

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**BIOINDICADORES DO SOLO E PRODUTIVIDADE DA  
SOJA INOCULADA COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* EM  
SUCESSÃO DE CULTIVOS**

RENATO ALBUQUERQUE DA LUZ

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL  
2018

**BIOINDICADORES DO SOLO E PRODUTIVIDADE DA SOJA  
INOCULADA COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* EM SUCESSÃO  
DE CULTIVOS**

RENATO ALBUQUERQUE DA LUZ  
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. GESSÍ CECCON

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

DOURADOS  
MATO GROSSO DO SUL

2018

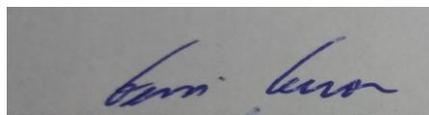
**BIOINDICADORES DO SOLO E PRODUTIVIDADE DA SOJA  
INOCULADA COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* EM SUCESSÃO  
DE CULTIVOS**

por

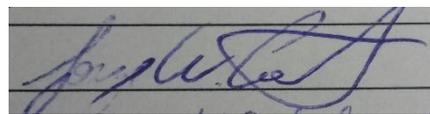
Renato Albuquerque da Luz

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de  
MESTRE EM AGRONOMIA

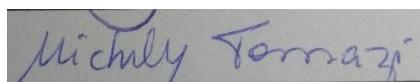
Aprovado em: 14/08/2018



Prof. Dr. Gessi Ceccon  
Orientador – UFGD/FCA



Prof. Dr. Jorge Wilson Cortez  
Membro da Banca – UFGD/FCA



Pesq. Dra. Michely Tomazi  
Membro da Banca – Embrapa/CPAO

### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

L979b Luz, Renato Albuquerque Da

BIOINDICADORES DO SOLO E PRODUTIVIDADE DA SOJA INOCULADA COM  
*Bradyrhizobium* E *Azospirillum* EM SUCESSÃO DE CULTIVOS / Renato Albuquerque Da  
Luz -- Dourados: UFGD, 2018.

51f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Gessi

Ceccon

Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande  
Dourados Inclui bibliografia

1. Glycine max L.. 2. Coinoculação. 3. Rotação de culturas. 4. Plantio direto. 5.  
Microbiologia do solo. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).

**©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.**

“Muitos são os obstinados que se empenham no caminho que escolheram, poucos os que se empenham no objetivo.”

**Friedrich Nietzsche**  
Filósofo Alemão

Aos meus amados pais,  
Heloaldo Bambil da Luz e  
Odenir Albuquerque da Luz e  
meus irmãos,  
Jocimar Albuquerque da Luz e  
Marilene Albuquerque da Luz,  
e namorada, Ivana Cristina Alves  
que sempre acreditam  
e me incentivam nas minhas escolhas.

**Dedico!**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida, pela força nas dificuldades e por me orientar sempre o melhor caminho.

Ao meu orientador Dr. Gessi Ceccon, por todos os ensinamentos, paciência, valiosas contribuições profissionais e pessoais, e amizade durante este período de convivência.

Aos membros da banca, Prof<sup>a</sup>. Dra. Elisângela Dupas, Prof. Dr. Jorge Wilson Cortez, Dra Michely Tomazi, pelas correções e sugestões para o aperfeiçoamento deste trabalho.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

A Embrapa Agropecuária Oeste pela infraestrutura cedida para o desenvolvimento da pesquisa.

A Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, pelas contribuições na minha formação, e oportunidades na minha ampliação de titulação profissional.

A todos os professores da Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, pelas valiosas contribuições teóricas e práticas para minha formação e consequente realização deste trabalho.

Aos meus amigos que colaboraram no desenvolvimento deste experimento: Ricardo Fachinelli, Hadassa Kathiuci, Priscila Akemi Makino, Thais Stradiotto Melo, Rômulo Dutra Rasslan e Luan Ribeiro.

A todos os funcionários de campo da Embrapa Agropecuária Oeste e ao técnico de laboratório Vladimir Andrei Tarasiuk, pelo auxílio nas avaliações, coletas e processamento de dados no decorrer do experimento.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para tornar este trabalho possível.

**A todos, o meu sincero Muito Obrigado!**

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1 Importância econômica da cultura da soja .....	12
2.2. Soja em Plantio Direto .....	13
2.3. Bactérias Diazotróficas.....	15
2.4. Microbiologia do solo .....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1. Local e Clima.....	22
3.2. Histórico da área e implantação de cultivos de outono-inverno .....	23
3.3. Delineamento experimental.....	24
3.4. Implantação da cultura da Soja .....	25
3.5. Avaliações na Soja .....	25
3.6. Análises Microbiológicas do Solo .....	26
3.7. Análise Estatística .....	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1. Componentes de produção.....	30
4.2. Atributos Microbiológicos do Solo .....	37
5. CONCLUSÕES .....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

# BIOINDICADORES DO SOLO E PRODUTIVIDADE DA SOJA INOCULADA COM *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* EM SUCESSÃO DE CULTIVOS

## RESUMO

A soja é uma das culturas mundiais mais importantes, e a demanda pela oleaginosa vem aumentando nas últimas décadas, sendo necessário a adoção de técnicas para aumentar o desenvolvimento da cultura com baixo custo. O sistema plantio direto, no qual, através de rotação de culturas ocorre uma melhora nas qualidades físicas, químicas e microbiológicas do solo é uma alternativa. Da mesma forma, a inoculação com bactérias diazotróficas do gênero *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. de forma isolada ou combinadas contribuem para o fornecimento de N através da fixação biológica do nitrogênio atmosférico. Objetivou-se avaliar componentes de produção da soja e atributos microbiológicos do solo em função da inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* isolado e a coinoculação com *Azospirillum brasilense* em sucessão de culturas de outono-inverno. O trabalho foi desenvolvido na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados, MS, na safra 2016/2017. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em parcelas subdivididas com três repetições. Nas parcelas foram alocados os quatro cultivos de outono-inverno (milho solteiro, milho consorciado com *Brachiaria ruziziensis*, feijão-caupi e *B. ruziziensis*), e nas subparcelas a inoculação via sementes: sem inoculação (testemunha); inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e coinoculação de *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense*. Na floração da soja avaliou-se os teores de clorofila, e amostras de solo foram coletadas para realizar análises microbiológicas e enzimáticas do solo. Na colheita foram avaliados a altura de plantas, e coletado plantas para avaliar os componentes de produção. Não foi observado nenhum efeito significativo dos métodos de inoculação nas variáveis estudadas. Os cultivos de outono-inverno influenciaram no índice de clorofila total das folhas, na massa de cem grãos e produtividade da soja, na qual, a soja cultivada em sucessão ao milho consorciado apresentou maior teor de clorofila, e a produtividade de grãos. O carbono da biomassa, quociente metabólico e microbiano do solo foram influenciados pelos cultivos, sendo o maior valor de biomassa microbiana encontrado em sucessão ao milho consorciado, em relação ao feijão-caupi, *B. ruziziensis* e milho solteiro. A atividade da enzima fosfatase ácida não foi influenciada por nenhum fator estudado. O uso de culturas de outono-inverno contribuiu para o desempenho da soja em sucessão, e contribuem para aumento da biomassa microbiana do solo.

**Palavras chaves:** *Glycine max* L., coinoculação, rotação de culturas, plantio direto, microbiologia do solo.

## SOIL BIOINDICATORS AND PRODUCTIVITY OF INOCULATED SOYBEANS WITH *BRADYRHIZOBIUM* AND *AZOSPIRILLUM* IN CROP SUCCESSION

### ABSTRACT

Soybean is one of the world's most important crops, and the demand for oilseed has been increasing in the last decades, and it is necessary to adopt techniques to increase the development of the crop at a low cost. The no-tillage system, in which, through crop rotation could provide improvement in the physical, chemical and microbiological qualities of the soil is an alternative. In the same way, the inoculation with diazotrophic bacteria of the genus *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum* spp. alone or combined contribute to the supply of N through the biological fixation of atmospheric nitrogen. The objective of this study was to evaluate soybean yield and soil microbiological attributes in function of the inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* alone and the coincidence with *Azospirillum brasilense* succession to autumn-winter crops. The work was carried out during the 2016/2017 harvest season in the experimental area of Embrapa Western Agriculture in Dourados – MS, Brazil. The experimental design was in randomized blocks in subdivided plots with three replicates. In the plots were allocated the four Autumn - Winter crops (single corn, corn intercropped with *B. ruziziensis*, cowpea and *B. ruziziensis*), and in the subplots inoculation via seeds: without inoculation (control); inoculation *B. japonicum*; and coinoculation of *B. japonicum* + *A. brasilense*. At the soybean flowering was evaluated for chlorophyll content, and soil samples were collected to perform microbiological and enzymatic analyzes of the soil. At harvest the height of plants was evaluated, and plants were collected to evaluate the production and productivity components. No significant effect of inoculation methods was observed on the studied variables. The autumn-winter crops influenced the total chlorophyll content of the leaves, the one hundred grain mass and the soybean yield, which the soybean cultivated in succession to intercropped maize presented higher chlorophyll content, and grain yield. The biomass carbon, soil metabolic and microbial quotients were influenced by the crops, being the higher value of biomass found in the intercropped corn, in relation to cowpea, *B. ruziziensis* and single corn. The activity of the acid phosphatase enzyme was not influenced by any factor studied. The use of autumn-winter crops contributes to the performance of soybeans in succession and contribute to the increase of soil microbial biomass.

**Key-words:** *Glycine max*, coinoculation, crop rotation, no-tillage, soil microbiology.

## 1. INTRODUÇÃO

A soja *Glycine max* (L.) Merrill é uma oleaginosa de grande importância mundial, e o Brasil é o segundo maior produtor da oleaginosa, com área cultivada de 35 milhões de hectares. Entre os anos de 1997 a 2016, a área cultivada brasileira aumentou 9,2%, e a produção cresceu em 13,4% (CONAB, 2018). Este crescimento de produção superior ao da área deve-se ao melhoramento genético, correção da fertilidade do solo e manejos culturais.

A correção da fertilidade do solo pode ser considerada uns dos fatores que mais contribuíram para esse aumento de produção, pois ao proporcionar uma nutrição adequada de micro e macronutrientes para as plantas, os seus processos metabólicos ocorrem de maneira mais rápida e eficiente. Com o avanço do melhoramento genético a exigência nutricional para altas produtividades aumentou, sendo o nitrogênio mais requerido pela cultura. A necessidade de N pela cultura da soja é estimada em 80 kg de N para cada mil kg de grãos produzidos por hectare, sendo muitas vezes necessário um alto investimento de fertilizantes nitrogenados para atingir produtividades elevadas.

Neste cenário, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) surge como uma alternativa de suprir a necessidade de N de forma mais econômica para a cultura. Pois através de um processo natural de simbiose entre as raízes da soja e bactéria do gênero *Bradyrhizobium* spp., gerando nódulos radiculares que fixação o N atmosférico, e a bactéria é responsável por romper as ligações e transforma-lo em N amônio nos nódulos, sendo posteriormente transportados como íon amônio dentro das plantas (HUNGRIA, 2013).

Novas tecnologias para aumentar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio vem sendo estudadas, para potencializar o desempenho das plantas e melhorar a absorção de nutrientes e aumentar a produtividade. As bactérias do gênero *Azospirillum* spp. possuem elevado potencial agrônomo pois além da FBN, podem produzir fito hormônios, que auxiliam no desenvolvimento e produtividade das plantas (ARAUJO, 2008). Entretanto, este grupo de bactérias possui um desempenho maior com algumas espécies de gramíneas, como milho, trigo e cana de açúcar, e na soja o seu desempenho isolada é inferior, não sendo recomendado a sua utilização isoladamente.

Nos últimos anos, algumas técnicas para potencializar o efeito dos gêneros *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. vem sendo estudados e desenvolvidos. Como

resultado, a coinoculação ou inoculação mista aparece como alternativa, ela é uma técnica que consiste na combinação desses diferentes microrganismos, os quais produzem efeitos múltiplos de sinergismo na planta, e com a capacidade de superar os resultados de produtividade quando comparados isoladamente (BARBÁRO et al., 2011). Todavia, ainda ocorre divergências sobre a presença de efeitos positivos na soja, sendo necessário maiores estudos para comprovar a eficiência da operação.

Assim como a FBN, a rotação de culturas em sistema plantio direto (SPD) é uma alternativa de manejo do solo que tem contribuído para aumentar a produtividade de grãos das culturas (OLIVEIRA et al., 2013). A adoção desta técnica tem garantido efeitos positivos para as propriedades rurais no Brasil, principalmente em regiões que possuem condições de solo com problemas e clima irregular.

A adoção deste manejo integrado apresenta diversas vantagens, como aumento nos teores de matéria orgânica do solo (SALTON et al., 2005), redução na compactação do solo (STONE e GUIMARÃES, 2005), melhoria nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo (CONTE, 2007; SOUZA et al., 2008), podendo resultar em maior produtividade das culturas (CHIODEROLI et al., 2012). Estas vantagens estão correlacionadas a utilização de culturas diferentes na área durante a safra, podendo ser duas ou mais durante o ano.

Dentre as culturas, destaca-se o consórcio milho-braquiária, em que o milho é a cultura principal e a braquiária é a planta de cobertura, desta forma ocorre a produção de grãos, havendo a opção de utilização para alimentação animal (CECCON, 2013), a braquiária cultivada solteira como fonte de cobertura vegetal ou para pastejo animal (NASCENTE e CRUSCIOL, 2012), e feijão que produz grãos e realiza FNB, disponibilizando para a cultura sucessora (OLIVEIRA et al., 2013).

Estas culturas além de produzir resíduos vegetais com elevada relação C/N, apresentam sistemas radiculares vigorosos e profundos, e possuem elevada capacidade de ciclagem de nutrientes. A cobertura do solo auxilia na manutenção da umidade e temperatura do solo durante o desenvolvimento inicial da cultura, principalmente em épocas que a pluviosidade é irregular, assim como, beneficia a biomassa microbiana do solo - BMS.

A BMS é formada por microrganismos do solo como bactérias, fungos, algas entre outros que são responsáveis por controlar funções chaves no solo, como a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica, ou transformações envolvendo os nutrientes minerais.

Desta forma, objetivou-se avaliar os componentes de produção da soja, e os bioindicadores microbiológicos do solo com a inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* nas sementes de soja cultivada após espécies de outono-inverno, em sistema plantio direto.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Importância econômica da cultura da soja

Na safra 2018/2019 estima-se produzir mundialmente 354,5 milhões de toneladas de grãos de soja em uma área de 121 milhões de hectares, uma diferença de 17,8 milhões de toneladas, crescimento de 5,3% em relação à safra anterior (USDA, 2018). No Brasil, estima-se uma produção de 118 milhões de toneladas, um aumento de 3,5% em relação à safra 2016/2017, em área de pouco mais de 35 milhões de hectares (CONAB, 2018).

Em Mato Grosso do Sul, a soja vem destacando-se, onde nos últimos 10 anos a produção cresceu 74%, com uma produção estimada para a safra 2017/18 de 8,8 milhões de toneladas e área de 2,7 milhões de hectares, aumento de 2,8% e 5,3% em relação à safra 2016/2017, respectivamente (CONAB, 2018). Igualmente, a produtividade nessas áreas cresceu mais de 48% no mesmo período, atingindo a média 3.320 kg ha<sup>-1</sup> na última safra.

Não somente a produção da oleaginosa aumentou nos últimos anos, a demanda pelos grãos e subprodutos também cresceu. Devido ao consumo de proteína animal, principalmente carne de frango e suínos, vir crescendo exponencialmente nas últimas décadas, teve como consequência um aumento pelo consumo de farelos proteicos para fabricação de ração animal, oriundos do grão da soja (HENCHION et al., 2014).

Como reflexo do aumento do esmagamento de soja pela indústria, devido a demanda do farelo, gerou um crescimento exponencial na produção de óleo, portanto, a produção foi maior que a demanda do mercado alimentício. Consequentemente, o excedente do produto, passou a ser direcionado para a indústria de biocombustíveis, devido à preocupação por matrizes energéticas novas. De tal modo, a soja passou a ser uma das principais commodities mundiais devido aos mais diferentes segmentos, sendo desde a produção de carnes, bebidas à base de soja e óleos (RIGO et al., 2015) até a geração de biocombustíveis (CASTANHEIRAS et al., 2015).

Assim o sistema de produção de soja no país representa uma das maiores cadeias produtivas, além das questões relacionadas a produção, a um reflexo na economia local com a geração de milhares postos de trabalho diretos e indiretos. Desta maneira, para a manutenção da oferta e conciliar com a conservação de recursos naturais, se faz necessário a adoção de sistemas de produção sustentáveis, na qual ocorre a integração de

produção de grãos, com a intensificação do uso da terra e ao mesmo tempo contribui com benefícios sociais e ambientais para o produtor e com baixo custo de investimento (VILELA et al., 2011). Para alcançar esse objetivo, é necessário a utilização de tecnologias alternativas visando aumentar a produtividade da cultura com baixo, por meio de práticas conservacionistas do solo e uso de fontes alternativas de nutrição vegetal.

## 2.2. Soja em Plantio Direto

Sistemas agrícolas de produção com base na rotação de culturas em sistema plantio direto, assim como a integração lavoura-pecuária, vem sendo adotados cada vez mais por serem considerados sistemas conservacionistas. Entretanto, para a obtenção de um sistema eficaz em algumas regiões o fator cobertura vegetal acumulada pelas culturas de coberturas e/ou pastagem é fundamental para proporcionar ambiente favorável para solo, com manutenção dos atributos químicos, físicos e microbiológicos e consequentemente maior produtividade das culturas (COSTA et al., 2015; SANTOS et al., 2011).

Todavia, a escolha das espécies de cobertura é fundamental para se obter um sistema eficiente, garantindo que ocorra alta produção de resíduos vegetais para cobertura da superfície do solo por maior tempo possível (CALVO et al., 2010). Em regiões tropicais, o grande desafio do plantio direto é a manutenção da cobertura diante da alta taxa de decomposição do material vegetal, requerendo grandes quantidades destes materiais (CHIODEROLI et al., 2012). Devendo ser considerado para essa finalidade a utilização de culturas gramíneas e oleaginosas, perenes ou semiperenes (CARNEIRO et al., 2008).

O Mato Grosso do Sul apresenta características climáticas tropicais em algumas épocas do ano, sendo assim, várias espécies para formação de cobertura do solo vêm sendo estudadas, principalmente para serem cultivadas no período do outono-inverno, e em sistema de plantio direto (MACHADO e ASSIS, 2010). Dentre essas espécies destacam-se as plantas forragens tropicais como *Brachiaria* spp. e *Panicum* spp. podendo ser utilizadas solteiras ou consorciadas com milho (MACEDO, 2009). Algumas leguminosas passaram a ser utilizadas como plantas de coberturas, devido ao seu elevado aporte de resíduo vegetal e disponibilização de N para as culturas em sucessão. O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), que possui potencial para ser usado como adubo verde (FREIRE FILHO et al., 2005) e pode ser cultivado na região Centro-Oeste.

O consórcio entre culturas anuais e forrageiras perenes, é uma técnica que vem sendo aplicado desde da década de 1990 no Brasil. O consórcio de milho com braquiária denominado como sistema Santa Fé (KLUTHCOUSKI et al., 2000) ganhou notoriedade a partir do ano de 2001, cujo a finalidade, era a recuperação de pastagens degradadas. Desde de então, ocorreu uma difusão do consórcio milho com braquiária, devido aos benefícios que o mesmo oferece para o produtor, como produção de grãos e forragem, e palha para o sistema plantio direto, assim beneficiando a cultura do milho e da soja cultivadas em sucessão (CECCON et al., 2013).

Na integração lavoura-pecuária com utilização de gramíneas, observa-se uma maior retenção de umidade no solo, em situações de déficit hídrico e maior disponibilidade de nutrientes para as culturas sucessoras, além de pastagem para animais na entressafra (PARIZ et al., 2009).

O cultivo de gramíneas *Brachiaria ruziziensis* solteira ou consorciada com milho, apresenta respostas positivas na produtividade das culturas sucessoras, fator ligado a conservação do solo (COSTA et al., 2012). Além de proporcionarem um sistema de cultivo de alta produção de palha em épocas, tal como outono-inverno, podendo contribuir com volumes anuais de 6 a 10 t ha<sup>-1</sup> de massa seca na superfície do solo (SILVA et al., 2009).

Durante o cultivo da soja, as raízes da braquiária entram em decomposição, com liberação gradual de nutrientes para a leguminosa, favorecendo o desenvolvimento das raízes no perfil do solo, reduzindo os danos de estresse hídrico. A macroporosidade do solo é favorecida quando a soja é cultivada em sucessão ao consórcio de milho com braquiária (CHIODEROLI et al., 2012).

A soja cultivada em rotação de culturas não mostrou diferenças na produtividade em relação a sucessão de cultura (SILVEIRA e STONE, 2003). Entretanto, Chioderoli et al. (2010), afirmam que a não ocorrência de alterações nas características agronômicas da cultura da soja em sucessão ao consórcio milho-braquiária desde que seja conduzida em condições apropriadas de desenvolvimento. A não ocorrência de diferenças na produtividade da soja é um ponto positivo para o SPD, pois há os benefícios indiretos como ciclagem de nutrientes, redução de doenças, pragas e diminuição de danos da cultura devido ao aumento da tolerância da cultura.

A utilização de plantas que possuam sistemas radiculares diferentes, sendo assim capazes de explorar diferentes profundidades no solo, favorecem um equilíbrio dos

nutrientes e na atividade biológica do solo, assim beneficiando a sustentabilidade desse ambiente, e o desenvolvimento da cultura em sucessão (REIS et al., 2007).

### 2.3. Bactérias Diazotróficas

Em busca do aumento na produção de grãos de soja no Brasil, há uma tendência no aumento do uso de fertilizantes minerais para suprir as necessidades nutricionais das plantas, principalmente a necessidade de N (HUNGRIA et., 2015). A adubação nitrogenada na soja é uma prática comum no Brasil, entretanto possui elevado custo e além de ser muito suscetíveis aos processos de lixiviação e volatilização, processos estes, que podem levar a contaminação de reservas hídricas. Desta maneira, se faz necessário encontrar fontes alternativas de nutrição para reduzir o uso de fertilizantes, sem interferir na produtividade, e gerando economia.

Nesse sentido, as bactérias fixadoras de nitrogênio (FBN) atmosférico podem auxiliar na garantia de altas produtividades, e um custo reduzido em comparação a outras fontes. A utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio é uma técnica bem difundida na agricultura mundial, sendo, o Brasil considerado modelo na aplicação. Segundo Hungria et al. (2015), a simbiose de estirpes elite de *Bradyrhizobium* com a cultura da soja é responsável pela total disponibilização de nitrogênio (N) demandado pela planta, alcançando contribuições superiores a 300 kg ha<sup>-1</sup>, e liberando quantidades na ordem de 20-30 kg ha<sup>-1</sup> para culturas sucessoras.

A fixação do no nitrogênio na planta ocorre pelas bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que transformam o nitrogênio (N<sub>2</sub>) da atmosfera em N amônio, assimilável pelos vegetais. Isso ocorre nos nódulos das raízes através da quebra da tripla ligação entre os dois átomos de N, por meio da liberação da enzima denominada dinitrogenase (HUNGRIA, 2011).

A eficiência do FBN no Brasil tem contribuído para a redução e até substituição da necessidade de fertilizantes nitrogenados. E segundo Hungria e Nogueira (2014), a inoculação com bactérias resulta em incrementos médios de 8% na produtividade da soja. Sendo assim, a FBN traz benefício econômico de aproximadamente 14 bilhões de reais anuais, devido a redução da compra de fertilizantes nitrogenados, no Brasil (MERCANTE et al.,2011). Essa economia pode ser ainda maior na agricultura devido a descoberta de outros gêneros de bactérias que tem a capacidade de realizar FBN em outras culturas como o *Azospirillum* spp.

Bactérias do gênero *Azospirillum* spp. compõem um grupo de microrganismos que apresentam benefícios para culturas devido a sua capacidade de promover o crescimento das plantas por diversos mecanismos, como a fixação de nitrogênio, a produção de fito hormônios que estimulam a ramificação das raízes, aumentando a sua biomassa, assim como da parte aérea, além de melhorar a permeabilidade e absorção de minerais pela planta (BASHAN,2005; HUNGRIA et. al., 2010; JUGE et. al., 2012).

A bactéria *Azospirillum* spp. é considerada a mais importante no processo de fixação de N em gramíneas (HUNGRIA, 2013). São frequentemente encontrados em solos tropicais e subtropicais, e devido ao seu processo de colonização que ocorre tanto no interior da raiz quanto na rizosfera são classificadas no grupo das bactérias diazotróficas endofíticas facultativas (BALDANI et al., 1997). Nesse grupo destacam-se as espécies *Azospirillum brasilense* ou *A. lipoferum* que são encontradas em 30 a 90% das amostras de solo coletadas em todo o mundo (DOBEREINER, 1990).

As pesquisas envolvendo *Azospirillum* spp. descrevem a capacidade de realizar a fixação biológica de nitrogênio, aumento da atividade da enzima redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas e produção de fito hormônios tais como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno (TIEN et al., 1979; BOTTINI et al., 1989; STRZELCZYK; KAMPER, 1994; CASSÁN et al., 2009; HUERGO et al., 2008).

A comercialização de inoculantes a base de *Azospirillum* spp. para gramíneas como milho e trigo, proporcionaram aumentos na produtividade de grãos de 26 e 31% respectivamente, porém com fornecimento de parte do N através de fertilizante mineral (HUNGRIA, 2011). Na cultura da soja são relatados efeitos positivos da aplicação isolada de *Azospirillum* spp., sendo observado aumentos de produtividades, teores de clorofila, nitrogênio foliar e produção de matéria seca em relação a inoculação com apenas *Bradyrhizobium* spp. (BENITENDE et al., 2010; BURDAMAN et al., 1996).

Plantas inoculadas com *Azospirillum* spp. apresentam respostas fisiológicas, sendo observado aumento de teores de fotossíntese, clorofila foliar, condutância estomática, aumento de teores de prolina nas raízes e parte aérea, melhor potencial hídrico e maior produção de biomassa e altura (BARASSI et al. 2008). Segundo Bashan et al. (2006), há relatos de acréscimos significativos em pigmentos relacionados a fotossíntese, tais como clorofila a, b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno.

Seguindo este contexto, para potencializar os ganhos de produtividade a técnica de coinoculação vem sendo utilizada como alternativa para incrementar a eficiência da

FBN. A coinoculação consiste na combinação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. com as do gênero *Azospirillum* spp, e observa-se resultados positivos na cultura da soja (BENINTENDE et al., 2010; HUNGRIA et al. 2013). Esses resultados advêm dos efeitos múltiplos de sinergismo na planta, e com a capacidade de superar os resultados de produtividades quando comparados isoladamente (BARBÁRO et. al. 2011).

Entretanto, existe uma variabilidade de resultados na bibliografia sobre essa tecnologia. Gitti et al. (2012) e Zuffo et al. (2015) não observaram respostas positivas a essa técnica, no entanto, diversos autores descrevem influências positivas da coinoculação nas características agronômicas da soja, como a nodulação, aumento no número de nódulos, aumento dos teores de leghemoglobina nos nódulos, e aumento de produtividade de grãos (BÁRBARO et al. 2009; CHIBEBA et al., 2015; HUNGRIA et al., 2015).

Está grande variabilidade de resultados deve-se a condições ligadas a fatores abióticos, reduzindo a eficiência e benefícios da FBN, devido a mudanças climáticas, com períodos de seca e altas temperaturas que interferem na umidade e temperatura do solo (HUNGRIA et al., 2013). De tal forma, há a necessidade de se incorporar práticas para aumentar a eficiência dessas bactérias no solo. Práticas conservacionistas de solo como adoção de rotação de culturas e formação de cobertura vegetal, contribuem para a melhoria dos atributos do solo, possibilitando a condições de umidade e temperatura favoráveis para o desenvolvimento e eficiência de bactérias FBN no solo (SOUZA et al., 2009).

#### **2.4. Microbiologia do solo**

Estudos sobre o funcionamento da biologia do solo em sistemas de produção vem aumentando, e seu impacto pelo manejo do solo sob a população e atividade microbiana em solos são recentes, principalmente em sistemas de integração lavoura pecuária (FONSECA et al., 2007; CARNEIRO et al., 2008).

A qualidade dos ecossistemas agrícolas pode ser estudada por meio dos indicadores biológicos do solo, sendo considerados como os principais parâmetros para a detecção de perturbações que ocorrem nos solos (PÔRTO et al., 2009).

Estudos dos atributos microbiológicos do solo em diferentes sistemas agrícolas são importantes para um manejo cultural adequado, em busca de ecossistemas sustentáveis. Um parâmetro auxilia no monitoramento destes atributos é a atividade da

biomassa microbiana do solo (BMS), demonstrando o resultado da influência de manejo culturais nos microrganismos e na ciclagem dos nutrientes no solo (BALOTA et al., 2003; KASCHUK et al., 2011).

A BMS pode ser definida como a parte viva da matéria orgânica do solo e inclui bactérias, fungos, actinobactérias, algas e microfauna menores que  $5 \times 10 \mu\text{m}^3$  (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Os microrganismos controlam funções chaves na decomposição e o acúmulo de matéria orgânica, ou transformações envolvendo os nutrientes minerais.

Por ser tratar da porção viva da matéria orgânica do solo a biomassa microbiana é sensível as condições ambientais adversas impostas ao meio (BALOTA et al., 1998). Desta maneira, a BMS fica vulnerável as influências do de altas temperaturas, baixa umidade, pouca aeração, níveis baixos de nutrientes minerais e o carbono (C) orgânico do solo.

A biomassa microbiana é um dos elementos mais importantes, pois coordena funções chaves no solo, tais como, a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica, ou conversão de nutrientes minerais (ARAÚJO e MONTEIRO, 2007). De tal modo, que essas funções dos atributos microbiológicos participam dos ciclos do carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre no solo e pode trabalhar como seção de reserva desses nutrientes, ou podem participar como catalisador na decomposição da matéria orgânica. Assim, além dos fatores ambientais, a quantidade e a qualidade dos resíduos vegetais disposto sobre o solo podem contribuir na atividade da BMS (SOUZA et al., 2010).

Quando ocorre maior deposição de resíduos orgânicos no solo, principalmente com grande quantidade de raízes, ocorre estímulo da biomassa microbiana, conseqüentemente aumento da população e atividade (CATTELAN e VIDOR, 1990). Por meio da avaliação da atividade e biomassa microbiana é possível prever a qualidade do solo (MATIAS et al., 2009).

Os sistemas de produção agrícola com menor movimentação do solo, como o SPD, colaboram para um incremento do teor de matéria orgânica no solo (MOS) e a BMS (LOURENTE et al., 2011). Estes indicadores microbiológicos podem prover informações sobre a dinâmica da matéria orgânica, fornecendo dados sobre as mudanças nos sistemas de manejo ao longo do tempo (ARAÚJO et al., 2008).

A cultura implantada, a quantidade e qualidade dos seus resíduos vegetais e, assim como, a presença ou não de animais, podem influenciar a BMS, devido à sua sensibilidade a pequenas mudanças no manejo do solo (CONCEIÇÃO et al., 2005; SOUZA et al.,

2008). Diferente do SPD, sistemas de produção com preparo com revolvimento do solo, ocorre um estímulo temporário a BMS a degradar a matéria orgânica e, logo após, ocorre um impacto negativo a diversidade de comunidades microbianas (HOLE et al., 2005; LISBOA et al., 2012).

As plantas utilizadas para cobertura podem interferir na atividade, biomassa e constituição da comunidade microbiana do solo, por meio do fornecimento de exsudatos radiculares e resíduos vegetais durante o seu período de crescimento (WHITE e WEIL 2010; LIU et al., 2014). A composição química desses resíduos, e suas relações de carbono-nitrogênio (C/N) e lignina-nitrogênio (L/N) interferem na decomposição desses resíduos vegetais pelos microrganismos (TEJADA et al., 2008). Sendo possível observar resultados benéficos para bactérias fixadoras de nitrogênio (EO et al., 2015).

Pesquisas realizadas no Brasil têm relatado alguns benefícios do nitrogênio total sobre o carbono total, diversidade e atividade da microbiota do solo, de tal maneira, que foi observado aumento significativo na BMS (BALOTA et al., 1998; FRANCHINI et al., 2007; MENDES et al., 2015). Culturas de coberturas com boa qualidade de resíduos possibilitam o aumento do C orgânico do solo, desta forma possibilitando o aumento da atividade microbiana, elevando os níveis de C-BMS e C-CO<sub>2</sub>, quando comparados a sistemas que cultivos convencionais (LOPES et al., 2013; NAVROSKI et al., 2018). Este aumento na dinâmica dos microrganismos influencia outras reações no ambiente, como a atividade enzimática.

Os processos de ciclagem de nutrientes e degradação de substratos complexos da atividade da BMS são catalisados por enzimas (STURSOVÁ e BALDRIAN, 2011; SNAJRD et al., 2013). Essas enzimas realizam reações metabólicas intercelulares, sendo responsável pela manutenção e funcionamento dos seres vivos no solo. Bem como, são responsáveis por um papel fundamental na catalisação das diversas reações de decomposição de resíduos orgânicos como as ligninases, celulasas, proteases, e glucosidases, galactosidases; ciclagem de nutrientes tais como as fosfatases, sulfatase, amidases e urease, bem como a formação da matéria orgânica e estrutura do solo (MENDES e VIVALDI, 2001, NUNES et al., 2012).

A atividade enzimática dos organismos vivos (plantas, microrganismos e animais), enzimas abiônticas (extracelulares) sendo secretadas no ambiente por organismos vivos durante o metabolismo e a divisão celular, e biônicas (intracelulares), o somatório representa a atividade enzimática do solo (MENDES e REIS JUNIOR, 2004).

Portando, mínimas variações nesses sistemas (pH, temperatura, teor de nutrientes, entre outros) podem influenciar esse indicador de qualidade do solo.

As fosfatases são enzimas que são derivadas da população microbiana do solo, e raízes de plantas, sendo um índice de atividade microbiana (DODOR e TABATABAI, 2003). A fosfatase é responsável por catalisar a hidrólise de compostos de fosfato do P orgânico, desta forma liberando P inorgânico, os quais são assimiláveis pelas plantas, para o ciclo do fósforo (BAKER et al., 2011). São classificadas quanto ao seu pH ótimo de atividade, sendo ácida (pH 4 – 6,5), neutra e alcalina (pH 9-10), sendo reportado a fosfatase ácida predominante em solos ácidos, enquanto a fosfatase alcalina em solos alcalinos (SANTOS e MAIA, 2013). Em geral, os solos do cerrado brasileiro apresentam uma acentuada acidez natural, logo há predisposição para o sucesso da fosfatase ácida neste ambiente.

Neste sentido, as principais fontes de fosfatase ácidas no solo são as raízes de plantas, o que não acontece com a fosfatase alcalina, cujo é atribuição de fonte é feita a bactérias e fungos do solo, estando ausente da rizosfera de plantas cultivadas (CRIQUET et al., 2004).

Diante da possibilidade de incluir o uso de indicadores microbiológicos na avaliação de qualidade do solo, se faz necessário parâmetros para a interpretação dos valores que são baseados em padrões, cujos níveis já estão definidos. Visando auxiliar na interpretação individual dos bioindicadores, foram elaborados ensaios de calibração de nutrientes de longa duração visando a determinação dos níveis críticos para os atributos microbiológicos (LOPES et al., 2013; 2018).

Destes ensaios foi elaborada um quadro, o qual possui como base uma correlação entre os atributos microbiológicos, o rendimento relativo acumulado de grãos das culturas e matéria orgânica do solo. A partir desses resultados é possível estabelecer níveis para o carbono da biomassa microbiana (C-BMS), respiração basal (C-CO<sub>2</sub>), e atividade das enzimas  $\beta$ -glicosidase e celulase, ciclo do C, fosfatase ácida do ciclo do P e arilsulfatase do ciclo do S (Quadro 1).

**Quadro 1.** Interpretação de bioindicadores para Latossolos Vermelhos argilosos de Cerrado, na camada de 0–10 cm, com base no rendimento relativo acumulado (RRA) de grãos de soja e milho e no teor de matéria orgânica do solo.

Atributos microbiológicos <sup>(1)</sup>	Classes de interpretação		
	Baixo	Moderado	Adequado
	Base no rendimento relativo acumulado (RRA) <sup>(2)(3)</sup>		
C-BMS	≤215	216-375	>375
Respiração basal (C-CO <sub>2</sub> )	≤40	41-49	>90
β-Glicosidase	≤65	66-115	>115
Celulase	≤70	71-105	>105
Fosfatase ácida	≤680	681-1.160	>1.160
Arilsulfatase	≤40	41-90	>90
	Base no teor de matéria orgânica do solo (MOS) <sup>(3)</sup>		
C-BMS	≤205	206-405	>405
Respiração basal (C-CO <sub>2</sub> )	≤40	41-100	>100
β-Glicosidase	≤60	66-140	>140
Celulase	≤70	71-115	>115
Fosfatase ácida	≤640	681-1.150	>1.150
Arilsulfatase	≤35	36-90	>90
	Base no sistema de plantio direto <sup>(4)</sup>		
C-BMS	≤245	246-440	>440
β-Glicosidase	≤90	91-225	>225
Fosfatase ácida	≤770	771-1.260	>1.260
Arilsulfatase	≤25	26-145	>145
	Base no sistema de plantio convencional <sup>(4)</sup>		
C-BMS	≤235	236-375	>375
β-Glicosidase	≤100	101-185	>185
Fosfatase ácida	≤660	661-940	>940
Arilsulfatase	≤45	46-105	>105

(1) Valores de C da biomassa microbiana e respiração basal expressos em mg de C kg<sup>-1</sup> de solo; valores de atividade de β-glicosidase, fosfatase ácida e arilsulfatase em mg de p-nitrofenol kg<sup>-1</sup> de solo h<sup>-1</sup>; celulase em mg de glicose kg<sup>-1</sup> de solo (24 h)<sup>-1</sup>.

(2) RRA: rendimento acumulado de grãos de soja e milho relativizado em função da maior produção acumulada obtida em cada experimento.

**Fonte:** adaptado de Lopes et al. (2013<sup>(3)</sup>; 2018<sup>(4)</sup>).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local e Clima

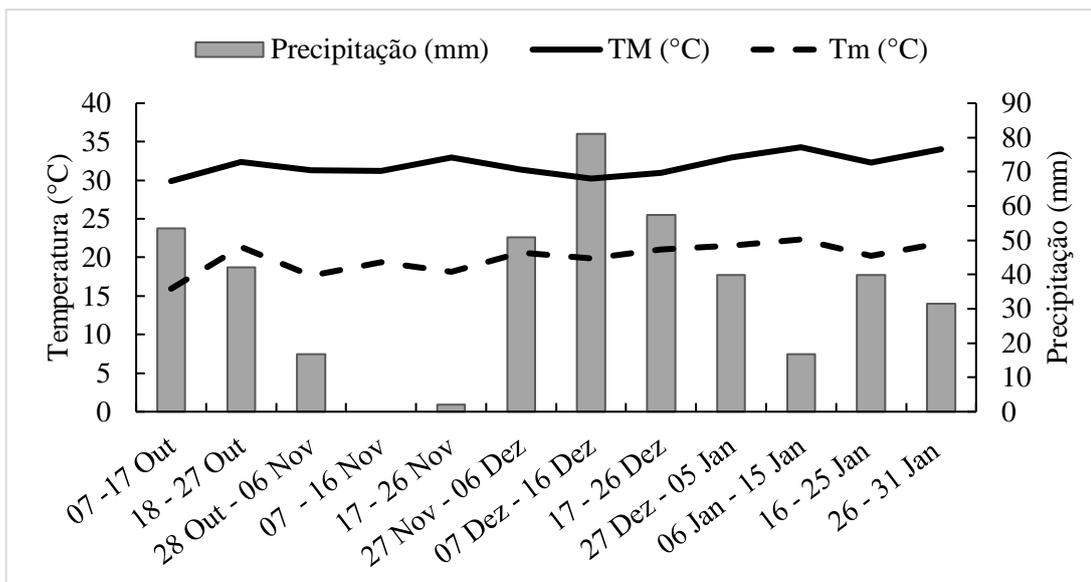
O trabalho foi realizado na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, nas coordenadas geográficas 22°13'S e 54°48'W a 408m de altitude. O clima da região é classificado como Am (Tropical Monçônico), segundo a classificação de Köppen, com verões quentes e invernos secos, temperaturas máximas observadas nos meses de dezembro e janeiro e temperaturas mínimas entre maio e agosto, coincidindo com chuvas excedentes na primavera - verão e déficit hídrico no outono – inverno (FIETZ et al., 2013). O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico, textura muito argilosa (SANTOS, 2013).

A análise dos atributos químicos e granulométrica do solo na camada de 0-20cm foi realizada pelo Laboratório de Fertilidade e Física do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste (Quadro 1). E os dados de precipitação e temperatura foram obtidos na Estação Meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste (Figura 1).

**QUADRO 2.** Análise química de pH, fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), acidez potencial ( $H+Al^3$ ), capacidade de trocas catiônicas (CTC), saturação por bases (V), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), matéria orgânica (MOS), granulométrica do solo da área experimental. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados – MS, 2016.

<b>pH (CaCl<sub>2</sub>)</b>	<b>MOS</b>	<b>P*</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>Al</b>	<b>H+Al<sup>3</sup></b>	<b>CTC</b>
	g kg <sup>-1</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					
6,2	37,9	57,3	1,0	6,5	2,8	0	2,7	13,0
<b>V</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>	<b>Areia</b>	<b>Silte</b>	<b>Argila</b>	
%	-----mg dm <sup>-3</sup> -----			-----g kg <sup>-1</sup> -----				
79,3	9,1	24,7	98,6	4,7	136	151	713	

\*Mehlich-1



**FIGURA 1.** Precipitação, temperaturas máximas (TM) e mínimas (Tm) decendiais, no período de 07 de outubro de 2016 a 29 de janeiro de 2017 em Dourados, MS.

**Fonte:** Embrapa Agropecuária Oeste (2018).

### 3.2. Histórico da área e implantação de cultivos de outono-inverno

A área vem sendo cultivada com a soja no verão em sucessão ao milho no outono-inverno desde 2001, em sistema de semeadura direta. A partir de 2008, iniciou-se a sucessão da soja no verão com as culturas do milho solteiro, milho consorciado com braquiária, feijão-caupi e braquiária solteira. Na safra de soja 2015/2016, foi realizada a inoculação de *B. japonicum*, e a co-inoculação com *A. brasilense*.

A implantação das culturas foi realizada na primeira quinzena de março de 2016, mecanicamente em parcelas de 10 x 50 m e com três repetições. As culturas semeadas foram: 1) milho solteiro com espaçamento de 0,45 m e população de 5 plantas m<sup>-2</sup>; 2) milho consorciado com *B. ruziziensis* na linha com espaçamento de 0,45m e população de 5 plantas m<sup>-2</sup> de milho e 10 plantas m<sup>-2</sup> de *B. ruziziensis*; 3) feijão-caupi, cultivar BRS Guariba com espaçamento de 0,45 m e população de 20 plantas m<sup>-2</sup>; 4) *Brachiaria ruziziensis* solteira semeada em linhas com espaçamento de 0,45 m e população de 20 plantas m<sup>-2</sup>.

As culturas de milho solteiro e milho consorciado com *B. ruziziensis* receberam adubação de 300 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 08-20-20 no momento da semeadura, e para feijão-caupi e *B. ruziziensis* solteira não foi realizado adubação. As sementes de milho foram tratadas com inseticida Thiodicarbe, na dose de 350 g i.a 50 kg de semente. O controle de plantas daninhas foi realizado com uma aplicação de Atrazine na dose de 750 g

equivalente ácido ha<sup>-1</sup> em pós-emergência do milho solteiro, e capinas manuais nas parcelas de feijão caupi. As pragas foram controladas mediante uma aplicação de inseticida na dose de 28,20 + 21,20 g i.a ha<sup>-1</sup> de Tiametoxan + Lambda-Cialotrina aos após a emergência do milho.

A colheita do feijão-caupi foi realizada na primeira quinzena de junho, e a do milho solteiro e consorciado, foi realizada na primeira quinzena de agosto. A braquiária solteira foi utilizada para pastejo de animais durante 120 dias, com lotação de 2,75 unidades animal, assim como, a braquiária das parcelas do milho consorciado após a colheita do milho foram pastejadas por um período de 25 dias. Os animais permaneceram na área até o final de agosto, quando foram retirados para rebrota e dessecação da braquiária e semeadura da soja, na primeira quinzena de outubro

A dessecação das parcelas das culturas de outono-inverno foi realizada 30 dias antes da semeadura da soja com glifosato potássico, na dose de 2 kg ha<sup>-1</sup> de equivalente ácido. Um dia antes da semeadura da soja, foi coletada uma amostra dos resíduos presentes na superfície do solo por parcela com auxílio de um quadrado metálico de 0,5x0,5 m, secados em estufa a 60° C até peso constante e depois convertidos a kg ha<sup>-1</sup> (Quadro 3).

**QUADRO 3.** Rendimento de massa seca das culturas de outono inverno um dia antes da semeadura da soja na safra 2016/2017, Dourados, MS, 2018.

Cultivo	Massa seca
	-----kg ha <sup>-1</sup> -----
Milho solteiro	7.072
Milho Consorciado com <i>B. ruziziensis</i>	7.786
Feijão-Caupi	2.841
<i>B. ruziziensis</i> solteira	6.695
Média	6.098

### 3.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em parcelas subdivididas com três repetições. Nas parcelas foram alocados os quatro cultivos de outono-inverno (milho solteiro, milho consorciado com braquiária, feijão-caupi, braquiária solteira) com dimensões de 10 x 12,5 m cada parcela, e nas subparcelas os

métodos de inoculação via semente: 1) sem inoculação (testemunha), 2) inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* na dose de 100g/50 kg de semente da estirpe CPAC 15 (SEMIA 5079) e estirpe CPAC 7 (SEMIA 5080), contendo  $7 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC g<sup>-1</sup> do produto comercial) de inoculante turfoso; 3) inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, na dose de 120 ml/50 kg de sementes (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) com garantias de  $2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, dimensões de 3,30 x 10 m cada subparcela.

### 3.4. Implantação da cultura da Soja

A semeadura da soja foi realizada no dia 07 de outubro de 2016, em plantio direto, utilizando a semeadora modelo SHM 15/17 SEMEATO<sup>®</sup>, com regulagem de 200 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante NPK, formula 00-20-20, e espaçamento de 0,5 m entre linhas, com população de 280 mil plantas por hectare e semeadas a 5 cm de profundidade. Foi utilizado a cultivar de soja BRS 1003 IPRO ciclo precoce, tipo de crescimento indeterminado e grupo de maturação relativa 6.3, flores roxas, pubescência cinza e sementes com hilo marrom-claro. Na semeadura a sequência obedeceu a seguinte ordem: tratamento sem inoculante, seguido do tratamento somente com *B. japonicum*, e por último o tratamento com *B. japonicum* com *A. brasilense*, com o objetivo de evitar contaminação entre os tratamentos utilizados.

O controle de plantas daninhas foi realizado mediante uma aplicação de herbicida pós-emergência da cultura, utilizando-se 0,40 g equivalente ácido ha<sup>-1</sup> de clorimuron-etil. O controle de doenças foi realizado uma aplicação de 0,60+70 g i.a ha<sup>-1</sup> de trifloxistrobina + protioconazol, e uma aplicação de imidacloprid com beta-ciflutrina (100+12,5 g i.a.ha<sup>-1</sup>) para controle dos percevejos.

### 3.5. Avaliações na Soja

No estágio de florescimento pleno – R2 (15/12/2016) foram avaliados os índices de clorofila *a*, *b* e total, utilizando um medidor eletrônico portátil modelo CFL 1030 FALKER<sup>®</sup>. As leituras foram realizadas pela manhã em cinco folhas por parcela, no terço superior da planta.

No estágio de maturidade fisiológica da soja – R8 (29/01/2017) foi realizado a coleta de cinco plantas por parcela para determinar os seguintes parâmetros: altura de plantas (AP) medindo da base do solo até o ponto mais alto do caule, com auxílio de

régua milimetrada; número de vagens por plantas (NVP) contando as vagem maiores que 1 cm; número de grãos por vagem (NGV), e massa de cem grãos (M100). Para determinar a densidade populacional final e a produtividade de grãos foram coletadas todas as plantas nas duas linhas centrais da parcela com cinco metros de comprimento, posteriormente extrapoladas para  $\text{kg ha}^{-1}$ , e umidade corrigida para 13%.

### **3.6. Análises Microbiológicas do Solo**

Na primeira quinzena de novembro amostras de solos na camada 0 a 10 cm foram coletas das parcelas, cada amostra foi composta por quatro pontos de coleta. O material foi armazenado em câmara fria com temperatura média de  $\pm 7^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises. Amostras do solo foram enviadas para o laboratório de Fertilidade do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste para determinação do carbono orgânico total (C-orgânico total) de acordo com Claessen (1997). No laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Agropecuária Oeste, as amostras foram destorroadas e passadas em peneira granulométrica de 2 mm para a remoção de resíduos de plantas e raízes, posteriormente sendo realizado as seguintes avaliações:

Respiração basal (C-CO<sub>2</sub>), no qual foi utilizado a metodologia adaptada do método da fumigação-incubação, sugerido por Jenkinson e Powlson (1976), em que as amostras de solo tiveram a umidade ajustada para 60% da capacidade de campo com água deionizada. Foram aferidos 50 g de solos das amostras em frascos cilíndricos de vidro e mais três amostras em branco, sem solo, sendo incubadas por um período de 7 dias em recipientes plásticos de 500 mL hermeticamente fechados, e contendo um frasco com uma solução de 10 mL de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>, capaz de reagir com o CO<sub>2</sub> liberado na atmosfera do recipiente pela atividade dos microrganismos. Decorrido o período de incubação, procedeu a titulação da solução de NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> com uma solução de HCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> e acrescentando 2 ml de uma solução saturada de BaCl<sub>2</sub> 10% para a precipitação do Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, e adicionou 2 gotas de solução alcoólica 1% de fenolftaleína como indicador. Para o cálculo da C-CO<sub>2</sub> foi utilizado a seguinte fórmula, sendo o resultado expresso em mg de C-CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>.

$$C - CO_2 (\mu g) = (BR - HCl) * 0,5 * 40 * (44/80) * 1000 * (12/44) / PS50g / 7$$

Em que:

BR- HCl: indica, indiretamente, a presença da espécie química (CO<sub>2</sub>) que reagiu com o NaOH;

0,5: normalidade do HCl (meq-g/ml);

BR-HCl \* 0,5: número de equivalentes do HCl correspondentes à espécie química (CO<sub>2</sub>) que reagiram com o NaOH;

40: meq-g do NaOH (mg);

BR-HCl\*0,5\*40: massa (mg) do NaOH que reagiu com a espécie química (CO<sub>2</sub>);

44/80: CO<sub>2</sub>/NaOH (massa de CO<sub>2</sub> que reage com NaOH);

1000: 1mg=1000 microgramas (resultado em microgramas);

12/44: C/CO<sub>2</sub> (massa). Massa do C determinado a partir do CO<sub>2</sub> metabolizado;

BR: Amostra em branco;

HCl: Solução de HCl 0,5N gasto na titulação;

PS50g: Massa seca do solo a partir de 50g;

7: sete dias de incubação.

Para a determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) foi utilizado o método de fumigação-extração proposto por VANCE et al., (1987). Foram aferidas duas amostras de 20 g de solo e acondicionados em recipientes cilíndricos de vidros e com tampa, sendo uma amostra acondicionada em um dessecador juntamente com um frasco de contendo 10 ml de CHCl<sub>3</sub> analítico e puro e foi submetido a uma pressão negativa (-600mmHg) no interior do dessecador e, permanecendo por 24 horas em temperatura ambiente e escuro para ocorrer a fumigação. A amostra não fumigada foi submetido ao processo de extração imediatamente após a pesagem. Para a extração do C-BMS das amostras foi adicionado aos frascos das amostras 50 ml de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a pH 6,8, em seguida foi submetido a agitação por 30 minutos a 250 rpm. Após a agitação, foi coletado 10 ml do sobrenadante da amostra e filtrado, desta solução filtrada foi coletado 2 ml para o processo de leitura. A amostra foi preparada para leitura com a adição de 3 ml de água deionizada, 2,5 ml de solução de trabalho e 2,5 ml de ácido sulfúrico 0,5 mol L<sup>-1</sup>, sendo deixado em repouso por um período de 2 horas. Após este período, foi realizado a leitura da absorbância da curva padrão das amostras no espectrofotômetro com comprimento de onda de 495 nm. Em seguida, foi encontrado a equação da reta entre a absorbância e a

concentração de C pelo cálculo da concentração de C. Para o cálculo da C-BMS foi utilizado a seguinte fórmula, sendo resultado expresso em mg C g<sup>-1</sup> de solo.

$$\text{C-BMS: } (C_F - C_{NF}) / 0,33$$

Em que:

C<sub>F</sub>: concentração de carbono da amostra fumigada;

C<sub>NF</sub>: concentração de carbono da amostra não fumigada

0,33: fator de correção

Após a realização das análises de C-BMS e C-CO<sub>2</sub> evoluído, foram determinados os quocientes metabólicos (*q*CO<sub>2</sub>), conforme Anderson e Domsch (1990), a partir da relação de C-CO<sub>2</sub>/C-BMS, e os quocientes microbianos (*q*MIC), determinado pela relação C-BMS/C-orgânico total. A avaliação da C-BMS ou C-CO<sub>2</sub> feita isoladamente fornece apenas informações limitadas, maioria dos casos, sobre as respostas do sistema solo a estresse ou perturbações. Portanto, se faz necessário outras avaliações, sendo o quociente metabólico uma das mais indicadas para relacionar os fatores microbiológicas do solo.

Na primeira quinzena de janeiro de 2017, foi realizado coletas amostras de solos para análise da enzima fosfatase ácida, foi amostrado na profundidade de 0-10 cm, em que cada amostra foi composta por quatro pontos de coleta. De imediato, as amostras foram destorroadas e passadas em peneira granulométrica de 2 mm para a remoção de resíduos de plantas e raízes, sendo submetidas ao processo de quantificação da atividade enzimática.

A atividade da fosfatase ácida foi determinada segundo a metodologias proposta por Tabatabai e Bremner, (1969). No qual, a quantidade de 1,0 g de solo, de cada parcela, foram acondicionados em frascos de 50 mL, sendo adicionado aos frascos 4 ml de tampão universal modificado (MUB) a pH 6,5, e 1 mL de solução de p-nitrofenil fosfato (0,025 M), menos nas amostras controles (sem solo), em seguida, as amostras foram incubadas por uma hora a 37°C. Após a incubação, foi adicionado em sequência 1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,5 mol, 4 ml de NaOH 0,5 mol, neste momento nas amostras controles foi e 1 mL de solução de p-nitrofenil fosfato (0,025 M),na sequência, foi realizado a filtragem desta solução em papel filtro Whatman n°2. A determinação dos teores através da leitura do sobrenadante do processo de filtragem, com o equipamento de espectrofotometria, com comprimento de onda 410 nm. Os valores de atividade são expressos em mg p-nitrofenol g<sup>-1</sup> solo h<sup>-1</sup>.

### **3.7. Análise Estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância, quando significativo foi realizado o teste de comparação de médias Tukey ( $p < 0,05$ ) de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Componentes de produção

A análise de variância não indicou efeito isolado da inoculação nos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total. Entretanto, houve efeito das culturas de outono-inverno sobre a clorofila *a*, e clorofila total, mas não foi observado para a clorofila *b*. Não se verificou o efeito da interação entre os fatores inoculação x culturas sobre os níveis de clorofila na planta (Quadro 4).

**QUADRO 4.** Resumo da análise de variância de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total no florescimento pleno (R.2) da cultura da soja em função de métodos de inoculação e culturas de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Fatores de Variação	G.L.	Quadrados Médios		
		Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
Blocos	2	1,28	7,78	14,95
Culturas	2	10,03*	2,35 <sup>ns</sup>	20,30*
Resíduo (a)	6	2,25	2,14	8,00
C.V. a (%)	-	5,01	12,27	6,75
Inoculação	3	1,94 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	1,58 <sup>ns</sup>
Cultura x Inoculação	6	0,94 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>	1,55 <sup>ns</sup>
Resíduo (b)	16	0,82	0,39	1,58
C.V. b (%)	-	3,03	5,21	3,00

G.L= Graus de liberdade; \*= significativo a ( $p < 0,05$ ); ns= não significativo; CV=coeficiente de variação.

Verificou-se efeito significativo do fator culturas de outono-inverno sobre as variáveis altura de plantas, massa de cem grãos e produtividade de grãos. Mas, a população final de plantas, número de vagens por planta e grãos por plantas não mostrou efeito ao fator culturas. Métodos de inoculação não apresentou significância, assim como, a interação entre inoculação x culturas sobre as variáveis (Quadro 5).

**QUADRO 5.** Resumo da análise de variância da altura de plantas (AP), número de vagens por planta (NVP), número de grãos por vagem (NGV), massa de cem grãos (M100), população final de plantas (PF) e produtividade de grãos da cultura da soja em função de métodos de inoculação e culturas de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Fatores de Variação	G.L.	Quadrados médios					
		AP	NVP	NGV	M100	PF	Produtividade
Blocos	2	160,43	1266,62	0,08	7,99	14,21e <sup>+8</sup>	426600,41
Culturas	2	177,57*	480,33 <sup>ns</sup>	0,25 <sup>ns</sup>	6,09*	57,36e <sup>+8ns</sup>	1085143,67*
Resíduo (a)	6	51,77	570,03	0,22	0,91	41,85 e <sup>+8</sup>	216401,09
CV a (%)	-	10,04	35,88	26,04	9,66	8,62	17,45
Inoculação	3	74,77 <sup>ns</sup>	134,86 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>	1,21e <sup>+8ns</sup>	46271,41 <sup>ns</sup>
Culturas x Inoculação	6	27,33 <sup>ns</sup>	266,53 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>	1,76 <sup>ns</sup>	3,23e <sup>+8ns</sup>	65356,34 <sup>ns</sup>
Resíduo (b)	16	19,79	187,30	0,13	0,59	23,48e <sup>+8</sup>	66871,85
CV b (%)	-	6,21	20,57	20,14	7,80	6,46	9,70

G.L= Graus de liberdade; \*= significativo a ( $p < 0,05$ ); ns= não significativo; CV=coeficiente de variação.

A falta de efeito significativo do uso de *A. brasilense* nos parâmetros avaliados pode ser atribuída a eficiência do *B. japonicum* em realizar a FBN, assim como, a competição com bactérias nativas do solo, a alta fertilidade da área experimental, e a condições ambientais desfavoráveis para o seu desenvolvimento e anos de inoculação, uma vez que não foi observado diferença com o tratamento testemunha (Quadro 6). Os resultados obtidos neste trabalho contrariam as hipóteses de BARASSI et al. (2008); HUNGRIA et al. (2010), em que o *Azospirillum* spp. possui a capacidade de responder a condições hídricas limitantes, e apresentando respostas fisiológicas positivas, como teor de clorofila.

A soja cultivada após resíduos vegetais de milho consorciado com braquiária apresentou os maiores teores de clorofila *a* (6,70%) e de clorofila total (7,26%) em relação as médias das demais culturas, que não difeririam entre si (Quadro 6). Os maiores índices devem-se ao fato que a maior biomassa produzida pelo consorcio proporcionou um ambiente sem estresse para a cultura, assim não reduzindo a eficiência metabólica das plantas. Durante a condução do experimento, o regime pluviométrico na região foi irregular, no qual ocorreu longos períodos de estiagem, sendo eles durante os estádios de

emergência (VE) e florescimento da cultura (R.2). Sendo registrado uma média diária de chuva de 3 mm dia na área durante o seu desenvolvimento.

A soja necessita de volume adequados de água, principalmente durante a fase de germinação-emergência (2 a 6 mm dia<sup>-1</sup>), florescimento-enchimento de grãos (7 a 8 mm/dia), de tal modo, que não ocorra perdas no desenvolvimento da cultura (FARIAS et al., 2009). Devido à baixa precipitação nesta fase de desenvolvimento da cultura, observar-se a importância da utilização de culturas que forneçam resíduos vegetais de qualidade e em quantidade adequada, na manutenção da eficiência fotossintética na cultura em sucessão.

**QUADRO 6.** Índice de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total em folhas de soja no florescimento pleno (R 2), com a aplicação de *Bradyrhizobium japonicum*, e *B. japonicum* + *Azospirillum brasilense* na semente em sucessão de cultivos de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Inoculação	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
	-----Adimensional -----		
Testemunha	29,67	11,96	41,68
<i>B. japonicum</i>	29,79	11,97	41,76
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	30,42	11,92	42,34
DMS	1,13 <sup>ns</sup>	0,95 <sup>ns</sup>	1,87 <sup>ns</sup>
CV (%)	5,01	12,27	6,75
<b>Culturas</b>			
Milho solteiro	29,27 b	12,65	41,01 b
Milho consorciado com <i>B. ruziziensis</i>	31,45 a	11,74	44,17 a
Feijão-caupi	29,16 b	11,97	41,13 b
<i>B. ruziziensis</i>	29,96 b	11,45	41,40 b
DMS	1,44 *	1,22 <sup>ns</sup>	2,39 *
CV (%)	0,82	0,39	1,58
Média	29,96	11,95	41,93

<sup>ns</sup>: não diferem significativamente pelo teste F (p<0,05); \* significativo pelo teste F a 5 %. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os tratamentos de inoculação nas sementes apresentam uma média de AP de 71,69 cm, entretanto não foi observado significativo sobre a variável. Contudo, A AP da soja

em sucessão aos cultivos de outono-inverno de milho solteiro e milho consorciado com *B. ruziziensis* apresentou valores 9,74% e 13,29% superiores que a *B. ruziziensis* solteira. Não houve diferença significativa para os números de vagens por plantas e grãos por vagens nos tratamentos, variaram entre 60,97 - 87,86 e 1,65 – 2,04 respectivamente (Quadro 7).

**QUADRO 7.** Valores médios de altura de plantas (AP), número de vagens por plantas (NVP), número de grãos por vagens (NGV) soja em função de diferentes métodos de inoculação via semente em sucessão de culturas de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Inoculação	AP	NVP	NGV
	cm		
Testemunha	70,63	62,73	1,85
<i>B. japonicum</i>	69,90	69,04	1,77
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	74,54	67,86	1,83
DMS	5,48 <sup>ns</sup>	17,52 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>
CV (%)	10,04	35,88	26,04
Culturas			
Milho solteiro	73,68 a	75,51	1,72
Milho consorciado com <i>B. ruziziensis</i>	76,69 a	60,21	1,65
Feijão-caupi	69,88 ab	60,97	2,04
<i>B. ruziziensis</i>	66,50 b	69,48	1,85
DMS	6,99 *	22,36 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>
CV (%)	6,21	20,57	20,14
Média	71,69	66,54	1,82

<sup>ns</sup>: não diferem significativamente pelo teste F ( $p < 0,05$ ); \* significativo pelo teste F a 5%. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Bactérias diazotróficas associativas, como o *A. brasilense* podem atuar como promotoras de crescimento vegetal, a partir do estímulo na produção de fitohormônios de crescimentos, assim garantindo incrementos no crescimento vegetal e produtividade de grãos (Hungria et al., 2013). Entretanto, a soja não evidenciou estes benefícios, mesmo que numericamente há uma tendência de melhores resultados nos tratamentos de coinoculação. Os resultados encontrados corroboram aqueles obtido por Bulegon et.,

(2016), que avaliando a coinoculação em um solo de textura muito argilosa, e aplicação de *B. japonicum* isolado e combinado com *A. brasilense* observaram que os tratamentos com inoculação não diferiram com a testemunha.

A soja cultivada em sucessão ao milho solteiro e milho consorciado apresentaram maiores valores de AP, 73,68 e 76,69 cm, respectivamente, em relação ao cultivo de *B. ruziziensis* solteira 66,50 cm, uma diferença média de 15%, em sucessão ao feijão-caupi a média registrada não diferiu dos demais tratamentos (Quadro 7).

Clima e fertilidade natural do solo contribuíram para os resultados encontrado. A soja possui exigência hídrica de 450 a 850 mm para produção de biomassa e grãos (CARVALHO et al., 2013). Durante os meses de outubro e janeiro da safra 2016/2017, período entre a germinação e colheita da soja, a chuva registrada no local do experimento foi de 438 mm. Mesmo registrando aumento na pluviosidade nas fases de formação de vagem e enchimento de grãos, o volume ficou abaixo do necessário e com distribuição desuniforme, para que não ocorressem perdas na cultura.

A baixa capacidade de armazenamento de água no solo de alguns sistemas de cultivo, provoca a redução na utilização da radiação, promovendo redução no crescimento e produção de biomassa da cultura, sendo essa redução proporcional a severidade e época. Quando a cultura está sobre algum estresse em uma de suas fases importantes de desenvolvimento há a tendência de ocorrer redução de altura, e diminuição de biomassa, e até abortamentos de flores e vagens (GAVA et al., 2015). Maior cobertura vegetal ocasiona uma menor evapotranspiração pelas plantas, contribuindo para maiores índices de área foliar, que aumentam a eficiência da interceptação luminosa e conversão da radiação em fotoassimilados (SANGOI et al., 2002).

Os teores de pH, micro e macronutrientes, saturação de bases e matéria orgânica do solo da área onde o experimento foi realizado encontra-se a altos (Quadro 2) (RAIJ et al., 1996). Na implantação das culturas de outono-inverno, os cultivos de milho solteiro e consorciado receberam adubação, enquanto, as demais culturas foram cultivadas sem a adição de fertilizantes. Esse fornecimento extra para os sistemas pode ter disponibilizados teores maiores para a cultura da soja. Assim, influenciando na massa de cem grãos, em que o maior valor foi observado em sucessão ao milho solteiro 15 % superior à média dos demais tratamentos. Da mesma maneira, a produtividade de grãos foi 25% superior nos cultivos de milho consorciado e feijão-caupi em relação a *B. ruziziensis* solteira (Quadro 8). A população final de plantas teve uma média de 237.243 plantas por ha<sup>-1</sup>, independentemente do tratamento.

**QUADRO 8.** População final de plantas, massa de cem grãos (M100) e produtividade de grãos da cultura da soja em função de diferentes métodos de inoculação em sucessão de culturas de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Inoculação	População final	M100	Produtividade
	plantas ha <sup>-1</sup>	g	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	236.265	9,62	2.619
<i>B. japonicum</i>	237.191	9,83	2.642
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	238.272	10,13	2.736
DMS	17.318 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>	336,63 <sup>ns</sup>
C.V (%)	8,62	9,66	17,45
Culturas			
Milho solteiro	243.210	10,93 a	2.599 ab
Milho consorciado com <i>B. ruziziensis</i>	243.210	9,85 b	2.934 a
Feijão-caupi	236.214	9,72 b	2.928 a
<i>B. ruziziensis</i>	226.338	8,93 b	2.200 b
DMS	22.102 <sup>ns</sup>	1,08*	429,64*
C.V (%)	6,46	7,80	9,70
Média	237.243	9,86	2.665

<sup>ns</sup>: não diferem significativamente pelo teste F (p<0,05); \* significativo pelo teste F a 5 %. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O feijão-caupi possui, uma rápida mineralização e posteriormente disponibilização dos nutrientes, aliado à sua capacidade de realizar fixação biológica de nitrogênio atmosférico ao solo, torna-se uma cultura com grande potencial agrônomicos para usar em rotação de culturas (FREIRE FILHO et al., 2005). Essa liberação de nutrientes, principalmente de N da FBN, contribuiu para a alta produtividade da soja em sucessão (Quadro 8). Oliveira et al. (2013), identificaram uma maior produtividade de grão de soja em sucessão a feijão do que braquiária, resultado que corrobora com o encontrado neste trabalho. Desta maneira, a adição de feijão para sistemas de rotação de cultura pode contribuir para o incremento de nitrogênio, assim, estimulando o desenvolvimento inicial de culturas que necessitam de um aporte no início.

O bom desempenho da produtividade da soja em sucessão ao milho safrinha consorciado com braquiária pode ser atribuído ao fato desta técnica, em rotação de cultura, ter a capacidade de reciclar nutrientes do solo e matéria orgânica e, disponibilizá-

los para suprir as necessidades nutricionais da soja durante o seu desenvolvimento (CRUZ et al., 2015). E segundo Broch e Ceccon (2008), o milho safrinha é considerado importante para a proteção do solo devido a sua durabilidade de resíduos vegetais, sendo considerado um sistema conservacionista quando usado em SPD, e com capacidade de contribuir positivamente na produtividade da soja através de acúmulo de nutrientes.

Com relação a técnica da coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense*, a soja não apresentou significância na produtividade quando comparado aos tratamentos com inoculação de *B. japonicum* e testemunha, em que a média observada foi de 2.665 kg ha<sup>-1</sup> (Quadro 8).

Os benefícios da coinoculação de *Bradyrhizobium* spp. com *Azospirillum* spp. em leguminosas são controversos, em um trabalho realizado com por Bárbaro et al., (2009) no qual buscaram avaliar o efeito da coinoculação na cultura da soja, não foi observado diferença significativa entre os tratamentos com a testemunha, sem inoculação. Battisti e Simonetti, (2015) trabalhando com diferentes doses de *A. brasilense* isolados e associados com *B. japonicum*, constataram aumento na M100 apontando ganhos significativos da combinação das bactérias em relação ao uso isoladas das mesmas, porém esse aumento não foi observado na produtividade de grãos. Essa diferença de resultados deve-se a fatores intrínsecos de condições ambientais do solo e de cultivares que respondem a bactérias associativas (BULEGON et al., 2016).

De acordo com Hungria et al., (2015) pesquisando o efeito da inoculação padrão com *Bradyrhizobium* e a coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* observaram efeitos positivos da associação das bactérias, incrementos de produtividade de grãos superiores a 10% mesmo sofrendo estresse hídrico durante o seu ciclo.

Sendo a prática de reinoculação da soja anualmente podendo proporcionar aumentos na produtividade grãos com incrementos médio de até 222 kg ha<sup>-1</sup> com *Bradyrhizobium*, e quando coinoculadas o aumento na produtividade pode ser superior a 425 kg ha<sup>-1</sup>, aumento de 8,4 e 16,1%, respectivamente, em relação a não inoculação (HUNGRIA et al., 2013). Mesmo a área possuir histórico de inoculação este aumento de produtividade não foi observado neste trabalho. Segundo Didonet et al. (2000), a eficiência da inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* depende de a habilidade da bactéria competir com as bactérias diazotróficas nativas, até mesmo com *Bradyrhizobium*, e com a microflora do solo, assim como a qualidade do inoculante e o processo de tratamento das sementes com os produtos.

Mesmo na produtividade de grãos não foi observado diferença estatística significativa entre os tratamentos, mas as médias de produtividade apresentaram diferença numérica nos seus valores, de tal modo, a coinoculação de bactérias FBN e promotora de crescimento vegetal aumentou em 117 kg ha<sup>-1</sup> (4,48%) em relação a testemunha, evidenciando a possibilidade de influência econômica devido ao baixo valor de custo de tratamento. As bactérias podem fornecer quantidades suficientes de N para suprir as necessidades da cultura, assim dispensando o uso de parte da adubação nitrogenada, assim gerando economia para o produtor (BRACCINI et al., 2016).

#### 4.2. Atributos Microbiológicos do Solo

Para os atributos microbiológicos analisados nesse experimento não foi observado efeito significativo da inoculação para nenhuma das variáveis, assim como não houve interação significativa entre os fatores inoculação x culturas de outono-inverno. Observou-se efeito das culturas de outono inverno sobre o carbono da biomassa microbiana (C-BMS), quociente metabólico ( $qCO_2$ ) e quociente microbiano ( $qMIC$ ), contudo para a respiração basal (C-CO<sub>2</sub>) e atividade enzimática da fosfatase ácida (p-nitrofenol) não houve significância para este fator (Quadro 9).

**QUADRO 9.** Resumo da análise de variância de carbono da biomassa microbiana (C-BMS), respiração basal (C-CO<sub>2</sub>), quociente metabólico ( $qCO_2$ ), quociente microbiano ( $qMIC$ ), e atividade da fosfatase ácida (p-nitrofenol) do solo em função de métodos de inoculação e culturas de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Fatores de Variação	G.L.	Quadrado médio				
		C-BMS	C-CO <sub>2</sub>	$qCO_2$	$qMIC$	p-nitrofenol
Blocos	2	1068827,02	163,41	6757,70	2,06	22575,20
Culturas	2	17835,75*	6,53 <sup>ns</sup>	680,79*	0,38*	18584,00 <sup>ns</sup>
Resíduo (a)	6	4260,72	37,69	275,38	0,07	6688,27
CV a (%)	-	28,56	36,91	43,40	22,24	14,70
Inoculação	3	1063,66 <sup>ns</sup>	81,86 <sup>ns</sup>	127,24 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	1526,37 <sup>ns</sup>
Culturas x Inoculação	6	4260,72 <sup>ns</sup>	37,67 <sup>ns</sup>	275,38 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	6687,96 <sup>ns</sup>
Resíduo (b)	16	335,21	30,35	137,18	0,09	19485,30
CV b (%)	-	25,27	33,12	30,63	24,89	25,10

G.L. = Graus de Liberdade; \*= significativo a ( $p < 0,05$ ); ns= não significativo; C.V.=coeficiente de variação.

O consórcio de milho com braquiária proporcionou maior média de C-BMS em relação ao cultivo de milho solteiro, na ordem de 63,6%, no entanto, não houve diferença estatística nos valores desta variável para as culturas de feijão-caupi e *B. ruziziensis*, que por sua vez, não variaram estatisticamente do milho solteiro (Quadro 10). Fatores como diversidade de raízes, quantidade de resíduos vegetais, assim como, a qualidade destes resíduos (relação C/N) favorecem a maiores teores de biomassa microbiana (LOURENTE et al, 2011; SOARES, 2017).

**QUADRO 10.** Valores médios de carbono da biomassa microbiana (C-BMS), quociente metabólico ( $qCO_2$ ), quociente microbiano ( $qMIC$ ) do solo em função de diferentes métodos de inoculação via semente em sucessão de cultivos de outono-inverno, em Dourados, 2018.

Inoculação	C-BMS	C-CO <sub>2</sub>	$qCO_2$	$qMIC$	p-nitrofenol
	$\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco	$\mu\text{g C g}^{-1}$ solo seco/dia	$\mu\text{g C-CO}_2 \mu\text{g}^{-1}$ C-BMS h <sup>-1</sup>	%	mg p-nitrofenol kg <sup>-1</sup> solo h <sup>-1</sup>
Testemunha	239,29	18,81	39,52	1,22	565,75
<i>B. japonicum</i>	224,36	17,35	40,65	1,25	543,76
<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	221,88	13,74	34,53	1,20	559,11
DMS	61,45 <sup>ns</sup>	5,84 <sup>ns</sup>	13,57 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	129,76 <sup>ns</sup>
CV (%)	25,27	33,12	30,63	24,89	25,10
<b>Culturas</b>					
Milho solteiro	167,90 b	16,21	50,99 a	0,92 b	556,03
Milho consorciado com	274,64 a	17,26	34,86 ab	1,39 a	521,18
<i>B. ruziziensis</i>					
Feijão-caupi	231,31 ab	15,65	31,45 b	1,34 a	527,18
<i>B. ruziziensis</i>	240,20 ab	17,22	35,37 ab	1,24 ab	620,44
DMS	78,46*	7,45 <sup>ns</sup>	17,32*	0,38*	165,71 <sup>ns</sup>
C.V (%)	28,56	36,91	43,40	22,24	14,70
Média	228,51	16,63	38,23	1,22	556,21

<sup>ns</sup>: não diferem significativamente pelo teste F ( $p < 0,05$ ); \* significativo pelo teste F a 5%. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O acúmulo de C no solo devido ao cultivo de diferentes espécies, leguminosas e gramíneas, com a entrada de diferentes resíduos e sistemas radiculares favorecem a

manutenção de C-BMS nesses sistemas. A soja em sucessão ao milho safrinha solteiro é um sistema que não causa diversidade radicular desejável, sendo possível observar esse efeito na variação da C-BMS em relação a um sistema mais complexo, como o milho consorciado (outono-inverno) / soja (primavera-verão).

A diversificação de culturas em SPD influencia os valores de C-BMS, uma vez que, a variação de resíduos deixado pelas culturas fornece C suficiente para a aumento da matéria orgânica do solo, principalmente nas camadas superficiais, assim a microbiota se torna mais abundante. Navroski et al., (2018) avaliando atributos microbiológicos em diversas camadas de Latossolo Vermelho Distroférico cultivado em SPD em comparação ao cultivo convencional, reportaram que os diferentes sistemas de coberturas influenciam os atributos microbiológicos C-BMS, C-CO<sub>2</sub>, *q*CO<sub>2</sub> e o *q*MIC, principalmente nas camadas mais subsuperficiais (0 – 10 cm).

De acordo com Lopes et al. (2018), os valores de C-BMS na camada de 0 – 20 cm (para Latossolo argilosos no Cerrado em SPD) obtidos no presente trabalho foram baixos (< 245 mg kg<sup>-1</sup>) em sucessão de milho solteiro, feijão-caupi e *B. ruziziensis*, e moderado (245-440 mg kg<sup>-1</sup>) em sucessão ao milho consorciado; para inoculação a média dos tratamentos tem valor baixo.

A C-CO<sub>2</sub> não apresentou diferença estatística para o fator culturas, e as médias são respectivamente 17,46, 16,21, 17,22 e 15,65 mg C kg<sup>-1</sup> solo dia<sup>-1</sup> para milho consorciado, milho solteiro, *B. ruziziensis* e feijão-caupi (Quadro 10), sendo classificados como teores baixos (Lopes et. al., 2013). A quantidade de CO<sub>2</sub> liberado pela respiração dos microrganismos é o método mais utilizado para avaliar a atividade da microbiologia do solo (ANDERSON, 1982), no entanto, é um fator que pode ser influenciado por diferentes fatores como umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes no solo, (REIS JUNIOR e MENDES, 2007), assim como, falhas nos processos de preparação e incubação das amostras de solo em laboratório podem interferir no percentual de CO<sub>2</sub> liberado.

O quociente metabólico(*q*CO<sub>2</sub>) variou entre os cultivos, apresentando o melhor resultado na área que foi cultivado feijão-caupi, mas não diferiu estatisticamente com os tratamentos de milho consorciado e *B. ruziziensis* (Quadro 10). O milho solteiro apresentou um maior índice de *q*CO<sub>2</sub> sendo 62,18% em relação ao menor, o feijão-caupi. A medida que a que ocorre a redução do *q*CO<sub>2</sub> indica que a biomassa está atuando de forma mais eficiente, sendo assim, ocorre menor perda de CO<sub>2</sub> pela respiração e uma fração significativa de C é incorporado ao tecido microbiano (GAMA-RODRIGUES e

GAMA-RODRIGUES, 2008). O solo da sucessão milho/soja apresentou maior média de  $qCO_2$ , mesmo não havendo diferença estatística para o milho consorciado e a braquiária solteira. Essas médias elevadas indicam que a taxa de respiração desse sistema não está sendo eficiente. Indicando que a comunidade microbiológica está sofrendo algum tipo de estresse metabólico, ou ainda uma colônia em estágio inicial de desenvolvimento (ADERSON e DOMSCH 1993).

Os maiores percentuais de quociente microbiano ( $qMIC$ ) foram encontrados nos tratamentos de milho consorciado e feijão-caupi, em relação ao milho solteiro (Quadro 10), e *B. ruziziensis* não diferiu entre os demais tratamentos. O valor do  $qMIC$  do milho foi abaixo de 1% (0,92%), este valor indica alguma limitação na atividade microbiana do solo, limitação causada por fatores edafoclimáticos (LEITE et al., 2013). Segundo Mercante (2001), a relação entre carbono microbiano e carbono orgânico ( $qMIC$ ) pode apontar uma disponibilidade da matéria orgânica para os microrganismos, e números maiores deste quociente indicam aumento da sua dinâmica no solo (SAMPAIO et al. 2008). Soares (2017), trabalhando com diferentes sistemas de produção (integração lavoura-pecuária, rotação e sucessão de culturas) verificou que os valores de quociente microbiano foram maiores sistemas de rotação de leguminosas com gramíneas, resultado sem de integração lavoura-pecuária.

A atividade enzimática não diferiu entre os tratamentos, obteve uma média de 556,21 mg p-nitrofenol. De acordo com Lopes et al., (2018), o nível da enzima fosfatase para os solos do Cerrado é considerado baixo (< 660 mg p-nitrofenol), a instabilidade climática durante o experimento pode ter influenciado nos resultados obtidos. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os obtidos por Mazzuchelli et al., (2017), no qual ao avaliarem a atividade enzima após o cultivo de diversas espécies de outono-inverno (milho, milheto, *B. brizantha*, sorgo, girassol e guandu) não foi observado influência das culturas sobre seu teor.

O clima durante a condução do experimento foi marcado por um regime pluviométrico abaixo da média e temperaturas elevadas, característica da região, que interferiram na atividade microbiana do solo. Portanto, fica evidente neste trabalho que a utilização de um sistema de produção agrícola baseado em diversidade de culturas pode diminuir efeitos climáticos desfavoráveis. No qual, o consorcio milho com braquiária, *B. ruziziensis* e feijão-caupi cultivados no outono inverno proporcionaram melhores condições para o desenvolvimento da população de microrganismos em comparação a sucessão soja e milho solteiro.

## 5. CONCLUSÕES

A coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* na cultura da soja não proporciona aumento significativo na produtividade de grãos, e não influenciou a comunidade microbiana do solo.

O milho consorciado com *B. ruziziensis* e feijão-caupi como cultivo de outono-inverno proporcionam maiores produtividades de grãos na soja.

O milho consorciado com *B. ruziziensis* proporciona melhor biomassa microbiana em relação ao cultivo com milho solteiro.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. P. E. Soil respiration. In: PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. (ed.). *Methods of soil analysis*. 2. Ed. **American Society of Agronomy: Soil Society of Agronomy**, Madison, part 2, p. 832-872, 1982.

ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient of CO<sub>2</sub> (q CO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Application of eco-physiological quotients qCO<sub>2</sub> and qD on microbial biomasses from soils of different cropping histories. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p. 251-255, 1990.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 1, p. 66-75, 2007.

ARAÚJO, A. S. F.; SANTOS, B. B.; MONTEIRO, R. T. R. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in Piauí state, Brazil. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 44, n. 2, p. 225-230, 2008.

ARAÚJO, S. C. Realidade e perspectivas pra o uso de *Azoospirillum* na cultura do milho. **Revista Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 122, p. 4-6, 2008.

BAKER, L. R.; WHITE, P. M.; PIERZYNSKI, G. M. Changes in microbial properties after manure, lime, and bentonite application to a heavy metal-contaminated mine waste. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 48, p. 1-10, 2011.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; DICK, R.P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, Florença, v.38, p. 15-20, 2003.

BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa – MG, v.22, p.641-649, 1998.

BARASSI, C. A. et al. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F. D.; GARCÍA DE SALAMONE, I. (Eds.). *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, p. 49-59.2008.

BÁRBARO, I. M.; BÁRBARO JÚNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MACHADO, P. C.; MIGUEL, F. B. Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 8, n. 12, 2011.

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

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. de. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford: Elsevier, 2005. v.1, p.103-115.  
 BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J.J.; LEYVA, L.A.; HERNANDEZ, J.-P.; BACCILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, Florença, v.42, p.279-285, 2006.

BATTISTI, M. A.; SIMONETTI M. P. A. Inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista cultivando o Saber**, Cascavel, v.8, n. 3, p.294-301, 2015.

BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, Córdoba, vol. 23, n. 2, p. 71-77, 2010.

BIZARRO, M. J. **Simbiose e variabilidade de estirpes de *Bradyrhizobium* associadas à cultura da soja em diferentes manejos do solo**. 2008, 107 f. Tese (Doutorado em Ciências do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Brasil.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, Danvers, v. 34, p. 45–47, 1989.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, E. G. G.; SUZUKAWA, K. A.; SILVA LIMA, L.H.; PICCININ, G. G. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.

BULEGON, L. G., L. RAMPIM, J. KLEIN, D. KESTRING, V. F. GUIMARÃES, A. G. BATTISTUS, E A. M. INAGAKI. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, Chapingo, V. 34, p. 169-176, 2016.

BURDMAN, S.; VOLPIN, H.; KIGEL, J.; KAPULNIK, Y.; OKON, Y. Promotion of nod gene inducers and nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris*) roots inoculated with *Azospirillum brasiliense* Cd, **American Society for Microbiology**, Washington, v. 62, n. 18, p. 3030 – 3033, 1996.

CALVO, C.L.; FOLONI, J.S.S.; BRANCALIAÃO, S.R. Produtividade de fitomassa relação C/N de monocultivos e consórcios de guandu-anão, milho e sorgo em três épocas de corte. **Bragantia**, Campinas, v.69, n.1, p.77-86, 2010.

CARNEIRO, M.A.C.; CORDEIRO, M.A.S.; ASSIS, P.C.R.; MORAES, E.S., PEREIRA, H.S.; PAULINO, H.B.; SOUZA, E.D. produção de fitomassa de diferentes espécies de cobertura e suas alterações na atividade microbiana de solo de cerrado. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.2, p.455-462, 2008.

CARVALHO, I. R.; KORCELSKI, C.; PELISSARI, G.; HANUS, A. D.; ROSA, G. M. Demanda hídrica das culturas de interesse agrônômico. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 9, n.17, p. 969, 2013.

CASSÁN, F., D. PERRIG, V. SGROY, O. MASCIARELLI, C. PENNA, and V. LUNA. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, p. 28-35, 2009.

CASTANHEIRA, E.G.; GRISOLI, R.; COELHO, S.; SILVA, G.A.; FREIRE, F. Life-cycle assessment of soybean-based biodiesel in Europe: comparing grain, oil and biodiesel import from Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Knoxville, v.102, p.188-201, 2015.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações na biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 14, p. 133-142, 1990.

CECCON, G.; STAUT, L. A.; SAGRILO, E.; MACHADO, L. A. Z.; NUNES, D. P.; ALVES, V. B. Legumes and forage species sole or intercropped with corn in soybean-corn succession in Midwestern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 204-212, 2013.

CHIBEBA, A.M.; GUIMARÃES, M.F.; BRITO, O.R.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Science**, online, v. 6, p. 641-649, 2015.

CHIODEROLI, C. A.; MELLO, L. M. M. de; GRIGOLLE, P. J.; SILVA, J. O. da R.; CESARIN, A. L. Consorciação de braquiárias com milho outonal em plantio direto sob pivô central. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 6, p. 101-109, 2010.

CHIODEROLI, C. A.; MELLO, L. M. M. de; GRIGOLLI, P. J.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, J. O. R.; CESARIN, A. L. Atributos físicos do solo e produtividade de soja em sistema de consórcio milho e braquiária. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 1, p. 37-43, 2012.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos - **9º Levantamento de Safra 2017/18**, v. 5, junho de 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>, acessado em 15 junho de 2018.

CONCEIÇÃO, P.C.; AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v 29 p. 777-88, 2005.

CONTE, O. **Atributos físicos de solo e demanda de tração em semeadura direta de soja, com diferentes pressões de pastejo em sistema de integração lavoura-pecuária.** 2007. 91 p. Dissertação (Mestrado), Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; LOPES, K. S. M.; YOKOBATAKE, K. L.; FERREIRA, J. P.; PARIZ, C. M.; BONINI, C. dos S. B.; LONGHINI, V. Z. Atributos do solo e acúmulo de carbono na integração lavoura-pecuária em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 3, p. 852-863, 2015.

CRIQUET, S.; FERRE, E.; FARNET, A. M.; LE PETIT, J. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, p. 1111-1118, 2004.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALBUQUERQUE FILHO, M. R. **Árvore do conhecimento “milho”: AGEITEC:** Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Versão eletrônica, 1 ed. dez. 2015. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fy779fnk02wx5ok0pvo4k3s932q7k.html>>. Acesso em: 16 mar. 2018.

DIDONET, A.D., LIMA, O.S.; CANDATEN, A.A; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de Azospirillum. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n. 2, p.401-411, 2000.

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

DODOR, D.; TABATABAI, A. Effect of cropping systems of phosphatases in soils. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 166, p. 7-13, 2003.

EGLI, D. B.; WIRALAGA, R. A.; BUSTAMAM, T.; YU, Z. W.; TEKRONY, D. M. Time of flower opening and seed mass in soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v. 79, n. 4, p. 697-700, 1987.

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Clima MS:** banco de dados. Dourados, [2018]. Disponível em: [http://www.cpao.embrapa.br/clima/?lc=site/banco-dados/base\\_dados/](http://www.cpao.embrapa.br/clima/?lc=site/banco-dados/base_dados/)>. Acesso em: 01 mar. 2018.

EO, J; PARKB, K.C; KIMA, M.H. Plant-specific effects of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) and sudex (*Sorghum bicolor* x *Sorghum bicolor* var. *sudanense*) on the abundance and composition of soil microbial community. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, online, v. 213, p. 86–93, 2015.

FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Soja. In: MONTEIRO, J. E. B. A. **Agrometeorologia dos Cultivos:** O fator meteorológico na produção agrícola. 1. ed. Brasília: INMET, p.263-277, 2009.

FERREIRA, D. F. **SISVAR.** Sistema para análise de variância. Lavras: UFL/DEX, 2000,CD-ROM.

FIETZ, R. C.; COMUNELLO, E.; FLUMIGNAN D. L.; Deficiência hídrica na região de Dourados, MS. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 42., 2013, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBEA, 2013. 1 CD-ROM; CONBEA 2013.

FONSECA, G. C.; CARNEIRO, M. A. C.; DA COSTA, A. R.; DE OLIVEIRA, G. C.; FRANCHINI, J.C.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; SICHIERI, F.R.; DEBIASI, H.; CONTE, O. Yield of soybean, pasture and wood in integrated crop-livestock-forest system in Northwestern Paraná state, Brazil. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.45, p.1006-1013, 2007.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M., Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and 87 crop-rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, online, v.92, p. 18-29, 2007.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; BARRETO, P. D.; SANTOS, A. A. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Eds.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 29-92.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; GAMA-RODRIGUES, A.C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O., eds. **Fundamentos da matéria orgânica do solo ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. Porto Alegre, Metrópole, 2008. p.159-170.

GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; JOSE, J, V.; FRAGA JUNIOR, E. F.; PERBONI, A. Estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 9, n. 6, p. 349-359, 2015.

GITTI D.C.; ARF, O.; KANEKO, F.H.; RODRIGUES, R.A.F.; BUZETTI, S.; PORTUGUAL, J.R.; CORSIN, D.C.D.C. Inoculation of *Azospirillum brasilense* cultivars of beans types in winter crop. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 5, n. 15, p.36-46, 2012.

HENCHION, M.; McCARTHY, M.; RESCONI, V.C.; TROY, D. Meat consumption: trends and quality matter. **Meat Science**, Savoy v.98, p.561-568, 2014.

HOLE, D.G., PERKINS, A.J., WILSON, J.D., ALEXANDER, I.H., GRICE, F., EVANS, A.D. Does organic farming benefit biodiversity? **Biological Conservation**, online v.122, p. 113–130, 2005.

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

HUNGRIA, M. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology Fertility Soils**, Florença, v. 49, p.791–801, 2013.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina, Embrapa Soja – Documentos 325, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M. & PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Crawley, vol. 331, n. 1, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, online, v.6, p. 811-817, 2015.

JENKINSON, D. S.; POWLSON, D. S. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 209-213, 1976.

JUGE, C. et al. Growth and biochemical responses of soybean to double and triple microbial associations with *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizae. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 61, p. 147-157, 2012.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. **Plant Soil**, Crawley, v. 338 p. 467-481, 2011.

KLUTHCOUSKI, J.; COBUCCI, T.; AIDAR, H.; YOKOYAMA, L.P. ; OLIVEIRA, I.P.; COSTA, J.L.S.; VILELA, L.; BARCELLOS, A.O.; MAGNABOSCO, C.U. **Sistema Santa Fé - Tecnologia Embrapa**: integração lavoura-pecuária pelo consórcio de culturas anuais com forrageiras, em áreas de lavoura, nos sistemas direto e convencional. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. 28 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular técnica, 38).

LEITE, L.F.C.; ARRUDA, F.P.; COSTA, C.N.; FERREIRA, J.S.; HOLANDA, M.R.N. Qualidade química do solo e dinâmica de carbono sob monocultivo e consórcio de macaúba e pastagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, p.1257-1263, 2013.

LISBOA, B. B.; VARGAS, L. K.; SILVEIRA, A. O. D.; MARTINS, A. F.; SELBACH, P. A. Indicadores microbianos de qualidade do solo em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 33-43, 2012.

LIU, Z., FU, B., ZHENG, X., LIU, G., Plant biomass, soil water content and soil N: Pratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: aregional scale study. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.42, p. 445–450, 2014.

LOPES, A.A. de C.; SOUSA, D.M.G. de; CHAER, G.M.; REIS JÚNIOR, F.B. dos; GOEDERT, W.J.; MENDES, I. de C. Interpretation of microbial soil indicators as a

function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 77, n. 2, p. 461-472, 2013.

LOPES, C. A. A.; SOUSA, M. G. D.; REIS JR, B. F.; FIGUEIREDO, C. C.; MALAQUIAS, V. J.; SOUZA, M. L.; MENDES, C. I. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. **Geoderma regional**, Madison v.12, p. 72–82, 2018.

LOURENTE, E. R. P.; MERCANTE, F. M.; ALOVISI, A. M. T.; GOMES, C. F.; GASPARINI, A. S.; NUNES, C. M. Atributos microbiológicos, químicos e físicos de solo sob diferentes sistemas de manejo e condições de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 20- 28, 2011.

MACEDO, M. C. M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 133-146, 2009.

MACHADO, L. A. Z.; ASSIS, P. G. G de. Produção de palha e forragens por espécies anuais e perenes em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.4, p.415-422, 2010.

MATIAS, M.C.B.S.; SALVIANO, A.A.C.; LEITE, L.F.C.; ARAÚJO, A.S.F.; Biomassa microbiana e estoque de C e N do solo em diferentes sistemas de manejo, no Cerrado do Estado do Piauí. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v: 31, p.517-521, 2009.

MAZZUCHELLI, E. H.; MIGNACCA, F. A.; ARAÚJO, F. F.; REBONATTI, M. D.; TIRITAN, C. S. A atividade microbiológica do solo é influenciada pela rotação de culturas? **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, vol. 13, n. Especial, P. 01-07, 2017.

MENDES, C.I.; SOUZA, M. G. D.; JUNIOR, B. R. F. Bioindicadores de qualidade do solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 32, n. 1/2, p. 185-203, 2015.

MENDES, I.C; VIVALDI, L. Dinâmica da biomassa e atividade microbiana em uma área sob mata de galeria na região do DF. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L.; SOUSA SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2001. p 664-687.

MERCANTE, F. M. **Os micro-organismos do solo e a dinâmica da matéria orgânica em sistema de produção de grãos e pastagem**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, (Sistema plantio direto, 5). 2001.

MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; JÚNIOR, F. B. R. **Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 4 p. (Documento, 169).

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2 ed. Lavras, 2006, 729 p.

NASCENTE, A. S.; CRUSCIOL, C. A. C. Cover crops and herbicide timing management on soybean yield under no-tillage system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 187-192, 2012.

NAVROSKI, D.; MOREIRA, A.; GUIMARÃES, F. M.; COLOZZI FILHO, A. Changes in microbiological attributes of a Red Latosol under different cropping systems. **Semina. Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 971-982, 2018.

NUNES, L. A. P. L.; LIMA, L. M.; CARNEIRO, R. F. V.; TSAI, S. M.; SALVIANO, A.A.C. Land degradation on soil microbial biomass and activity in Northeast Brazil. **Pedosphere**, online, v. 22, p. 88 – 95, 2012.

OLIVEIRA, P.; NASCENTE, A. S.; KLUTHCOUSKI, J. Soybean growth and yield under cover crops. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n.2, p. 249-256, 2013.

PANDEY, J.P.; TORRIE, J. H. Path coefficient analysis of seed yield components in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Crop Science**. Madison, v. 13, n. 5, p. 505-507, 1973.

PARIZ, C. M.; ANDREOTTI, M.; TARSITANO, M. A.; BERGAMASCHINE, A. F.; BUZZETTI, S.; CHIODEROLI, C. A. Desempenhos técnicos e econômicos da consorciação de milho com forrageiras dos gêneros *panicum* e *brachiaria* em sistema de integração lavoura-pecuária. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 360-370, 2009.

PÔRTO, M. L.; ALVES, J. C.; DINIZ, A. A.; SOUZA, A. P.; SANTOS, D. Indicadores biológicos de qualidade do solo em diferentes sistemas de uso no brejo paraibano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.4, p. 1011-1017, 2009.

REIS JUNIOR, F.B.; MENDES, I.C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; 2007. (Documentos, 205). 40 p.

REIS, G. N.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, R. P.; GERLACH, J. R.; CORTEZ, J. W.; RICCE, W. da S.; ALVES, S. J.; PRETE, C. E. C. Época de dessecação de pastagem de inverno e produtividade de grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n. 10, p. 1220-1225, out. 2011.

RIGO, A.A.; DAHMER, A.M.; STEFFENS, C.; STEFFENS, J.; CARRÃO-PANIZZI, M.C. Characterization of soybean cultivars genetically improved for human consumption. **International Journal of Food Engineering**, London v.1, p.1-7, 2015.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; FABRICIO, A. C.; MACEDO, M. M.; BROCH, D. L.; BOENI, B.; CONCEIÇÃO, P. C. **Matéria orgânica do solo na integração lavoura-pecuária em Mato Grosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 58 p.29,2005.

SAMPAIO, D. B.; ARAÚJO, A. S. F. de; SANTOS, V. B. dos. Avaliação de indicadores biológicos de qualidade do solo sob sistemas de cultivo convencional e orgânico de frutas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 353-359, 2008.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G. Bases morfofisiológicas para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. **Bragantia**, Campinas, v.61, p.101-110, 2002.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SANTOS, H.P., FONTANELI, R.S., SPERA, S.T., DREON, G. Fertilidade, teor de matéria orgânica do solo em sistemas de produção com integração lavoura, pecuária sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.6, p.474-482, 2011.

SANTOS, V.M; MAIA, L. C. Bioindicadores de Qualidade do Solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 10, p.195-223, 2013.

SILVEIRA, P. M. da; STONE, L. F. Sistemas de preparo do solo e rotação de culturas na produtividade de milho, soja e trigo. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 240-244, 2003.

SNAJDR, J.; VALASKOVÁ, V.; MERHAUTOVÁ, V.; HENRIKOVÁ, J.; CAJTHAML, T.; BALDRIAN, P. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 40, p. 2068-2075, 2008.

SOARES, D. S. **Biomassa vegetal e atributos do solo em diferentes sistemas de produção sob plantio direto no cerrado**. 2017. (Dissertação de Mestrado Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária) 97f., 2017.

SOUZA, E.D.; COSTA, S.E.V.G.A.; ANGHINONI, I.; LIMA, C.V.S.; CARVALHO, P.C.F.; MARTINS, A.P. Biomassa microbiana do solo em sistema de integração lavoura-pecuária em plantio direto, submetido a intensidades de pastejo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 34, p.79-88, 2010.

SOUZA, E.D.; COSTA, S.E.V.G.A.; LIMA, C.V.S.; ANGHINONI, I.; EGON JOSÉ MEURER, J.E.; CARVALHO, P.C.F. Carbono orgânico e fósforo microbiano em sistemas de integração agricultura-pecuária submetidos a intensidades de pastejo em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1273- 1282, 2008.

STONE, L. F.; GUIMARÃES, C. M. **Influência de sistemas de rotação de culturas nos atributos físicos do solo**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 15 p.

STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbono sources. **Microbiological Research**, Elsevier, v. 149, p. 55–60, 1994.

ŠTURSOVÁ, M.; BALDRIAN, P. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. **Plant and Soil**, Crawley v. 338, p. 99-110, 2011.

TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, V. 1, p.301-307, 1969.

TEJADA, M.; GONZALEZ, J.L.; GARCIA-MARTINEZ, A.M.; PARRADO, J. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. **Bioresource Technology**, Amsterdam, V .99, p. 1758–1767, 2008.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 5, p. 1016–1024, 1979.

USDA, **United States Department of Agriculture**. World Agricultural Supply and Demand Estimates - WASDE, 578, Jun 12, 2018.

VANCE, E. D.; BROOKS, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

VILELA, L.; MARTHA JUNIOR, G.B.; MACEDO, M.C.M.; MARCHÃO, R.L.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; PULROLNIK, K.; MACIEL, G.A. Sistemas de integração lavoura-pecuária na região do Cerrado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.46, n.10, p.1127-1138, 2011.

WHITE, C.M., WEIL, R.R., Forage radish and cereal rye cover crop effects on mycorrhizal fungus colonization of maize roots. **Plant and Soil**, Crawley, v. 1, p. 507–521, 2010.

ZUFFO, A.M.; REZENDE, P.M.; BRUZI, A.T.; OLIVEIRA, N.T.; SOARES, I.O.; NETO, G.F.G.; CARDILLO, B.S; SILVA, L.O. Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* in the soybean crop. **Revista Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.