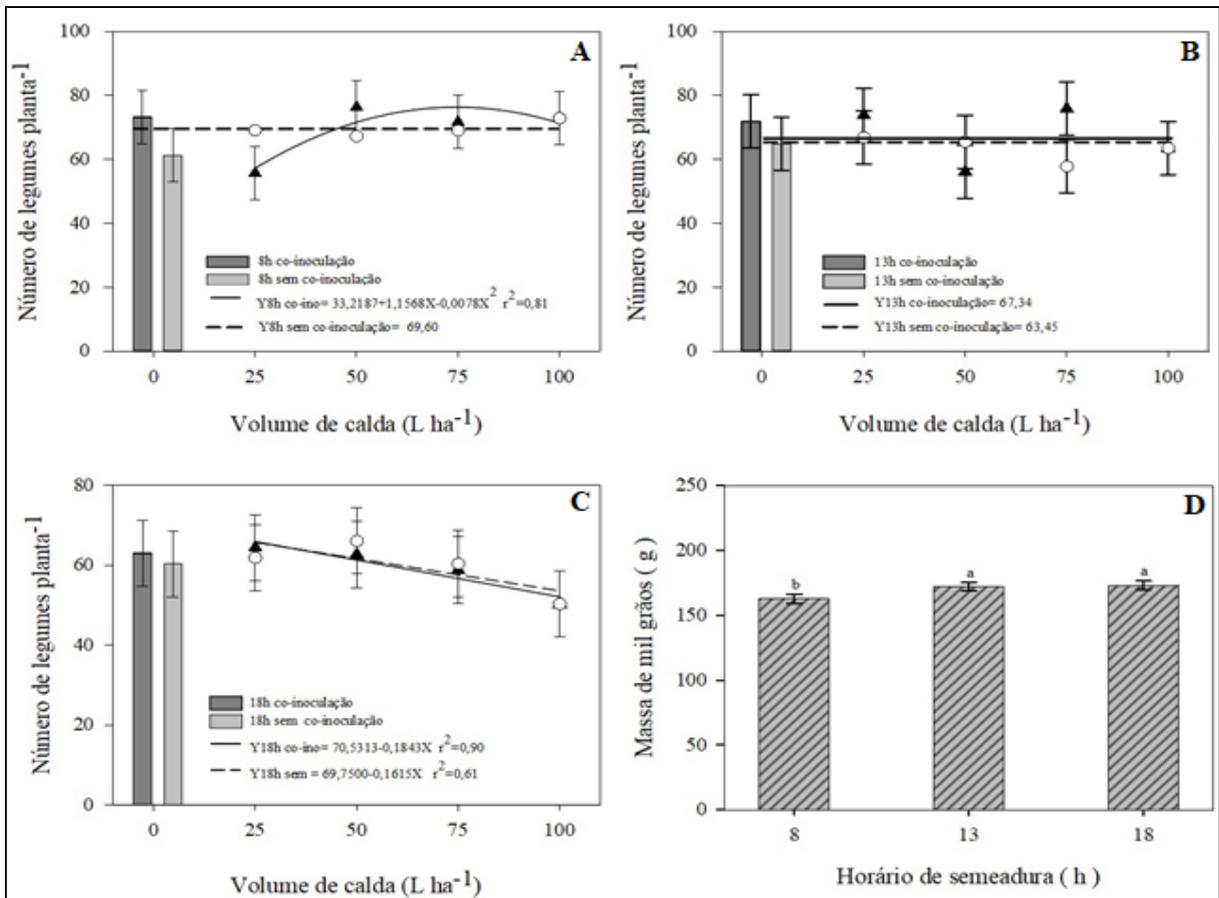
361
 362 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

363 O NLP (Figura 6) quando avaliado a aplicação de volumes de calda em horários de
 364 semeadura, não teve diferenças estatísticas em relação às testemunhas. Provavelmente estes
 365 resultados similares estão relacionados às condições satisfatórias de umidade e temperatura ao
 366 longo do ciclo de desenvolvimento da soja (Figura 1). Dessa forma, houve redução nos
 367 estresses ambientais, propiciando assim, de forma direta e indireta benefícios no processo de
 368 nodulação em soja e, conseqüentemente na oferta de N para o desenvolvimento de plantas
 369 (MASON et al., 2018), que está intimamente ligado ao processo reprodutivo e a formação de
 370 legumes. Por outro lado, o volumes entre 25 e 75 $L ha^{-1}$ atenderam de maneira satisfatória,
 371 independente do horário de semeadura, e o que diz respeito ao NLP, é um resultado

372 importante para a agricultura, pois a co-inoculação via sulco propicia ao produtor agilidade no
373 processo de semeadura, além de demandar menor quantidade de mão de obra sem perder a
374 eficiência no processo (STECCA et al., 2019).

375 Para a massa de mil grãos houve diferença estatística entre os horários de semeadura
376 (6D). Com valores médios variando de 162,7 a 173,1 gramas, a semeadura das 8 horas teve
377 média inferior às 13 e 18 horas. A temperatura do solo tem influência sobre as bactérias, e
378 como pode ser visto na figura 2, a semeadura das 8 horas teve a temperatura mais baixa que
379 os outros horários avaliados. Esta condição ambiental pode ter proporcionado uma maior
380 fração da simbiose com bactérias autóctones do solo, visto que as bactérias inoculadas tem
381 ótimo desenvolvimento com temperaturas mais altas às encontradas no experimento, sendo
382 próximo a 25 °C (DEAK et al., 2019). Assim, as bactérias autóctones que possuem maior
383 adaptação a temperaturas mais baixas no ambiente e possuem menor eficiência na FBN
384 (ULZEN et al., 2018). Assim, a simbiose com as raízes da soja ocorreu em maior quantidade
385 com bactérias autóctones e, a oferta de N para a formação do grão foi inferior, causando
386 redução na massa dos grãos (KUMAR; RAWAT; RAO, 2017).

387 Figura 6. Número de legumes por planta⁻¹(NLP) às 8h (A), 13h (B) e 18h (C) em função da co-
 388 inoculação e sem co-inoculação para semeadura da soja nos diferentes horários do
 389 dia e volume de calda. Massa de mil grãos (MMG) (6D), em função do horário de
 390 semeadura.



391

392 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

393 **médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-
 394 Knott ($\alpha \leq 0,05$).

395

Para a PG, não foram evidenciadas diferenças estatísticas nos tratamentos estudados.

396

Isso pode ter ocorrido, devido às condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento da

397

cultura (Figura 1). Pois durante o experimento, o índice pluviométrico foi de 1239 mm, e

398

conforme resultados encontrados por Gajić et al. (2018), a oferta de água em volumes

399

próximos a 380 mm durante a fase de crescimento é suficiente para garantir altas

400

produtividades para a cultura da soja, indicando que a quantidade de água ofertada às plantas

401

do experimento foi satisfatória. Além disso, a temperatura média encontrada foi de 22,3 °C,

402

que também é considerada satisfatória para ao desenvolvimento da cultura e bactérias

403

benéficas para a soja, (DEAK et al., 2019). Assim, é possível constatar que a presença as

404 bactérias oriundas da co-inoculação, juntamente com as populações autóctones do solo,
 405 ofertaram o N às plantas de maneira satisfatória, e aliada à condições ambientais favoráveis,
 406 os efeitos dos tratamentos foram minimizados, não diferindo estatisticamente a PG
 407 (KASCHUK et al., 2016).

408 Contudo, tendo em vista a maior praticidade oferecida pela aplicação via sulco, e por
 409 garantir adequada nodulação das raízes e produtividade de grãos, a utilização do sistema
 410 mostrou-se uma alternativa eficiente, corroborando com os resultados encontrados por Bogino
 411 et al. (2011). Além disso, o sistema via sulco propicia aos agricultores maior eficiência no
 412 processo co-inoculação, fazendo com que o uso de fertilizantes químicos nitrogenados seja
 413 totalmente descartado na cultura da soja, trazendo maior sustentabilidade à propriedade rural
 414 (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015). Entretanto, alguns aspectos precisam ser
 415 analisados, pois o custo de investimento para a aquisição do sistema traz impactos na
 416 propriedade rural, demandando planejamento. Também, é importante destacar que a condição
 417 das lavouras comerciais não são as mesmas encontradas na área do experimento, e a
 418 população de bactérias autóctones aliada a correta execução da co-inoculação via sementes é
 419 um grande diferencial sobre os resultados encontrados nas testemunhas (PUENTE et al.,
 420 2018).

421 **Tabela 1. Produtividade de grãos (PG) em função da co-inoculação em volumes de calda**
 422 **aplicados via sulco de semeadura da soja em horários do dia. Santa Maria, RS,**
 423 **2019.**

Volume de calda	Horário de semeadura		
	8 horas	13 horas	18 horas
0	4029,34 ^{ns}	4314,08 ^{ns}	4732,73 ^{ns}
25	4230,64 ^{ns}	4209,19 ^{ns}	4323,35 ^{ns}
50	4088,05 ^{ns}	4418,79 ^{ns}	4501,07 ^{ns}
75	4150,04 ^{ns}	4359,00 ^{ns}	4246,6 ^{ns}
100	4241,84 ^{ns}	4470,30 ^{ns}	4421,21 ^{ns}
Média	4147,98	4354,27	4444,99
Média geral: 4305,00	CV 1(%) = 12,95	CV 2 (%) = 8,67	

424 **Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).**

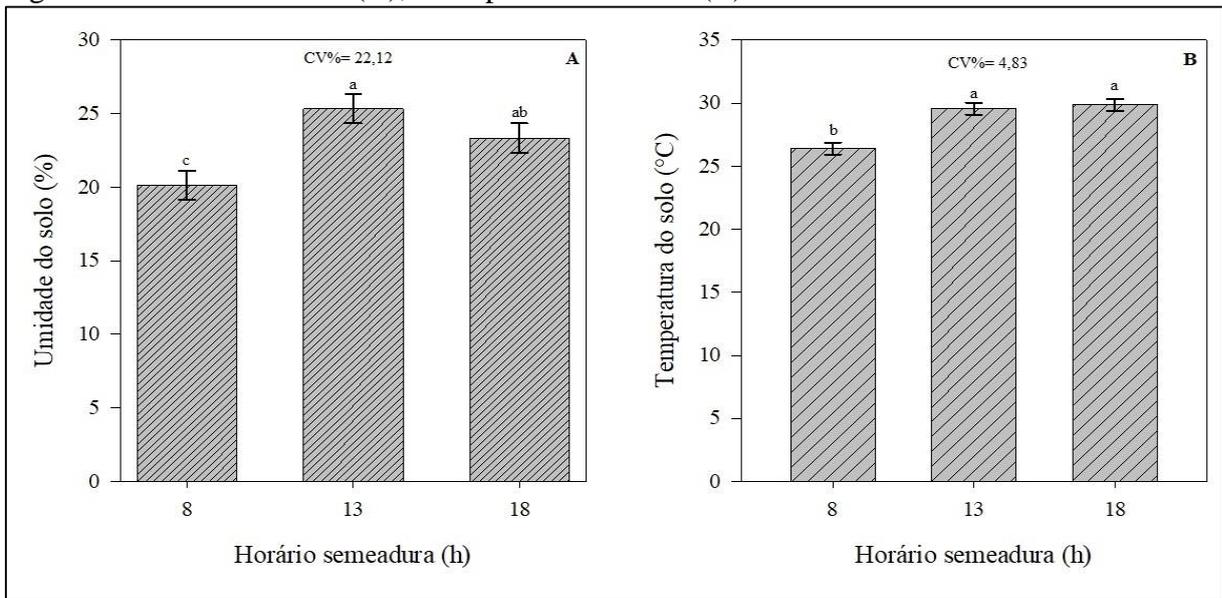
425 **Tratamentos: volumes de calda (0,25,50,75,100 L ha⁻¹), horários de semeadura (8,13,18 horas), coeficiente**
426 **de variação (CV%), ^{ns} Médias não significativas pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$).**

427 **Experimento 2: Co-inoculação da soja em volumes de calda no sulco de semeadura e**
428 **horários do dia**

429 Os resultados da análise de variância (apêndice B) evidenciaram interação tripla, ou
430 seja, as respostas encontradas foram influenciadas pela co-inoculação, volumes de calda via
431 sulco e horário de semeadura da soja para todas as variáveis analisadas, indicando que existe
432 contribuição dos fatores sobre as respostas de nodulação e produtividade da soja. No
433 momento da semeadura, a umidade do solo variou de 20 a 25%, com menor valor às 8 horas e
434 maior às 13 horas (Figura 7A). Já a temperatura do solo aumentou ao longo do período de
435 semeadura, com acréscimo de, aproximadamente, 3°C na semeadura às 13 e 18 horas,
436 comparada com a semeadura às 8 horas (Figura 7B). Maiores amplitudes térmicas na
437 semeadura tardia da soja são mais frequentes, como visto na Figura 1 no experimento 2, o
438 período coincide com maior radiação solar e acréscimos significativos na temperatura do ar,
439 caracterizando um ambiente mais extremo para o desenvolvimento inicial da soja (GAJIC et
440 al., 2018).

441 O local onde foi realizado o experimento teve variações na distribuição de palha
442 residual de aveia preta na superfície do solo. No pesquisa não foi realizada a quantificação da
443 palhada, porém, a mesma favoreceu o acúmulo de umidade no solo, sendo possível observar
444 esta condição nas coletas de solo realizadas nas semeaduras das 13 e 18 horas. Assim, quando
445 comparadas a semeadura das 8 horas, a barreira física que a palhada desenvolveu favoreceu a
446 preservação da umidade do solo. Isso porquê segundo Yan et al. (2017) a cobertura morta
447 proporcía maior retenção de água no solo, aspecto importante, pois no experimento, manteve-
448 se por mais tempo a umidade do solo, até o rompimento do sulco de semeadura.

449 Figura 7. Umidade do solo (A), e temperatura do solo (B) nos horários de semeadura.



450

451 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

452 **médias seguidas pela mesma letra minúscula e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-

453 Knott ($\alpha \leq 0,05$).

454

Na pesquisa, quando avaliada a umidade residual dos tratamentos via sulco no solo

455

percebeu-se incremento durante o período avaliado. Em 24h após a semeadura, os volumes de

456

calda 25 L ha⁻¹ (21,7%) e 75 L ha⁻¹ (24,6%), foram superiores à testemunha da semeadura das

457

8 horas (17,4%). Esses resultados indicam que a condição de maior umidade no solo, está

458

relacionada à menor radiação solar incidente no horário das 8h e, assim, com a temperatura do

459

solo menor (Figura 7), a evaporação da calda aplicada no sulco foi reduzida, propiciando

460

umidade residual superior às testemunhas. Este é um aspecto muito importante,

461

principalmente em cultivares de menor tolerância ao estresse hídrico, que em condição de

462

deficiência hídrica nas fases iniciais de desenvolvimento refletem em estabelecimento de

463

plantas, aspecto altamente relacionado à produtividade da soja (ANDA et al., 2020).

464

Já para a avaliação das 48 horas apenas o volume de 50 L ha⁻¹ (20,7%), foi superior a

465

testemunha na semeadura às 13horas. Em 72 horas após a semeadura os volumes 25, 50, 100

466

L ha⁻¹ com valores de 17,3%, 18,9%, e 17,8%, respectivamente, na semeadura das 18 horas

467

foram superiores à testemunha (13,03%), (Figura 8). É possível verificar que os volumes de

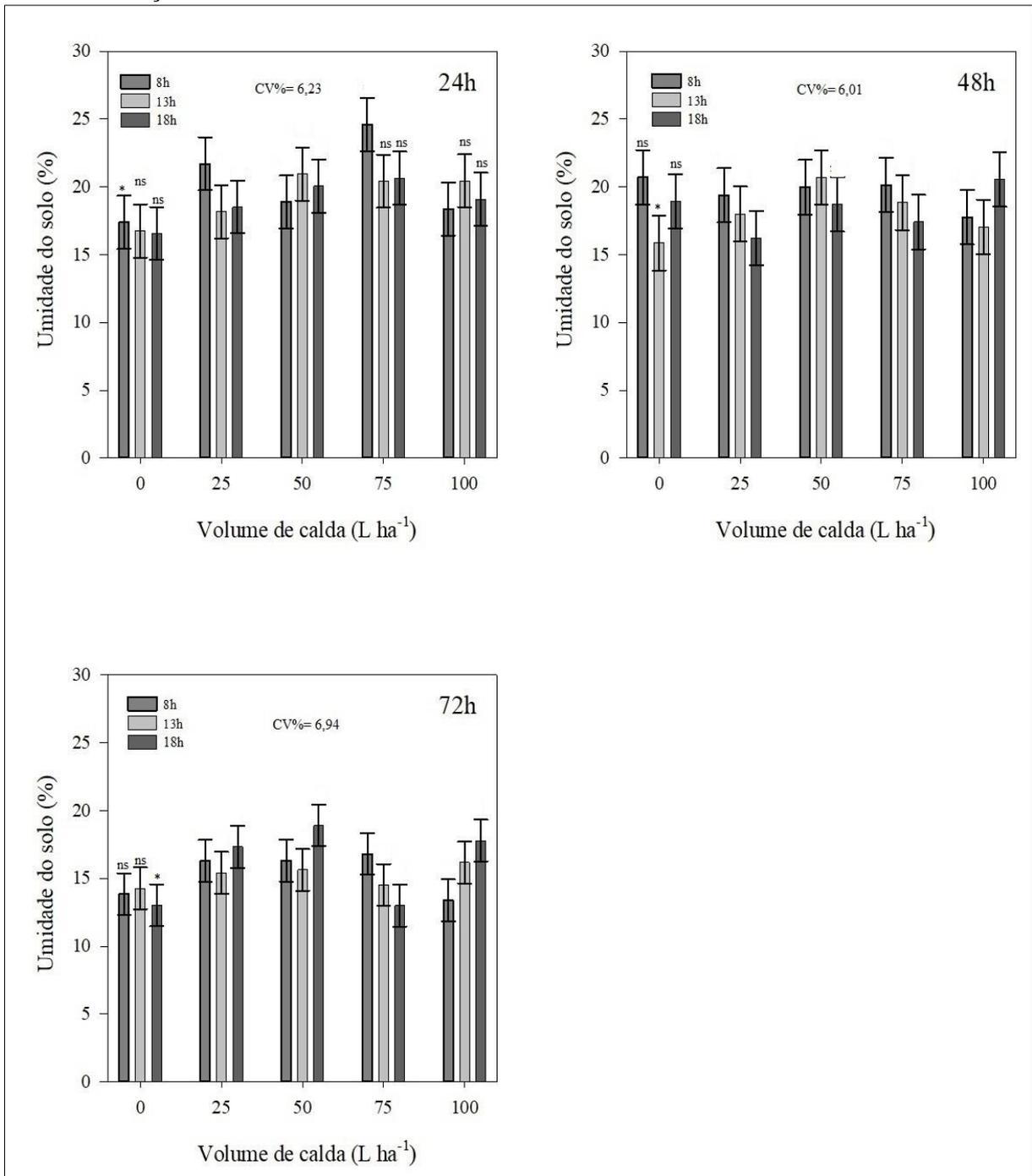
468

calda possuem maior desempenho nos horários de menor radiação solar direta, estando de

469 acordo com os resultados encontrados por Gajić et al. (2018) que verificaram na irrigação por
470 aspersão, que a adição de água acima de 120 mm não influenciou a PG. Segundo os autores,
471 isso ocorre por que a quantidade de água excedente ofertada para a cultura não é aproveitada
472 pelas plantas, sendo perdida em forma de vapor para a atmosfera. Assim, pode-se atribuir o
473 mesmo comportamento à co-inoculação no sulco, indicando que maiores volumes não irão
474 refletir em maiores nodulações e produtividades, quando o ambiente se encontra em
475 condições extremas.

476 Além disso, a disponibilidade de água encontrada no solo em função dos volumes
477 aplicados no sulco, não propiciaram quantidade ideal para a germinação da soja, isso por que
478 nessa fase tanto o excesso quanto o déficit de água são prejudiciais à obtenção de uma boa
479 uniformidade na população de plantas. Assim, para que o processo germinativo ocorra de
480 maneira satisfatória, é necessário no mínimo 50% da sua massa em água, não devendo
481 exceder a 85% do total máximo de água disponível e nem ser inferior a 50% (FARIAS;
482 NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007; DEAK et al., 2019). Diante dos resultados (Figura 8),
483 é possível destacar que existe contribuição na umidade residual do solo quando a co-
484 inoculação é realizada em volumes de calda no sulco de semeadura. No entanto, a quantidade
485 do incremento não supre as necessidades fisiológicas da cultura da soja.

486 Figura 8. Umidade do solo (%) avaliadas às 24, 48 e 72 horas após a semeadura da soja em
 487 função dos volumes de calda e horários de semeadura.



488

489 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

490 As barras representam as médias dos volumes com a diferença mínima significativa em comparação as

491 testemunhas. ns= não significativo.

492

A população das bactérias *Bradyrhizobium* autóctone no solo, quando avaliada antes da

493

semeadura da soja teve o valor na ordem de $1,2 \times 10^5$ (Figura 9), e ao comparamos com a

494

população encontrada após a instalação da cultura, é possível constatar o aumento das

495

mesmas no solo elevando para a ordem 10^6 , corroborando com Hungria; Nogueira; Araújo

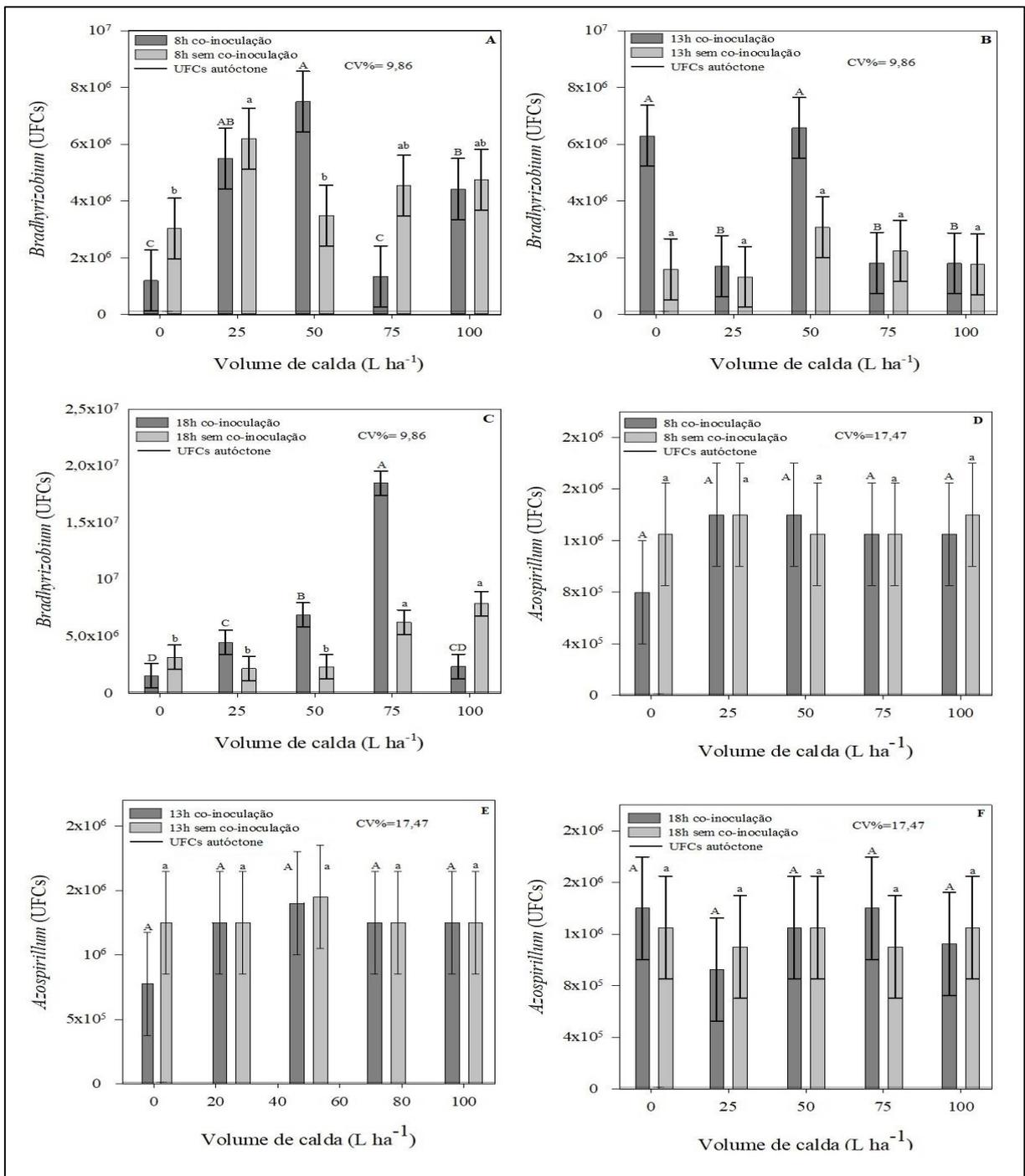
496 (2013), que verificaram aumento de populações bacterianas no solo na presença de plantas
497 hospedeiras. As populações de bactérias se reproduzem na presença de culturas hospedeiras,
498 no entanto, as cepas de bactérias autóctones já encontram-se adaptadas ao solo e possuem
499 vantagem na velocidade de reprodução, quando comparadas as bactérias introduzidas por
500 meio de inoculantes. Isso ocorre devido a adaptação que as mesmas desenvolvem meio as
501 variações de umidade e temperatura do ambiente onde se encontram, assim, as bactérias
502 selecionadas que são introduzidas no sistema, necessitam de um período de adaptação sendo
503 menos competitivas no processo de simbiose (ULZEN et al., 2018).

504 Nas condições ambientais, considerando o índice pluviométrico de 1239 mm e a
505 temperatura média de 22,3 °C encontradas durante a condução dos experimentos (Figura 1),
506 pode-se concluir que o ano agrícola foi favorável ao desenvolvimento e sobrevivência das
507 bactérias no solo, principalmente sobre a população encontrada nos tratamentos sem co-
508 inoculação, o qual apresentou valores similares aos tratamentos co-inoculados (ALBAREDA;
509 RODRÍGUEZ-NAVARRO; TEMPRANO, 2009). Contudo, quando avaliado o volume de
510 calda em relação ao aumento de UFCs no solo, pode-se entender por meio da Figura 9 (A, B,
511 C), que os volumes entre 25 e 50 L ha⁻¹ são os mais ajustados. Todavia, a contagem de UFCs
512 no laboratório não distingue as bactérias autóctones e alóctones, e existe influência na
513 contagem de bactérias, devido ao uso da co-inoculação em safras passadas (KASCHUK, et
514 al., 2016). No entanto, a co-inoculação no sulco de semeadura reduz o efeito deletério dos
515 tratamentos químicos das sementes na sobrevivência de bactérias (BOGINO et al. 2011), fator
516 este que pode ter favorecido os tratamentos com a presença de inoculantes, assim, destacando-
517 se como uma alternativa ao tratamento tradicional de inoculação nas sementes (HUNGRIA;
518 NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015).

519 Para as populações de *Azospirillum* é possível verificar por meio da Figura 9 (D, E, F),
520 que não houve diferença significativa entre os tratamentos estudados. Porém, é possível

521 constatar que ocorreu o mesmo que as bactérias *Bradyrhizobium*, pois as populações das
522 bactérias *Azospirillum* aumentaram com a presença da cultura da soja. Dessa forma, pode-se
523 afirmar que diante dos aos tratamentos avaliados, as populações de bactérias *Azospirillum* no
524 solo foram suficientes para as demandas da cultura. Com isso, é importante salientar que
525 existe competição entre as bactérias autóctones e alóctones na associação e simbiose com as
526 raízes da soja, e a co-inoculação anual tornou-se uma forma de introduzir cepas mais
527 eficientes na FBN e crescimento de plantas no solo, melhorando assim a eficiência sob o
528 desenvolvimento biológico da soja (ULZEN et al., 2018).

529 Figura 9. Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Bradyrhizobium* 8h (A), 13h
 530 (B), 18h (C) e *Azospirillum* 8h (D), 13h (E), 18h (F), sob a co-inoculação, em
 531 volumes de calda e horários de semeadura.



532

533 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

534 **médias seguidas pela mesma letra maiúscula e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-
535 Knott ($\alpha \leq 0,05$).

536

No momento da semeadura a umidade do solo variou de 20 a 25% na camada

537

superficial de 6 cm de profundidade, e a temperatura de 26 a 30° C, sendo condições

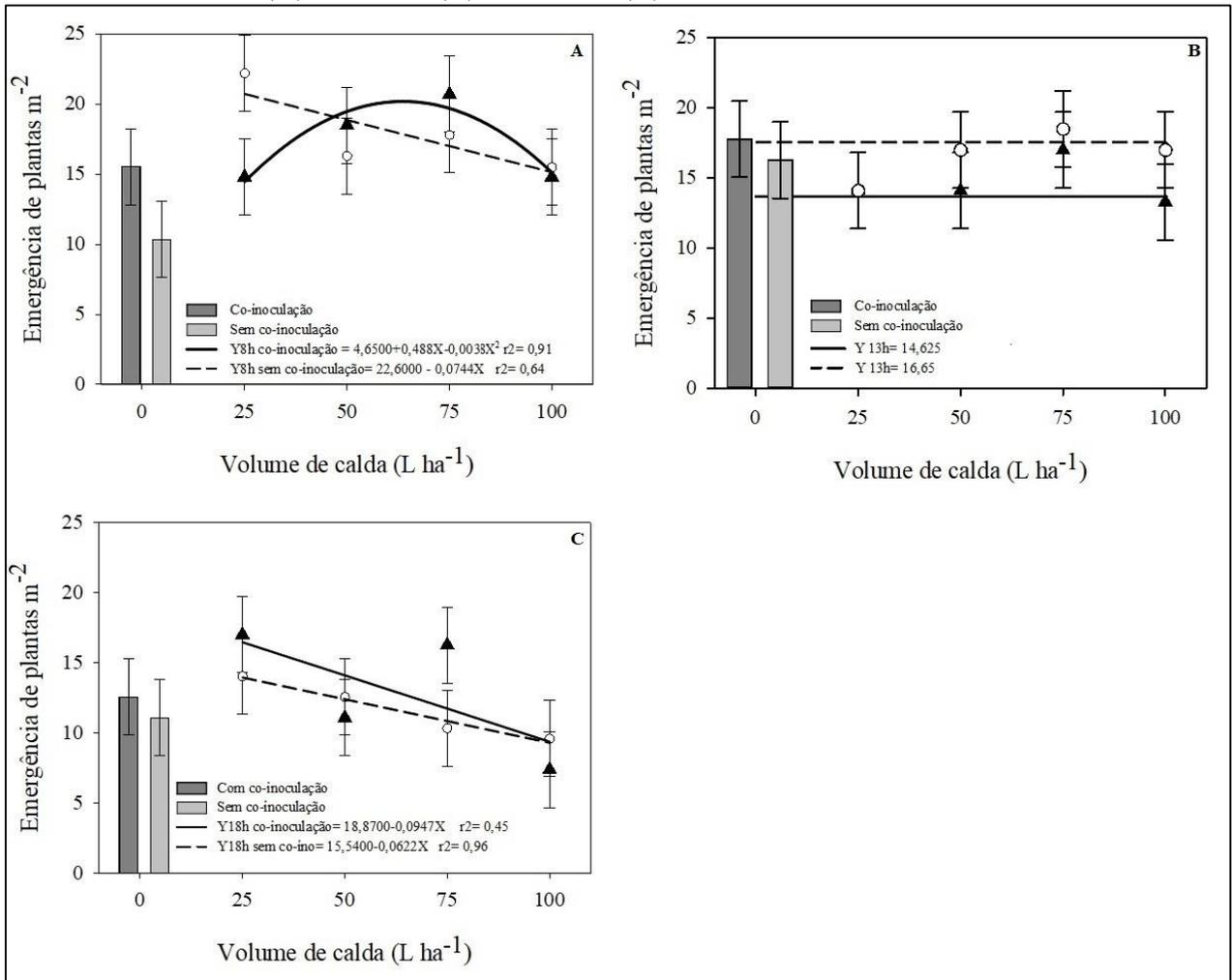
538

aceitáveis para a semeadura da soja (Figura 7). Embora não tenha sido evidenciado diferenças

539 estatísticas com a co-inoculação via sulco em comparação à testemunha via sementes, as
540 respostas de EME indicam que quando a temperatura do solo é amena, próximo a 20°C
541 (Figura 7A), o volume de calda co-inoculado via sulco têm melhor desempenho com 64,2 L
542 ha⁻¹ de acordo com a máxima eficiência técnica (MET). Com isso, pode-se entender que a
543 semeadura da soja quando realizada em horários onde a temperatura do solo é amena, os
544 maiores volumes de calda possuem melhor desempenho, isso por que como verificado por
545 Gajić et al. (2018), ocorre menor evaporação da água, assim a sobrevivência de bactérias e
546 germinação de sementes de certa forma pode ser beneficiada. Para a condição de maior
547 temperatura percebeu-se o oposto, pois foram verificadas na semeadura das 13 e 18h que o
548 volume de 25 L ha⁻¹ de calda teve desempenho similar quando comparado à testemunha com
549 co-inoculação na semente, indicando que o volume de calda superior não é aproveitado para a
550 EME no aumento da temperatura do solo, e o excedente à 25 L ha⁻¹ é perdido para o ambiente
551 por meio da evaporação.

552 Contudo, deve-se levar em consideração que a soja responde de maneira distinta entre
553 as cultivares em relação a disponibilidade de água para germinação, e a aplicação de volumes
554 de calda deve ser melhor pesquisada, pois se for de fato comprovado a sua contribuição nesta
555 fase, será de suma importância no manejo, a fim da melhoria do processo germinativo sob
556 condições diversas (DANTAS et al., 2017). Isso porque, uma emergência rápida e uniforme
557 propicia um melhor estabelecimento de plantas, mantendo assim o potencial produtivo da
558 cultura e, os fatores como a umidade e temperatura do solo são determinantes para obtenção
559 do mesmo (GESCH; ARCHER; SPOKAS, 2012). É importante destacar que a qualidade das
560 sementes utilizadas no experimento estavam de acordo com os padrões estabelecidos. Pois a
561 germinação de sementes e EME também estão relacionadas a outros fatores de forte
562 influência, como aspectos sanitários, físicos, e principalmente fisiológicos das sementes (YIN
563 et al., 2015).

564 Figura 10. Emergência de plantas m^{-2} (EME) em função da co-inoculação e sem co-inoculação
 565 as 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda. UFSM, 2019.



566
567

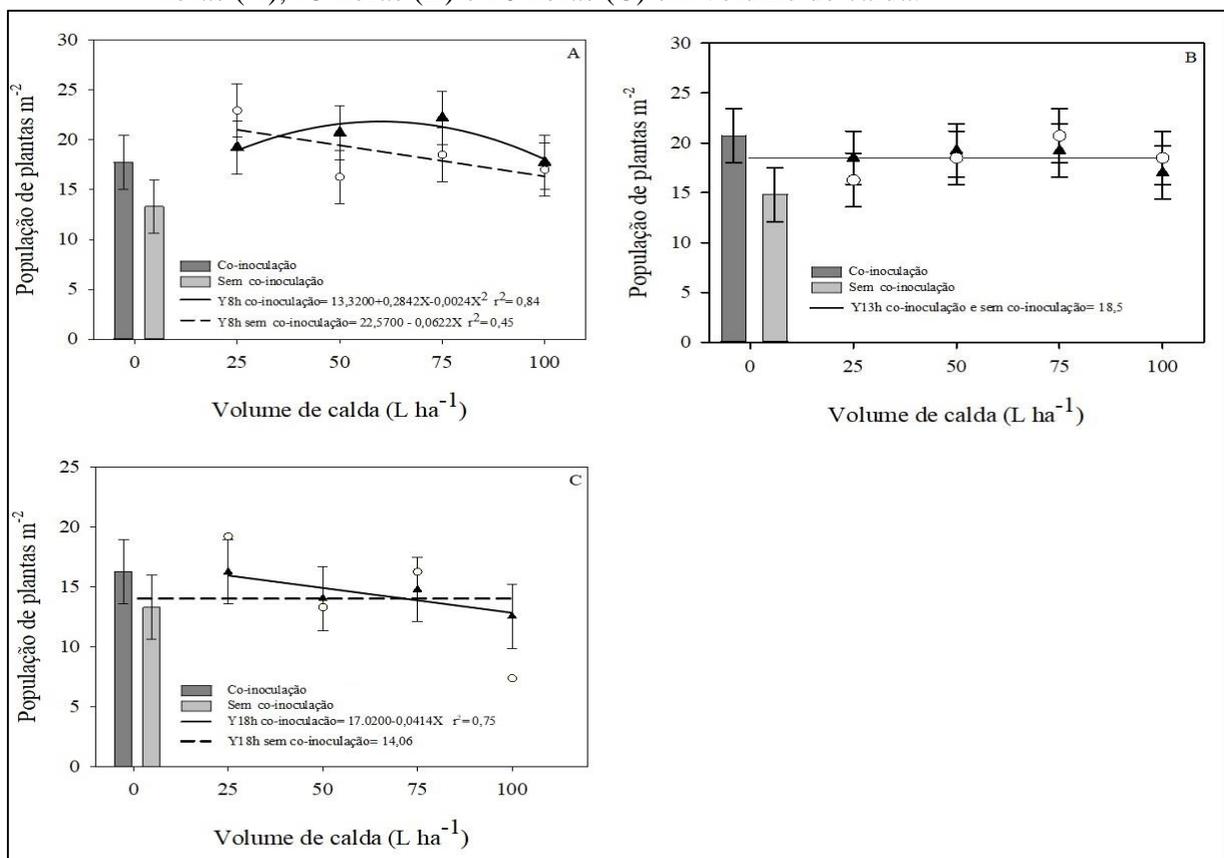
Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

568 Para a PP, os volumes de calda avaliados não diferiram estatisticamente quando
 569 comparados às testemunhas via sementes, exceto, pelo volume de 25 $L ha^{-1}$ sem a co-
 570 inoculação, que se mostrou superior a testemunha. Contudo, como já observado na EME o
 571 volume de 25 $L ha^{-1}$ mostrou ser o mais ajustado nos três horários avaliados, e isso está
 572 provavelmente está relacionado a temperatura mais elevada no momento de semeadura do
 573 experimento, que propiciou maior evaporação da calda via sulco (GAJIĆ et al., 2018),
 574 dificultando o estabelecimento das populações bacterianas alóctones, e também não
 575 contribuindo para os processos de germinação e EME e PP, pois, se compararmos com os
 576 volumes de calda, percebe-se uma tendência negativa para a população de plantas em função
 577 do o aumento dos volumes.

578 Contudo, para a PP, existem outros fatores que podem ter influenciado este caractere
 579 avaliado, Brzezinski et al. (2017) verificaram que o aumento do volume de calda via
 580 tratamento de sementes reduziu a qualidade fisiológica de sementes de soja. Em vista da
 581 crescente necessidade de utilização de produtos na semente, seja para o controle de insetos
 582 (BRZEZINSKI et al., 2015), fungos e adição de micronutrientes, entre outros, o uso da co-
 583 inoculação se torna uma opção estratégica para o desempenho satisfatório da soja ao que se
 584 refere a absorção de água e demandas de N nos estádios iniciais da cultura.

585 Além disso, alguns fatores relacionados ao ambiente que podem ter sido mais influentes
 586 sobre o estabelecimento de plantas e conseqüentemente na PP, pois as condições encontradas
 587 em as sementeiras tardias propiciam às plantas menor quantidade de radiação solar no período
 588 vegetativo, diminuindo o potencial fotossintético das plantas (NÓIA-JÚNIOR; SENTELHAS,
 589 2019).

590 Figura 11. População de plantas (PP) em função da co-inoculação e sem co-inoculação as 8
 591 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda.



592
593

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

594 O NNP foi estatisticamente superior às testemunhas apenas na semeadura das 13 horas
595 (Figura 12B). A equação de regressão para os volumes de calda sem co-inoculação não foi
596 significativa, tendo como média geral dos tratamentos a quantia de 54,98 nódulos planta⁻¹,
597 valor este que foi estatisticamente inferior à testemunha, com a média de 68,4 nódulos planta⁻¹.
598 Nos demais horários de semeadura não houve respostas estatisticamente superiores às
599 testemunhas, indicando que os volumes de calda não obtiveram melhor desempenho no
600 processo de co-inoculação, quando comparados ao tratamento via sementes.

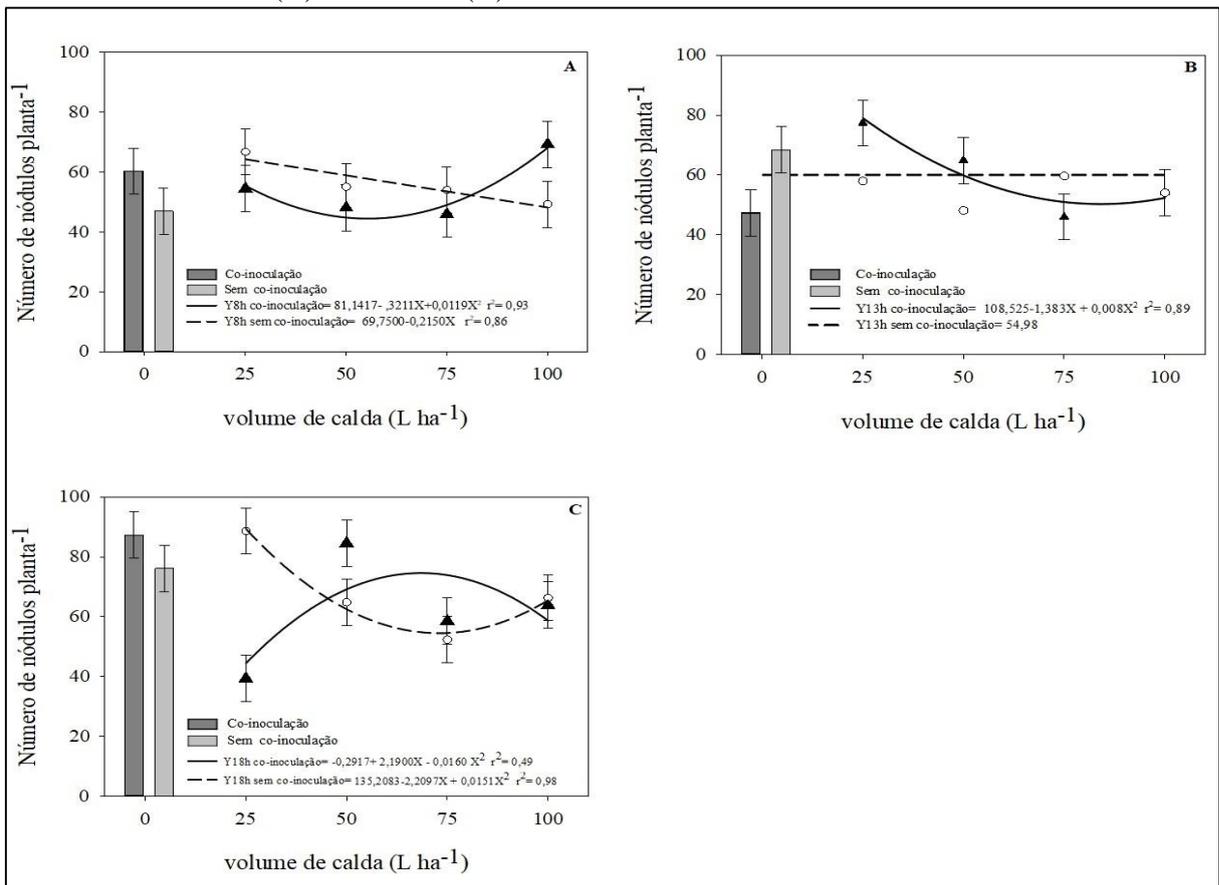
601 A temperatura elevada próxima a 30 °C, no momento da semeadura, pode ter sido o
602 elemento de maior influência sobre a sobrevivência das bactérias, principalmente às 18 horas,
603 como é possível observar na figura 12C, a qual mostra uma diminuição drástica no NNP no
604 menor volume de calda estudado. Possivelmente, as bactérias ao entrarem em contato com o
605 solo com a temperatura elevada reduziram sua população, acarretando na redução do número
606 de nódulos (HUNGRIA; KASCHUK, 2014).

607 A co-inoculação teve influência sobre o NNP apenas nos volumes de calda de 25 e 50 L
608 ha⁻¹ que propiciaram a formação de 77,4 e 64,9 nódulos planta⁻¹, respectivamente, em
609 comparação a testemunha com 47 nódulos planta⁻¹, quando a semeadura ocorreu às 13 horas.
610 Os demais tratamentos proporcionaram quantidade de nódulos similares às testemunhas e,
611 com base nas curvas de regressão polinomiais, pode-se entender que houve eficiência para a
612 formação de nódulos, pois os tratamentos avaliados obtiveram quantidades acima do mínimo
613 necessário no florescimento que é de 15 a 30 nódulos planta⁻¹ com massa nodular de 100 a
614 200 mg (VARGAS et al., 1982).

615 A importância do número de nódulos nas raízes das plantas de soja está ligado ao efeito
616 sobre a disponibilidade de nitrogênio à cultura e, quando utilizada a co-inoculação, os ganhos
617 são superiores, não havendo a necessidade de utilização dos adubos nitrogenados (FIPKE et
618 al. 2016). A co-inoculação tem influência sobre o número e massa seca de nódulos, e isso

619 ocorre devido as bactérias *Azospirillum* propiciarem aumento no sistema radicular da soja e,
 620 consequentemente, resultando em maior área de infecção para as bactérias FBN (DEAK et al.,
 621 2019).

622 Figura 12. Número de nódulos por planta⁻¹ (NNP) em função da co-inoculação às 8 horas (A),
 623 13 horas (B) e 18 horas (C) e volumes de calda.



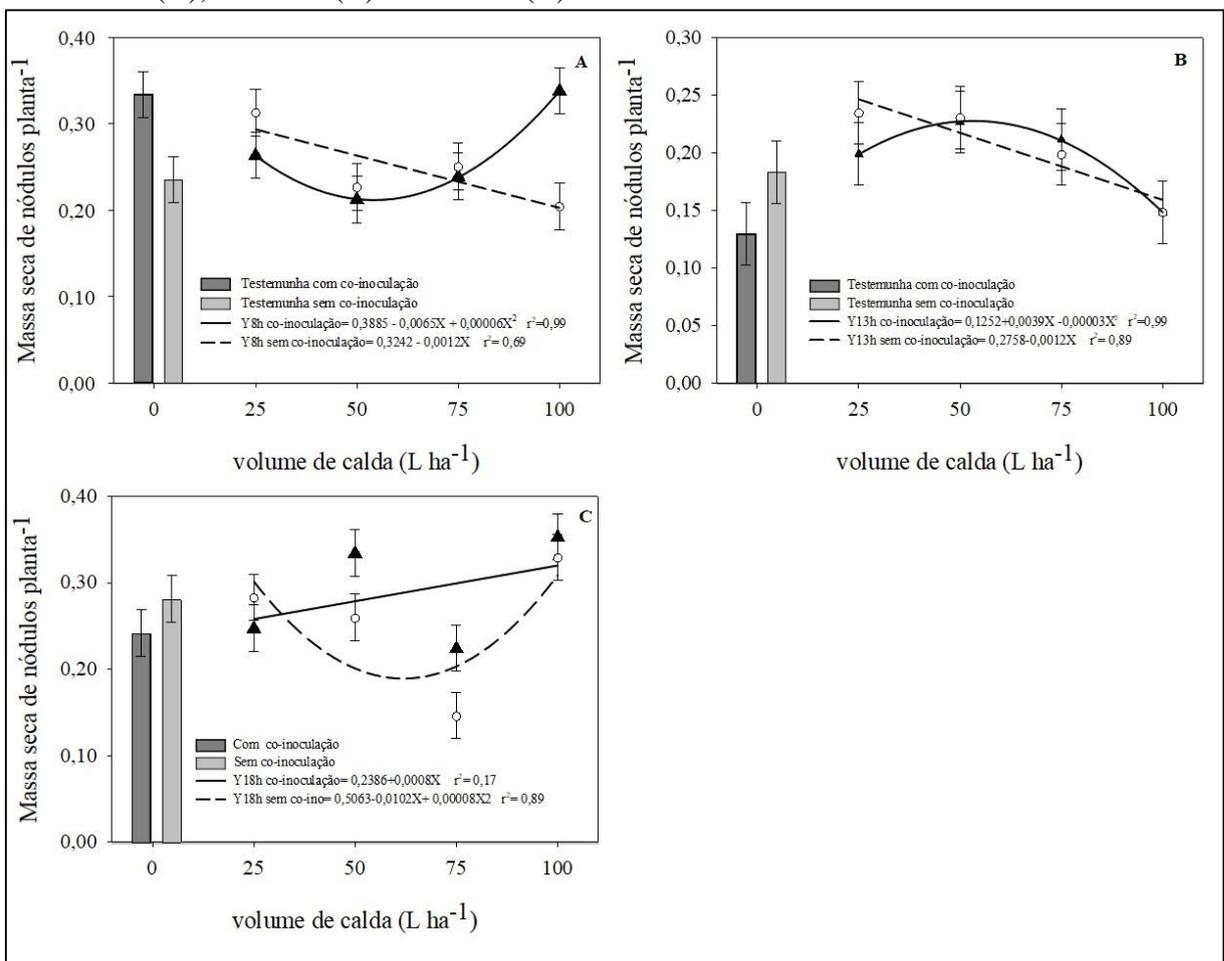
624 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).
 625

626 Para a MSN, pode-se observar que os maiores volumes de calda nas sementeiras das 8 e
 627 18h propiciaram maior massa seca aos nódulos com 0,338 e 0,354 g planta⁻¹ respectivamente,
 628 e esta característica é altamente desejável pois está diretamente relacionada com a maior FBN
 629 para as plantas (HWANG et al., 2014). Esse incremento na MSN pode ser atribuído em
 630 decorrência a maior FBN para as plantas e, consequentemente, por esta condição propiciar
 631 aumento nos teores de clorofila na folha (VOLLMANN et al., 2011), que estão ligados
 632 diretamente a taxa fotossintética das plantas, condicionando que tanto o NNP quanto a MSN
 633 tenham sido favorecidos, e esta condição é de extrema importância pois os caracteres

634 apresentem correlação com a produtividade de grãos (BRANDALERO et al., 2009). Embora
 635 a co-inoculação nos maiores volumes de calda tenha favorecido a MSN, na semeadura das 13
 636 horas a MSN teve ajuste pela máxima eficiência técnica para volume de 65 L ha⁻¹, com 0,252
 637 g planta⁻¹.

638 Assim, deve-se priorizar os tratamentos que enriqueçam principalmente a massa dos
 639 nódulos, pois quanto maiores e mais pesados, maior será sua eficiência na FBN da soja e
 640 consequentemente na produtividade da cultura.

641 Figura 13. Massa seca de nódulos por planta⁻¹ (MSN) em função da co-inoculação às 8 horas
 642 (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.

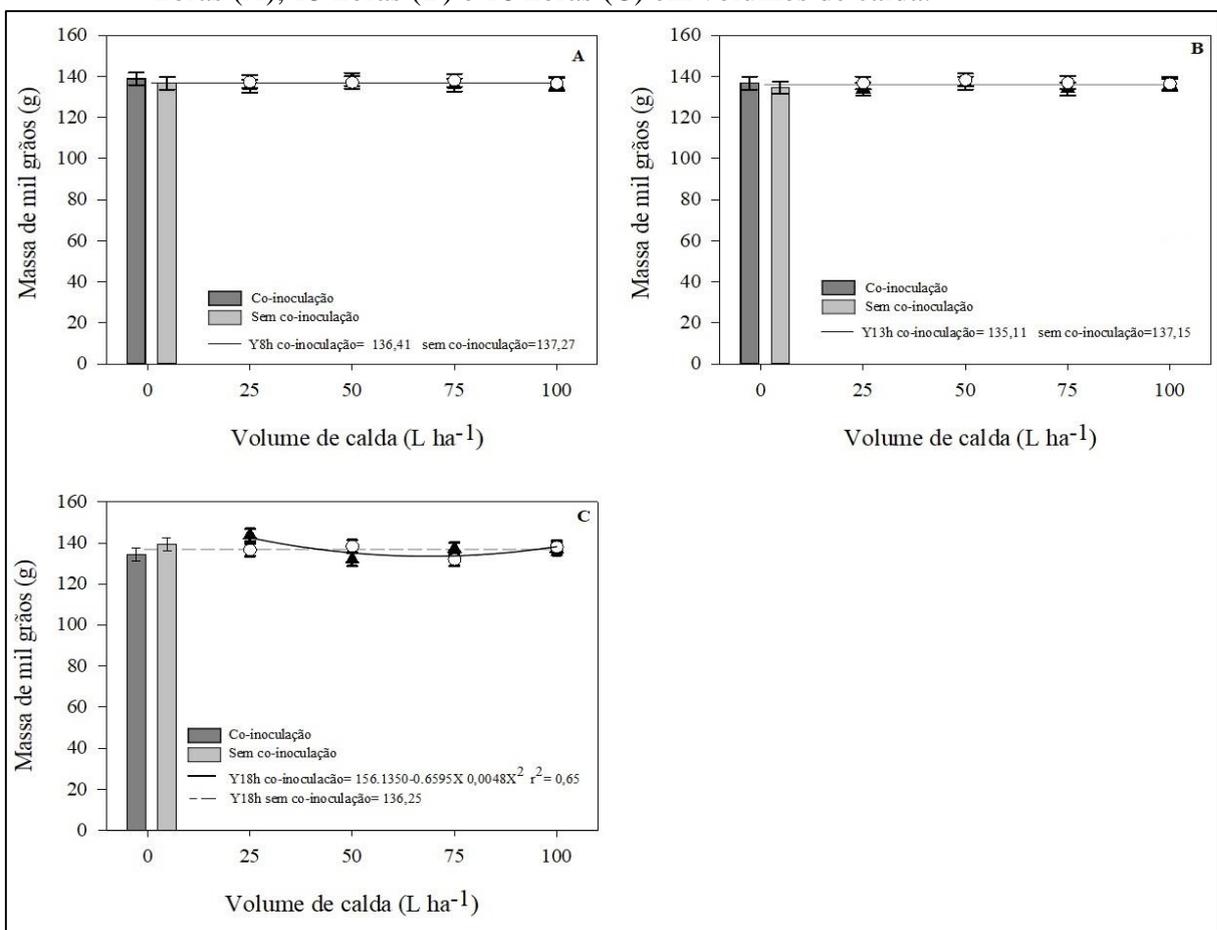


644 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

646 A MMG (Figura 14C) foi superior à testemunha apenas o volume de calda 25 L ha⁻¹
 647 com co-inoculação, na semeadura às 18 horas. Já para os demais tratamentos não foram
 648 evidenciados resultados estatísticos superiores às testemunhas. Contudo, a co-inoculação

649 quando utilizada em maiores doses pode aumentar a massa dos grãos de soja (RIBEIRO et al.,
 650 2020). Isso está atribuído aos benefícios do uso das bactérias *Azospirillum*, que induzem a
 651 produção de fitohormônios em plantas de soja (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015),
 652 resultando em melhoria na absorção de água e nutrientes, maior tolerância ao estresse hídrico
 653 e patógenos. Assim, fatores como estes podem resultar no aumento da massa de grãos
 654 (ZHANG et al., 2016).

655 Figura 14. Massa de mil grãos (MMG) em função da co-inoculação e sem co-inoculação às 8
 656 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.

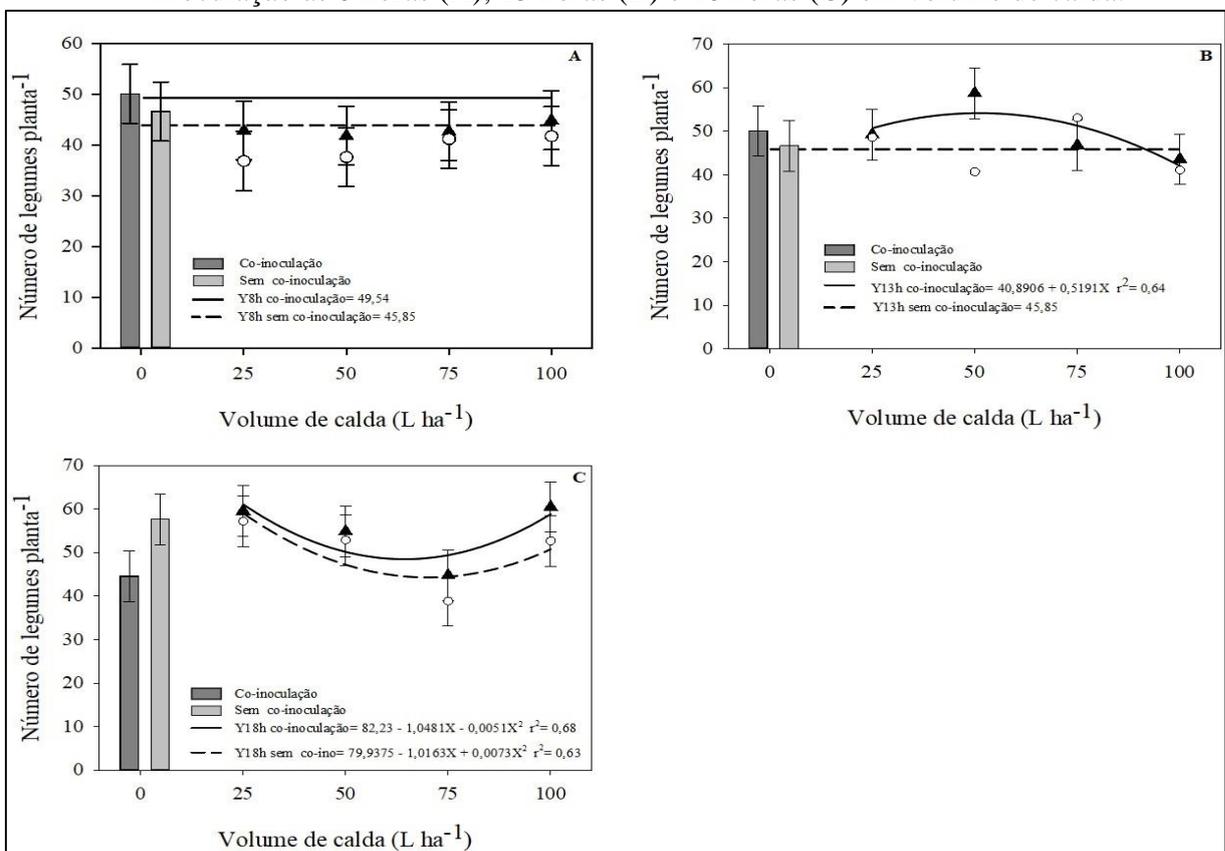


657
 658 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

659 O NLP teve respostas significativas somente na semeadura das 18 horas, quando co-
 660 inoculado via sulco com os volumes de 25 e 100 L ha⁻¹. É importante que se tenha número
 661 elevado de legumes pois a produtividade de grãos da soja (PG) está altamente correlacionada
 662 com este componente (DALCHIAVON; CARVALHO, 2012). Assim, recomenda-se realizar
 663 manejos que proporcionem maior a formação e manutenção dos legumes na planta. A co-

664 inoculação via sulco propiciou NLP similares às testemunhas no experimento e isso está
 665 relacionado ao maior crescimento radicular e potencialização da nodulação na soja
 666 (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Com isso, ocorreu maior a absorção de água e
 667 nutrientes reduzindo o abortamento de flores, e conseqüentemente permitido a maior
 668 formação de vagens. Dessa forma, o benefício da utilização da co-inoculação minimizou os
 669 efeitos negativos do ambiente, propiciando que os volumes não tenham se diferenciado em
 670 maiores proporções. Diante disso, as respostas similares sobre o NLP, podem ser atribuídas à
 671 população de bactérias autóctones já estabelecidas na área do experimento (Figura 9), pois, a
 672 nodulação das raízes e crescimento vegetal das plantas que propiciaram NLP similares,
 673 inclusive nos tratamentos sem a adição de bactérias ao solo, evidenciando que e os resultados
 674 encontrados sobre o NLP não foram exclusivamente dependentes da co-inoculação via
 675 sementes e sulco de semeadura.

676 Figura 15. Número de legumes por planta⁻¹ (NLP) em função da co-inoculação e sem co-
 677 inoculação às 8 horas (A), 13 horas (B) e 18 horas (C) em volume de calda.



678
679

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

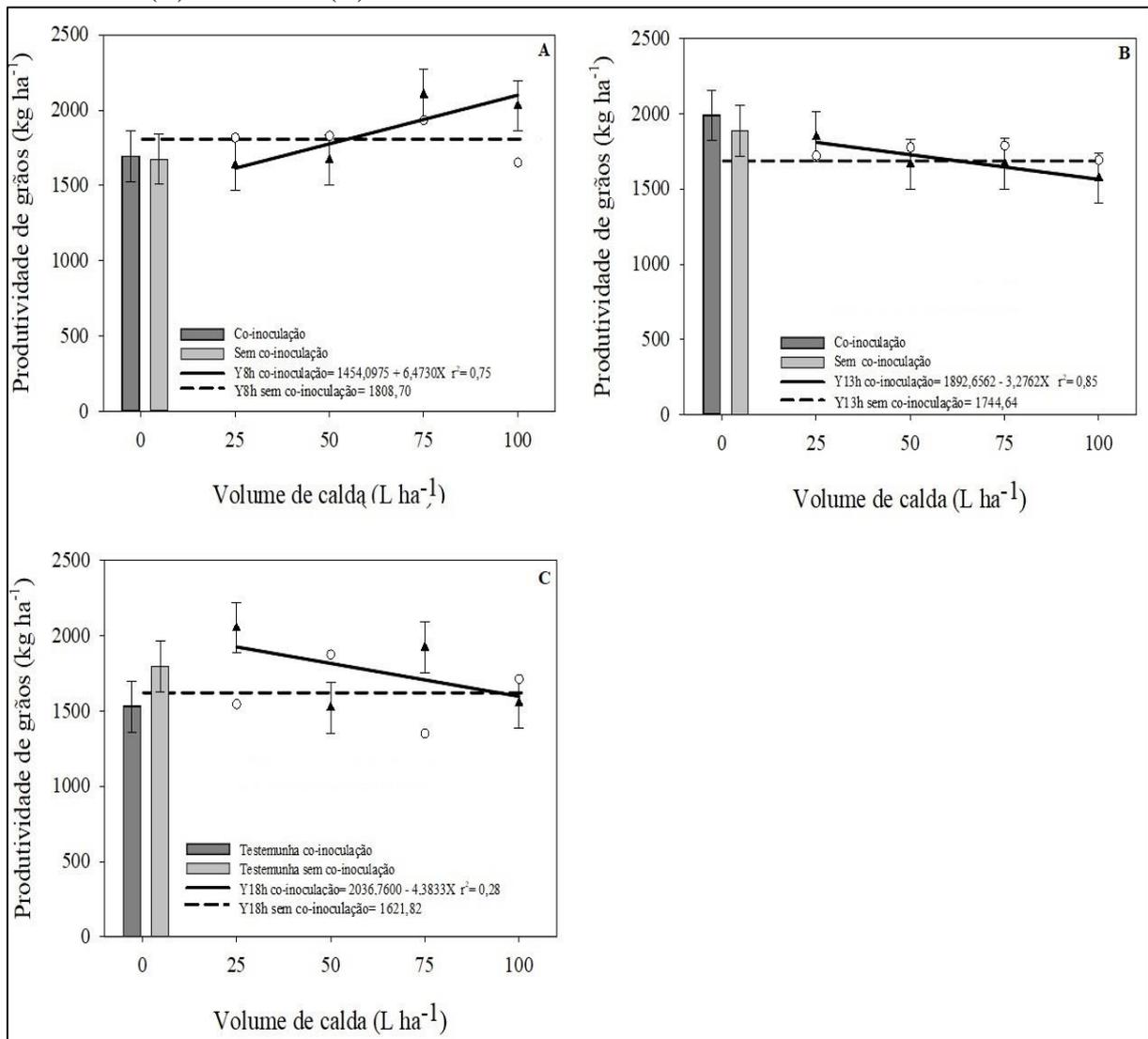
680 A PG do experimento 2 teve resultados inferiores quando comparada ao experimento 1,
681 com semeadura em novembro, e isso se dá pelas condições ambientais mais críticas
682 normalmente encontradas em semeaduras tardias. Visto que a semeadura em épocas tardias,
683 ou, fora do período recomendado, propiciam menor radiação solar às plantas, dessa forma, as
684 mesmas desenvolvem menor área foliar, e conseqüentemente, menor fotossíntese líquida
685 disponível para o crescimento vegetativo (ZHANG et al., 2016), comprometendo a formação
686 de flores, legumes, número e a massa de grãos, que estão diretamente relacionados com a PG
687 da soja (DALCHIAVON; CARVALHO, 2012).

688 Contudo, mesmo em condições mais extremas ao desenvolvimento da soja, os volumes
689 de calda de 75 e 100 L ha⁻¹ foram estatisticamente superiores às testemunhas com co-
690 inoculação na semente e sem co-inoculação. Nota-se que em temperatura mais amena (Figura
691 7) de semeadura, o volume de calda promoveu aumento de produtividade, e, como pode ser
692 visto nas Figuras 12 e 13, o volume de calda propiciou maiores nodulações e massa seca dos
693 nódulos na soja. Assim, pode-se entender que a FBN obteve incremento devido a maior
694 sobrevivência de bactérias alóctones oriundas dos inoculantes que possuem maior eficiência
695 na fixação de N para as plantas, aspecto importante pois reflete sobre a produtividade de grãos
696 (PRÉVOST; GAUVIN-TRUDEL; JUGE, 2012).

697 Para os demais horários avaliados, nota-se por meio da Figura 16 que em condições
698 onde o solo encontra-se mais aquecido (Figura 7), o volume de calda não influenciou
699 positivamente a PG quando comparado às testemunhas. Isso pode ter ocorrido em função da
700 maior temperatura do solo, o qual condicionou menor sobrevivência das bactérias alóctones e,
701 possivelmente, a simbiose ocorreu em maiores proporções com as bactérias autóctones, que
702 possuem menor eficiência na FBN. Sendo assim, a dispersão das bactérias no sulco de
703 semeadura pode ter sido favorecida (BOGINO et al., 2011), porém, a concentração de
704 bactérias inoculadas foi reduzida em função da morte causada pela temperatura mais elevada,

705 o que propiciou menor capacidade competitiva além do fato de naturalmente as bactérias
 706 selecionadas serem menos eficientes na simbiose em relação à população autóctone do solo
 707 (ULZEN et al., 2018).

708 Figura 16. Produtividade de grãos (PG) em função da co-inoculação às 8 horas (A), 13 horas
 709 (B) e 18 horas (C) em volumes de calda.



710

711 Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

712 **Experimento 3: Co-inoculação em volumes de calda e concentração de unidades**

713 **formadoras de colônia via sulco de semeadura da soja**

714 Os resultados da análise de variância demonstraram a ocorrência de interação tripla

715 entre os fatores estudados para número de nódulos planta⁻¹ (NNP), massa de nódulos planta⁻¹

716 (MSN), massa seca de parte aérea planta⁻¹ (MSP) e massa de mil grãos (MMG). Dessa forma,

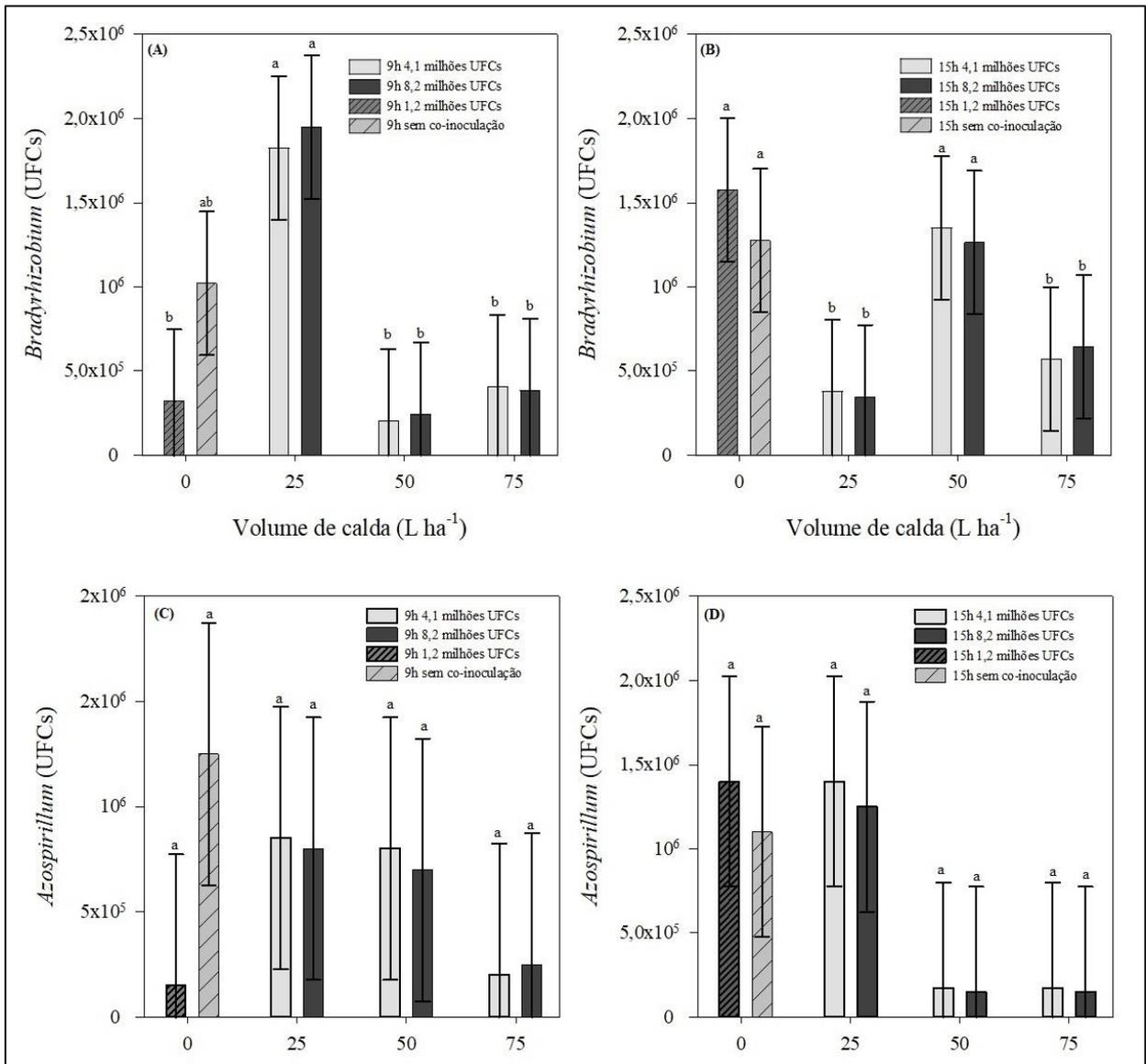
717 verificou-se que o volume de calda em diferentes concentrações de UFCs modifica as
718 respostas de nodulação, biomassa e massa de grãos sob as condições distintas de ambiente
719 encontradas nos horários de semeadura. Também houve interação dupla significativa entre
720 horário de semeadura e volume de calda para a produtividade de grãos (PG), o que evidencia
721 que o volume de calda em concentrações de UFCs tem influência sobre a as respostas de PG
722 da soja.

723 As populações de *Bradhyrizobium* (figura 17A), foram superiores na semeadura das 9
724 horas apenas no volume de calda de 25 L ha⁻¹ nas cargas bacterianas de 4,1 e 8,2 milhões de
725 UFCs quando comparadas às testemunhas, e os demais volumes e cargas bacterianas, não
726 diferiram estatisticamente. Isso está atrelado às populações já presentes no solo (autóctones),
727 antes da realização do experimento, e essa relação entre bactérias para as associações e
728 simbiose com a soja se dá de forma competitiva (ULZEN et al., 2018), possibilitando que a
729 formação de nódulos não seja exclusivamente realizada com bactérias alóctones, fator este
730 que influencia a eficiência da FBN e, conseqüentemente, os componentes de produtividade da
731 cultura da soja (KUMAR; RAWAT; RAO, 2017). Porém, existe relato que não foram
732 encontradas diferenças significativas quando utilizado o dobro da dose do inoculante com *B.*
733 *japonicum* (3 e 6 mL kg⁻¹ sementes) juntamente com N mineral em dois anos de avaliação
734 (SILVA et al., 2011). Esses resultados indicam que a introdução de bactérias deva ser feita
735 anualmente, para que assim as mesmas possam se adaptar ao ambiente, propiciando
736 populações futuras de bactérias eficientes na FBN (BOGINO et al., 2011).

737 Em relação às populações de *Azospirillum*, nenhum fator estudado influenciou diferença
738 estatística significativa entre as populações encontradas. Assim, os volumes de calda e cargas
739 bacterianas não responderam na formação de maiores populações de bacterianas no solo
740 (Figura 17C, 17D) corroborando com os resultados encontrados por Silva et al. (2011). Além
741 disso, a cultura da soja vêm sendo implantada anualmente no local onde foi realizado o

742 experimento e, a mesma tem a capacidade de estimular vinte e duas vezes mais o número de
 743 bactérias quando comparada a gramíneas, condição esta que favoreceu as populações de
 744 bactérias no solo (KUMAR; RAWAT; RAO, 2017).

745 Figura 17. Número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Bradyrhizobium* 9h (A), 15h
 746 (B), e *Azospirillum* 9h (C), 15h (D) sob a co-inoculação, em volumes de calda e
 747 horários de semeadura.



748
 749
 750

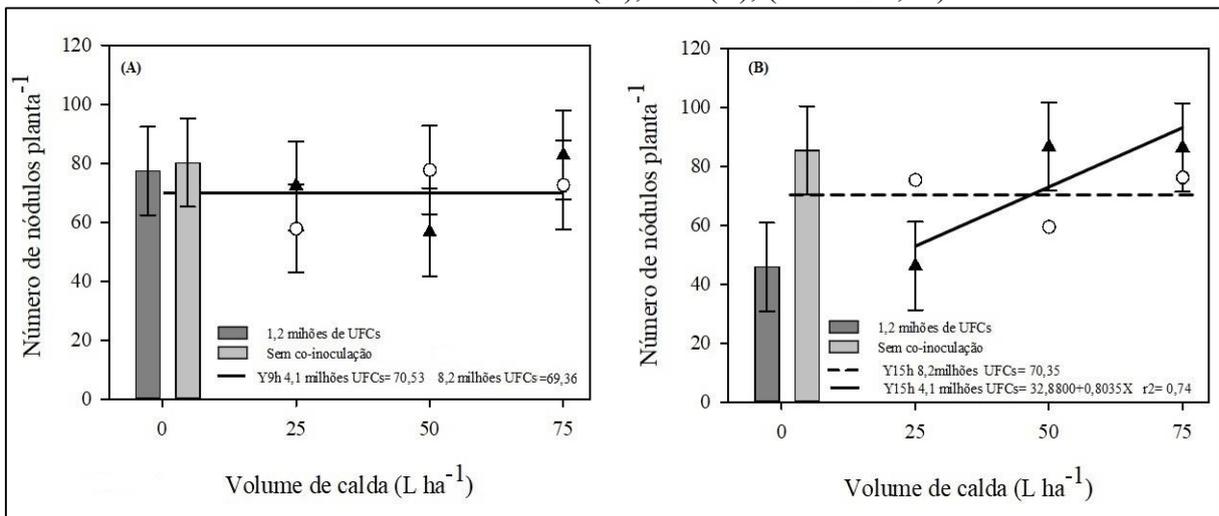
Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

**médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna não diferem entre si (DMS ≤ 0,05).

751 Para número de nódulos planta⁻¹ (NNP), não houve diferença estatística entre as
 752 concentrações de bactérias e volumes de calda via sulco, quando comparadas as testemunhas
 753 via sementes na semeadura às 9 horas, (Figura 18A). Contudo, na semeadura das 15 horas, a
 754 co-inoculação com 4,1 milhões de UFCs via sulco nos volumes de 50 e 75 L ha⁻¹

755 apresentaram maior número de nódulos, em comparação a testemunha com 1,2 milhões de
 756 UFCs e também quando comparamos à concentração de 8,2 milhões de UFCs. Porém, não
 757 diferiram com a testemunha sem co-inoculação, e isso como já comentado anteriormente,
 758 ocorreu devido a população de bactérias autóctones ser considerada alta no local do
 759 experimento e ter sido a responsável pelo elevado número de nódulos nos tratamentos sem co-
 760 inoculação (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Isso se dá em áreas onde vem sendo
 761 cultivado a soja e a co-inoculação já tenha ocorrido em anos anteriores, propiciando que o
 762 aumento da dose dos inoculantes seja via sulco de semeadura ou via sementes não responde
 763 em maiores nodulações em plantas se avaliado em curto prazo (VIEIRA-NETO et al., 2017).
 764 Isso acontece porque as populações de bactérias quando são encontradas no solo em valores
 765 próximos a 10^5 encontram-se em níveis exemplares para a realização da simbiose com a soja,
 766 proporcionando elevado número de nódulos em plantas de soja, independentemente do
 767 método de co-inoculação (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2015).

768 Figura 18. Número de nódulos por planta (NNP) em função da co-inoculação em volumes de
 769 calda e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS $\leq 0,05$).



770
771

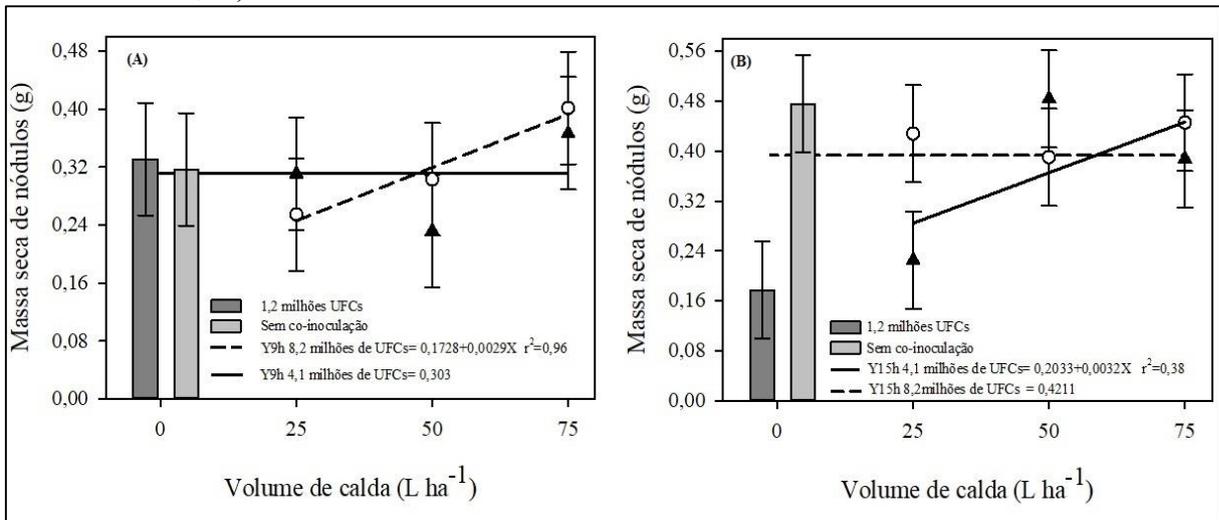
Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

772 A massa de nódulos (MSN) teve comportamento similar ao NNP, este como já
 773 comentado anteriormente teve influência da população de bactérias autóctones no solo, as
 774 quais competem com as bactérias inoculadas no processo de associação e simbiose com as

775 raízes de soja (BOGINO et al., 2011). A co-inoculação no sulco apresentou desempenho
776 superior a testemunha co-inoculada nos volumes de 50 e 75 L ha⁻¹. Porém, nenhum
777 tratamento via sulco de semeadura foi superior à testemunha sem o uso de inoculantes. Esse
778 resultado está corroborando com os encontrados por autores, que também evidenciaram a
779 influência de bactérias autóctones na formação de nódulos e também na massa dos mesmos,
780 não diferenciando estatisticamente com a utilização de doses acima do recomendando em
781 diferentes métodos de inoculação (FERRI et al., 2017).

782 Contudo, alterações no ambiente influenciam os processos de simbiose e
783 desenvolvimento de plantas, especialmente quando relacionados à temperatura e umidade do
784 solo, parâmetros que exercem forte influência sobre as populações de microrganismos no solo
785 (MEISNER et al., 2017). E como pode ser visto na Figura 19B, os volumes de 50 e 75 L ha⁻¹
786 apresentaram o maior desempenho no sistema via sulco, evidenciando que em maiores
787 volumes de calda existe maior sobrevivência de bactérias, possibilitando assim, maior massa
788 de nódulos quando comparados a co-inoculação via sementes. Com isso, quando a co-
789 inoculação ocorre via sementes os aspectos ligados à morte de bactérias devem ser evitados,
790 pois mesmo nas embalagens, ou quando as sementes estão co-inoculadas na caixa da
791 semeadora deve-se evitar a exposição direta à radiação solar e altas temperaturas, pois as
792 mesmas são fatais para as bactérias, não devendo ultrapassar os 30 °C, pois a morte de
793 bactérias trará prejuízos à FBN e conseqüentemente a PG (PENNA et al., 2011).

794 Figura 19. Massa seca de nódulos por planta⁻¹ (MSN) em função da co-inoculação e sem co-
 795 inoculação em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS
 796 $\leq 0,05$).

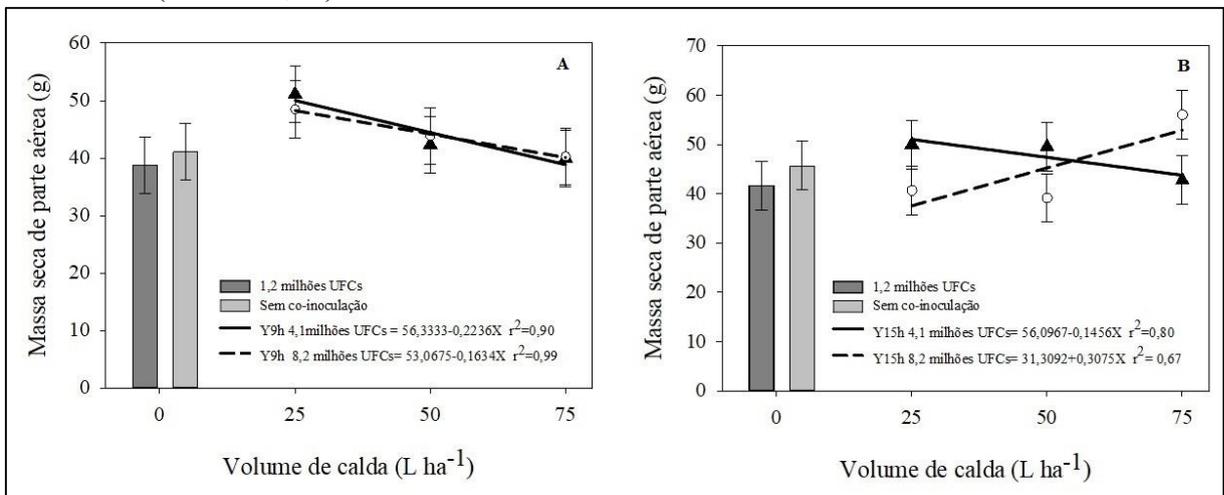


797
798

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

799 A MSP da soja para semeaduras às 9 e 15 horas não foram diferentes estatisticamente
 800 entre as concentrações de UFCs e os volumes de calda quando comparados as testemunhas
 801 (Figura 20). Assim o uso de maiores volumes e concentrações de bactérias não torna-se
 802 necessário quando se busca aumento de biomassa. No entanto, o acúmulo de biomassa de
 803 parte aérea é de fundamental importância para a produtividade de grãos da soja, pois o mesmo
 804 servirá como fonte de nutrientes, em especial o N, pois a mobilização dos compostos de
 805 reserva (folhas/fonte) e a translocação para outros órgãos (grãos/dreno) irá ocorrer no
 806 momento de enchimento de grãos e o ideal suprimento de água e nutrientes nas fases
 807 vegetativas são fundamentais para o êxito do processo (JIN et al., 2019).

808 Figura 20. Massa seca de parte aérea planta⁻¹ (MSP, g planta⁻¹) em função da co-inoculação e
 809 sem co-inoculação em volumes de calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B),
 810 (DMS ≤ 0,05).

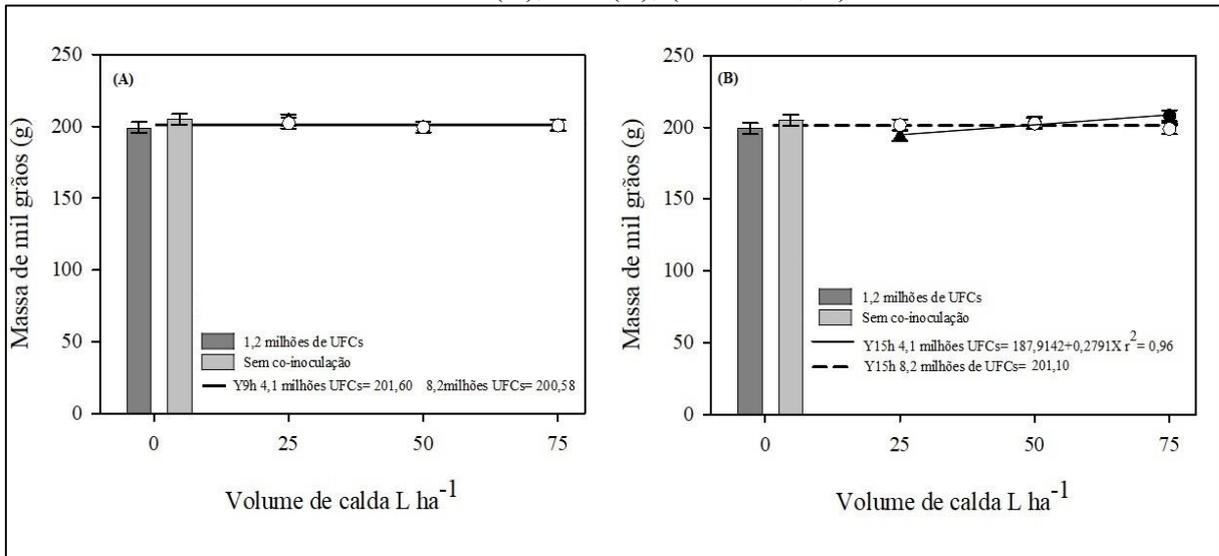


812
813

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

814 Na pesquisa, a MMG (figura 21) em volumes de calda e concentrações de bactérias não
 815 diferiram das testemunhas, tendo o mesmo comportamento sobre a massa de grãos
 816 independente do horário de semeadura avaliado. A MMG é uma característica determinada
 817 por muitos genes, o que faz este componente de produtividade seja o mais estável em
 818 diferentes cultivares. Contudo, a mesma pode ser influenciada pelo manejo e principalmente
 819 pelo ambiente, ao que diz respeito sobre a disponibilidade de água no momento de
 820 enchimento de grãos, pois quando a disponibilidade hídrica é comprometida nesta fase as
 821 diferenças de massa tendem a ser maiores (ZHANG et al., 2016). Ainda, tem sido demonstrado
 822 que a utilização da suplementação mineral causa efeito sobre a MMG e, quando utilizada via
 823 sementes, condiciona a participação do molibdênio como cofator, aumentando assim a
 824 incorporação de nitrogênio (STECCA et al., 2019).

825 Figura 21. Massa de mil grãos (MMG) em função da co-inoculação em volumes de calda, e
 826 horários de semeadura 9h (A), 15h (B), ($DMS \leq 0,05$).



827
 828

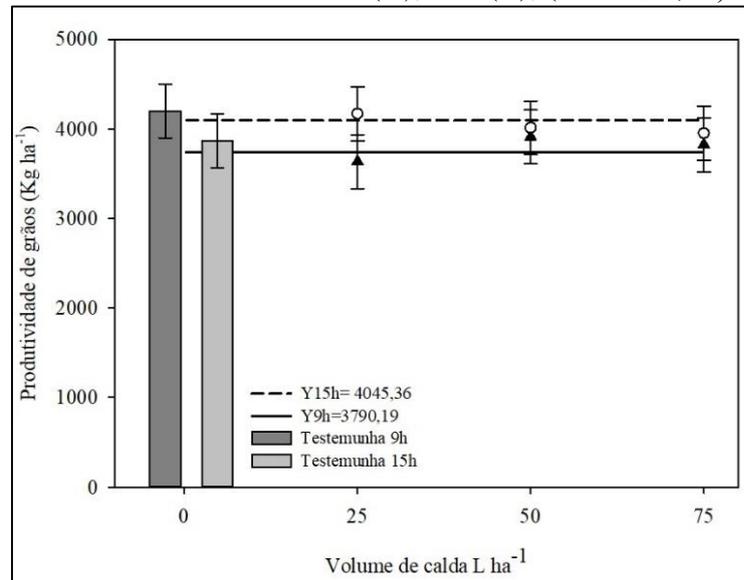
Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

829 A PG (Figura 22) teve interação significativa para horário de semeadura e volume de
 830 calda. No entanto, as equações de regressão não foram significativas, tendo como média para
 831 a semeadura das 9 horas o valor de 3790,19 kg ha⁻¹ e para às 15 horas, o valor de 4045,36 kg
 832 ha⁻¹, estas que não diferiram estatisticamente entre si e nem em comparação com as
 833 testemunhas. No entanto, são encontrados na literatura relatos que contradizem os resultados
 834 encontrados, evidenciando que a nodulação e a produtividade soja são influenciadas
 835 principalmente pelo método de inoculação e cultivar utilizada (YAMAKAWA;
 836 FUKUSHIMA, 2014). Também verificou-se relatos que corroboram com os resultados
 837 encontrados, afirmando que a co-inoculação via sementes e por meio de volumes de calda, em
 838 utilização do dobro da recomendação de inoculantes não resultaram em maiores nodulações
 839 na soja em locais onde o cultivo da soja já ocorreu previamente (VIEIRA-NETO et al., 2017).

840 Com isso, pode-se afirmar que para a FBN e conseqüentemente a PG da soja seja
 841 alterada positivamente, o solo deve possuir populações autóctones acima da ordem 10³
 842 (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013) e, a co-inoculação seja realizada anualmente, a
 843 fim de introduzir no solo estirpes com maior eficiência na FBN. Ainda, o sistema via sulco
 844 propicia praticidade e eficiência no processo de co-inoculação, sendo uma prática

845 recomendada para a soja, pois quando comparado ao processo via sementes realizado
846 inadequadamente, mostra-se superior, (BOGINO et al., 2011).

847 Figura 22. Produtividade de grãos (PG) em função do horário de semeadura em volumes de
848 calda, e horários de semeadura 9h (A), 15h (B), (DMS \leq 0,05).



849
850

Fonte: Autor (Santa Maria, RS, 2019).

851

CONCLUSÃO

852 A co-inoculação via sulco de semeadura e via sementes são similares quanto à
853 nodulação e produtividade de grãos.

854 Os volumes de calda entre 25 e 50 L ha⁻¹ aplicadas no sulco de semeadura
855 proporcionam nodulação e produtividade similar a co-inoculação via sementes de soja
856 independente do horário de semeadura.

857 A utilização de 4,1 milhões de UFCs é suficiente para co-inoculação no sistema via
858 sulco de semeadura.

859

REFERÊNCIAS

- 860 ALBAREDA, M.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, D. N.; TEMPRANO, F. J. Soybean
861 inoculation: Dose, N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil. **Field**
862 **Crops Research**, v. 113, n. 3, p. 352-356, 2009.
- 863 ALVARES, C. A. et al. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische**
864 **Zeitschrift**, v. 22, p.711-728, 2013.
- 865 ANDA, A. et al. Yield features of two soybean varieties under different water supplies and
866 field conditions. **Field Crops Research**, v. 245, p. 107673, 2020.

- 867 BATTISTUS, A.G. et al. Synergistic action of *Azospirillum brasilense* combined with
868 thiamethoxam on the physiological quality of maize seedlings. **African Journal of**
869 **Biotechnology**, v.13, n.49, p. 4501-4507, 2014.
- 870 BOGINO, P. et al. Increased competitiveness and efficiency of biological nitrogen fixation in
871 peanut via in-furrow inoculation of rhizobia. **European Journal of Soil Biology**. v. 47,
872 n.3, P. 188-193, 2011.
- 873 BRANDALERO, E. M. et al. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de
874 grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, p.581-588, 2009.
- 875 BRZEZINSKI, C. R. et al. Seeds treatment times in the establishment and yield performance
876 of soybean crops. **Journal of Seed Science**, v. 37, n. 2, p. 147-153, 2015.
- 877 BRZEZINSKI, C. R. et al. Spray volumes in the industrial treatment on the physiological
878 quality of soybean seeds with different levels of vigor. **Journal of Seed Science**, v. 39, n.
879 2, p. 174-181, 2017.
- 880 BULYABA, R.; LENNSEN, A. W. Influence of Bradyrhizobium Inoculation and Fungicide
881 Seed Treatment on Development and Yield of Cowpea, Lablab, and Soybean. **Crop,**
882 **Forage & Turfgrass Management**, v. 3, n. 1, 2017.
- 883 CERZINI, P. et al. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. **Field**
884 **Crops Research**, v. 196, p. 160-167, 2016.
- 885 CHIBEBA, A. M. et al. Co-Inoculation of Soybean with Bradyrhizobium and *Azospirillum*
886 Promotes Early Nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p.1641-1649,
887 2015.
- 888 CHRISTOPHE, S. et al. Plant N fluxes and modulation by nitrogen, heat and water stresses: a
889 review based on comparison of legumes and non legume plants. In: **Abiotic Stress in**
890 **Plants-Mechanisms and Adaptations**. InTech, p. 79-118, 2011.
- 891 COSTA, P. N.; BUENO, S. S. C.; FERREIRA, G. Fases da germinação de sementes de
892 *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira**
893 **de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 253-260, 2011.
- 894 CQFS-RS/SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO). **Manual de**
895 **calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 11.
896 ed. Frederico Westphalen: Núcleo regional Sul - Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.
897 2016. 376p.
- 898 DALCHIAVON, F. C.; CARVALHO, M. P. Linear and spatial correlation of the yield
899 components and soybean yield. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 541-552, 2012.
- 900 DANTAS, S. A. G et al. Strategy for selection of soybean genotypes tolerant to
901 drought/during germination. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.
- 902 DEAK, E. A. et al. Effects of soil temperature and moisture on biological nitrogen fixation in
903 soybean crop. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 8, p. 1327, 2019.
- 904 DEAKER, R.; HARTLEY, E.; GEMELL, G. Conditions affecting shelf-life of inoculated
905 legume seed. **Agriculture**, v.2, p. 38-51, 2012.
- 906 EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Indicações**
907 **técnicas para a Cultura da Soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras**
908 **2014/2015 e 2015/2016**. Pelotas: Embrapa, 2014. 124 p.
- 909 EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). **Sistema**
910 **brasileiro de classificação de solos**. 5ª. Edição. Brasília, 590 p, 2018.
- 911 FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. Ecofisiologia da soja. Soybean
912 ecophysiology. Circular Técnica 48. Londrina, PR, Setembro, 2007.
- 913 FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**,
914 v. 35, p. 1039-1042, 2008.

- 915 FERRI, G.C. et al. Effects of associated co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with
 916 *Azospirillum brasilense* on soybean yield and growth. **African Journal of Agricultural**
 917 **Research**, v.12, n.1, p.6-11, 2017.
- 918 FINCH-SAVAGE, W. E.; FOOTITT, S. Seed dormancy cycling and the regulation of
 919 dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. **Journal of**
 920 **Experimental Botany**, v. 68, n. 4, p. 843-856, 2017.
- 921 FIPKE, G. M. et al. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea
 922 topdressing. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 5, p. 522-533, 2016.
- 923 FUKAMI, J. et al. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum*
 924 *brasilense*. **AMB Express**, v. 6, p. 1-13, 2016.
- 925 GAJIĆ, B. et al. Effect of irrigation regime on yield, harvest index and water productivity of
 926 soybean grown under different precipitation conditions in a temperate environment.
 927 **Agricultural Water Management**, v. 210, p. 224-231, 2018.
- 928 GESCH, R. W.; ARCHER, D. W.; SPOKAS, K. Can using polymer-coated seed reduce the
 929 risk of poor soybean emergence in no-tillage soil? **Field Crops Research**, v. 125, p. 109-
 930 116, 2012.
- 931 HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. **Ciência &**
 932 **Ambiente**, v. 38, p. 43-58, 2009.
- 933 HU, H.W. et al. Water addition regulates the metabolic activity of ammonia oxidizers
 934 responding to environmental perturbations in dry subhumid ecosystems. **Environmental**
 935 **microbiology**, v. 17, n. 2, p. 444-461, 2015.
- 936 HUNGRIA, M.; KASCHUK, G. Regulation of N₂ Fixation and Assimilation in Nodulated
 937 and N-Fertilized *Phaseolus vulgaris* L. Exposed to High-Temperature Stress.
 938 **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, p. 32-39, 2014.
- 939 HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods of soybean
 940 inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural**
 941 **Research**, v. 10, n. 23, p. 2329-2338, 2015.
- 942 HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp with the
 943 plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly
 944 component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture**
 945 **Ecosystems Environment**, v. 221, p. 125–131, 2016.
- 946 HUNGRIA, M; NOGUEIRA, M. A; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and
 947 common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology**
 948 **and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801. 2013.
- 949 HWANG, S. et al. Genetics and mapping of quantitative traits for nodule number, weight, and
 950 size in soybean (*Glycine max* L.[Merr.]). **Euphytica**, v. 195, n. 3, p. 419-434, 2014.
- 951 JIN, Y. et al. Water-conserving and biomass-allocation traits are associated with higher yields
 952 in modern cultivars compared to landraces of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] in
 953 rainfed water-limited environments. **Environmental and Experimental Botany**, v. 168,
 954 p. 1-13, 2019.
- 955 KASCHUK, G. et al. Response of determinate and indeterminate soybean cultivars to basal
 956 and topdressing N fertilization compared to sole inoculation with *Bradyrhizobium*. **Field**
 957 **Crops Research**, v. 195, p. 21-27, 2016.
- 958 KUMAR, V.; RAWAT, A. K.; RAO, D. L. N. Population ecology of soybean-rhizobia in
 959 diverse crop rotations in Central India. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.
 960 240, p. 261-268, 2017.
- 961 KUROMORI, T.; SEO, M.; SHINOZAKI, K. ABA transport and plant water stress
 962 responses. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 6, p. 513-522, 2018.

- 963 MASON, M. L. T. et al. Influence of flooding and soil properties on the genetic diversity and
 964 distribution of indigenous soybean-nodulating bradyrhizobia in the Philippines. **Heliyon**,
 965 v. 4, n. 11, p.1-21, 2018.
- 966 MEISNER, A. et al. Partial drying accelerates bacterial growth recovery to rewetting. **Soil**
 967 **Biology and Biochemistry**, v. 112, p. 269-276, 2017.
- 968 MOHIUDDIN, M.; MOHAMMED, M. K. Influence of fungicide (Carbendazim) and
 969 herbicides (2, 4-D and Metribuzin) on non-target beneficial soil microorganisms of
 970 Rhizospheric Soil of Tomato Crop. **IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol**, v. 5, p.
 971 47-50, 2013.
- 972 NÓIA-JÚNIOR, R. S.; SENTELHAS, P. C. Soybean-maize succession in Brazil: Impacts of
 973 sowing dates on climate variability, yields and economic profitability. **European**
 974 **Journal of Agronomy**, v. 103, p. 140-151, 2019.
- 975 PENNA, C. et al. A simple method to evaluate the number of bradyrhizobia on soybean seeds
 976 and its implication on inoculant quality control. **AMB Express**, v. 1, p. 1-21, 2011.
- 977 PRÉVOST, D.; GAUVIN-TRUDEL, C.; JUGE, C. Diversity of *Bradyrhizobium* populations
 978 associated to soybean–maize rotations in Québec, Eastern Canada, and their potential to
 979 improve growth of both plant species. **Applied soil ecology**, v. 59, p. 29-38, 2012.
- 980 PRUDENT, M. et al. Soybean is less impacted by water stress using *Bradyrhizobium*
 981 *japonicum* and thuricin-17 from *Bacillus thuringiensis*. **Agronomy for sustainable**
 982 **development**, v. 35, n. 2, p. 749-757, 2015.
- 983 PUENTE, M. et al. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean
 984 are explained by an auxin signaling model. **Symbiosis**, v.76, p. 41–49, 2018.
- 985 RIBEIRO, D. F. et al. CO-INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* AND
 986 *Bradyrhizobium japonicum* IN SOYBEAN IN THE FIRST AND THIRD YEAR OF
 987 CULTIVATION. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 23, n. 1, p 1-9, 2020.
- 988 ROMERO-PERDOMO, F. et al. Effect of temperature and pH on the biomass production of
 989 *Azospirillum brasilense* C16 isolated from Guinea grass. **Pastures and Forages**, v. 8, n.
 990 3, p. 231-233, 2015.
- 991 SCHINNER, F. **Methods in Soil Biology**. New York: Springer-Verlag, 1996. 426p.
- 992 SHIRO, S. et al. Temperature-Dependent Expression of NodC and Community Structure of
 993 Soybean-Nodulating Bradyrhizobia. **Microbes and environments**, v. 31, p. 27-32, 2016.
- 994 SILVA, A. F. et al. Doses of inoculant and nitrogen at sowing of soybean in first cultivation
 995 area. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 404-412, 2011.
- 996 STECCA, J. D. L. et al. Inoculation of soybean seeds coated with osmoprotector in diferents
 997 soil pH's. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, 2019.
- 998 SYSTAT. **SigmaPlot 12.3 graphical and statistical software**. 2012.
- 999 ULZEN, J. et al. Is there a need for *Bradyrhizobium yuanmingense* and *B. japonicum*
 1000 reinoculation in subsequent cropping seasons under smallholder farmers' conditions?
 1001 **Applied Soil Ecology**, v. 128, p. 54-60, 2018.
- 1002 USDA (United States Department of Agriculture) A basic system of soil classification for
 1003 making and interpreting soil surveys. **Soil taxonomy**. 2. ed. Washington DC: Ed.436, p.
 1004 886, 2014.
- 1005 VARGAS, M. A. T.; PERES, J. R. R.; SUHET, A. R. Adubação nitrogenada, inoculação e
 1006 épocas de calagem para a soja em um solo sob cerrado. **Pesquisa Agropecuária**
 1007 **Brasileira**, Brasília, v.17, p.1127-1132, 1982.
- 1008 VIEIRA-NETO, S. A. et al. Growth and yield performance of soybean with the application of
 1009 *Bradyrhizobium* inoculant via furrow and seed. **Semina**, v. 38, n. 4, p. 2387-2397, 2017.
- 1010 VOLLMANN, J. et al. Digital image analysis and chlorophyll metering for phenotyping the
 1011 effects of nodulation in soybean. **Computers and electronics in agriculture**, v. 75, n.
 1012 1, p. 190-195, 2011.

- 1013 YAMAKAWA, T., FUKUSHIMA. Y. Low inoculum densities of *Bradyrhizobium japonicum*
1014 USDA 110 is effective on production of soybean (*Glycine max* L. Merr.) cultivar
1015 Fukuyutaka. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**, v.59, n.1, p.
1016 45-53, 2014.
- 1017 YAN, Z. et al. Effects of pre-sowing irrigation and straw mulching on the grain yield and
1018 water use efficiency of summer maize in the North China Plain. **Agricultural Water**
1019 **Management**, v. 186, p. 21-28, 2017.
- 1020 YANG, C. et al. Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget
1021 microorganisms. **ISRN Ecology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.
- 1022 YIN, Y. et al. Comparative proteomic and physiological analyses reveal the protective effect
1023 of exogenous calcium on the germinating soybean response to salt stress. **Journal of**
1024 **Proteomics**, v. 113, p. 110-126, 2015.
- 1025 ZHANG, L. et al. Warming decreases photosynthates and yield of soybean [*Glycine max* (L.)
1026 Merrill] in the North China Plain. **The Crop Journal**, v. 4, p.139-146, 2016.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na presente pesquisa, observamos importantes resultados sobre a co-inoculação em diferentes condições ambientais. A temperatura e a umidade do solo, encontradas nos distintos horários de semeadura, e a sua relação com a co-inoculação via sulco, mostraram que as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum brasilense* devem ser mantidas no solo em populações próximas à ordem 10^5 , assim, não se torna necessário o aumento das doses de inoculantes para contemplar satisfatoriamente as necessidades de N na cultura da soja.

Os volumes de calda entre 25 e 50 L ha⁻¹ obtiveram os melhores resultados diante das variações de temperatura e umidade do solo, e foram similares às testemunhas co-inoculadas via sementes. Indicando, assim, que o sistema via sulco é uma prática eficiente, quando referida aos aspectos de nodulação e produtividade da soja.

Com isso, pode-se concluir que o sistema via sulco de semeadura é uma opção viável para proporcionar ao produtor rural agilidade operacional, sem comprometer os componentes ligados à co-inoculação da soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMOAKWAH, E. et al. Soil water retention, air flow and pore structure characteristics after corn cob biochar application to a tropical sandy loam. **Geoderma**, v. 307, p. 189-197, 2017.
- BAO, X. et al. Effects of soil temperature and moisture on soil respiration on the Tibetan plateau. **Plos One**, v. 11, n. 10, p. 9–15, 2016.
- BARR, J. B.; DESBIOLLES, J. M.A.; FIELKE, J. M. Minimising soil disturbance and reaction forces for high speed sowing using bentleg furrow openers. **Biosystems engineering**, v. 151, p. 53-64, 2016.
- BATTISTI, R. et al. Soybean yield gap in the areas of yield contest in Brazil. **International Journal of Plant Production**, v. 12, n. 3, p. 159-168, 2018.
- BOGINO, P. et al. Increased competitiveness and efficiency of biological nitrogen fixation in peanut via in-furrow inoculation of rhizobia. **European Journal of Soil Biology**. v. 47, n.3, P. 188-193, 2011.
- BRUM, M. S. et al. Components of corn crop yield under inoculation with *Azospirillum brasilense* using integrated crop-livestock system. Acta Scientiarum. **Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 485-492, 2016.
- CHIBEBA, A. M. et al. Feasibility of transference of inoculation-related technologies: A case study of evaluation of soybean rhizobial strains under the agro-climatic conditions of Brazil and Mozambique. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 261, p. 230-240, 2018.
- CHRISTOPHE, S. et al. Plant N fluxes and modulation by nitrogen, heat and water stresses: a review based on comparison of legumes and non legume plants. In: **Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations**. InTech, p. 79-118, 2011.
- CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2019/20 - **Primeiro levantamento**, n.1 v. 7. p. 1-47, 2020.
- DEAK, E. A. et al. Effects of soil temperature and moisture on biological nitrogen fixation in soybean crop. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 8, p. 1327, 2019.
- DESBROSSES, G. J.; STOUGAARD, J. Root nodulation: a paradigm for how plant-microbe symbiosis influences host development pathways. **Cell Host Microbe**, v. 10, p. 348-358, 2011.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2. ed. Massachussets: Sinauer, 2005. 380p.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1977. 12 p. (Special Report, 80).
- FIPKE, G. M. et al. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 5, p. 522-533, 2016.

- FREIRIA, G. H. et al. Productivity and chemical composition of food-type soybeans sown on different dates. **Acta Scientiarum**. Agronomy, v. 38, n. 3, p. 371-377, 2016.
- HUANG, R. et al. Soil temperature estimation at different depth, using remotely-sensed data. **Journal of Integrative Agriculture**, v.19, n.1, p. 277-290, 2020.
- HUNGRIA, M.; KASCHUK, G. Regulation of N₂ Fixation and Assimilation in Nodulated and N-Fertilized *Phaseolus vulgaris* L. Exposed to High-Temperature Stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 98, p. 32-39, 2014.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 23, p. 2329-2338, 2015.
- HUNGRIA, M; NOGUEIRA, M. A; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801. 2013.
- KANDIL, A. A. et al. Performance of some promising genotypes of soybean under different planting dates using biplots analysis. **Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 8, n. 2, p. 379-385. 2012.
- KOLLER, H. R.; NYQUIST, W. F.; CHORUSH, I. S. Growth analysis of the soybean community. **Crop Science**, v. 10, p. 407-412, 1986.
- KUROMORI, T.; SEO, M.; SHINOZAKI, K. ABA transport and plant water stress responses. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 6, p. 513-522, 2018.
- LIN, S. Y. et al. *Azospirillum* Agricola sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from cultivated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.66, p. 1453–1458, 2016.
- LORINI, I. (Ed.). **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2015/16**. Embrapa Soja, (Documentos, 393). 2017. 227p.
- MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. **Microbiological research**, v. 169, n. 7-8, p. 609-615, 2014.
- MIRANSARI, M. et al. Improving Soybean (*Glycinemax* L.) N₂ Fixation under Stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 4, p. 909-921, 2013.
- MONDANI, F. et al. Evaluating effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the radiation use efficiency and yield of soybean (*Glycine max*) under water deficit stress condition. **Agricultural Water Management**, v. 213, p. 707-713, 2019.
- MÜLLER, T. M. et al. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, v. 46, n. 2, p. 210-215, 2016.

- NÓIA-JÚNIOR, R. S.; SENTELHAS, P. C. Soybean-maize succession in Brazil: Impacts of sowing dates on climate variability, yields and economic profitability. **European Journal of Agronomy**, v. 103, p. 140-151, 2019.
- PATE, J.S. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.5, p.109-119, 1973.
- SANTACHIARA, G.; SALVAGIOTTI, F.; ROTUNDO, J. L. Nutritional and environmental effects on biological nitrogen fixation in soybean: a meta-analysis. **Field Crops Research**, v. 240, p. 106-115, 2019.
- SANTOS, E. L. et al. Water stress affecting nodulation, oil, protein and grain yield of soybean cultivars. **Global Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 109 – 120. 2012.
- YAN, Z. et al. Effects of pre-sowing irrigation and straw mulching on the grain yield and water use efficiency of summer maize in the North China Plain. **Agricultural Water Management**, v. 186, p. 21-28, 2017.
- ZHANG, L. et al. Principles and practices of the photo-thermal adaptability improvement in soybean. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 2, p. 295-310, 2020.

APÊNDICE A - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 1, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019.

Experimento 1								
FV	GL	NNP	MSN	EME	PP	NLP	MMG	PG
Bloco	3	34,68 ^{ns}	0,002 ^{ns}	35,09 ^{ns}	0,82 ^{ns}	145,48 ^{ns}	33,43 ^{ns}	563748,64 ^{ns}
Horário (A)	2	706,63 ^{ns}	0,005 ^{ns}	34,70 ^{ns}	109,25 ^{ns}	821,38 ^{ns}	1056,60*	389939,23 ^{ns}
Erro 1	6	980,80 ^{ns}	0,014 ^{ns}	21,97 ^{ns}	16,74 ^{ns}	90,80 ^{ns}	38,89 ^{ns}	310691,20 ^{ns}
Co-inoculação (C)	1	468,59 ^{ns}	0,008 ^{ns}	1,71 ^{ns}	15,40 ^{ns}	21,33 ^{ns}	5,66 ^{ns}	317270,06 ^{ns}
A*C	2	169,50 ^{ns}	0,005 ^{ns}	2,53 ^{ns}	22,18 ^{ns}	52,24 ^{ns}	29,80 ^{ns}	405942,69 ^{ns}
Volume calda (D)	3	1679,35 ^{ns}	0,003 ^{ns}	7,73 ^{ns}	28,54 ^{ns}	64,12 ^{ns}	9,98 ^{ns}	93114,78 ^{ns}
A*D	6	988,23 ^{ns}	0,013 ^{ns}	11,70 ^{ns}	21,36 ^{ns}	287,13 ^{ns}	15,39 ^{ns}	75013,05 ^{ns}
C*D	3	1650,99*	0,014*	0,80 ^{ns}	24,53 ^{ns}	80,95 ^{ns}	22,93 ^{ns}	209112,71 ^{ns}
A*C*D	6	137,63 ^{ns}	0,009 ^{ns}	18,04*	10,22 ^{ns}	188,97*	5,07 ^{ns}	198399,79 ^{ns}
Erro 2	63	212,14	0,005	6,05	11,59 ^{ns}	68,58	11,54	139319,32
CV % 1	-	39,53	38,730	39,90	20,01	14,73	3,68	12,95
CV % 2	-	18,39	23,260	20,94	16,65	12,8	2,01	8,67
Média	-	79,22	0,304	11,75	20,44	64,71	169,33	4305,00

* significativo pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns}não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); a variáveis explicativas: número de nódulos planta⁻¹ (NNP), massa seca de nódulos planta⁻¹(MSN, g), emergência de plantas m⁻²(EME), população de plantas m⁻² (PP), número de legumes planta⁻¹ (NLP), massa de mil grãos (MMG, g), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹).

APÊNDICE B - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 2, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019

Experimento 2								
FV	GL	NNP	MSN	EME	PP	NLP	MMG	PG
Bloco	3	49,24 ^{ns}	0,001 ^{ns}	8,01 ^{ns}	6,23 ^{ns}	60,67 ^{ns}	87,50 ^{ns}	58975,22 ^{ns}
Horário (A)	2	576,28 ^{ns}	0,035 ^{ns}	170,65 ^{ns}	178,72 ^{ns}	1054,18 ^{ns}	5,44 ^{ns}	183164,58 ^{ns}
Erro 1	6	96,53 ^{ns}	0,001 ^{ns}	4,93 ^{ns}	5,51 ^{ns}	90,59 ^{ns}	16,04 ^{ns}	22844,41 ^{ns}
Co-inoculação (C)	1	14,58 ^{ns}	0,004 ^{ns}	4,38 ^{ns}	1,71 ^{ns}	378,02 ^{ns}	7,76 ^{ns}	48015,87 ^{ns}
A*C	2	223,03 ^{ns}	0,003 ^{ns}	16,91 ^{ns}	4,59 ^{ns}	1,71 ^{ns}	21,48 ^{ns}	78358,72 ^{ns}
Volume calda (D)	3	412,25 ^{ns}	0,008 ^{ns}	49,83 ^{ns}	53,92 ^{ns}	85,99 ^{ns}	11,24 ^{ns}	42454,67 ^{ns}
A*D	6	204,59 ^{ns}	0,016 ^{ns}	17,87 ^{ns}	18,18 ^{ns}	243,58 ^{ns}	27,39 ^{ns}	88903,97 ^{ns}
C*D	3	529,73 ^{ns}	0,007 ^{ns}	19,17 ^{ns}	11,20 ^{ns}	62,00 ^{ns}	9,61 ^{ns}	202836,46 ^{ns}
A*C*D	6	754,02*	0,003*	20,19*	16,54*	85,55*	37,96*	204315,46*
Erro 2	63	43,69	0,001	5,56	5,75	33,36	10,11	32029,31
CV % 1	-	16,56	13,72	14,63	13,52	14,73	3,68	12,95
CV % 2	-	11,14	9,36	15,55	13,81	12,80	2,01	8,67
Média	-	59,32	0,242	15,17	17,35	64,71	169,33	4305,00

* significativo pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); a variáveis explicativas: número de nódulos planta⁻¹ (NNP), massa seca de nódulos planta⁻¹(MSN, g), emergência de plantas m⁻²(EME), população de plantas m⁻² (PP), número de legumes planta⁻¹ (NLP), massa de mil grãos (MMG, g), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹).

APÊNDICE C - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EXPERIMENTO 3, REPRESENTADO PELOS QUADRADOS MÉDIOS, PARA OS EXPERIMENTOS DE CAMPO. SANTA MARIA, RS, SAFRA 2018/2019

Experimento 3						
FV	GL	NNP	MSN	MSP	MMG	PG
Bloco	3	43,18 ^{ns}	0,003 ^{ns}	7,03 ^{ns}	64,22 ^{ns}	80743,01 ^{ns}
Horário (A)	1	37,07 ^{ns}	0,081 ^{ns}	89,19 ^{ns}	0,95 ^{ns}	781350,95 ^{ns}
Erro 1	3	95,08 ^{ns}	0,081 ^{ns}	173,29 ^{ns}	61,24 ^{ns}	157252,34 ^{ns}
Co-inoculação (C)	1	44,89 ^{ns}	0,016 ^{ns}	17,08 ^{ns}	7,22 ^{ns}	464896,71 ^{ns}
A*C	1	6,99 ^{ns}	0,005 ^{ns}	10,54 ^{ns}	0,00 ^{ns}	96325,38 ^{ns}
Volume calda (D)	2	1106,86 ^{ns}	0,037 ^{ns}	63,68 ^{ns}	7,56 ^{ns}	24226,29 ^{ns}
A*D	2	114,52 ^{ns}	0,023 ^{ns}	190,14 ^{ns}	101,88 ^{ns}	234739,51*
C*D	2	308,04 ^{ns}	0,007 ^{ns}	196,14 ^{ns}	53,24 ^{ns}	141171,75 ^{ns}
A*C*D	2	2114,79*	0,045*	172,42*	89,40*	41004,81 ^{ns}
Erro 2	30	150,53	0,005	18,38	21,39	51472,68
CV % 1	-	13,77	25,570	28,38	3,89	10,12
CV % 2	-	17,32	19,330	9,24	2,30	5,79
Média	-	70,83	0,352	46,38	201,35	3917,78

* significativo pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); a variáveis explicativas: número de nódulos planta⁻¹ (NNP), massa seca de nódulos planta⁻¹(MSN, g), massa seca de parte aérea planta⁻¹(MSP), massa de mil grãos (MMG, g), produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹).