

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

STHEFFANI LUCCA DOS SANTOS

**ASSOCIAÇÃO DE INOCULANTES BACTERIANOS E MICORRÍZICOS
NA SOJA ORGÂNICA E CONVENCIONAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PATO BRANCO

2020

STHEFFANI LUCCA DOS SANTOS

**ASSOCIAÇÃO DE INOCULANTES BACTERIANOS E MICORRÍZICOS
NA SOJA ORGÂNICA E CONVENCIONAL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós- Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Miguel
Mazaro

Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlo
Possenti

PATO BRANCO

2020

S237a Santos, Steffani Lucca dos.
Associação de inoculantes bacterianos e micorrízicos na soja orgânica e convencional / Steffani Lucca dos Santos. -- 2020.
49 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro
Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlo Possenti
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2020.
Inclui bibliografia.

1. Solos - Manejo. 2. Sementes - Inoculação. 3. Bactérias fitopatogênicas. 4. Soja - Sementes. I. Mazaro, Sergio Miguel, orient. II. Possenti, Jean Carlo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD (22. ed.) 630



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n.º 200

ASSOCIAÇÃO DE INOCULANTES BACTERIANOS E MICORRÍZICOS NA SOJA ORGÂNICA E CONVENCIONAL

Por

STHEFFANI LUCCA DOS SANTOS

Dissertação apresentada às quatorze horas do dia dezoito de fevereiro de dois mil e vinte, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Proteção de Plantas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Dra. Claudia Manteli
UNISEP/Dois Vizinhos

Dra. Deborah Catharine de Assis Leite
UTFPR/Dois Vizinhos

Dr. Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR/Dois Vizinhos
Orientador

Dr. Alcir José Modolo
Coordenador do PPGAG

O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do PPGAG.

DEDICATÓRIA

“A Deus por me conceber o dom da vida, e aos meus pais e namorado por serem a
minha base forte”

RESUMO

DOS SANTOS, Stheffani Lucca. Associação de inoculantes bacterianos e micorrízicos na soja orgânica e convencional. 49f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2020.

O uso de produtos biológicos no cenário agrícola está em ascensão, e com eles a necessidade de informações que possam melhorar a eficácia da utilização dos mesmos, como a associação de microrganismos no processo de inoculação de sementes de soja. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial da associação de inoculantes, sendo a co-inoculação (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*) e a trinoculação (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense* + *Rhizophagus intaradices*), sobre os parâmetros agronômicos da cultura da soja, em sistema de cultivo convencional e orgânico. Os experimentos foram realizados em dois locais diferentes, sendo que o experimento com a soja convencional foi conduzido no município do Verê – PR, e o da soja orgânica na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos. As semeaduras ocorreram na segunda quinzena de outubro e na primeira quinzena de novembro de 2018, para a soja orgânica e convencional, respectivamente. As sementes, para o sistema de cultivo orgânico, cv. BRS 284 foram tratadas somente com os inoculantes, já o convencional, cv. Monsoy 5917, foram tratadas com os fungicidas químicos previamente, e somente antes da semeadura aplicado os inoculantes. Os parâmetros avaliados foram: altura de planta, número de ramificações, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, número de nós totais e altura da inserção da primeira vagem, número e massa de nódulos, colonização micorrízica intracelular e produtividade. Os resultados obtidos demonstraram um ganho de produtividade de 15% com o uso da coinoculação e trinoculação quando comparados com a testemunha, porém, os demais parâmetros agronômicos não sofreram alteração com uso dos diferentes tratamentos. A colonização micorrízica quando utilizou-se a *Rhizophagus intaradices* foi observada no interior das raízes através da formação de arbúsculos, hifas, e esporos. Desse modo o uso da associação de microrganismos demonstra grande potencial na cultura da soja para aumento da produtividade.

Palavras-chave: Manejo biológico. coinoculação, trinoculação, *Glycine max*.

ABSTRACT

DOS SANTOS, Steffani Lucca. Association of bacterial and mycorrhizal inoculants in organic and conventional soybeans. 49f. Dissertation (Mestrado em Agronomia) – Postgraduate Program in Agronomy (Concentration area: Vegetables Production), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2020.

The use of biological products in the agricultural scenario is on the rise, and with them the need for information that can improve the effectiveness of their use, such as the association of microorganisms in the soybean seed inoculation process. The objective of the work was to evaluate the potential of the association of inoculants, being co-inoculation (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*) and trinoculation (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense* + *Rhizophagus intaradices*), on the agronomic parameters of the soybean culture, in a conventional and organic. The experiments were carried out in two different locations, the experiment with conventional soy was conducted in the municipality of Verê - PR, and that of organic soy in the experimental area of the Federal Technological University of Paraná, campus Dois Vizinhos. Sowing took place in the second half of October and in the first half of November 2018, for organic and conventional soybeans, respectively. The seeds, for the organic cultivation system, cv. BRS 284 were treated only with inoculants, while conventional, cv. Monsoy 5917, were treated with chemical fungicides previously, and only before sowing applied inoculants. The parameters evaluated were: plant height, number of branches, number of pods per plant, number of grains per pod, number of total nodes and height of insertion of the first pod, number and mass of nodules, intracellular mycorrhizal colonization and productivity. The results obtained demonstrated a productivity gain of 15% with the use of coinoculation and trinoculation when compared to the control, however, the other agronomic parameters did not change with the use of different treatments. Mycorrhizal colonization when *Rhizophagus intaradices* was used was observed inside the roots through the formation of shrubs, hyphae, and spores. In this way, the use of the association of microorganisms demonstrates great potential in soybean culture to increase productivity.

Keywords: Biological Management, coinoculation, trinoculation, *Glycine max*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – (A) Representação diagramática de uma secção longitudinal de uma raiz com ectomicorrizas. (B) Representação da colonização micorrízica arbuscular, caracterizada pela formação de arbúsculos intracelulares (adaptado de Taiz & Zaiger, 2017). UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020..... 21
- Figura 2** – (A) Demarcação dos blocos utilizados em estudo para o sistema orgânico de cultivo. (B) semeadura do experimento orgânico. (C) visualização do bloco após a semeadura. (D) colocação de bandeirinhas para diferenciação dos tratamentos utilizados. UTFPR, campus Pato Branco, 2020..... 25
- Figura 3** – A esquerda parcela amostral antes da colheita, e a direita após a colheita. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....26
- Figura 4** – À direita os nódulos das plantas dentro de cadinhos de alumínio. À esquerda os cadinhos foram levados e colocados em estufa para secagem a 60°C por 48 horas. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....27
- Figura 5** – Processo de descoloração e coloração das raízes de soja. (A) raízes preparadas para o clareamento dentro dos cassetes. (B) cassetes submersos em KOH 10% por 1 hora a 90°C. (C) raízes após o processo de coloração. (D) corante azul de tripano 0,05%. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....28
- Figura 6** – Lâmina com as raízes coradas. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....28
- Figura 7** – Classificação dos coeficientes de correlação segundo sua magnitude. (Carvalho; Lorencetti; Benin, 2004). UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....34
- Figura 8** – As setas pretas indicam a presença dos esporos. As setas vermelhas as hifas do fungo micorrízico arbuscular dentro das raízes das plantas que receberam o tratamento B + A + FMA a nível microscópico de 20X. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....37
- Figura 9** – As setas pretas seguem indicando a presença dos esporos intracelularmente, e as vermelhas, a presença das hifas. Campus Pato Branco-PR, 2020.....38
- Figura 10** – As setas indicam os esporos a nível microscópico ao aumento de 20X UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....38

Figura 11 – Esporos a nível microscópico ao aumento de 20X, indicados pelas setas. UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....	39
Figura 12 – Hifas intracelulares de micorrizas (20X). UTFPR, Campus Pato Branco-PR, 2020.....	39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Marca e ingredientes ativos utilizados no tratamento das sementes de soja. UTFPR, Câmpus Pato Branco - PR, 2020.....24
- Tabela 2** – Métodos e reagentes utilizados para clarear e corar raízes para avaliação de colonização micorrízica. UTFPR, Câmpus Pato Branco - PR, 2020.....27
- Tabela 3** – Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade dos parâmetros agrônômicos sob os diferentes sistemas de cultivo: orgânico e convencional. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.....30
- Tabela 4** – Teste de médias para a interação sistemas de cultivo (orgânico e convencional) x inoculação dos parâmetros produtividade, altura de planta, número de nós totais, número de nós reprodutivos e ramificações. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.....33
- Tabela 5** – Teste de médias para o fator sistemas de cultivo dos parâmetros número de vagens por planta, número de grãos por vagem, inserção da primeira vagem e número de nódulos.. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.....34
- Tabela 6** – Análise de correlação de Pearson entre as variáveis produtividade, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, altura de planta, inserção de primeira vagem, número de nós totais, número de nós reprodutivos, número de ramificações e número de nódulos. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.....35

LISTA DE SIGLAS

CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
PR	Unidade da Federação – Paraná
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
IAPAR	Instituto Agronômico do Paraná
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OCDE	Organization for Economic Cooperation and Development

LISTA DE ABREVIATURAS

FMA	Fungos micorrízicos arbusculares
N	Nitrogênio
Zn	Zinco
Kg	Quilograma
N ₂	Nitrogênio atmosférico
NO ³⁻	Nitrato
C	Carbono
P	Fósforo
KOH	Hidróxido de potássio
HCl	Ácido clorídrico
B + A	<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>
B + A + FMA	<i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> + Fungos micorrízicos arbusculares
sp.	Espécie
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
Cfa	Clima subtropical

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
°C	Temperatura em graus Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 GERAL	14
2.2 ESPECÍFICOS	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA	15
3.2 USO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS	17
3.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS.....	18
3.4 FUNGOS MICORRÍZICOS	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 TRATAMENTO DE SEMENTES	23
4.2 AVALIAÇÕES A CAMPO	25
4.3 DETERMINAÇÃO DA COLORAÇÃO MICORRÍZICA.....	27
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1 PARÂMETROS AGRONÔMICOS DA CULTURA DA SOJA	30
5.2 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA	36
6 CONCLUSÕES	41
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

O aumento exponencial da população mundial está diretamente relacionado à segurança alimentar, sendo uma preocupação a definição de metas para suprir a demanda global de alimentos (JUNIOR, 2019).

Nesse sentido, a soja (*Glycine max*) entra no cenário como um alimento rico em proteínas e lipídios que desempenha papel importante na cadeia produtiva de alimentos (SAVARY, et.al. 2012) e do agronegócio brasileiro (PRUDÊNCIO DA SILVA, 2010).

O Brasil é o segundo maior produtor da oleaginosa, e conta com a participação de cerca de 6,5% na produção global da cultura (FAO, 2018). Do mesmo modo, o país apresenta vantagens territoriais, climáticas e tecnológicas, quando comparado aos concorrentes internacionais (LOPES, et.al. 2016).

São inúmeros os desafios encontrados pelos produtores, para obter números expressivos no aumento da produtividade, desse modo o manejo da cultura utilizando técnicas integradas se tornam cada vez mais importantes.

Um dos fatores importantes no manejo para altas produtividades, é o momento da semeadura. Nesse sentido, o uso de sementes de alta qualidade, com boa germinação, bom vigor, boa sanidade, em conjunto ao tratamento de sementes, garante uma população adequada de plantas, além de assegurar o controle de importantes patógenos transmitidos pelas sementes (HENNING, et.al., 2010).

O tratamento de sementes consiste numa combinação de diversos produtos, tais como, fungicidas, nematicidas, inseticidas, micronutrientes, bioestimulantes, inoculantes, entre tantos outros (FRANÇA-NETO, 2015). Aliado a isso, o uso da adubação química é incorporada ao sistema, com o intuito de elevar a eficiência das culturas, resultado em máxima produtividade.

Com a busca pela racionalização dos produtos químicos, a entrada dos produtos biológicos no mercado agrícola é uma ferramenta a mais para o agricultor, pensando no manejo com racionalidade e sustentabilidade.

Desse modo, um dos inoculantes mais difundidos na cultura da soja é a base da bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, esse gênero bacteriano é capaz de formar uma simbiose com as plantas, fixando o nitrogênio (N) atmosférico e viabilizando esse nutriente para as plantas através de estruturas especializadas, denominadas

de nódulos (SYTNIKOV, 2013).

O gênero *Azospirillum brasilense* é difundido para as gramíneas, porém por ser uma bactéria promotora do crescimento de plantas e apresentar capacidade de produzir e metabolizar diversos fitôrmonios de regulação metabólica (CASSÁN, 2016), está sendo utilizada em conjunto com *B. japonicum* na cultura da soja, pelo fato de favorecer a nodulação e a fixação biológica de N realizada pelo *Bradyrhizobium* sp.

O uso da coinoculação com *B. japonicum* + *A. brasilense* na cultura da soja é uma prática economicamente viável e ambientalmente sustentável, além de apresentar ganhos médios de produtividade de 16%, praticamente o dobro quando comparado à inoculação apenas com *B. japonicum* (HUNGRIA, et.al., 2013).

Outro agente biológico de destaque são os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Os FMA são microrganismos com uma dinâmica muito importante para as plantas, pelo fato de formarem extensas redes no solo, proporcionando as plantas uma maior exploração de água e nutrientes, e, em consequência, maior resistência às condições adversas encontradas a campo (BATTINI, 2016).

Alguns estudos sugerem que a associação de *Azospirillum* sp. com FMA promove o maior rendimento de leguminosas (TORO et al., 1996; SAINI et al., 2004), e gramíneas como milho (MIYAUCHI et al., 2008) e sorgo (SAINI et al., 2004).

A associação dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* já encontra-se bastante difundido e utilizado amplamente na cultura da soja. No entanto, o uso conjunto do *Rhizophagus intraradices* é pouco explorado, bem como um comparativo entre o sistema de cultivo orgânico e convencional, necessitando informações que possam subsidiar o uso conjunto, na busca do aumento de produtividade da cultura da soja.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o potencial da associação de inoculantes bacterianos a base de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em conjunto ao inoculante micorrízico *Rhizophagus intaradices* no desenvolvimento e produtividade na cultura da soja (*Glycine max*) orgânica (BRS 284) e convencional (Monsoy 5917).

2.2 ESPECÍFICOS

- Elucidar o efeito entre dois gêneros de bactérias (*B. japonicum* e *A. brasilense*) em conjunto com o fungo micorrízico *Rhizophagus intaradices*;
- Avaliar os parâmetros agronômicos relacionados a produtividade da cultura da soja, considerando a coinoculação (*B. japonicum* e *A. brasilense*) e a trinoculação (*B. japonicum* e *A. brasilense* + *Rhizophagus intaradices*);
- Observar se há eficiência de colonização do fungo micorrízico no sistema radicular.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DA SOJA

A soja (*Glycine max*) é uma cultura que apresenta interesse a nível mundial, visto que possui os mais diversos usos, incluindo alimentação humana, animal e também na produção de cosméticos e óleos industriais.

Apesar de ser difundida entre os continentes, apresenta como centro de origem o Continente Asiático, constituindo a alimentação dos chineses há mais de 5000 anos (CAMARA, 2015). Embora tenha surgido há muitos anos, os registros de introdução da cultura no Brasil datam de 1882 no estado da Bahia por D'utra (1882).

A partir da Bahia houve a expansão da cultura para os estados de São Paulo (1892) e Rio Grande do Sul (1901) (BONATO & BONATO, 1989). No estado do Paraná a soja chegou em 1936, quando agricultores gaúchos e catarinenses se estabeleceram no estado com criação de suínos (RIBEIRO, 1977).

No Brasil a leguminosa apresenta-se como uma das principais commodities comercializadas, sendo o complexo soja responsável por 38,03% de toda a exportação referente ao agronegócio (MAPA, 2018).

A adoção do sistema de produção orgânico para a cultura da soja está em constante crescimento nos últimos anos. Isso ocorre, pelo fato de que a demanda por produtos mais saudáveis, isentos de agrotóxicos e menos poluentes é cada vez mais requerido pela população a nível mundial.

No mundo todo existe cerca de 57,8 milhões de fazendas que adotaram o sistema orgânico de produção de alimentos, o que representa um crescimento de 15% em apenas dois anos, de 2015 para 2017 (IFOAM, 2017).

O número de agricultores que estão adotando a produção orgânica teve um incremento de 12,8% desde o ano de 2015, sendo que mais de 80% desses produtores se concentram nos países em desenvolvimento, como na Índia (835.000), Uganda (210.352) e México (210.000) (IFOAM, 2017).

A área plantada no Brasil com grãos na safra 2018/19 é de 61,5 milhões de hectares (CONAB, 2018), sendo que a área destinada à produção orgânica é de apenas 750.000 hectares (IFOAM, 2017). Essa significativa diferença pode ser explicada devido à força da agricultura convencional, a qual faz com que o Brasil seja o número um em vendas de agroquímicos em todo o mundo (FROEHLICH,

2018).

A produção orgânica no Brasil apresenta uma maior expressão na área da horticultura e floricultura. As demais áreas ainda estão em desenvolvimento, visto que muitos produtores ainda apresentam certa oposição em relação à adoção do sistema orgânico.

Por conseguinte, o sistema convencional de cultivo ainda é o mais adotado no Brasil, em especial para o cultivo de grãos. A soja é representada como a cultura destaque do país, sendo que o Brasil é o segundo maior produtor da oleaginosa e conta com uma participação de 11% na produção global (MAPA, 2018).

A expansão das áreas e aumento da produtividade no Brasil ocorreu devido a uma série de fatores, entre eles a forte demanda internacional, extensas áreas aptas ao cultivo, clima adequado e também ao suporte tecnológico (PÍPOLO, et.al., 2015).

Todos esses números relacionados à cultura da soja apresentam alta expressividade devido ao intenso melhoramento genético da cultura, o qual permitiu a criação de cultivares resistentes a insetos-pragas, doenças, nematoides e também cultivares que apresentam tolerância a condições adversas como a seca por exemplo.

Além disso, a adoção do tratamento de sementes, que tem por objetivo o uso de produtos químicos e/ou biológicos com função protetora ao ataque de pragas e doenças, garante um bom desempenho inicial da cultura, reduzindo o número de falhas e aumentando a uniformidade da lavoura (MENTEN & MORAES, 2010).

Aliado a isso, a cultura da soja ainda é a oleaginosa que detém a maior área plantada no Brasil (CONAB, 2019). Portanto, recebe uma maior atenção para técnicas que possam aumentar a produtividade e rentabilidade do agricultor. Para tanto, segundo análise realizada pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, estima-se um aumento na produção de soja para o Brasil de 37% para os próximos 10 anos (OCDE/FAO, 2015).

Sabendo da necessidade pela busca de modelos sustentáveis em conjunto ao suprimento da demanda mundial de alimentos, o uso de produtos biológicos que venham somar ao manejo da cultura da soja e possam garantir um bom desempenho das plantas a campo é primordial.

3.2 USO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

Com o advento da revolução verde, em meados de 1960, a preocupação com a autossuficiência no setor de grãos alimentícios, impulsionou o setor da pesquisa e os interesses comerciais a buscar soluções para solucionar os problemas com a fome no mundo todo (DJURFELDT, 2019).

Com isso, ocorreu o melhoramento das culturas, onde surgiram cultivares de alto rendimento e que atendiam de forma positiva ao uso da adubação e irrigação (PHILLIPS, 2014). Dessa forma, a intensificação e a modernização agrícola modificaram o cenário produtivo, fazendo com que muitos produtores adotassem novas formas de produção, seja através da introdução do maquinário agrícola, até a adoção de pacotes tecnológicos, disseminados pela Revolução Verde (MOSELEY, 2015).

Tudo isso foi um conjunto de ações que foi pensado em curto prazo, suas consequências não foram avaliadas quanto aos reais danos que a monocultura e a exploração intensiva da terra poderiam causar. Sendo assim, a crescente utilização de insumos agrícolas em especial os inseticidas e fungicidas ocasionou um desequilíbrio no ecossistema, exterminando muitos insetos e microrganismos benéficos às plantas.

Com o passar dos anos, o cenário agrícola foi se modificando, as tecnologias instauradas pela Revolução verde ficaram para trás e iniciaram-se as buscas por tecnologias que auxiliassem a regeneração do ecossistema. Desse modo deu-se início o uso do plantio direto, rotação de culturas, uso da adubação verde e de cobertura e também houve a introdução de produtos biológicos, os quais tiveram a necessidade de serem introduzidos ao ambiente pelo fato de quase serem totalmente eliminados devido ao mau uso dos agroquímicos.

A segurança alimentar ainda tem como meta suprir a demanda global de alimentos (JUNIOR, 2019), porém a pressão da sociedade por alimentos isentos de moléculas químicas, menos nocivos a saúde humana, assim como a busca pela preservação ambiental está cada vez mais em evidência (BETTIOL, 2009).

Assim, o Brasil tendo como base da sua economia a agricultura, sentiu a necessidade de implantar sistemas sustentáveis de produção, utilizando o manejo integrado de pragas e doenças. Inicialmente a introdução dos produtos biológicos foi na área do controle biológico, onde registros de 1986/ 1998 mostraram às primeiras

aplicações de vírus e fungos no controle de insetos (ALVES, 1986/1998). Atualmente o uso dos biológicos não se restringe mais apenas ao controle de pragas e doenças. Já existem diversos produtos como inoculantes, nematicidas e fertilizantes que utilizam como base de produção os microrganismos.

A utilização de produtos biológicos está crescendo a cada ano no Brasil. Até novembro de 2013 se tinha apenas 52 produtos biológicos registrados no país (HALFELD-VIEIRA, 2016). No ano de 2016, segundo dados da associação brasileira das empresas de controle biológico (ABCbio, 2016), já eram 51 empresas detentoras de registro e 118 produtos comerciais liberados, sendo que destes 83 são produtos microbiológicos e 35 macrobiológicos.

O uso da associação de rizobactérias com inoculantes na cultura da soja permitiram acréscimo de produtividade de até 16% (HUNGRIA, 2013). O *Trichoderma* spp., principal agente utilizado no controle biológico de doenças, apresentou efeito promotor de crescimento em plântulas de soja, assim como efeito de biocontrole sobre o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (ZHANG, 2016).

Estudos a cerca de FMA observaram que a inoculação desses fungos na cultura do trigo, permitiu um aumento na biomassa acima do solo, no rendimento de grãos, incremento de P na biomassa e na palhada, bem como o conteúdo de Zn nos grãos (PELLEGRINO, 2015). Esses são apenas alguns exemplos positivos acerca da interação dos microrganismos com as plantas.

Sendo assim, torna-se necessário a adoção de formas sustentáveis de manejo das culturas, para que o sistema não fique restrito apenas a aplicação de defensivos químicos. Por vezes, os produtos biológicos isolados não apresentam a efetividade esperada, porém quando associados a práticas adequadas de manejo se tornam responsáveis por ganhos em nível de produtividade e de sustentabilidade do ecossistema.

3.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS

A rizosfera pode ser definida como a porção do solo em estreita relação com as raízes das plantas (HILTNER, 1904; BAKKER, 2013), onde pode ocorrer a presença de cerca de 10¹¹ células bacterianas por grama de raiz (EGAMBERDIEVA et al., 2007; LUCAS, 2014).

Os microrganismos presentes na rizosfera são essenciais para o bom

funcionamento das plantas, pois são responsáveis pela troca de nutrientes e água. As bactérias presentes nessa região são denominadas de rizobactérias pela associação com as raízes das plantas (BAKKER, 2013).

Por apresentarem efeito benéfico às plantas, algumas rizobactérias foram denominadas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR – do inglês “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*”) (BAKKER, 2013), que podem ser caracterizadas por pelo menos dois dos três seguintes critérios: competição por espaço e nutrientes, estimulação de crescimento e redução na incidência de doenças (REDDY, 2013).

As bactérias amplamente estudadas como PGPR são as do gênero *Bacillus* e também *Pseudomonas Fluorecens* que estão relacionadas com a supressividade dos solos (BETTIOL, 2009). Nos últimos anos houve um aumento do uso de microrganismos para a promoção de crescimento de plantas, principalmente na agricultura sustentável em diversas partes do mundo (GOPALAKRISHAN, 2013).

A estimulação do crescimento pelas PGPR acontece de duas maneiras, indiretamente e diretamente. A forma direta é através da absorção de nutrientes, produção de sideróforos, fixação de nitrogênio e solubilização de fosfato (REDDY, 2013), em conjunto com a produção de hormônios como o AIA (ácido indolacético) e redução dos níveis endógenos de etileno (AHEMAD & KIBRET, 2014)

Por outro lado a estimulação indireta do crescimento se dá através da proteção da planta contra os ataques ofensivos de patógenos. As PGPRs apresentam a capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades antibióticas, antifúngicas e imunossupressores capazes de dificultar e ou impedir o desenvolvimento de organismos patogênicos, bem como os compostos orgânicos voláteis que dificultam ou impedem a comunicação célula a célula (*quorum sensing*) (GROBELAK, 2015).

Uma parte das PGPRs também são diazotróficas, ou seja, capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (GROBELAK, 2015). Como é o caso da bactéria *Bradyrhizobium* sp. que é amplamente estudada e também utilizada na agricultura devido a sua capacidade de fixar nitrogênio quando em simbiose com plantas leguminosas. Algo positivo do ponto de vista de redução no suprimento químico de N, visto que a soja é uma cultura que necessita de 80 Kg de N para produzir 1000 Kg de grãos (KASCHUCK, 2016).

A associação das raízes de soja com *Bradyrhizobium* sp. faz com que haja a

formação de órgãos específicos, denominados de nódulos, onde ocorre a fixação de N (PRAKAMHANG, 2015). Na relação planta-bactéria, a planta recebe a amônia a qual é transformada a partir da fixação de N₂ pelas bactérias, e as bactérias recebem o carbono da sacarose para sustentar a fixação biológica (JUGE, 2012)

Esta simbiose contribui para a entrada de N na biosfera (SHAH, 2018), reduz a fertilização artificial, reduz a emissão de gases do efeito estufa e também a lixiviação de NO₃⁻ para os lençóis freáticos.

Outro gênero que recebe bastante atenção é o *Azospirillum* sp., que é uma bactéria promotora de crescimento com alta eficiência, pelo fato de possuir a capacidade de colonizar mais de cem espécies de plantas, contribuindo com o desenvolvimento, crescimento e produtividade (BASHAN & BASHAN, 2010).

Um mecanismo não consegue explicar o efeito total do *Azospirillum* sp. nas plantas, isso porque uma série de eventos ocorrem a partir da inoculação, como a estimulação direta do crescimento (CASSÁN, 2016) e a produção de diversos fitôrmonios, como auxinas (PRINSEN et al., 1993), giberelinas (BOTTINI et al., 1989) e citocininas (TIEN et al., 1979).

Os efeitos positivos promovidos pela associação de plantas com esse gênero de bactérias ainda incluem, alterações morfológicas no sistema radicular, conferindo um melhor desempenho ao acesso de nutrientes (KAPULNIK, 1981), e também o maior número de ramificações e nódulos (KHAN, et.al., 2010)

Logo, estudos a cerca do uso em conjunto dessas bactérias está sendo explorado na cultura da soja. Segundo Cassán (2009), a integração desses dois gêneros bacterianos promoveu o aumento da porcentagem de germinação das sementes, aumento significativo do número de nódulos por planta e de plantas noduladas, além do desenvolvimento precoce das plantas de soja.

3.4 FUNGOS MICORRÍZICOS

O termo micorriza deriva do grego que significa “fungos-raízes”, introduzido na área agrícola para descrever a associação entre plantas e fungos (FRANK, 2005). Nessa associação simbiótica os fungos recebem das plantas o carbono orgânico e em contrapartida fornecem a elas os elementos inorgânicos obtidos do solo (VAN DER HEIJDEN, 2015).

Os fungos micorrízicos são microrganismos que apresentam a capacidade de

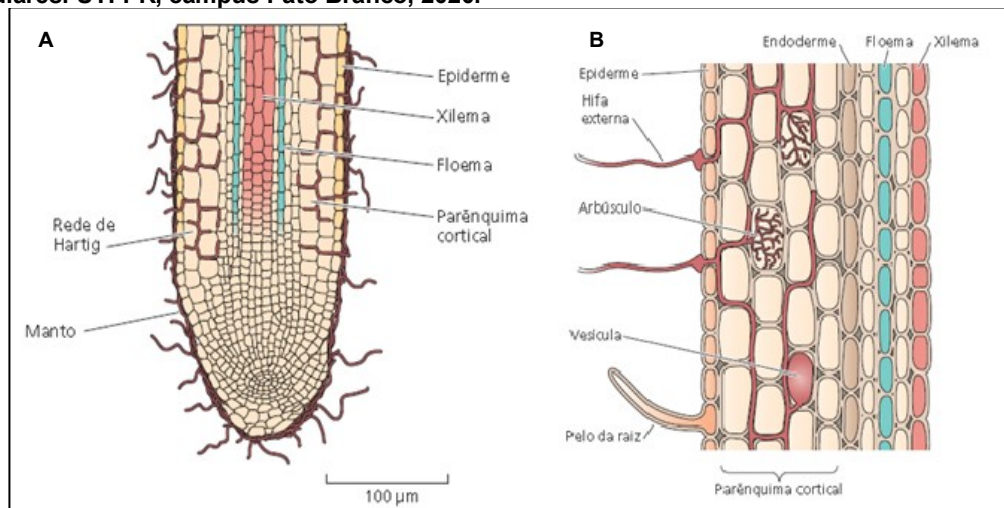
desenvolver simbiose com diversas plantas, promovendo a maior resistência a estresses abióticos e bióticos e auxiliando no crescimento (BAHMANI, 2018). A relação dos fungos com as plantas faz com que o emaranhado de hifas desenvolvido pelos microrganismos apresente um maior alcance dos nutrientes, principalmente os de mais difícil mobilidade como o fósforo, por exemplo, (BATTINI, 2016). Além disso, as hifas conseguem alcançar a água contida nas camadas mais profundas do solo, aumentando a resistência das plantas a seca (HASHEM, 2019).

As micorrizas compreendem um grupo bastante grande, classificado em sete tipos: micorrizas arbusculares (endomycorrizas), ectomicorrizas, micorrizas de orquídeas onde as hifas são produzidas no interior da raiz ou caule de orquídeas, micorrizas ericóides, ectendomycorrizas, micorrizas arbutóides e micorrizas monotrópides (VALADARES, 2016).

Dentre os sete grupos, o grupo de micorrizas arbusculares e ectomicorrizas se destacam como sendo os mais estudados e que possuem maiores informações a cerca da morfologia, crescimento e interação com as plantas.

As micorrizas arbusculares são caracterizadas justamente pela formação de arbúsculos no interior das células corticais da raiz (SIDDIQUI & PICHTEL, 2008). As hifas dessa classe apresentam uma colonização intracelular com a formação de vesículas e também esporos no interior da raiz (TAIZ & ZAGER, 2017). Já as ectomicorrizas são caracterizadas por formarem um manto ao redor das raízes e também uma rede de Hartig entre as células da raiz (Figura 1) (CLASEN, 2018).

Figura 1. (A) Representação diagramática de uma secção longitudinal de uma raiz ectomicorrizica. (B) Representação da colonização micorrizica arbuscular, caracterizada pela formação de arbúsculos intracelulares. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



FONTE: adaptado de Taiz & Zaiger (2017).

Os esporos produzidos pelas micorrizas arbusculares (MA) podem permanecer no solo por longos períodos de tempo, pelo fato da parede celular do esporo ter em sua composição a esporoprolenina, substância capaz de proteger o esporo contra os microrganismos do solo e também contra a desidratação (BONFANTE & BIANCIOTTO, 1995).

O estabelecimento de simbiose com plantas hospedeiras permite um maior equilíbrio nutricional e dessa forma contribui de forma positiva na formação dos esporos, em contrapartida o estresse ou a redução dos nutrientes, age de forma negativa (BONFANTE & BIANCIOTTO, 1995).

Os esporos e paredes das hifas dos FMA apresentam uma glicoproteína denominada de glomalina, descoberta por Wright et al. em 1996, a qual está correlacionada com a estabilidade dos agregados e com o carbono e nitrogênio dos solos. Por ser uma proteína altamente estável permite o armazenamento de matéria orgânica em formas estáveis, bem como a redução da degradação dos ecossistemas, melhoria na aeração dos solos, drenagem e atividade microbiana (LOVELOCK et al., 2004).

A glomalina é composta por 3-5% de N, 36-59% de C, 4-6% de hidrogênio, 33-49% de oxigênio e 0,03 a 0,1% de P (SCHINDLER et.al., 2007), é um composto resistente ao calor e insolúvel em água. Dessa forma, estudos sugerem que a glomalina é capaz de reduzir a disponibilidade e a toxicidade de elementos tóxicos presentes no solo, como Cu, Cd e Pb, ligando-se a esses elementos e os tornando-os indisponíveis (CORNEJO et.al.,2008). O que se torna uma importante alternativa para o cenário da agricultura sustentável que vem sendo amplamente buscado.

O uso de fungos micorrízicos arbusculares é algo que já foi bastante explorado sob diversas óticas, porém, o uso da inoculação de sementes de soja ainda é bastante recente e requer mais estudos a cerca da interação fungo-planta.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido durante a safra 2018/19 em dois locais diferentes, um no município de Verê – PR e, o outro no campo experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Dois Vizinhos. A condução do ensaio foi no delineamento para blocos casualizados, disposto em esquema fatorial 2 x 3 x 4. Tendo como fatores os dois sistemas utilizadas, três tratamentos e quatro repetições.

O solo da região da UTFPR é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, e o solo da região do Verê como Nitossolo Vermelho Eutroférico (BHERING, 2008). O clima das duas regiões se enquadram como sendo Cfa, clima subtropical, com tendência de concentração de chuvas nos meses do verão, sem estação seca definida (IAPAR, 2019).

No experimento do Verê foi conduzido o ensaio em sistema convencional utilizando a cultivar Monsoy 5917, pertencente ao grupo de maturação 5.9, apresenta hábito de crescimento indeterminado e tecnologia intacta RR2PRO, que permite a tolerância da cultivar ao glifosato e proteção contra as principais lagartas da soja (MONSOY, 2020). Já na UTFPR o ensaio foi conduzido em sistema orgânico, utilizando a cultivar BRS 284, a qual pertence ao grupo de maturação 6.3 para a REC 102 (região sudoeste do Paraná), apresenta hábito de crescimento indeterminado e é uma cultivar registrada para o cultivo orgânico (EMBRAPA, 2020).

4.1 TRATAMENTO DE SEMENTES

Os tratamentos consistiram no uso de uma testemunha, na coinoculação (*B. japonicum* + *A. brasilense*) e no uso da trinoculação (*B. japonicum* + *A. brasilense* + Micorriza), conforme tabela 1. A micorriza utilizada no estudo é da espécie *Rhizophagus intaradices*, sendo o produto comercial Rotella da empresa NovaTero.

Tabela 1. Marca e ingredientes ativos utilizados no tratamento das sementes de soja para os sistemas de cultivo orgânico e convencional. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

Tratamento	Ingrediente ativo	Dose ml.ha ⁻¹	Dose g.i.ha ⁻¹	Abreviatura	Empresa
T1 - Testemunha	Água destilada				
2	<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>	150 / 100		(B + A)	Ballagro
3	<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i> + <i>Rhizophagus</i> <i>intaradices</i>	150 / 100	120	(B + A + FMA)	Ballagro + NovaTero

* Dose calculada com base na recomendação de 50 kg de sementes de soja por hectare.

Fonte: Autor (2020).

As sementes da cultivar convencional (Monsoy 5917) receberam o tratamento químico industrial (Tiram/ Carbendazin/ Imidacloprido/ Tiodicarbe, nas doses respectivas de 15/ 35/ 15/ 45 g.i.a/ha⁻¹), sendo a dose calculada com base na recomendação de 50 Kg de sementes de soja por hectare. Posteriormente ao tratamento químico, às sementes foram armazenadas por 24 horas, no momento da semeadura foi realizado o tratamento com os microrganismos. A cultivar orgânica recebeu somente o tratamento com os inoculantes.

O sistema convencional foi semeada no dia 11 de novembro de 2018 e a colheita foi no dia 23 de março de 2019. A semeadura do sistema orgânica foi na data de 23 de outubro de 2018 e a colheita foi no dia 09 de fevereiro de 2019.

Figura 2. (A) Demarcação dos blocos utilizados em estudo para o sistema orgânico de cultivo. (B) semeadura do experimento orgânico. (C) visualização do bloco após a semeadura. (D) colocação de bandeirinhas para diferenciação dos tratamentos utilizados. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020)

Os tratos culturais foram realizados conforme o manejo dos sistemas de cultivo. Para o controle de invasoras, no sistema orgânico fez-se o arranquio e capina manual, já no convencional aplicou-se glifosato na dose comercial. Para o controle de pragas e doenças no sistema orgânico não ocorreu a aplicação de nenhum produto, e no sistema convencional utilizou-se 4 aplicações conjuntas de inseticidas e fungicidas, a partir do estágio fenológico R1, com intervalos médios de 15 dias.

4.2 AVALIAÇÕES A CAMPO

A área útil colhida de cada parcela para a cultivar convencional foi de dois metros das três linhas centrais, com espaçamento entre linhas de 0,45 centímetros (área útil 2,70 m²), descartando a linha de bordadura de cada lado da parcela. Para a cultivar orgânica seguiu-se o mesmo princípio, porém a área útil colhida foi maior, com cinco metros das três linhas centrais e espaçamento entre linhas de 0,45 centímetros (área útil 6,75 m²)

Figura 3. A esquerda parcela amostral antes da colheita, e a direita após a colheita. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020)

Para a variável produtividade foi realizada a contagem do estande plantas durante a colheita, então as plantas foram trilhadas e pesadas, para obter seu peso total e, também foi feito a pesagem de mil grãos, segundo metodologia da RAS (2017). A umidade foi determinada em conjunto com a pesagem, a fim de reduzir a variação desse parâmetro, com o auxílio do determinador de umidade da Multigrain[®], sendo que os valores obtidos foram corrigidos para 12% de umidade.

Para os componentes de rendimento, foram coletadas 10 plantas aleatórias na parcela amostral, durante o período da colheita, as quais foram levadas ao laboratório para realizar as avaliações de altura de planta, número de ramificações, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, número de nós totais e altura da inserção da primeira vagem.

As únicas variáveis que tiveram as plantas coletadas no período antecessor a colheita foram número e massa de nódulos. As plantas foram coletadas no estágio R5, pós-chuva, para facilitar o arranque sem perder as raízes.

Os nódulos foram retirados das plantas, colocados em cadinhos de alumínio, e então incubados em estufa a 60°C por 48 horas. Após esse período o material foi pesado e realizado a contagem do número total de nódulos (Figura 4). À direita, nódulos no cadinho de alumínio, á esquerda os cadinhos dispostos na estufa de secagem.

Figura 4. À direita os nódulos das plantas dentro de cadinhos de alumínio. À esquerda os cadinhos foram levados e colocados em estufa para secagem a 60°C por 48 horas. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020).

4.3 DETERMINAÇÃO DA COLORAÇÃO MICORRÍZICA

No estágio da floração as plantas foram coletadas e levadas ao laboratório para determinar a presença ou ausência das estruturas da micorriza nas raízes das plantas. Essa determinação foi feita basicamente para observação das estruturas fúngicas dentro das raízes na região do córtex, como a presença das hifas inter e intracelulares, arbúsculos, vesículas e esporos.

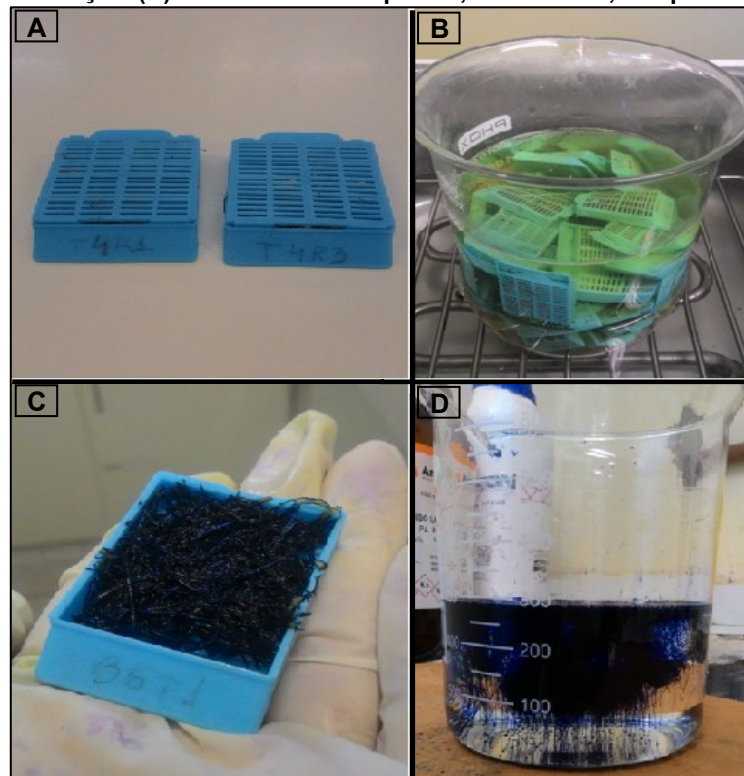
Para essa avaliação foi utilizada a metodologia de Philips & Hayman (1970), com algumas modificações, a qual seguiu os seguintes métodos:

Tabela 2. Métodos e reagentes utilizados para clarear e corar raízes para avaliação da colonização micorrízica. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

Clareamento das raízes: reagentes, tempo e T°C	Lava com água	Acidificação: reagente	Lava com água	Coloração: corante, tempo e T°C	Retirada do excesso de corante
Raízes não pigmentadas: KOH 10% por 1 h a 90°C em banho-maria	Sim	HCl diluído	Não	Azul de tripano 0,05% por 5 min a 100°C em banho-maria	Lactofenol

FONTE: Philips & Hayman (1970).

Figura 5. Processo de descoloração e coloração das raízes de soja. (A) raízes preparadas para o clareamento dentro dos cassetes. (B) cassetes submersos em KOH 10% por 1 hora a 90°C. (C) raízes após o processo de coloração. (D) corante azul de tripano 0,05%. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020)

Posteriormente a metodologia de clareamento e coloração, foi realizado a montagem das lâminas com as raízes. Colocou-se dez raízes por lâmina como na foto abaixo.

Figura 6. Lâmina com as raízes coradas. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020)

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados do experimento foram submetidos ao teste de normalidade de Lillefors, e, a variável ramificações que não atendeu a esses pressupostos, foi transformada utilizando a equação $\sqrt[3]{(x + x)}$. Posteriormente foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando significativo, agrupados pelo teste de médias de Tukey, utilizando o programa estatístico Genes (CRUZ, 2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PARÂMETROS AGRONÔMICOS DA CULTURA DA SOJA

Bradyrhizobium japonicum, *Azospirillum brasilense* e FMA são microrganismos benéficos, e que apresentam potencial de aprimorar o desempenho das plantas através do aumento de produtividade e dos atributos de qualidade. Neste estudo podemos observar os resultados obtidos a campo de forma muito próxima à realidade dos produtores rurais.

A soja sob o sistema convencional (Monsoy 5917) obteve desempenho superior a cultivar sob sistema orgânico (BRS 284). Fato esperado, considerando as condições diferenciadas de cultivo de cada uma. Sendo assim, a única variável a qual a o sistema orgânico se sobressaiu em relação ao sistema convencional, foi à altura de planta (tabela 4). Onde as plantas do orgânico apresentaram maiores médias, fato característico da própria cultivar, por ter hábito de crescimento indeterminado. Para os demais atributos em estudo, o sistema convencional obteve as maiores médias.

Houve interação significativa entre cinco das nove variáveis estudadas, sendo elas produtividade, altura de planta, nós totais, nós reprodutivos e ramificações, como observado na tabela 3. Para as variáveis número de vagem por planta, número de grãos por vagem, inserção da primeira vagem e número de nódulos não houve interação, mas houve diferença significativa entre os sistemas de cultivo. Também foi observado que os blocos em estudo apresentaram diferença entre si (tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade dos parâmetros agronômicos sob os diferentes sistemas de cultivo: orgânico e convencional. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

Fatores	GL	Produt.	NV/P	NG/V	Alt. Planta	Inserção o 1ª Vagem	Nós totais	Nós repro.	Nº Ramos	Nódulos
Blocos	3	10040,5*	87,7*	0,00503*	65,7*	17,00*	2,47*	12,71*	2,25*	3765,68*
Inoculação	2	543220,9**	67,54 ^{ns}	0,00686 ^{ns}	5,49 ^{ns}	15,27 ^{ns}	44,45**	10,97 ^{ns}	1,19 ^{ns}	285,91 ^{ns}
Sist. Cultivo	1	60085690,5**	4030,04**	0,15844**	1548,9	8**	1326,1*	495,31**	226,75**	13656,03*
Inoculação X Cultivar	2	162633,3**	66,79 ^{ns}	0,00751 ^{ns}	43,56*	9,08 ^{ns}	*	18,65*	5,27*	145,52 ^{ns}
Erro	15	17104	37,67	0,00655	6,99	4,73	2,87	4,09	1,63	881,32
TOTAL	23									
Média		3309,71	66,29	2,24	101,98	17,88	33,85	24,48	3,96	71,31
CV (%)		3,95	9,25	3,59	2,59	12,17	5,00	8,26	7,57	41,62

FONTE: Autor (2020).

Para as variáveis produtividade, nós totais, nós reprodutivos e ramificações, o sistema convencional apresentou maior média em relação ao sistema orgânico. Já para o fator inoculação, a produtividade da convencional se diferiu positivamente em relação à testemunha, apresentando maiores valores de média para a coinoculação e a trinoculação (tabela 4). Mesmo apresentando maior média, a trinoculação não se diferiu estatisticamente da coinoculação. Já para o sistema orgânico não foi observada diferença estatística entre a testemunha e as inoculações.

Observou-se que para a coinoculação e a trinoculação no sistema convencional os ganhos de produtividade foram de 15% em relação à testemunha sem tratamento biológico. Fato semelhante ao que ocorreu no estudo de Hungria, (2013), onde o uso da associação de microrganismos, na cultura da soja dentro de uma coinoculação apresentou um acréscimo no rendimento de grãos de 14,1% e na cultura do feijão os valores foram de 19,6%. Na cultura do trigo a associação de uma rizobactéria com *A. brasilense* promoveu um aumento do peso de grãos de 22% e no número de grãos os valores foram de 26%, o que resultou num rendimento superior a testemunha de 53% (ASKARY, 2009).

O aumento da produtividade na cultura em estudo pode ser explicado pela ação de sinergismo dos microrganismos, sendo o *B. japonicum* responsável pelo incremento de nodulações e o uso do *A. brasilense* com o benefício do aumento dos pelos radiculares (ROZIER, 2019), aumento da área verde, ocasionando em maior atividade fotossintética (BARASSI, 2008), levando a planta a maior absorção de fotoassimilados e fazendo com que a relação fonte – dreno seja potencializada.

A trinoculação pode não ter apresentado grande expressão em produtividade, quando comparada a coinoculação. Porém devemos considerar que o uso dos FMA contribuem de forma secundária, através do incremento da microbiota e melhoria da estrutura e agregação do solo (CAVAGNARO, 2015), promovendo um ambiente favorável para o cultivo subsequente. Outro ponto a ser considerado é o fato de que os FMA são mais eficientes em solos com baixa disponibilidade de nutrientes, em especial o fósforo, cenário muito diferente do solo encontrado na região de implantação do estudo, esclarecendo os resultados encontrados (ISLAS, 2014).

O sistema de cultivo orgânico apresentou produtividade abaixo do esperado. Isso ocorreu devido a uma série de fatores que prejudicaram a cultura, como deficiente manejo de plantas invasoras, acarretando em competição, perdas por

pragas e doenças, visto que não foi utilizado nenhum produto nesse manejo, além de no momento da colheita existir uma desuniformidade na maturação das plantas, fato que não permitiu um completo enchimento de grãos.

Por um conjunto de fatores a produtividade dessa cultivar foi afetada, frisando que os resultados negativos de produtividade encontrados na área de estudo não refletem o real potencial dessa cultivar quando cultivada em condições adequadas.

A soja sob o sistema convencional se diferiu de forma significativa da testemunha para o fator inoculação, sendo que a testemunha apresentou maior média de altura de planta. No sistema orgânico não houve diferença entre o fator inoculação e altura de planta, pois a testemunha apresentou média semelhante aos tratamentos (tabela 4).

O uso da associação de microrganismos ocasionou uma redução no tamanho das plantas. Resultado positivo que pode ser atribuído ao fato das plantas terem mobilizado maior crescimento para o sistema radicular em relação à parte aérea, proporcionado aumento de produtividade e acúmulo de N nos grãos (SANTA, 2004, PICCININ, 2013).

Para o número de nós totais houve diferença estatística entre os dois sistemas de cultivo, visto que a convencional obteve maiores valores de média. Para o fator inoculação observa-se que a trinoculação teve maior valor de média, mas que equiparou-se com os valores da coinoculação. O sistema orgânico obteve diferença entre a testemunha e os tratamentos, sendo que a coinoculação obteve maior valor de média, seguido da trinoculação (tabela 4).

Resultados muito próximos foram encontrados por Etesami (2016), onde o autor testou o uso de bactérias endofíticas em conjunto com rizobactérias na cultura do arroz e teve como resultado um incremento nos parâmetros agronômicos da cultura, bem como, aumento do sistema radicular e melhoria no conteúdo de N nas plantas. Na cultura do feijoeiro a associação de *Rhizobium tropici* + *Azospirillum* proporcionou um aumento no rendimento de grãos de até 26% em comparação ao tratamento isolado com *R. tropici* (SOUZA, 2017).

O número de ramificações também apresentou diferença estatística entre os dois sistemas de cultivo, sendo que o convencional obteve maior média. Porém não houve diferença estatística entre os tratamentos testados, visto que a testemunha apresentou média semelhante às inoculações (tabela 4). Diferente do que se observa no sistema orgânico, onde a coinoculação e trinoculação obtiveram maiores

médias em relação à testemunha.

Se tratando do uso de microrganismos promotores de crescimento, o estímulo de crescimento nas plantas pode ter sido redirecionado para outras partes da planta, como o sistema radicular. Ao mesmo tempo, os microrganismos testados produzem diversos compostos que reduzem os níveis de etileno na planta, através da produção de ACC desaminase, além de estimularem a produção de reguladores de crescimento, como o ácido indolacético (IAA), gerando a planta um sistema radicular mais saudável e resistente a estresses abióticos (BHATTACHARYYA, 2012), o que garante um ambiente favorável para o bom desempenho da planta.

A cultivar sob o sistema orgânico apresentou diferença estatística para o número de nós totais e número de ramificações em relação ao sistema convencional para o fator inoculação. Isso pode ser explicado pelo fato de que a associação dos microrganismos permitiu a mobilização de nutrientes a partir dos resíduos das culturas, bem como o alcance dos nutrientes de mais difícil mobilidade (JOHANSSON, 2004). Aliado a isso, a presença de genes para fixação de N nos FMA sugere haver um potencial de suprimento desse nutriente para as plantas micorrizadas, através da fixação do N atmosférico (MINERDI, 2001). Demonstrando que para um sistema sustentável e livre de agroquímicos as plantas também apresentam suprimento de nutrientes quando aliadas a produtos biológicos.

Tabela 4. Teste de médias para a interação sistemas de cultivo (orgânico e convencional) x inoculação dos parâmetros produtividade, altura de planta, número de nós totais, número de nós reprodutivos e ramificações. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

	Produtividade				Altura Planta				Nós Totais			
	Soja Convencional		Soja Orgânica		Soja Convencional		Soja Orgânica		Soja Convencional		Soja Orgânica	
Testemunha	4427,52	A b	1590,66	B a	95,65	B A	107,67	A A	39,90	A b	22,5	B C
Coinoculação	5098,96	A a	1798,66	B a	95,42	B Ab	110,42	A A	40,90	A ab	30,5	B A
Trinoculação	5149,45	A a	1793	B a	90,77	B B	111,95	A A	43,06	A a	26,26	B B

	Nós Reprodutivos				Ramificações			
	Soja Convencional		Soja Orgânica		Soja Convencional		Soja Orgânica	
Testemunha	29,15	A a	17,30	B B	8,37	A a	0,45	B A
Coinoculação	28,44	A a	22,63	B A	6,12	A a	1,38	B A
Trinoculação	29,50	A a	19,90	B ab	6,62	A a	0,85	B A

**Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

FONTE: Autor (2020).

Para as variáveis número de vagens por planta, número de grãos por vagem, inserção da 1ª vagem e número de nódulos, foi observado diferença estatística entre os dois sistemas de cultivo (tabela 5). Dessa forma, para essas variáveis a cultivar convencional obteve maior média em relação a cultivar orgânica.

A cultivar convencional se sobressaiu a cultivar orgânica devido ao manejo adotado nesse sistema de cultivo, visto que ocorreram aplicações de fertilizantes, fungicidas e inseticidas. Portanto os danos ocasionados por fatores externos foram minimizados. Diferentemente do que ocorre na cultivar orgânica, a qual não teve aplicação de nenhum produto químico ou manejo biológico durante o ciclo da cultura.

Para esses componentes de rendimento não se observou alteração com o uso da coinoculação e trinoculação. Isso porque o efeito dos microrganismos foi refletido no peso de grãos e não em quantidade, induzindo a maior produtividade.

O Paraná é um estado que utiliza a inoculação com gêneros bacterianos há 60 anos. Sendo assim, o banco de bactérias presentes no solo é bastante significativo, o que por vezes explica a falta de diferença existente entre a testemunha e as associações (B + A) e (B + A + FMA). As raízes das plantas se associam com as populações de bactérias nativas, expressando resultados semelhantes ao de plantas inoculadas comercialmente (BROMFIELD, 2017). Porém depender somente da população nativa é algo arriscado, isso porque o uso frequente de produtos químicos acaba prejudicando o desenvolvimento das bactérias.

Tabela 5. Teste de médias para o fator sistemas de cultivo dos parâmetros número de vagens por planta, número de grãos por vagem, inserção da primeira vagem e número de nódulos.. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

	Nº Vagem/Planta	Nº Grão/Vagem	Inserção 1ª Vagem	Nódulos
Soja Convencional	79,25*	2,33*	21,22*	95,16*
Soja Orgânica	53,33	2,16	14,54	47,45

*As médias se diferenciam entre si pelo teste T.

FONTE: Autor (2020).

Pelo fato de estar se trabalhando com um grande número de variáveis, coube realizar a análise de correlação entre elas (tabela 6). A qual tem por objetivo verificar o relacionamento entre as variáveis, ou seja, se o comportamento de uma variável

exerce ou sofre alguma interferência no comportamento de outra.

Dentro da correlação os valores obtidos podem ser positivos, demonstrando que o comportamento das variáveis é diretamente proporcional ou negativo, que explica a relação inversamente proporcional e não a inexistência de correlação, como muitas vezes pode ser interpretado. Com base nisso, os valores obtidos na análise de correlação dos dados em estudo será exibida na matriz abaixo.

Tabela 6. Análise de correlação de Pearson entre as variáveis produtividade, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, altura de planta, inserção de primeira vagem, número de nós totais, número de nós reprodutivos, número de ramificações e número de nódulos. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

	NV/P	NG/V	Alt. Planta	Inserção 1 ^a Vagem	Nós totais	Nós repro.	Ramif.	Nódulos
Produtividade	0,891*	0,635*	-0,890	0,725*	0,906**	0,882*	0,924**	-0,582
NV/P		0,605*	-0,761	0,549	0,960**	0,968**	0,881*	-0,435
NG/V			-0,484	0,413	0,593	0,580	0,609*	-0,479
Alt. Planta				-0,590	-0,813	-0,757	-0,838	0,723*
Inserção 1 ^a Vagem					0,577	0,528	0,701*	-0,281
Nós totais						0,989**	0,914**	-0,508
Nós repro.							0,888*	-0,475
Ramif.								-0,534

*Valores seguidos de * indicam correlação forte, valores seguidos de ** indicam correlação fortíssima.
FONTE: Autor (2020).

Grande parte das variáveis apresentou correlação positiva e, segundo a classificação de Carvalho; Lorencetti; Benin (2004), essa correlação foi forte a fortíssima. Sendo assim, as correlações fortes foram representadas por um asterisco.

A produtividade foi uma variável que se correlacionou de maneira fortíssima com o número de vagens por planta, inserção da primeira vagem, número de nós totais, número de nós reprodutivos e número de ramificações, demonstrando haver maior grau de dependência estatística linear entre essas variáveis. Fato esse que consegue reproduzir de forma fiel a relação entre os parâmetros necessários para que a planta apresente alta produtividade.

A variável número de nós totais apresentou correlação fortíssima com o número de nós reprodutivos (0,989**). Algo positivo pelo fato de que essa forte correlação demonstra que a maior parte dos nós presentes na planta era nós reprodutivos, o que contribui com a maior produtividade.

O número de vagens por planta também apresentou valores positivos e correlação forte com o número de nós totais, número de nós reprodutivos e número de ramificações, expressando a real dependência dessas variáveis, visto que para que haja um maior número de vagens nas plantas é necessário que ocorra um incremento nas variáveis acima citadas.

As variáveis que apresentaram valores negativos são aquelas onde uma variável foi inversamente proporcional à outra. Por exemplo, a produtividade teve correlação de -0,890, com a altura da planta, assim como o número de vagens por planta (-0.761). Demonstrando que a maior produtividade e o NV/P não está relacionada com a altura da planta, ou seja, plantas de estatura menor também são capazes de apresentar alta produtividade e maior NV/P.

Figura 7. Classificação dos coeficientes de correlação segundo sua magnitude. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.

Valor	Correlação
$r=0$	Nula
$0 < r \leq 0.30$	Fraca
$0.30 < r \leq 0.60$	Média
$0.60 < r \leq 0.90$	Forte
$0.90 < r < 1$	Fortíssima
$r= 1$	Perfeita

FONTE: Carvalho; Lorencetti; Benin (2004).

5.2 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA

Através do processo de descoloração e coloração de Phyllips & Hayman (1970), foi possível observar as estruturas da micorriza dentro das raízes das plantas que receberam o tratamento com a trinoculação. Por esse fato, foi constatado que as micorrizas tiveram a capacidade de colonizar as raízes e formar suas estruturas como arbúsculos, esporos e hifas (Figuras 8-12).

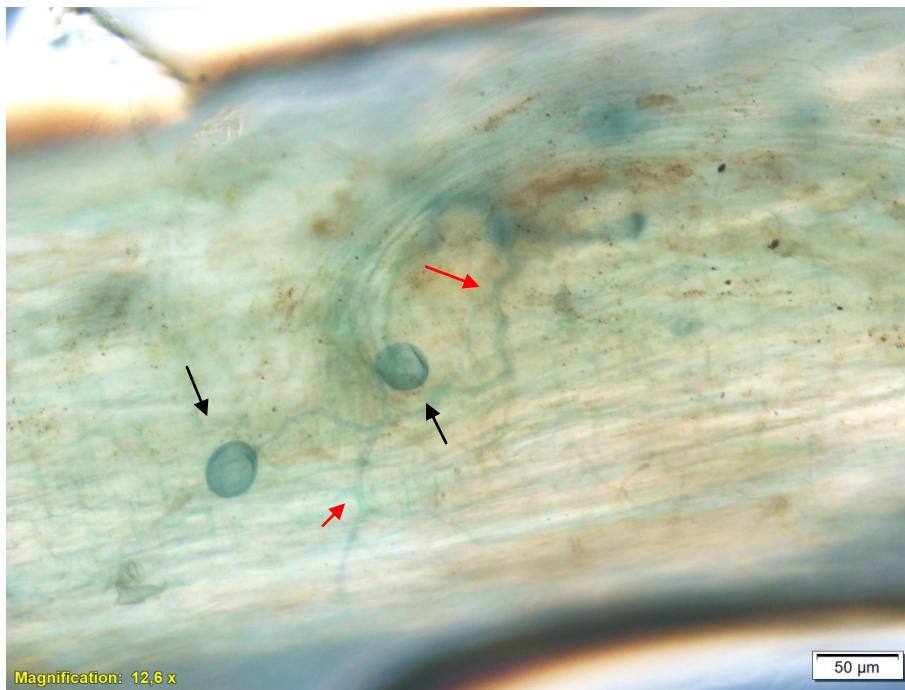
Durante o processo de simbiose os FMA penetram as células epidérmicas no córtex da raiz e então formam as hifas, as quais se ramificam de forma altamente especializada formando a estrutura denominada de arbúsculo (LUGINBUEHL, 2017). O arbúsculo é uma estrutura de extrema importância, pois é o responsável pela troca de nutrientes entre o fungo e a planta (HARRISON, 2012), estima-se que

até 90% do P e 20% do N absorvido pelas plantas pode ser proveniente das micorrizas (CAVGNARO, 2015). Além disso, as hifas formadas pelas micorrizas atuam como extensão do sistema radicular, permitindo a absorção de água nas camadas mais profundas do solo, auxiliando a planta em períodos de estresse hídrico (LUGINBUEHL, 2017).

Assim como os arbúsculos, a presença das vesículas intracelularmente é algo bastante específico e importante para a simbiose, visto que por serem órgãos ricos em lipídios, sugere-se que elas atuam como mecanismo de reserva para esses fungos.

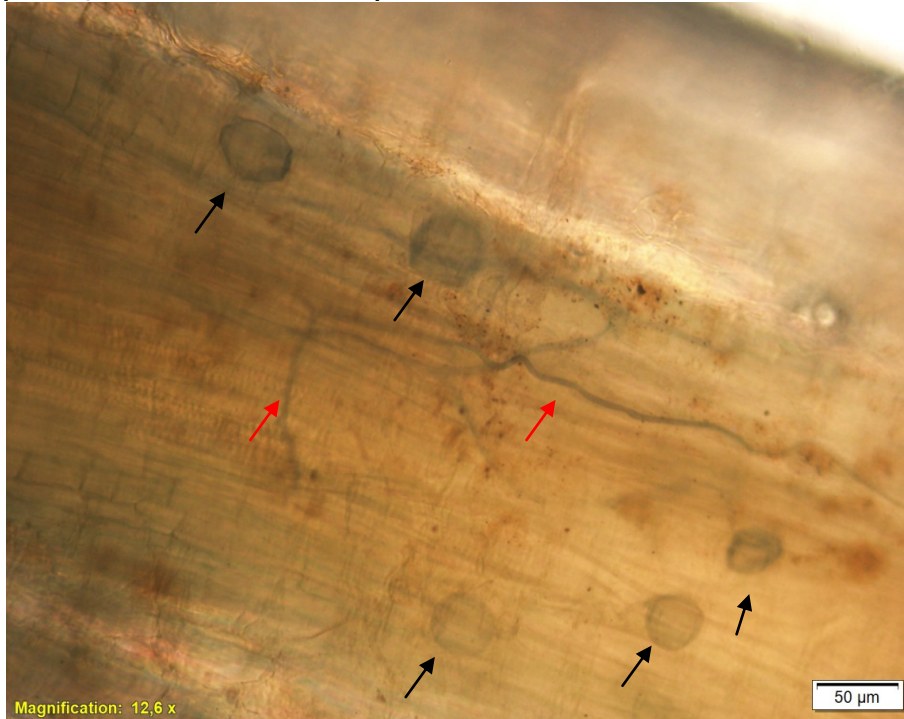
Os esporos dos FMA que foram observados dentro da raiz apresentam capacidade de permanecerem no solo por anos, sem perder a viabilidade de infectar outras raízes (TOMMERUP, 1983). Outro ponto importante em relação aos esporos, é que a formação da simbiose e o melhor relacionamento nutricional das plantas, contribui para a formação dos esporos, desse modo, o uso da trinoculação utilizando três microrganismos distintos irá contribuir não só para um incremento nutricional mas também para a maior formação de esporos de FMA, aumentando a população nativa no solo.

Figura 8. As setas pretas indicam a presença dos esporos. As setas vermelhas as hifas do fungo micorrízico arbuscular dentro das raízes das plantas tratadas com o tratamento B + A + FMA a nível microscópico 20X. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



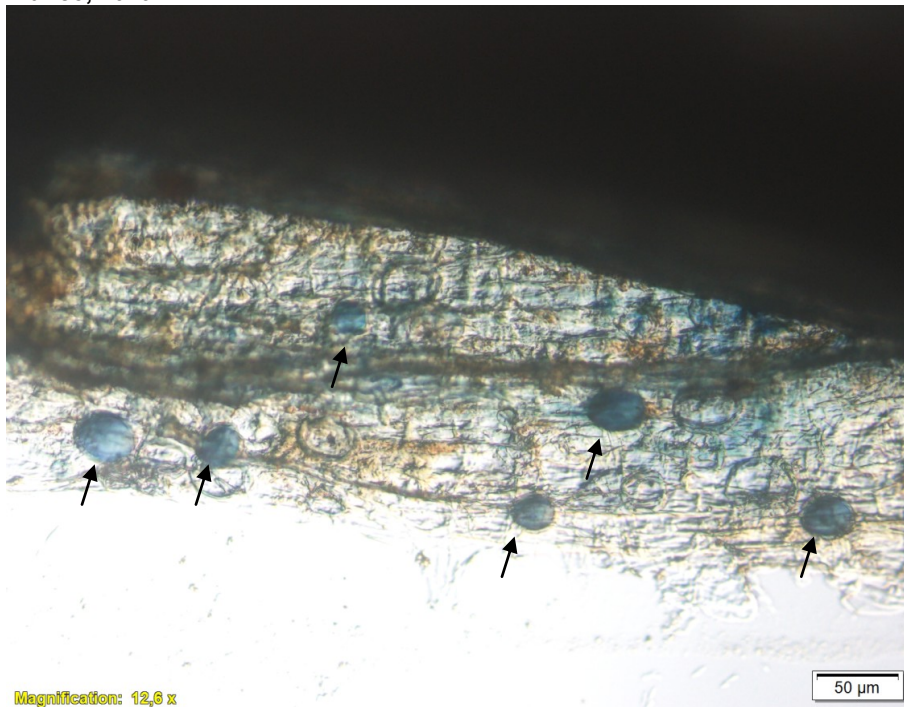
Fonte: Autor (2020).

Figura 9. As setas pretas seguem indicando a presença dos esporos intracelularmente, e as vermelhas, a presença das hifas. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



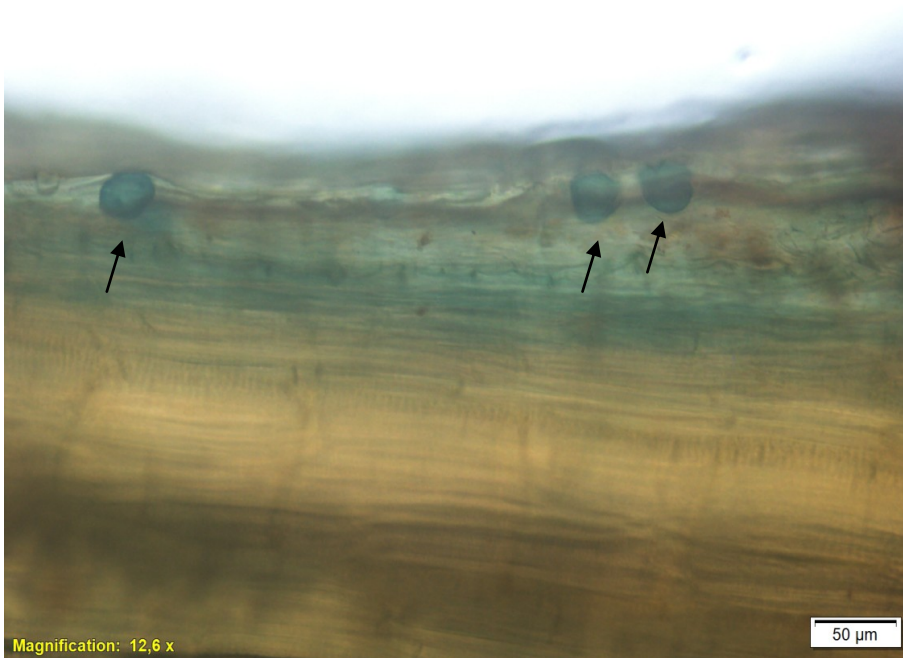
Fonte: Autor (2020).

Figura 10. As setas indicam os esporos a nível microscópico no aumento de 20X. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



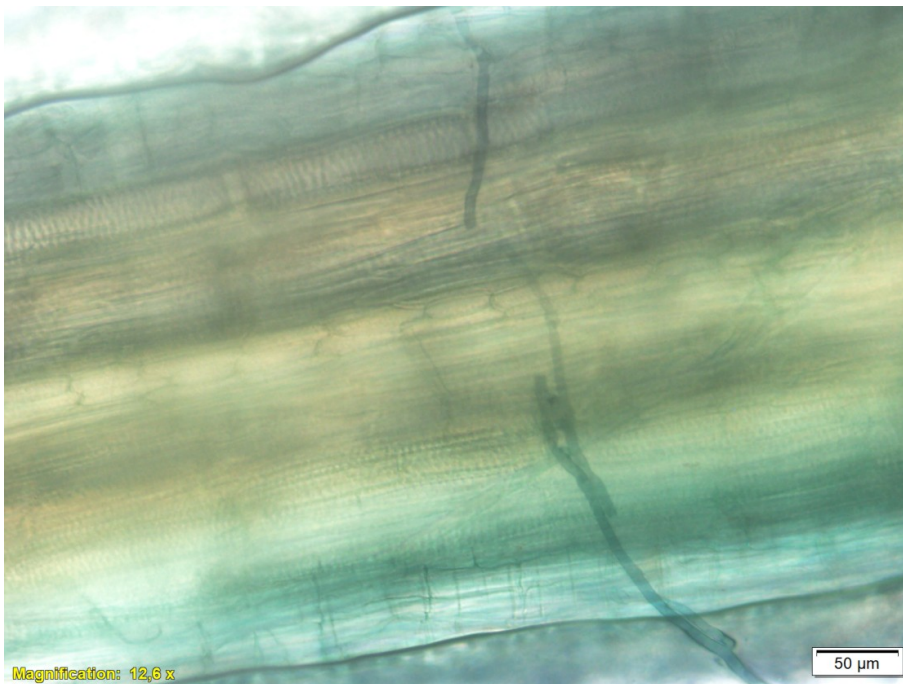
Fonte: Autor (2020).

Figura 11. Esporos ao nível microscópio de 20X, indicados pelas setas. UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020).

Figura 12. Hifas intracelulares de micorrizas (20X). UTFPR, campus Pato Branco, 2020.



Fonte: Autor (2020).

6 CONCLUSÕES

O uso da coinoculação no tratamento de sementes promoveu um acréscimo na produtividade nos dois sistemas de cultivo, sendo mais evidente no cultivo convencional. A trinoculação mostrou efetividade em termos de produtividade, mas equiparou-se a coinoculação. Sendo assim, podemos concluir que houve sinergismo entre os microrganismos testados.

A colonização micorrízica com o gênero *Rhizophagus intraradices* foi eficiente, visto que foram observadas as estruturas como esporos, arbúsculos e hifas no interior das raízes tratadas.

Dessa forma, o uso em conjunto dos inoculantes bacterianos com o inoculante micorrízico serve como uma ferramenta a mais no manejo da cultura da soja, independente do sistema de cultivo utilizado.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando algumas condições que poderiam ser melhorados nesse estudo, sugere-se que novos trabalhos devem ser realizados para avançar em outros fatores relacionados aos aspectos físicos das plantas, como volume e comprimento radicular.

Padronizar o manejo de invasoras, pragas e doenças, considerando as tecnologias para os diferentes sistemas de manejos orgânico e convencional.

Avaliar o potencial dos inoculantes em diferentes condições de fertilidade do solo, haja visto, o potencial das micorrizas estar diretamente relacionado a níveis de fósforo no solo.

Considerar o ganho na diversidade microbiológica no solo, visto que microrganismos benéficos como os utilizados, tendem a melhorar a biota e reduzir agentes patogênicos. Fazer um estudo em longo prazo, avaliando o ganho nas culturas subsequentes, considerando principalmente os fatores relacionados às características de melhoria na qualidade do solo, tanto física, química como biológica.

REFERÊNCIAS

- AHEMAD, M. KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University –Science**, v.26, p.20, 2014. DOI: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- ALVES, S.B. Controle Microbiano de Insetos. **Manole**, v.1, 1986.
- ALVES, S.B. Controle Microbiano de Insetos. **Fealq**, v.2, 1986.
- ASKARY, M. et.al. Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium melioli* plus 2,4-D on Grain Yield and N, P, K Content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). **American – Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.**, v.5, n.3, p. 296-307, 2009.
- Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, ABCBio. **A granja – Inimigos do Bem**, n. 823, ano, 73, 2016. Disponível em: <<http://www.abcbio.org.br/conteudo/publicacoes/>> Acesso em: 23 jul, 2018.
- BAHMANI, M.; NAGHDI R.; KARTOOLINEJAD, D. Milkweed seedlings tolerance against water stress: Comparison of inoculations with *Rhizophagus irregularis* and *Pseudomonas putida*. **Environmental Technology & Innovation**, v.10, p. 110 – 121, 2018. DOI: 10.1016/j.eti.2018.01.001.
- BAKKER, P.A.H.M. et. al. The rhizosphere revisited:root microbiomics. **Frontiers In Plant Science**, v.4, p.1-7, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00165.
- BARASSI, C.A. et.al. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. IN: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Associação **Argentina de Microbiología**, p. 155-166, 2008.
- BASHAN, Y.; de- BASHAN, L.E. How the Plant Growth – Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth – A Critical Assessment. **Advances in Agronomy**, v. 108, cap. 2, p. 77 – 136. DOI: 10.1016/S0065-2113(10)08002-8.
- BATTINI, F. et.al. Multifunctionality and diversity of culturable bacterial communities strictly associated with spores of the plant beneficial symbiont *Rhizophagus intraradice*. **Microbiological Research**, v.183, p. 66 – 79, 2016. DOI: 10.1016/j.micres.2015.11.012.
- BETTIOL, W., MORANDI, M.A.B. Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, v.1, p. 341, 2009.
- BHATTACHARYYA, P.N. JHA, D.D. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, n.4, p. 1327-1350, 2012. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- BHERING, S.B. Mapa de Solos do Estado do Paraná. Embrapa Solos documentos,

p.73, 2008. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/339505> Acesso em: 25 jun, 2019.

BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. A soja no Brasil: História e Estatística. EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. Documento 21, p.61, 1987.

BONFANTE, P. & BONFANTE, V. Presymbiotic Versus Symbiotic Phase in Arbuscular Endomycorrhizal Fungi: Morphology and Cytology. Mycorrhiza – Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology, p. 229, 1995. DOI: 10.1007/978-3-662-08897-5.

BOTTINI, R., FULCHIERI, M., PEARCE, D., PHARIS, R. Identification of gibberellins A1, A3, and Iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, v. 90, p. 45-47, 1989.

BRASIL, **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS,2009, 399p.

BROMFIELD, E.S.P. et.al. Soybeans inoculated with root zones soils of Canadian native legumes harbor diverse and novel Bradyrhizobium spp. That possess agricultural potential. Systematic and Applied Microbiology, v.40, n.7, p. 440-447, 2017. DOI: 10.1016/j.syapm.2017.07.007.

CAMARA, G.M.S. Introdução ao agronegócio soja. Departamento De produção Vegetal – ESALQ, 2015.

CARVALHO FIF DE, LORENCETTI C & BENIN G. Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal. Pelotas, **Editora UFPel**, p.142, 2004.

CASSÁN, F. et.al. *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.). **Soil Biology**, v. 45, p. 28- 35, 2009. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.005.

CASSÁN, F.; DIAZ- ZORITA, M. *Azospitillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, v.103, p. 117-130, 2016. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.08.020.

CLASEN, B.E. et.al. Characterization of Ectomycorrhizal species through molecular biology tools and morphotyping. **Scientia Agricola**, v.75, n.3, p. 246 – 254, 2018. DOI: 10.1590/1678-992X-2016-0419.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). Observatório Agrícola – Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2018/19, v.6, n.5, p.1 – 125, 2019. ISSN: 2318-6852.

CORNEJO, P. et.al. Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. **Science of total Environment**, v. 406, p. 154 – 160, 2008. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.07.045.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DJURFELDT, G. Green Revolution. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, v.3, p. 147-151, 2019. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.22181-1.

D'UTRA, G. Soja. **Jornal do Agricultor**, v.4, p.168, 1882.

EGAMBERDIEVA, D.et.al. High incidence of plant growth-stimulating bacteria **Environ Microbiol**, v.10,p.1-9, 2007.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Cultivares de Soja, Centro – Sul do Brasil | Macrorregiões 1,2,3, e REC 401, p. 18-19, 2019.

ETESAMI, H.; ALIKHANI, H.A. Co-inoculation with endophytic and rhizosphere bacteria allows reduced applications rates of N-fertilizer for rice plant. **Rhizosphere**, v.2, p.5-12, 2016.

FAO, Food and Agriculture Organization of The United Nations, 2018.Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>> Acesso em: 29maio, 2019.

FRANÇA-NETO, J.B. et.al. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. **EMBRAPA, documento** 380, v.1, n.380, p.82, 2016.

FRANK, B. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885). **Mycorrhiza**, v.15, p. 267-275, 2005. DOI: 10.1007/s00572-004-0329-y.

FROENLICH, A.G.; MELO, A.S.S.A.; SAMPAIO, B. Comparing the Profitability of Organic and Conventional Production in Family Farming: Empirical Evidence From Brazil. **Ecological Economics**, v.150, p. 307-314, 2018. DOI: 10.1016/j.ecolecon.2018.04.022.

GOPALAKRISHAN, S. et.al. Evaluation of *Streptomyces* spp. for their plant growth-promotion traits in rice. **Canadian Journal of Microbiology**, v.59, n.8, p.534-539,2013. DOI: 10.1139/cjm-2013-0287.

GROBELAK, A. et. al. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. **Ecological Engineering**, v.84, p.22-28, 2015. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2015.07.019.

HALFELD-VIEIRA, B.A. et.al. **Defensivos Agrícolas Naturais – Uso e Perspectivas**, v.1, cap.2, p.30 – 51, 2016.

HASHEM, A.et.al. Comparing symbiotic performance and physiological responses of

two soybean cultivars to arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.26, n.1, p.38 – 48, 2019. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.11.015.

HENNING, A.A. et.al. Importância do tratamento de sementes de soja com fungicidas na safra 2010/2011, ano de “La Niña”. **Circular técnica 82**, v.1, p.1-8, 2010.

HILTNER, L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderden berucksichtigung und Brache. **Arb.Dtsch.Landwirtsch**, n.98, p.59–78, 1904.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and commom beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v.49, n.7, p.791-801, 2013. DOI: 10.1007/s00374-012-0771-5.

IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná. Atlas Climático, 2019. NITSCHKE, P. R; CARAMORI, P. H; RICCE, W. S; PINTO, L. F D. **Atlas Climático do Estado do Paraná**. Londrina, PR, IAPAR, 2019.

IFOAM ORGANICS INTERNATIONAL. Leading Change, Organically, p.32, 2017. Disponível em: < <https://www.ifoam.bio/en/our-library/annual-reports>> Acesso em: 25 jun, 2019.

ISLAS, A.J.T. et.al. Capacidad micotrófica y eficiencia de consorcios con hongos micorrícios nativos de suelos de La província de Buenos Aires con manejo contrastante. **Revista Argentina de Microbiología**, v.46, n.2, p. 133-143, 2014. DOI: 10.1016/S0325-7541(14)70062-8.

JOHANSSON, J.F.; PAUL, L.R.; FINLAY, R.D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. **FEMS Microbiology Ecology**, v.48, n.1, p.1-13, 2004. DOI: 10.1016/j.femsec.2003.11.012.

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**, v.61, p. 147 – 157, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.05.006>

JUNIOR, R.S.N.; SENTELHAS, P.C. Soybean-maize sucession in Brazil: Impacts of sowing dates on climate variability, yelds and economic profitability. **European Journal of Agronomy**, v. 103, p. 140-151, 2019. DOI: 10.1016/j.eja.2018.12.008.

KAHAN, M.S., ZAIDI, A., MUSARRAT, J. **Microbes for Legume Improvement**. Springer, p. 544, 2010. DOI: 10.1007/978-3-211-99753-6.

KAPULNICK, Y. et.al. Effect of *Azospirillum* inoculation on some growth parameters and N-content of Wheat, Sorghum and Panicum. **Plant and Soil**, v. 61, p. 65 – 70, 1981. DOI: 0032-079X/81/0661-0065500.90

KASCHUK, G. et.al. Response of determinate and indeterminate soybean cultivars to basal and topdressing N fertilization compared to sole inoculation with *Bradyrhizobium*. **Field Crops Research**, v. 195, p. 21 – 27, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2016.05.010>.

LOPES, H.S.; LIMA, R.S.; FERREIRA, R.C. A cost optimization model of transportation routes to export the Brazilian soybean. **Custos e Agronegócios** (online), v.12, n. 4, 2016. ISSN 1808-2882.

LOVELOCK, C.E. et. al. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. **J. Ecol**, V. **92**, P. 278 – 287, 2004.

LUCAS, J.A. et.al. Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice **Plant Physiology and Biochemistry**, v.82, p.44-53, 2014. DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.05.007.

MENTEN, J.O.; MORAES, M.H.D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p.52-71, 2010. Disponível em: <http://www.abrates.org.br/images/stories/informativos/v20n3/minicurso03.pdf>. Acesso em 25 jun, 2019.

MINERDI, D. et.al. Nitrogen Fixation Genes in a Endosymbiotic Burkholderia Strain. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.2, p. 725-732, 2001. DOI: 10.1128/AEM.67.2.725–732.2001.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, **MAPA**, 2018. Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/index.htm>> Acesso em 25 jul. 2018.

MIYAUCHI, M.Y.H. et al. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. **Sci. Agric.**, v.65, p.525–531, 2008.

MONSOY – Variedades. Disponível em: <https://www.monsoy.com.br/pt-br/variedades/variedades.html>.> Acesso em : 20 Fevereiro, 2020.

MOSELEY, W.G. Food Security and “Green Revolution”. **International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences (Second Edition)**, v.2, p. 307-310, 2015. DOI: 10.1016/B978-0-08-097086-8.91019-5.

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas. **OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2015-2024**, Publicação da OCDE, Paris, 2015. Disponível em https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-es> Acesso: 24 de abril de 2019. DOI: 10.1787/agr_outlook-2015-es

PELLEGRINO, E.et.al. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. **Soil Biology & Biochemistry**, v.84, p. 210 – 217, 2015. DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.02.020.

PHILLIPS, R.L. Green Revolution: Past, Present, and Future. **Encyclopedia of Food**

Security and Sustainability, p. 529-538, 2014. DOI: 10.1016/B978-0-444-52512-3.00208-4

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, v.55, p.158-161, 1970.

PÍPOLO, A.E. et.al. Teores de óleo e proteína em soja: fatores envolvidos e qualidade para a indústria. **EMBRAPA, Comunicado técnico** 86, p.15, 2015.

PRAKAMHANG, J. et. al. Proposed some interactions at molecular level of PGPR coinoculated with *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110 and *B. japonicum* THA6 on soybean symbiosis and its potential of field application. **Applied Soil Ecology**, v. 85, p. 38–49, 2015. DOI: 10.1016/j.apsoil.2014.08.009

PRINSEN, E.et.al. Azospirillum brasilense indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a nontryptophan dependent pathw; ay. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v. 6, p. 609-615, 1993. DOI: 10.1094/MPMI-6-609.

PRUDÊNCIO DA SILVA, V. et.al. **Variability in environmental impacts of Brazilian soybean according to crop production and transport scenarios.** Journal of Environmental Management, v. 91, p. 1831-1839, 2010. DOI:10.1016/j.jenvman.2010.04.001

REDDY, P.P. Recent Advances in Crop Protection. **Springer**, 2013. DOI:10.1007/978-81-322-0723-8.

RIBEIRO, P. C. A expansão da cultura da soja no Paraná. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE SOJA, 2, Anais... Curitiba, 1977. with and without the application of dry powder. **Journal of Seed Science**, v.40, n.2, p.179-184, 2018. DOI: 10.1590/2317-1545v40n2190927.

ROZIER, C.; GERIN F.; CZARNES, S.; LENDA, L. Biopriming of maize germination by the plant growth-promoting rhizobacterium *Azospirillum lipoferum* CRT1, **Journal of Plant Physiology**, v.237, p. 111-119, 2019.

SAHARAN, B.S., NEHRA. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical nodulated *Pueraria phaseoloides* exerted by P-solubilizing rhizobacteria. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, p. 23–29, 1996.

SAINI, V.K., BHANDARI, S.C., TARAFDAR, J.C. Comparison of crop yield, soil microbial C N and P, N-fixation, nodulation and mycorrhizal infection in inoculated and non-inoculated sorghum and chickpea crops. **Field Crops Research**, v.89, p.39–47, 2004

SAVARY, S. et.al. Crop losses due to disease and **their implications for global food production losses and food security.** Food Security, v.4, p. 519-537, 2010.DOI: 10.1007/s12571-012-0200-5.

SCHINDLER, F.V. MERCER, E.J. RICE, J.A. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content.

Soil Biology & Biochemistry, v. 39, p. 320 – 329, 2007. DOI: 10.1016/j.soilbio.2006.08.017.

SHAH, V.; SUBRAMANIAM, S. Bradyrhizobium japonicum USDA 110: A representative model organism for studying the impact of pollutants on soil microbiota. **Science of the Total Environment**, v. 524, p. 953-957, 2018.

SIDDIQUI, Z.A & PICHTEL, J.A. Mycorrhizae: An overview. **Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry**, p. 1 -35, 2008. DOI: 10.1007/978-1-4020-8770-7_1.

SOUZA, J.E.B.; FERREIRA, E.P.B. Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.237, p. 250-257, 2017. DOI: 10.1016/j.agee.2016.12.040.

SYTNIKOV, D.M. How to Increase the Productivity of the Soybean – Rhizobial Symbiosis. **A Comprehensive Survey of International Soybean Research – Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships**, cap. 4, p. 82, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/51563>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Associações com micorrizas arbusculares e simbiose de fixação de nitrogênio envolvem rotas de sinalização (cap. 23). **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**, v.6, p. 695 , 2017. ISBN 978-85-8271-367-9.

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

TORO, M., AZCÓN, R., HERRERA, R. Effects on yield and nutrition of mycorrhizal and nodulated *Pueraria phaseoloides* exerted by P-solubilizing rhizobacteria. **Biol Fertil Soils**, v.29, 1996.

VAN DER HEIJDEN, M.G.A. et.al. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. **New Phytologist**, v. 205, p. 1406-1423, 2015. DOI: 10.1111/nph.13288.

VALADARES, R.B.S.; MESCOLOTTI, D.C.; CARDOSO, E.B.N. Micorrizas (cap.12) **Microbiologia do Solo**, v. 2, p. 179–196, 2016. DOI: 10.11606/978858641567.

WRIGHT, S.F. & UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.198, p. 97 – 107, 1998.

ZHANG, F.et.al. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.100, p. 64-74, 2016. DOI: 10.1016/j.plaphy.2015.12.017.

