

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**LIANDRA HARINE KULIKA**

**CO-INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E USO DE GESSO NA  
AMENIZAÇÃO DOS EFEITOS DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA E ACIDEZ NO  
SUBSOLO EM SOJA**

**PONTA GROSSA**

**2022**

**LIANDRA HARINE KULIKA**

**CO-INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* E USO DE GESSO NA  
AMENIZAÇÃO DOS EFEITOS DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA E ACIDEZ NO  
SUBSOLO EM SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Ponta Grossa como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração: Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires

**PONTA GROSSA**

**2022**

K96 Kulika, Liandra Harine  
Co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e uso de gesso na amenização dos efeitos de deficiência hídrica e acidez no subsolo em soja / Liandra Harine Kulika. Ponta Grossa, 2022.  
63 f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração: Agricultura), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires.

1. Glycine max. 2. Nitrogênio. 3. Fosfogesso. 4. BPCP. I. Caires, Eduardo Fávero. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Agricultura. III.T.

CDD: 633



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: “Co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e uso de gesso na amenização dos efeitos de deficiência hídrica e acidez no subsolo em soja”

Nome: **Liandra Harine Kulika**

Orientador: **Eduardo Fávero Caires**

**Aprovado pela Comissão Examinadora:**

Prof. Dr. Rafael Mazer Etto

Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires

Dr. Gabriel Barth

Ponta Grossa - PR, 21 de fevereiro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Mazer Etto, Professor(a)**, em 22/02/2022, às 13:10, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Fávero Caires, Professor(a)**, em 22/02/2022, às 19:24, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Gabriel Barth, Usuário Externo**, em 26/02/2022, às 16:53, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **0888679** e o código CRC **17161EA2**.

Aos meus pais, Márcia e Luiz, e meu irmão André

**Dedico este trabalho!**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pelo dom da vida e por conceder força e saúde para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Márcia e Luiz, e meu irmão André, por serem fonte de inspiração e amor, exemplo de honestidade e perseverança e pelo apoio e incentivo durante toda minha jornada até aqui.

Aos demais familiares, em especial meus tios Francisco, Deliz e Dircélia e minhas primas Juliana e Mariane, por todo suporte e carinho.

Aos meus amigos Anderson Finger, Regina Pasinato, Jorge Locatelli, Érica Oliveira, Luiz Martins e Marcos Paulo, os quais foram essenciais na minha vida durante os últimos anos.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (Propesp) pela concessão da bolsa de Mestrado.

A todos os funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEPG, em especial ao Professor Dr. Eduardo Fávero Caires, pela orientação, ensinamentos e apoio na realização desse trabalho.

A todos os meus colegas do Laboratório de Fertilidade do Solo da UEPG, em especial ao Vanderson Duarte, Lucas Polli e Welington Sieklicki, por todo o auxílio na realização desse trabalho.

A SQM VITAS Brasil, pela compreensão e tempo cedido para a conclusão e defesa desse trabalho.

A todas as pessoas que não foram citadas, mas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

*“O segredo do sucesso é a constância do propósito”*

*Benjamin Disraeli*

## RESUMO

A maioria dos solos brasileiros apresenta condições químicas desfavoráveis para o crescimento radicular em profundidade em decorrência de baixos teores de cálcio (Ca) e níveis tóxicos de alumínio (Al) no subsolo. As mudanças climáticas e o aquecimento global têm provocado secas cada vez mais intensas. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e da aplicação de gesso agrícola na amenização dos efeitos de deficiência hídrica e acidez no subsolo em plantas de soja. O delineamento experimental empregado foi em blocos completos ao acaso, no esquema fatorial  $3 \times 2 \times 2$ , com três repetições. Os fatores estudados foram: sem co-inoculação, com co-inoculação de *A. brasilense* (AbV5 e AbV6) e com co-inoculação de *A. brasilense* (AbV5 e AbV6) + aplicação de N-ureia na semeadura ( $25 \text{ kg N ha}^{-1}$ ); sem e com aplicação de gesso; e sem e com limitação de água. Aos 50 dias após a emergência, aproximadamente no estágio de desenvolvimento R<sub>2</sub> da soja, foi mensurada a taxa de fotossíntese líquida, a condutância estomática, a concentração de carbono intracelular e a transpiração foliar por meio do medidor IRGA, e os teores de clorofila a e b por meio do medidor de clorofila ClorofiLOG. A produção de massa seca da parte aérea foi mensurada e a extração de nutrientes pela parte aérea das plantas foi determinada. Após a retirada das plantas, as colunas de solo foram seccionadas nas camadas de 0–10, 10–20 e 20–50 cm e uma porção de solo de cada camada foi coletada para a realização de análises químicas. As colunas de solo seccionadas foram lavadas em água corrente e foram avaliadas a massa seca das raízes bem como o número e a massa seca dos nódulos. Os resultados mostraram que a co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense* não ocasionou benefícios evidentes no desenvolvimento da soja, independentemente das condições de deficiência de água e acidez no subsolo. Maiores benefícios foram obtidos quando a co-inoculação de *A. brasilense* foi associada com a aplicação de N-ureia na semeadura, especialmente para a absorção de Ca e a nodulação da soja. A co-inoculação de *A. brasilense* associada ao uso de gesso não potencializou o crescimento radicular da soja com o intuito de minimizar os efeitos negativos da acidez do subsolo, independentemente da condição hídrica durante o desenvolvimento das plantas. A aplicação de gesso aumentou os níveis de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no perfil do solo, reduziu a saturação por Al no subsolo, melhorou a distribuição de raízes no perfil do solo e aumentou a absorção de Ca e a fotossíntese líquida na planta de soja. O estresse hídrico reduziu a condutância estomática (8 a 10%), a massa seca de raízes (16%), a absorção de N (26%), P (15%), K (14%), Ca (21%) e Mg (17%), o número (31%) e a massa seca (28%) de nódulos, e a produção de massa seca da parte aérea (25%) da soja. Considerando os danos causados pelo estresse hídrico no desenvolvimento da soja, práticas de manejo do solo que amenizem os efeitos da deficiência hídrica devem ser incentivadas.

Palavras-chave: *Glycine max*, bactérias promotoras do crescimento de plantas, nitrogênio, fosfogesso.



## ABSTRACT

Most Brazilian soils present unfavorable chemical conditions for deep root growth due to low levels of calcium (Ca) and toxic levels of aluminum (Al) in the subsoil. Climate change and global warming have caused increasingly intense droughts. This study was carried out to evaluate the influence of co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and the application of agricultural gypsum in mitigating the effects of water deficit and subsoil acidity in soybean plants. The experiment was established as randomized complete blocks design, in a  $3 \times 2 \times 2$  factorial scheme, with three replications. The factors studied were: without co-inoculation, with co-inoculation of *A. brasilense* (AbV5 and AbV6) and with co-inoculation of *A. brasilense* (AbV5 and AbV6) + application of N-urea at sowing ( $25 \text{ kg N ha}^{-1}$ ); without and with gypsum application; and without and with water limitation. At 50 days after emergence, approximately at the R2 developmental stage of soybean, the net photosynthesis rate, stomatal conductance, intracellular carbon concentration, and leaf transpiration were measured using the IRGA meter. Chlorophyll a and b contents were evaluated using the ClorofiLOG chlorophyll meter. Shoot dry mass was measured and the nutrient extraction by shoots was determined. After the plants were removed, the soil columns were sectioned into the 0–10, 10–20, and 20–50 cm layers and a subsample of soil from each layer was collected for chemical analyses. The sectioned soil columns were washed in running water and the dry mass of the roots as well as the number and dry mass of nodules were evaluated. The results showed that the co-inoculation of soybean seeds with *A. brasilense* did not cause evident benefits in soybean development, regardless of the conditions of water deficiency and acidity in the subsoil. Greater benefits were obtained when the co-inoculation of *A. brasilense* was associated with the application of N-urea at sowing, especially for Ca uptake and soybean nodulation. Co-inoculation of *A. brasilense* associated with the use of gypsum did not increase soybean root growth in order to minimize the negative effects of subsoil acidity, regardless of the water condition during plant development. Gypsum application increased Ca and S-  $\text{SO}_4^{2-}$  levels in the soil profile, reduced subsoil Al saturation, improved root distribution in the soil profile, and increased Ca uptake and net photosynthesis in the soybean plant. Water stress reduced stomatal conductance (8 to 10%), root dry mass (16%), N uptake (26%), P (15%), K (14%), Ca (21%), and Mg (17%), the number (31%) and the dry mass (28%) of nodules, and the production of soybean shoot dry mass (25%). Considering the damage caused by water stress on soybean development, soil management practices that mitigate the effects of water deficiency should be encouraged.

Keywords: Glycine max, plant growth-promoting bacteria, nitrogen, phosphogypsum.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>12</b>
3.1	A CULTURA DA SOJA [ <i>Glycine max</i> (L.) Merrill.] .....	12
3.2	DÉFICIT HÍDRICO .....	13
3.3	UTILIZAÇÃO DE <i>Azospirillum brasilense</i> .....	15
3.4	GESSO AGRÍCOLA .....	19
<b>4</b>	<b>HIPÓTESES</b> .....	<b>22</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
5.1	IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO .....	23
5.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	23
5.3	INOCULAÇÃO DAS SEMENTES E ADUBAÇÃO .....	24
5.4	APLICAÇÃO DE GESSO AGRÍCOLA .....	24
5.5	SEMEADURA DA SOJA E REGIMES HÍDRICOS .....	25
5.6	AVALIAÇÕES DE SOLO E PLANTA .....	25
5.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	27
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
6.1	ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS DA SOJA .....	28
6.2	CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DA SOJA .....	33
6.3	ALTERAÇÕES QUÍMICAS DO SOLO .....	43
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>54</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill.] é uma leguminosa de origem Asiática da família Fabaceae, sendo a China o seu centro de origem e domesticação. A cultura foi introduzida no Brasil primeiramente no estado da Bahia, no ano de 1882 (HYMOWITZ; SINGH, 1987; DALL'AGNOL, 2016). A soja é uma das culturas agrícolas mais importantes no mundo, e seu grande potencial econômico se deve principalmente aos altos teores de óleo e proteína contidos em seus grãos (HUNGRIA; MENDES, 2015).

A produção mundial de soja esperada para a safra 2021/2022 é de aproximadamente 361 milhões de toneladas. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial do grão, demonstrando aumento de área e sobretudo de produtividade a cada safra, com uma produção estimada de 140,7 milhões de toneladas para a safra 2021/2022 (CONAB, 2021). Porém, junto com o crescimento das áreas de cultivo, surgem grandes desafios, principalmente com relação à problemas enfrentados por condições climáticas, econômicas, tecnológicas e de manejo (DALL'AGNOL, 2016).

Com as mudanças climáticas, espera-se que além das alterações nas temperaturas globais, o ciclo da água também seja alterado, provocando secas intensas em determinadas regiões, e inundações frequentes em outros locais, podendo causar impacto significativo sobre aspectos quantitativos e qualitativos da produção agrícola mundial (FAO, 2016). O déficit hídrico é um dos problemas que será enfrentado com maior frequência pelos produtores (FAO, 2016) e a resposta das plantas a esse estresse pode variar de acordo com diversos fatores, como o estágio de desenvolvimento, a resistência genética da planta e a severidade do estresse causado (FIOREZE et al., 2011), sendo que essa resposta pode incluir mudanças morfológicas e alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010; VIEIRA et al. 2017).

A soja é uma das culturas que tem apresentado perdas de rendimento de grãos devido ao déficit hídrico durante o seu ciclo de desenvolvimento. Reduções na produção de grãos já foram reportadas nas últimas safras em diversas regiões do país devido à falta de chuvas, principalmente durante a fase inicial de desenvolvimento das plantas (BARBOSA et al., 2015; CONAB, 2020). Para a cultura da soja, foram relatadas reduções de 70% no rendimento da cultura em condições de déficit hídrico (MERTZ-HENNING et al., 2018), além de uma significativa redução na qualidade dos grãos (BARBOSA et al., 2015).

A inoculação da soja com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum* spp. visa o estímulo do crescimento aliado a um melhor aproveitamento e absorção de nutrientes

pelas plantas. Benefícios na produtividade da soja após a realização da co-inoculação das sementes com estirpes de *Azospirillum* spp. em condições de deficiência hídrica vêm sendo relatados, com resultados que indicam uma melhora significativa na tolerância da planta aos efeitos causados pelo estresse hídrico (HUNGRIA et al., 2010; SILVA et al., 2019). Entre alguns resultados observados que exercem influência sobre a tolerância da planta à falta de água, podem ser citadas melhorias na taxa fotossintética, na eficiência do uso da água e no teor de clorofila das plantas avaliadas (NAVEED et al., 2014; AGAMI et al., 2016). Além disso, também foram observados aumentos no comprimento e no volume das raízes, na nodulação e na produtividade de grãos de soja, assim como maior abundância e comprimento dos pelos radiculares, sendo essas as estruturas responsáveis pela maior parte da absorção de água e nutrientes pela planta (RONDINA et al., 2020).

A utilização do gesso agrícola ou fosfogesso na agricultura brasileira vem sendo realizada desde o início da década de 1980, visando aumentar o teor de cálcio (Ca) e reduzir a toxicidade por alumínio (Al) em camadas do subsolo. Benefícios do uso de gesso agrícola na melhoria do ambiente radicular no subsolo e no desenvolvimento de diversas culturas por mitigar os efeitos negativos do déficit hídrico têm sido reportados em diversos estudos (ZAMBROSI; ALLEONI; CAIRES, 2007; NEIS et al., 2010; CAIRES et al., 2011a,b,c). Entretanto, são escassas as informações envolvendo o uso de gesso associado à co-inoculação de *A. brasilense* na cultura da soja.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e da aplicação de gesso agrícola em plantas de soja cultivadas em condições de estresse hídrico e acidez do subsolo.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar atributos fisiológicos e nutricionais nas plantas de soja submetidas à co-inoculação de *Azospirillum brasiliense* e ao uso de gesso agrícola, sem e com estresse hídrico.
- Verificar as alterações nos atributos químicos do solo, no crescimento radicular e na nodulação de plantas de soja em função da co-inoculação de *A. brasilense* e da aplicação de gesso agrícola, sem e com estresse hídrico.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 A CULTURA DA SOJA [*Glycine max* (L.) Merrill.]

A soja é uma cultura agrícola de grande destaque a nível mundial, principalmente pela grande quantidade de proteína contida em seus grãos, assim como por conter alto teor de óleo e pela sua capacidade de fixar o nitrogênio (N) atmosférico através da simbiose com bactérias do solo (HUNGRIA; MENDES, 2015).

A agricultura brasileira passou por diversos ciclos de desenvolvimento ao longo de décadas e, atualmente, o Brasil transita pelo ciclo da soja, que teve início nos anos 1970 e ganhou força a partir dos anos 1990. A influência da cultura no desenvolvimento agroindustrial do país é tão grande que, após o início de seu cultivo, o agronegócio da soja foi crescente e ocasionou grandes melhorias na balança comercial brasileira (DALL'AGNOL, 2016).

Na safra 2019/2020, o Brasil passou de segundo maior produtor, para o maior produtor mundial de soja, com uma produção de 126 milhões de toneladas, superando os Estados Unidos da América (EUA) que ocupavam o primeiro lugar (FIESP, 2020). Depois do Brasil e EUA, a Argentina e a China se encontram como terceiro e quarto maiores produtores mundiais de soja, respectivamente. A produção mundial de soja esperada para a safra 2021/2022 é de aproximadamente 361 milhões de toneladas, sendo que a área plantada no Brasil para essa mesma safra chega a quase 40 milhões de hectares, com uma produtividade estimada de 3.526 kg ha<sup>-1</sup>, totalizando 140,7 milhões de toneladas. O maior produtor brasileiro de soja é o estado do Mato Grosso, com estimativa de área total plantada de 10.825,5 milhões de hectares para a safra 2021/2022 (CONAB, 2021).

O Brasil se encontra também como maior exportador mundial de soja, com estimativa de que, em 2022, sejam exportadas cerca de 87 milhões de toneladas. Além dos aumentos esperados na produção e exportação do grão, existe também estimativa de aumento do consumo, destacando-se a China como o maior importador mundial, com estimativa de aproximadamente 100 milhões de toneladas em 2022 (CONAB, 2021).

No Brasil, o grande aumento anual da produção da soja tem sido associado a um pequeno aumento de área cultivada, revelando que é possível aumentar a produção da cultura sem necessidade de abertura de novas áreas, por meio de crescente aumento na produtividade em decorrência da utilização de novas tecnologias (EMBRAPA, 2011).

O N é o nutriente mineral requerido em maior quantidade pelas plantas, sendo que para a maioria dos ecossistemas naturais e agrícolas a fertilização nitrogenada resulta em ganhos

expressivos na produtividade das culturas. Para a soja, a nutrição adequada de N representa um importante fator para o bom desempenho agrônômico da cultura. Estimativas apontam que para a produção de 1000 kg de grãos são necessários aproximadamente 80 kg de N. Esse nutriente pode ser obtido pela planta de soja por meio da decomposição da matéria orgânica, da fixação não-biológica resultante de processos naturais, dos fertilizantes nitrogenados e do processo de fixação biológica do N<sub>2</sub> atmosférico realizado por microrganismos, sendo este último o mais importante, tanto por questões ambientais, mas principalmente por possibilitar uma significativa redução dos custos de produção da cultura (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; TAIZ et al., 2017).

A soja é uma cultura de grande importância para a agropecuária mundial, uma vez que colabora para o aumento da produção de proteína animal através da fabricação de ração e para a cadeia comercial como um todo, seja com a produção e exportação de seus produtos primários, como a proteína; secundários, como no caso do óleo; ou derivados, como o tofu e leite de soja, por exemplo. Com a grande importância econômica que a cultura exerce, surgem também grandes desafios para a sustentação do seu crescimento, tanto com relação a fatores controláveis, como questões tecnológicas, ações de manejo, controle integrado de pragas e doenças, como também fatores incontroláveis, como oscilações econômicas e condições climáticas (HIRAKURI; LAZAROTTO, 2014; DALL'AGNOL, 2016).

### 3.2 DÉFICIT HÍDRICO

As mudanças climáticas exercem grande impacto sobre a temperatura global, como também, sobre o ciclo hidrológico, alterando a formação das nuvens, a concentração de vapor na atmosfera, a precipitação pluvial e até mesmo o escoamento e a evaporação da água. Sabe-se que o aumento da temperatura do ar pode aumentar a precipitação pluvial, mas ao mesmo tempo, as chuvas podem não ser uniformemente distribuídas e variam de acordo com a temporada e a região (FAO, 2016). Espera-se que ocorra aumento da variabilidade e imprevisibilidade dos eventos climáticos anuais, além de aumento significativo no número e intensidade da ocorrência de eventos climáticos extremos. Com a intensificação das mudanças no clima, algumas áreas do Globo podem ser atingidas por fortes inundações, enquanto outras podem sofrer com longas secas (FAO, 2016). A previsão é de que a frequência das secas aumente ainda mais até o final do século 21 em regiões que já sofrem com falta de água (IPCC, 2014).

A irrigação no Brasil é responsável por cerca de 63% do uso dos recursos hídricos do país, enquanto 18% são destinados para uso humano, 14% para uso animal e 5% para uso industrial. O eminente crescimento populacional irá exigir um aumento de aproximadamente 50% na produção de alimentos, sendo que a maior parte destes, serão produzidos em áreas irrigadas, provocando um crescimento em torno de 20% da utilização da irrigação em países em desenvolvimento até o ano de 2030 (FAO, 2011; 2013).

A deficiência nutricional e hídrica ocasionada por problemas no manejo ou decorrente de condições ambientais é uma das causas mais frequentes relacionadas às perdas na produção que ocorrem no campo (LYNCH, 2007; DEN HERDER et al., 2010). De modo geral, os estresses abióticos, ou seja, aqueles causados pelas condições ambientais, são responsáveis por mais de 50% da diminuição do rendimento de plantas cultivadas em todo o mundo (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000). A seca é um estresse abiótico que exerce grande influência na produtividade das culturas agrícolas (KILIÇ; YAGBASANLAR, 2010), podendo-se considerar a falta de água como um dos fatores ambientais mais limitantes para a produtividade da soja no Brasil e no mundo, uma vez que o rendimento máximo potencial da colheita desse grão pode diminuir em 70% quando na ocorrência de déficit hídrico (MERTZ-HENNING et al., 2018). Além do rendimento, a cultura da soja pode apresentar redução significativa na qualidade dos grãos, principalmente se a falta de água ocorrer no estágio reprodutivo da cultura (BARBOSA et al., 2015).

A resposta das plantas à falta de água pode variar de acordo com diversos fatores, como o estágio de desenvolvimento da cultura, resistência genética da planta e severidade do estresse causado (FIOREZE et al., 2011). Essa resposta pode incluir mudanças morfológicas, como mudanças na taxa de crescimento da raiz, na taxa de iniciação das estruturas reprodutivas e na taxa de iniciação e expansão das folhas, bem como alterações bioquímicas, como a redução na condutância estomática, diminuição no teor de clorofila e redução na taxa de transpiração e na taxa fotossintética (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010; VIEIRA et al., 2017). Ainda, a falta de água pode alterar a atividade das enzimas do metabolismo do carbono (C) e do nitrogênio (N), além de causar alterações nos níveis de compostos antioxidantes nas células vegetais (ZOZ et al., 2013; MANTOVANI et al., 2015).

Na safra de soja cultivada em 2019/2020 foram registrados problemas em diversos estados brasileiros, como o Rio Grande do Sul, por exemplo, apresentando um início complicado, com a semeadura ocorrendo de maneira desuniforme devido ao atraso das chuvas. Também, na região produtora do MATOPIBA, as condições climáticas não foram boas no



início da safra, necessitando inclusive da realização do replantio da cultura em algumas regiões (CONAB, 2020).

Tendo em vista as limitações que as condições climáticas vêm ocasionando e a expectativa de aumento da mudança e imprevisibilidade das mesmas (IPCC, 2014), estratégias visando a diminuição dos riscos de produção e a mitigação dos efeitos prejudiciais causados pela seca nas culturas de interesse econômico e, principalmente, para a cultura da soja, são de grande interesse dos produtores. São diversas as pesquisas acerca de novas estratégias para a mitigação desse problema e, dentre as alternativas estudadas, podem ser citadas o desenvolvimento de genótipos tolerantes à seca, mudanças no calendário de safra (VENKATESWARLU; SHANKER, 2009; MORANDO et al., 2014) e a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (NAVEED et al., 2014; GUSAIN; SINGH; SHARMA, 2015; AGAMI et al., 2016; VURUKONDA et al., 2016).

### 3.3 UTILIZAÇÃO DE *Azospirillum brasilense*

Dentre os microrganismos benéficos às plantas, as bactérias promotoras de crescimento de plantas são as mais notáveis, uma vez que ao serem inoculadas nas plantas, podem trazer diversos benefícios, como: regulação de hormônios vegetais (LIU et al., 2016), aumento na concentração de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e proteínas, melhoria na atividade fisiológica (NAVEED et al., 2014), aumento do volume e da matéria seca da raiz (INAGAKI et al., 2014), alterações benéficas das propriedades do solo, indução de novos genes (VURUKONDA et al., 2016), nodulação precoce (CHIBEBA et al., 2015), fixação biológica de N<sub>2</sub>, solubilização de fosfato (MARRA et al., 2012), redução da toxidez de metais pesados por meio da produção de sideróforos (TANK; SARAF, 2009) e maior produção e atividade de enzimas antioxidantes (GUSAIN; SINGH; SHARMA, 2015; AGAMI et al., 2016).

Trabalhos realizados na cultura da soja em condições de déficit hídrico, demonstraram que a co-inoculação de *B. japonicum* USDA 110 e *P. putida* NUU8 aumentaram significativamente o comprimento e a massa seca das raízes, o tamanho e a massa seca da parte aérea, bem como o número de nódulos por planta (JABBOROVA et al., 2021). As interações de algumas respostas das plantas à inoculação podem também conferir à planta tolerância à seca, promovendo melhorias na taxa fotossintética, na eficiência do uso da água e no teor de clorofila. Desse modo, estes microrganismos se tornam uma alternativa sustentável para a mitigação dos efeitos negativos causados pelo estresse hídrico nas plantas (NAVEED et al., 2014; AGAMI et al., 2016).

As bactérias do gênero *Azospirillum* englobam um grupo importante dentro das bactérias promotoras do crescimento de plantas, tendo em vista que são utilizadas há muito tempo como inoculante de plantas em nível mundial (HUNGRIA et al., 2010; MARKS et al., 2013). Esse grupo de bactérias são organismos de vida livre e podem ser encontrados em quase todo o mundo, se destacando especialmente por sua capacidade em estimular o crescimento das plantas através de diversos mecanismos, como através da fixação biológica de N<sub>2</sub> e pela síntese de hormônios responsáveis pelo crescimento vegetal, os quais auxiliam, inclusive, no crescimento do sistema radicular, o que contribui para a nodulação por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (HUERGO et al., 2008; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016). Além disso, a melhoria das características radiculares ocasionada pelo gênero *Azospirillum* pode aumentar a tolerância da planta à restrição hídrica e a outros estresses abióticos (CEREZINI et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Estudos realizados em campo no estado do Paraná com a inoculação de diversas estirpes de *A. brasilense* nas culturas de trigo e milho demonstraram respostas promissoras das estirpes AbV5 e AbV6. Essas respostas positivas resultaram na identificação das estirpes que são atualmente a base da maioria dos inoculantes comerciais produzidos no Brasil e, devido aos bons resultados alcançados a cada safra, vêm apresentando aumento significativo de sua utilização no campo nos últimos cinco anos. Além do aumento na produtividade das culturas, que chegou a quase 30% para a cultura do milho, aumentos na absorção de diversos nutrientes também foram atribuídos aos efeitos da inoculação com *A. brasilense* (HUNGRIA et al., 2010).

Ao avaliar a resposta agrônômica do trigo (cultivar Tbio Sintonia) e milho safrinha (cultivar 2B 688 PW) em diferentes estágios de desenvolvimento, após a inoculação com *A. brasilense* em adição à adubação nitrogenada, Mumbach et al. (2017) demonstraram que essa associação resultou em aumento na produtividade e na produção de matéria seca das culturas, porém, sem o uso de fertilizantes nitrogenados, a resposta das culturas foi muito inferior. Foram relatados também incrementos no rendimento de grãos e no teor total de N dos grãos de arroz de sequeiro (cultivar Taranga) após a inoculação das linhagens de *A. brasilense* REC3 e *A. brasilense* 13-2C (PEDRAZA et al., 2009).

Avaliações da co-inoculação de *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) em sementes de soja inoculadas com *B. japonicum* (estirpe SEMIA 5079) e *B. diazoefficiens* (estirpe SEMIA 5080) em quatro regiões distintas no Brasil (Ponta Grossa-PR, Londrina-PR, Rio Verde-GO e Cachoeira Dourada-GO) e três diferentes cultivares (BRS 133, BMX-Potência RR e BRS-GO-8360) demonstraram que a co-inoculação foi benéfica e eficiente, promovendo aumentos na

produtividade de soja sem a necessidade de adição de fertilizantes nitrogenados, propiciando aumentos de até 17,1% no rendimento de grãos (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015).

Estudos sobre a co-inoculação de *A. brasilense* (estirpe Az 39) com *B. japonicum* (estirpe E 109) na soja (cultivar Don Mario) demonstraram resultados benéficos com relação à promoção da germinação de sementes e crescimento acelerado das plântulas, e na quantidade e atividade dos nódulos nas raízes de plantas jovens de soja. A capacidade dessas bactérias em promover tais resultados pode estar diretamente relacionada com a biossíntese de fitormônios bacterianos produzidos durante o cultivo (CASSÁN et al., 2009).

Em estudo realizado em campo com a cultura da soja, comparando a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* (estirpe Az 39) e de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe E 109) e a inoculação simples de *B. japonicum*, com e sem déficit hídrico, foi observado aumento no peso de nódulos nas fases vegetativa e reprodutiva, além de incremento no acúmulo de N com a co-inoculação em relação à utilização de *Bradyrhizobium* isoladamente (BENINTENDE et al., 2010). Outro estudo relatou aumentos na produtividade de três cultivares de soja (BMX Ativa, TEC 6029 e BMX Potência), com a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6), de *Bradyrhizobium japonicum* (estirpe SEMIA 5079) e de *Bradyrhizobium diazoefficiens* (estirpe SEMIA 5080) quando comparada com a inoculação convencional apenas de *B. japonicum* e *B. diazoefficiens* (FIPKE et al., 2016).

Em estudos realizados com a cultura da soja em diversas regiões no estado do Paraná, na safra 2019/2020, Prando et al. (2020) constataram um aumento médio de 36% no número de nódulos com a realização da co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *A. brasilense* se comparado às plantas não inoculadas. Já, em um estudo conduzido em ambiente controlado, os resultados mostraram que a co-inoculação na soja (cultivar BRS 1010IPRO) de *B. japonicum* (estirpe SEMIA 5079) e *B. diazoefficiens* (estirpe SEMIA 5080) e das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, proporcionou melhoria em diversas características morfológicas do sistema radicular das plantas, como o aumento no comprimento e volume da raiz, maior abundância e comprimento dos pelos radiculares, assim como aumento no número de nódulos (RONDINA et al., 2020).

Estudos realizados em casa de vegetação com o objetivo de avaliar a co-inoculação de *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) e *B. japonicum* (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080) em plantas de soja da cultivar 5D 615 RR submetidas a estresse hídrico moderado e severo, demonstraram que a co-inoculação amenizou os efeitos causados pelo estresse hídrico, conferindo maior tolerância à seca e mantendo o crescimento das plantas. A co-inoculação melhorou a nodulação nas raízes em condições de estresse hídrico severo, e reduziu a taxa de

aborto de frutos em condições de estresse hídrico moderado, não apresentando efeito na taxa de aborto de frutos em condições de estresse hídrico severo (SILVA et al., 2019).

Trabalhos realizados com o objetivo de avaliar a nodulação em plantas de soja da cultivar BRS 295RR em ensaios de campo e em casa de vegetação revelaram aumento no crescimento das plantas e precocidade da nodulação com a co-inoculação das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* após inoculação da estirpe SEMIA 5079 de *B. japonicum* e da estirpe SEMIA 5080 de *B. diazoefficiens* (CHIBEBA et al., 2015).

Avaliações realizadas comparando a adubação nitrogenada, a inoculação de *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6), a inoculação de *B. japonicum* (estirpe 5080) e *B. elkani* (estirpe 587) e a co-inoculação destas duas bactérias na cultivar BRS 1001PRO de soja demonstraram que a resposta proporcionada pelas inoculações e pela co-inoculação foram equivalentes à da adubação nitrogenada mineral quanto ao crescimento inicial da planta e aos componentes de produção como número de vagens, número de grãos, peso seco de haste e vagens, massa de grãos e produtividade estimada (FACHINELLI; CECCON, 2020).

Cabe destacar, no entanto, que os efeitos da associação de *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* na cultura da soja ainda são contraditórios. Estudos têm revelado que a co-inoculação de *Azospirillum* spp. pode apresentar diferentes respostas dependendo de fatores como a disponibilidade hídrica e o genótipo da planta (BULEGON et al., 2017; NAOE et al., 2020), sendo que em certas condições a co-inoculação não afeta as características agrônômicas e rendimento de grãos em determinados cultivares de soja (ZUFFO et al., 2016).

Ao avaliar o efeito da co-inoculação de *A. brasilense* e *B. japonicum* em plantas de soja submetidas ao déficit hídrico em épocas de semeadura distintas, constatou-se que, dependendo do material genético utilizado, a resposta foi diferente com relação à co-inoculação. Neste estudo, foram utilizados dois cultivares (ANTA 82 e TMG 132), porém, apenas um (TMG 132) teve aumento no rendimento de grãos durante o déficit hídrico após a co-inoculação (NAOE et al., 2020). Desse modo, mesmo com diversos efeitos benéficos já registrados com relação à co-inoculação de *Azospirillum* spp. após inoculação com *Bradyrhizobium*, os efeitos dessa associação em plantas de soja sob estresse hídrico ainda requerem mais estudos (CEREZINI et al., 2016).

Além do déficit hídrico e o genótipo da planta, a interação de diversos outros fatores pode também ocasionar as variações encontradas em diferentes estudos com relação à resposta da soja à co-inoculação. Fatores como o método utilizado para a co-inoculação, o tipo de inoculante, a cepa bacteriana utilizada e as condições ambientais e climáticas podem ser determinantes para o sucesso da co-inoculação. A dose aplicada também pode influenciar na

resposta da planta, uma vez que algumas cepas bacterianas apresentam alta produção de fitohormônios, o que pode inibir o crescimento das plantas se as doses forem excessivas, se fazendo necessário, nesses casos, o ajuste fino da dose de aplicação de acordo com o que está sendo observado para a cultura e para o genótipo (HUNGRIA et al., 2013; BRACCINI et al., 2016).

Com relação aos fatores edafoclimáticos, alta temperatura, baixa intensidade luminosa, baixa umidade, deficiência de fósforo (P), alta salinidade e altas quantidades de N mineral no solo podem influenciar negativamente o processo de fixação biológica de N<sub>2</sub> por microrganismos. Igualmente aos demais fatores, a acidez do solo, além de causar diversos outros problemas em áreas agrícolas, pode também atuar reduzindo a taxa de fixação biológica de N<sub>2</sub> pelas plantas (BELNAP, 2001; FAGERIA; NASCENTE, 2014).

### 3.4 GESSO AGRÍCOLA

Problemas com a acidez do solo são uma importante limitação ao cultivo agrícola tanto em regiões de clima temperado como em regiões tropicais (FAGERIA; NASCENTE, 2014). A toxicidade do alumínio (Al) associada ao baixo teor de cátions básicos, especialmente cálcio (Ca), no subsolo afeta diretamente a produtividade das culturas, principalmente pela redução na absorção de água e nutrientes pelas plantas decorrente do limitado desenvolvimento do sistema radicular. Uma boa alternativa para a supressão desses efeitos é a utilização de gesso agrícola (CARVALHO; VAN RAIJ, 1997).

O gesso agrícola é um subproduto, em forma de pó, obtido durante o processo de produção de ácido fosfórico, cujo produto é utilizado para a fabricação de alguns fertilizantes fosfatados. Levando em conta seu peso seco, o gesso contém aproximadamente 950 g kg<sup>-1</sup> de sulfato de Ca di-hidratado e, em média, 7,5 g kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (MALAVOLTA et al., 1992; VITTI, et al., 2008).

Desde a década de 1980, o gesso vem sendo utilizado visando amenizar os efeitos da acidez no subsolo por meio do aumento no teor de cálcio (Ca) e redução dos níveis tóxicos de alumínio (Al). Mesmo quando aplicado em superfície, os produtos da dissolução do gesso descem pelo perfil do solo atuando como um condicionador de subsuperfície. A utilização de gesso também pode causar melhoria nos efeitos da adubação nitrogenada e da fixação biológica de N<sub>2</sub> promovida pela co-inoculação com bactérias como *A. brasilense*, uma vez que o N tem a sua absorção favorecida quando em conjunto com determinados nutrientes, e o gesso por sua vez, possui quantidades consideráveis de cálcio (Ca) e enxofre (S) e pequenas quantidades de

fósforo (P), os quais podem contribuir para a ocorrência desse sinergismo (MALAVOLTA; MORAES, 2007).

Vários estudos têm demonstrado efeitos positivos da aplicação de gesso na melhoria do ambiente radicular em sistema plantio direto (ZAMBROSI; ALLEONI; CAIRES, 2007; NEIS et al., 2010; CAIRES et al., 2011a,b,c). Em estudos de longo prazo, a utilização de gesso melhorou as condições químicas de subsolos ácidos sob plantio direto, aumentando os teores de Ca e de sulfato no perfil do solo. Porém, a movimentação de magnésio (Mg) trocável das camadas superficiais para as camadas do subsolo causada pela aplicação de doses elevadas de gesso vem sendo relatada em diversos estudos, podendo ser minimizada com a aplicação de calcário dolomítico em superfície (CAIRES et al., 2003; 2006; 2011; RAMPIM et al., 2011; ZANDONÁ et al., 2015).

Estudos verificaram que a aplicação de gesso ocasionou aumentos de 9,3% e 11,4% no rendimento de grãos de milho e soja, respectivamente, na ausência de chuvas em período crítico de desenvolvimento das culturas (ZANDONÁ et al., 2015). A utilização de gesso também pode ser importante em campos de produção de sementes de soja, uma vez que a sua aplicação proporciona melhoria na qualidade dos grãos por meio de aumento nas concentrações de P, K, Ca e S nos grãos da cultura (CAIRES et al., 2006).

Em um estudo que comparou a aplicação de três doses de gesso (3, 6 e 9 t ha<sup>-1</sup>), verificou-se que não houve influência de nenhuma das doses aplicadas na produtividade da soja em três cultivos. Entretanto, foram relatadas melhorias no sistema radicular das plantas no subsolo e aumento de P tanto no tecido foliar da soja, como também na camada subsuperficial do solo (CAIRES et al., 2003).

Outro estudo de longo prazo verificou que a aplicação de gesso após a calagem com calcário dolomítico se mostrou uma estratégia eficaz na diminuição da toxicidade de Al, no aumento do teor de Ca e na melhoria da fertilidade do solo, bem como no aumento da produtividade e do estoque de C e da atividade biológica em um solo altamente intemperizado sob sistema plantio direto (INAGAKI et al., 2016).

A aplicação de gesso aumenta significativamente o teor de Ca trocável e a capacidade de troca de cátions efetiva do solo, e isso pode criar um ambiente mais favorável para o crescimento radicular e, conseqüentemente, possibilitar maior absorção de água e nutrientes, aumentando o rendimento de grãos de soja (FAGERIA et al., 2014). Em cultivos de milho e trigo, a aplicação de gesso também resultou em aumento na disponibilidade de Ca e sulfato nas camadas mais profundas do solo, ocasionando incrementos nas produtividades dessas culturas (BESEN et al., 2021).

Além de aumento dos níveis de Ca ao longo do perfil do solo, foram relatados aumentos de 164% na produção de matéria seca de forragem de milho (*Zea mays*) consorciado com Brachiaria [*Urochloa brizantha* cv. Marandu] com a aplicação de calcário e gesso em superfície, quando comparados com áreas sem a aplicação desses dois insumos. Conseqüentemente, houve um aumento estimado em 225% na produção de carne dos animais que se alimentam dessas forragens. Dessa forma, a aplicação de gesso se mostra também uma boa alternativa para a maximização do lucro em sistemas sustentáveis de produção agropecuária (CRUSCIOL et al., 2019).

#### 4 HIPÓTESES

- Os benefícios da co-inoculação das sementes de soja com *Azospirillum brasilense* são mais evidentes em condições de deficiência de água e acidez no subsolo.
- A co-inoculação de *Azospirillum brasilense* associada ao uso de gesso potencializa o crescimento radicular da soja e minimiza os efeitos negativos da acidez do subsolo em condições de deficiência hídrica durante o desenvolvimento da cultura.



## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido em ambiente controlado, na casa de vegetação da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O solo utilizado no experimento foi coletado na Fazenda Escola “Capão da Onça” da UEPG, classificado como um Latossolo Vermelho com alta acidez manejado sob sistema plantio direto. O solo coletado foi seco ao ar e peneirado em malha de 2 mm, sendo que uma parte desse solo foi incubada com calcário dolomítico por um período de 90 dias, a fim de elevar a saturação por bases para 60%. Durante o período de 90 dias da incubação do calcário, a umidade do solo foi mantida na capacidade de campo a fim de favorecer a reação do calcário com o solo. Após o período de incubação, os solos com alta acidez e corrigido foram submetidos à caracterização química e os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1. A porção de solo corrigida com calcário foi disposta nos primeiros 10 cm de um tubo de policloreto de vinila (PVC), que apresentava as seguintes medidas: 50 cm de altura e 15 cm de diâmetro. O restante do tubo de PVC (10–50 cm) foi preenchido com o solo de alta acidez, com a finalidade de simular condições de subsolo ácido.

**Tabela 1.** Resultados das análises químicas do solo corrigido utilizado na camada de 0–10 cm e do solo com alta acidez utilizado na camada de 10–50 cm, antes da instalação do experimento.

Solo na coluna	pH (CaCl <sub>2</sub> )	H+Al	Al	Ca	Mg	K	P <sup>1</sup>	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	C	V <sup>2</sup>
		----- mmolc dm <sup>-3</sup> -----					--- mg dm <sup>-3</sup> ---	g dm <sup>-3</sup>	%	
<b>Solo corrigido (0–10 cm)</b>	5,7	38,3	0	33	23	1,4	22,2	7,5	16,6	60
<b>Solo com alta acidez (10–50 cm)</b>	4,2	82,4	16	12	3	1,5	15,9	12,3	15,6	17

<sup>1</sup>P extraído com solução de Mehlich-1. <sup>2</sup>V = Saturação por bases.

### 5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi em blocos completos ao acaso, no esquema fatorial 3 × 2 × 2, com três repetições. Os fatores estudados foram: sem co-inoculação de *A. brasilense*, com co-inoculação de *A. brasilense* e com co-inoculação de *A. brasilense* + N; sem e com aplicação de gesso; e sem e com limitação de água.

### 5.3 INOCULAÇÃO DAS SEMENTES E ADUBAÇÃO

As sementes de soja, cultivar Brasmax Lança 58i60 RSF IPRO, foram co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* após inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* no momento da semeadura. Todas as sementes de soja utilizadas no experimento foram inoculadas com *B. japonicum* utilizando inoculante líquido comercial na dose de 2,0 mL kg<sup>-1</sup> de sementes, o qual continha  $5,0 \times 10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC) mL<sup>-1</sup>, sendo que essa concentração foi confirmada em contagem de bactérias totais em laboratório. A co-inoculação das sementes com *A. brasilense* foi efetuada com as estirpes AbV5 e AbV6, de acordo com as recomendações descritas em Hungria (2011) e Hungria; Nogueira e Araujo (2013), por meio da utilização de inoculante líquido na dose de 2,0 mL kg<sup>-1</sup> de sementes, o qual continha  $2,0 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>.

A adubação de semeadura foi realizada por meio da abertura de um sulco no centro de cada tubo de PVC. No tratamento com *A. brasilense* mais aplicação de N, o N foi aplicado na forma de ureia, na semeadura, na dose de 25 kg ha<sup>-1</sup> de N. Em todos os tratamentos foi realizada adubação básica de semeadura com P, K e S, utilizando a formulação 0–20–20 (N–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–K<sub>2</sub>O) com 3% de S, na dose de 2,16 g da formulação sulco<sup>-1</sup>, o equivalente a 320 kg da formulação ha<sup>-1</sup>. Foi realizada também adubação de cobertura com cloreto de potássio (KCl), na dose de 0,27 g KCl tubo<sup>-1</sup>, o equivalente a 150 kg KCl ha<sup>-1</sup> ou 90 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>.

### 5.4 APLICAÇÃO DE GESSO AGRÍCOLA

Nos tratamentos com aplicação de gesso agrícola, a dose de gesso foi definida em função da análise química do subsolo, de acordo com o método proposto por Caires & Guimarães (2018). A composição do gesso aplicado era de 227 g/kg de Ca, 160 g/kg de S, 15 g/kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 152 g/kg de umidade. O gesso foi aplicado na dose de 8,5 g tubo<sup>-1</sup>, o equivalente a 4,8 Mg ha<sup>-1</sup>, na superfície das colunas de solo, cerca de duas semanas antes da semeadura da soja. Logo após a aplicação de gesso, todos os tubos foram irrigados com uma quantidade de água equivalente a 45 mm Mg<sup>-1</sup> de gesso aplicada, totalizando 3,8 L de água tubo<sup>-1</sup>, sendo a irrigação realizada aos poucos, dividida em seis dias seguidos, para que não ocorresse lixiviação e nem percolação do gesso pela borda dos tubos, visando a ação do produto de forma mais uniforme ao longo do perfil.

## 5.5 SEMEADURA DA SOJA E REGIMES HÍDRICOS

A semeadura da soja foi realizada no dia 23 de dezembro de 2019, cerca de duas semanas após a aplicação do gesso, com a umidade do solo na capacidade de campo, colocando-se seis sementes por coluna (tubo). Após a emergência das plântulas, realizou-se o desbaste, mantendo-se duas plantas de soja por coluna de solo.

Após a semeadura, foram aplicados dois regimes hídricos, por meio da manutenção da umidade do solo a 80% da capacidade de campo com regas diárias (sem limitação de água) e com turno de regas visando elevar a umidade do solo a 80% sempre que a mesma alcançasse 40% da capacidade de campo (com limitação de água). Os tubos foram pesados e monitorados diariamente, durante todo o período de desenvolvimento das plantas, com aplicação da lâmina de água quando necessária.

## 5.6 AVALIAÇÕES DE SOLO E PLANTA

Aos 50 dias após a emergência das plântulas de soja, aproximadamente no estágio fenológico de desenvolvimento R<sub>2</sub>, foram realizadas medições da taxa de fotossíntese líquida, da condutância estomática, da concentração de C intracelular e da transpiração foliar por meio do medidor IRGA ("Infrared gas analyzer") em aparelho MARRICHI LiCor-6400. As determinações foram realizadas na folha mais desenvolvida de cada planta (Figura 1a), no período da manhã e novamente no período da tarde. Durante o período da manhã realizaram-se também leituras de clorofilas a e b por meio do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG da marca FALKER (Figura 1b). Em seguida, as plantas foram cortadas na base, identificadas, lavadas em água deionizada, colocadas para secar em estufa a 60°C até alcançarem massa constante e, posteriormente, foram pesadas para a determinação da massa seca da parte aérea. Depois, as amostras foram moídas para a determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg e S, utilizando-se os métodos descritos em MALAVOLTA; VITTI e OLIVEIRA (1997). A extração dos nutrientes pelas plantas foi calculada multiplicando-se a massa seca pelos teores dos nutrientes na parte aérea das plantas.

**Figura 1.** Determinações de atributos fisiológicos em plantas de soja aos 50 dias após a emergência: (a) taxa de fotossíntese líquida, condutância estomática, concentração de carbono intracelular e transpiração por meio do medidor IRGA ("Infrared gas analyzer") em aparelho Mairichi LiCor-6400, e (b) leituras de clorofilas a e b por meio do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG.



(a)

(b)

Após a coleta das plantas, as colunas de solo foram seccionadas nas camadas de 0–10, 10–20 e 20–50 cm. Uma pequena porção de solo de cada camada foi cuidadosamente retirada para a realização de análises químicas. Nessas amostras, determinaram-se o pH em solução de  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , a acidez potencial (H + Al) pelo uso de solução tampão SMP, e os teores de Al, Ca e Mg por meio de extração com solução de  $\text{KCl}$   $1 \text{ mol L}^{-1}$ , e de P extraível e K trocável por meio de extração com solução de Mehlich-1, de acordo com os métodos descritos em Pavan et al. (1992). Análises de  $\text{S-SO}_4$  no solo também foram realizadas por meio de extração com solução de fosfato de cálcio  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e determinação pelo método turbidimétrico (CANTARELLA; PROCHNOW, 2001).

As colunas de solo seccionadas foram lavadas em água corrente para a remoção do solo, e as raízes e os nódulos foram separados com o uso de peneira com malha de 0,5 mm e, após, com o auxílio de uma pinça. Depois da limpeza, as amostras com as raízes foram colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar à  $60^\circ\text{C}$  até alcançarem massa constante e pesadas em balança analítica para a determinação da massa seca de raízes. Depois da separação das raízes, realizou-se a contagem do número total de nódulos em cada amostra, incluindo nesta contagem os nódulos pequenos, ou seja, aqueles em processo de formação. Posteriormente, os nódulos foram colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar à  $60^\circ\text{C}$  até alcançarem massa constante e pesados em balança analítica para a determinação da massa seca de nódulos.

## 5.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram submetidos à análise de variância, de acordo com o delineamento em blocos completos ao acaso no esquema fatorial  $3 \times 2 \times 2$ . Os efeitos dos tratamentos envolvendo a inoculação de *A. brasilense*, a aplicação de gesso e os regimes hídricos foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5%. No caso de interação significativa entre os tratamentos, foram realizados os devidos desdobramentos.

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS DA SOJA**

As avaliações realizadas no período da manhã com o medidor IRGA e o medidor eletrônico de clorofila indicaram alterações significativas na taxa de fotossíntese líquida, a qual foi maior com a aplicação de gesso, e na condutância estomática das plantas, a qual foi menor sob estresse hídrico. Os demais atributos fisiológicos avaliados não foram alterados significativamente pelos tratamentos ou suas interações (Tabela 2).

**Tabela 2.** Taxa de fotossíntese líquida (TFL), condutância estomática (CE), concentração de carbono intracelular (CCI), transpiração foliar (TF), clorofila A (Cl a) e clorofila B (Cl b) da soja medidas no período da manhã, considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	TFL	CE	CCI	TF	Cl a	Cl b
	$\mu\text{mol CO}_2$ $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	$\text{mol m}^{-2}$ $\text{s}^{-1}$	$\mu\text{mol CO}_2$ $\text{mol ar}^{-1}$	$\text{mmol H}_2\text{O}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	----- $\text{g g}^{-1}$ -----	
<b>Co-inoculação</b>						
Sem <i>A. brasilense</i>	23,54	1,24	323,18	9,42	22,35	9,44
Com <i>A. brasilense</i>	24,35	1,29	323,16	9,56	23,51	9,84
Com <i>A. brasilense</i> + N	23,65	1,24	324,55	9,55	22,86	9,62
DMS	1,40	0,14	5,46	0,38	1,68	0,64
<b>Gesso (G)</b>						
Sem gesso	23,36 b	1,23	324,20	9,53	23,01	9,74
Com gesso	24,33 a	1,28	323,06	9,50	22,80	9,52
DMS	0,94	0,09	3,68	0,26	1,13	0,43
<b>Estresse hídrico</b>						
Sem estresse hídrico	23,80	1,31 a	325,35	9,58	22,96	9,50
Com estresse hídrico	23,88	1,20 b	321,91	9,44	22,86	9,77
DMS	0,94	0,09	3,68	0,26	1,13	0,43
<i>Nível de significância</i>						
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Gesso (G)	*	ns	ns	ns	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	ns	*	ns	ns	ns	ns
Interação CI × G	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação CI × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Interação G × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo, \* significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

As avaliações realizadas no período da tarde com o medidor IRGA indicaram alterações significativas somente na condutância estomática das plantas. Assim como observado no período da manhã, a condutância estomática foi menor sob a condição de estresse hídrico (Tabela 3).

**Tabela 3.** Taxa de fotossíntese líquida (TFL), condutância estomática (CE), concentração de carbono intracelular (CCI) e transpiração foliar (TF) da soja medidas no período da tarde, considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico (EH).

<b>Tratamento</b>	<b>TFL</b>	<b>CE</b>	<b>CCI</b>	<b>TF</b>
	$\mu\text{mol CO}_2$ $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	$\text{mol m}^{-2}$ $\text{s}^{-1}$	$\mu\text{mol CO}_2$ $\text{mol ar}^{-1}$	$\text{mmol H}_2\text{O}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$
<b>Co-inoculação</b>				
Sem <i>A. brasilense</i>	23,72	1,06	314,53	10,73
Com <i>A. brasilense</i>	23,36	1,11	314,52	10,77
Com <i>A. brasilense</i> + N	22,63	1,06	318,56	10,09
DMS	1,25	0,09	7,03	0,97
<b>Gesso</b>				
Sem gesso	22,92	1,08	317,26	10,31
Com gesso	23,55	1,07	314,48	10,75
DMS	0,84	0,06	4,74	0,65
<b>Estresse hídrico</b>				
Sem estresse hídrico	23,47	1,13 a	317,06	10,64
Com estresse hídrico	23,00	1,02 b	314,68	10,42
DMS	0,84	0,06	4,74	0,65
<i>Nível de significância</i>				
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns
Gesso (G)	ns	ns	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	ns	**	ns	ns
CI × G	ns	ns	ns	ns
CI × EH	ns	ns	ns	ns
G × EH	ns	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O aumento da taxa de fotossíntese líquida encontrado com a utilização de gesso pode estar relacionado com o aumento da disponibilidade de Ca e S no solo e à melhoria do ambiente radicular para o desenvolvimento das plantas.

A condutância estomática diz respeito a capacidade das folhas em realizar trocas gasosas com o meio a partir da abertura ou fechamento dos estômatos. A diminuição significativa da condutância estomática em condições de estresse hídrico encontrada tanto nas medições realizadas pela manhã como no período da tarde pode ser explicada pelas diversas alterações fisiológicas que ocorrem na planta em resposta a estresses abióticos, como o déficit hídrico. Neste caso, o fechamento dos estômatos é uma das primeiras respostas da planta ao enfrentamento das condições adversas de disponibilidade hídrica, visando a redução da perda



de água (TAIZ et al., 2017; VIEIRA et al., 2017). O estresse hídrico pode causar uma considerável inibição na fotossíntese, devido a maior resistência difusiva e pela consequente redução na assimilação do CO<sub>2</sub>, o que acaba restringindo o desenvolvimento, crescimento e produtividade das plantas (PEAK et al., 2004). No presente estudo, a redução ocorrida na condutância estomática não foi suficiente para causar alterações significativas na fotossíntese. Em plantas de feijão submetidas ao estresse hídrico, Oliveira; Fernandes e Rodrigues (2005) identificaram que a diminuição na condutância estomática foi proporcional ao aumento da limitação hídrica.

A produção de massa seca da parte aérea da soja não foi influenciada significativamente pelos tratamentos de co-inoculação e aplicação de gesso. Somente o estresse hídrico reduziu significativamente a produção de massa seca da parte aérea da soja. A extração de Ca pela planta foi maior no tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* + N em relação ao tratamento sem co-inoculação. A aplicação de gesso também aumentou a extração de Ca pela planta. A indução do estresse hídrico diminuiu significativamente a extração de N, P, K, Ca e Mg pela planta. A produção de massa seca da parte aérea e a extração dos nutrientes não foram influenciadas significativamente pela interação dos tratamentos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Produção de massa seca da parte aérea (MS) e extração de nutrientes pela planta de soja, considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	MS	N	P	K	Ca	Mg	S
	g planta <sup>-1</sup>	----- mg planta <sup>-1</sup> -----					
<b>Co-inoculação</b>							
Sem <i>A. brasilense</i>	17,0	522	73	550	251 b	49	25
Com <i>A. brasilense</i>	16,5	493	79	523	275 ab	52	23
Com <i>A. brasilense</i> + N	17,5	467	70	583	306 a	58	27
DMS	1,0	57	18	96	53	9	6
<b>Gesso</b>							
Sem gesso	16,5	500	69	547	247 b	53	23
Com gesso	17,0	489	80	558	308 a	53	26
DMS	0,5	38	12	64	35	6	4
<b>Estresse hídrico</b>							
Sem estresse hídrico	19,5 a	568 a	80 a	595 a	310 a	58 a	27
Com estresse hídrico	14,5 b	420 b	68 b	509 b	245 b	48 b	23
DMS	0,5	38	12	64	35	6	4
<i>Nível de significância</i>							
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
Gesso (G)	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	**	**	*	*	**	**	ns
CI × G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CI × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
G × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O aumento na extração de Ca pela soja, promovido pela co-inoculação de *A. brasilense* + N pode estar associado ao efeito sinérgico do Ca com o N (MALAVOLTA; MORAES, 2007). A adição de N promove aumento na divisão celular, o que resulta em aumento da necessidade de Ca pela planta, uma vez que esse nutriente é responsável pela estruturação do tecido vegetal, sendo o principal componente da lamela média da parede celular das plantas (TAIZ et al., 2017).

Estudos realizados por Hungria, Nogueira e Araujo (2015) identificaram inconsistências nos resultados referentes aos teores foliares de macronutrientes dos experimentos realizados em Londrina (PR) e Ponta Grossa (PR) utilizando as estirpes AbV5 e AbV6 de *A. brasilense*. No experimento conduzido em Londrina não se observou qualquer

alteração nos teores dos macronutrientes, enquanto em Ponta Grossa foi observado incremento no teor foliar de N com a co-inoculação.

A aplicação de gesso agrícola aumentou significativamente a extração de Ca pela parte aérea da planta. Destaca-se que o gesso agrícola é uma excelente fonte de Ca para as plantas (MALAVOLTA; MORAES, 2007). Não foram observadas alterações significativas na massa seca da parte aérea e na extração de N, P, K, Mg e S pela cultura da soja com o uso de gesso.

As plantas submetidas ao estresse hídrico apresentaram redução da massa seca da parte aérea na ordem de 25% quando comparadas àquelas que cresceram sem restrição hídrica. Cabe ressaltar que uma resposta precoce das plantas ao estresse hídrico é a redução da área foliar e da taxa de crescimento das plantas (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010).

A extração de N, P, K, Ca e Mg pela parte aérea da soja foi menor na condição de estresse hídrico certamente porque a extração desses nutrientes pela planta foi prejudicada pela falta de água, uma vez que a absorção dos nutrientes pelo sistema radicular das plantas ocorre através da solução do solo, onde a água desempenha papel fundamental, servindo como veículo para o transporte dos íons minerais dissolvidos até a superfície radicular (TAIZ et al., 2017). Além disso, a redução da massa seca da parte aérea e da extração de nutrientes em condição de déficit hídrico está aliada à diminuição da condutância estomática que ocorreu em condições de limitação hídrica. Leão et al. (2011) avaliaram o estado nutricional de plantas de sorgo submetidas ao estresse hídrico e constaram redução no acúmulo de K na parte aérea das plantas decorrente do déficit hídrico.

A ausência de efeito do gesso e do estresse hídrico na extração de S pela parte aérea da planta pode ser explicada pelo fato de a cultura da soja apresentar maior habilidade na absorção e transporte de S das raízes até a parte aérea quando comparada com a cultura do milho (SILVA et al., 2003). Ao avaliarem as concentrações de nutrientes nas folhas de milho, trigo e soja após a aplicação de gesso, Caires et al. (2011a) observaram aumento nos teores foliares de S no trigo e no milho, mas o mesmo não ocorreu na soja. Destaca-se também que o S foi aplicado na adubação básica de semeadura visando atender a demanda nutricional de S das plantas.

## 6.2 CRESCIMENTO RADICULAR E NODULAÇÃO DA SOJA

Na camada superficial do solo (0–10 cm), o número de nódulos de soja foi maior no tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* + N do que nos tratamentos com ou sem co-inoculação de *A. brasilense*. A aplicação de gesso ocasionou redução na massa seca de raízes

nessa camada de solo. O estresse hídrico proporcionou menor massa seca de raízes, menor massa seca de nódulos e menor número de nódulos de soja (Tabela 5).

**Tabela 5.** Massa seca de raízes (MSR), massa seca de nódulos (MSN) e número de nódulos (NN) de soja na camada superficial do solo (0–10 cm), considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	MSR	MSN	NN
	----- g planta <sup>-1</sup> -----		nódulos planta <sup>-1</sup>
<b>Co-inoculação</b>			
Sem <i>A. brasilense</i>	1,48	0,76	252 b
Com <i>A. brasilense</i>	1,45	0,77	235 b
Com <i>A. brasilense</i> + N	1,64	0,82	323 a
DMS	0,33	0,21	65,5
<b>Gesso</b>			
Sem gesso	1,66 a	0,76	279
Com gesso	1,39 b	0,80	261
DMS	0,22	0,14	44,2
<b>Estresse hídrico</b>			
Sem estresse hídrico	1,69 a	0,94 a	339 a
Com estresse hídrico	1,36 b	0,63 b	200 b
DMS	0,22	0,14	44,2
<i>Nível de significância</i>			
Co-inoculação (CI)	ns	ns	**
Gesso (G)	*	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	**	**	**
Interação CI × G	ns	ns	ns
Interação CI × EH	ns	ns	ns
Interação G × EH	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

Na camada de 10–20 cm, a co-inoculação de *A. brasilense* + N também proporcionou maior número de nódulos de soja do que os tratamentos com ou sem co-inoculação de *A. brasilense*. O estresse hídrico ocasionou redução no número e na massa seca de nódulos de soja.

A massa seca de nódulos também foi influenciada pela interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico (Tabela 6).

**Tabela 6.** Massa seca de raízes (MSR), massa seca de nódulos (MSN) e número de nódulos (NN) de soja na camada de 10–20 cm, considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	MSR	MSN	NN
	----- g planta <sup>-1</sup> -----		nódulos planta <sup>-1</sup>
<b>Co-inoculação</b>			
Sem <i>A. brasilense</i>	0,49	0,19	93 b
Com <i>A. brasilense</i>	0,41	0,24	108 b
Com <i>A. brasilense</i> + N	0,47	0,25	149 a
DMS	0,15	0,08	37,2
<b>Gesso</b>			
Sem gesso	0,45	0,25	126
Com gesso	0,46	0,21	107
DMS	0,10	0,05	25,0
<b>Estresse hídrico</b>			
Sem estresse hídrico	0,50	0,28 a	150 a
Com estresse hídrico	0,41	0,18 b	83 b
DMS	0,10	0,05	50,1
<i>Nível de significância</i>			
Co-inoculação (CI)	ns	ns	**
Gesso (G)	ns	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	ns	**	**
Interação CI × G	ns	ns	ns
Interação CI × EH	ns	ns	ns
Interação G × EH	ns	*	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O desdobramento dos efeitos dessa interação (Tabela 7) revelou que o estresse hídrico reduziu a massa seca de nódulos na ausência de gesso e, na presença do gesso, o estresse hídrico não influenciou a massa seca de nódulos. A aplicação de gesso diminuiu a massa seca de nódulos somente na ausência de estresse hídrico.

**Tabela 7.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico na massa seca de nódulos na camada de 10–20 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Gesso		Efeito
	Sem gesso	Com gesso	
Massa seca de nódulos de soja de 10–20 cm (g planta <sup>-1</sup> )			
Sem estresse hídrico	0,33 Aa	0,17 Ab	**
Com estresse hídrico	0,23 Ba	0,19 Aa	ns
Efeito	*	ns	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo, \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%.

Na camada de solo mais profunda (20–50 cm), somente a massa seca de raízes de soja foi influenciada significativamente pela interação entre os tratamentos de co-inoculação com *A. brasilense* e estresse hídrico. O número e a massa seca de nódulos nessa camada não foi influenciada significativamente pelos tratamentos e suas interações (Tabela 8).

**Tabela 8.** Massa seca de raízes (MSR), massa seca de nódulos (MSN) e número de nódulos (NN) de soja na camada de 20–50 cm, considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	MSR	MSN	NN
	----- g planta <sup>-1</sup> -----		nódulos planta <sup>-1</sup>
<b>Co-inoculação</b>			
Sem <i>A. brasilense</i>	1,28	0,17	95
Com <i>A. brasilense</i>	1,46	0,18	108
Com <i>A. brasilense</i> + N	1,40	0,20	121
DMS	0,31	0,10	43,3
<b>Gesso</b>			
Sem gesso	1,29	0,18	120
Com gesso	1,48	0,19	96
DMS	0,21	0,06	29
<b>Estresse hídrico</b>			
Sem estresse hídrico	1,46	0,18	94
Com estresse hídrico	1,31	0,20	122
DMS	0,21	0,06	29,2
<i>Nível de significância</i>			
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns
Gesso (G)	ns	ns	ns
Estresse hídrico (EH)	ns	ns	ns
Interação CI × G	ns	ns	ns
Interação CI × EH	*	ns	ns
Interação G × EH	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo e \*: significativo a 5%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico (Tabela 9) mostrou que a co-inoculação de *A. brasilense* + N proporcionou maior massa seca de raízes de soja do que o tratamento sem co-inoculação, somente na ausência de estresse hídrico. Por sua vez, o estresse hídrico somente reduziu a massa seca de raízes de soja no tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* + N.

**Tabela 9.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico na massa seca de raízes na camada de 20–50 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Co-inoculação			Efeito
	Sem <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i> + N	
Massa seca de raízes de soja de 20–50 cm (g planta <sup>-1</sup> )				
Sem estresse hídrico	1,17 Ab	1,56 Aab	1,65 Aa	*
Com estresse hídrico	1,39 Aa	1,37 Aa	1,17 Ba	ns
Efeito	ns	ns	*	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo e \*: significativo a 5%.

Quando se considerou todo o perfil da coluna de solo (0–50 cm), constatou-se que o tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* + N proporcionou maior número total de nódulos do que os tratamentos com ou sem co-inoculação de *A. brasilense*. A massa seca total de raízes e de nódulos não foi influenciada pelos tratamentos de co-inoculação. A aplicação de gesso reduziu o número total de nódulos e não alterou a massa seca total de raízes e de nódulos. O estresse hídrico ocasionou redução significativa na massa seca total de raízes e no número e na massa seca total de nódulos de soja (Tabela 10).



**Tabela 10.** Massa seca total de raízes (MSR), massa seca total de nódulos (MSN) e número total de nódulos (NN) de soja no perfil da coluna de solo (0–50 cm), considerando a co-inoculação das sementes com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	MSR	MSN	NN
	----- g planta <sup>-1</sup> -----		nódulos planta <sup>-1</sup>
<b>Co-inoculação</b>			
Sem <i>A. brasilense</i>	3,25	1,14	440 b
Com <i>A. brasilense</i>	3,34	1,20	451 b
Com <i>A. brasilense</i> + N	3,53	1,28	592 a
DMS	0,60	0,24	86,8
<b>Gesso</b>			
Sem gesso	3,41	1,20	525 a
Com gesso	3,34	1,22	464 b
DMS	0,40	0,16	58,5
<b>Estresse hídrico</b>			
Sem estresse hídrico	3,66 a	1,40 a	584 a
Com estresse hídrico	3,08 b	1,01 b	405 b
DMS	0,40	0,16	58,48
<i>Nível de significância</i>			
Co-inoculação (CI)	ns	ns	**
Gesso (G)	ns	ns	*
Estresse hídrico (EH)	**	**	**
Interação CI × G	ns	ns	ns
Interação CI × EH	ns	ns	ns
Interação G × EH	*	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

A massa seca total de raízes foi influenciada significativamente pela interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico. O desdobramento dos efeitos dessa interação revelou que o estresse hídrico somente reduziu a massa seca total de raízes de soja no tratamento sem aplicação de gesso (Tabela 11).

**Tabela 11.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico na massa seca total de raízes de soja no perfil da coluna de solo (0–50 cm).

Estresse hídrico	Gesso		Efeito
	Sem gesso	Com gesso	
Massa seca total de raízes de soja (g planta <sup>-1</sup> )			
Sem estresse hídrico	3,92 Aa	3,41 Aa	ns
Com estresse hídrico	2,90 Ba	3,27 Aa	ns
Efeito	**	ns	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo e \*\*: significativo a 1%.

A co-inoculação de *A. brasilense* associada com a aplicação de N na semeadura aumentou significativamente o número de nódulos nas camadas de 0–10 e 10–20 cm em relação aos tratamentos sem e com co-inoculação de *A. brasilense*, demonstrando que a adubação nitrogenada na semeadura (25 kg N ha<sup>-1</sup>) causou benefícios à nodulação da soja. A co-inoculação das sementes com *A. brasilense* após inoculação de *B. japonicum* não ocasionou nenhuma alteração na nodulação da soja em relação à inoculação exclusiva de *B. japonicum* (controle), independentemente da disponibilidade hídrica.

A resposta positiva da soja encontrada nesse trabalho com relação à adubação nitrogenada na semeadura associada à co-inoculação não corrobora com a maioria dos trabalhos encontrados na literatura, uma vez que estes estudos relataram redução do número e massa de nódulos (MENDES et al., 2008; AMBROSINI, 2019) e afirmam que a aplicação da adubação nitrogenada é desnecessária quando realizada a co-inoculação (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2015; BRACCINI, et al., 2016), apontando inclusive prejuízos com a utilização de fertilizantes nitrogenados nesses casos (ZUFFO et al., 2019).

Zuffo et al. (2019), após analisarem apenas a inoculação de *B. japonicum* associada a diferentes épocas de aplicação e a quatro doses de aplicação de N (0, 20, 40 e 60 kg ha<sup>-1</sup>) em dois cultivares de soja, concluíram que independentemente do cultivar e da época de aplicação, a adubação nitrogenada não proporcionou aumento no volume radicular, na matéria seca da parte aérea e da raiz, além de reduzir o número, volume e matéria seca de nódulos.

Altos níveis de N disponível no solo tendem a reduzir a fixação biológica de nitrogênio, uma vez que a percepção do N mineral pela planta faz com que ela reduza a sinalização às bactérias simbiotes, evitando desse modo o gasto de energia para a realização da FBN, uma vez que a planta entende que já possui a suplementação necessária desse nutriente (BRADY; WEIL, 2013). Por outro lado, alguns trabalhos relatam resultados positivos no

número e peso de nódulos de plantas de soja com a utilização de baixas doses de N (CARDOSO et al., 2018).

Diversos estudos têm indicado benefícios advindos da co-inoculação de *A. brasilense* com *B. japonicum* na cultura da soja. De acordo com Cassán et al. (2009), a co-inoculação com *A. brasilense* e *B. japonicum* pode aumentar o número de nódulos em plantas de soja, bem como a porcentagem de plantas noduladas quando comparada com a inoculação única com *B. japonicum*. Silva et al. (2019) apontaram que a co-inoculação de plantas de soja com *A. brasilense* e *B. japonicum* melhora a nodulação de plantas de soja submetidas a condições severas de limitação hídrica.

Estudos realizados em 59 municípios no estado do Paraná indicaram que em 97% dos locais onde a co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* foi realizada, houve aumento do número de nódulos/planta, obtendo um incremento médio de 34% do número de nódulos/planta e um incremento médio de 50% na massa de nódulos (Prando et al., 2019).

Em uma metanálise realizada por Barbosa et al. (2021) referente à co-inoculação de soja com *A. brasilense* e *B. japonicum* em condições de campo no Brasil concluiu-se que a co-inoculação afeta positivamente e de forma expressiva o crescimento e nodulação radicular, e que esses parecem ser os principais fatores que acarretam maior produtividade e concentração de N na parte aérea da planta, assim como nos grãos.

Em plantas de trigo, Mumbach et al. (2017) observaram que a inoculação de *A. brasilense* associada com a aplicação de N mineral proporcionou maior número de espigas por metro quadrado quando comparada aos tratamentos apenas com aplicação de N e apenas com inoculação. Hungria; Nogueira e Araujo (2016) observaram que a massa de forragem de *Brachiaria* spp. foi em média 20% maior utilizando a inoculação de *A. brasilense* juntamente com a adubação nitrogenada quando comparada ao tratamento com apenas aplicação de N. Porém, diferente das gramíneas, a soja inoculada com *Bradyrhizobium* apresenta alta eficiência na fixação biológica de N<sub>2</sub> (VIEIRA, 2017).

A quantidade de N aplicada junto com a co-inoculação pode ser um dos fatores que influenciam os resultados, uma vez que altas concentrações de N mineral podem exercer efeito negativo no processo de infecção e desenvolvimento dos nódulos nas raízes, bem como na atividade da enzima nitrogenase. Desse modo, em alguns casos a aplicação de N pode não ser recomendada e, em outros casos, pode ser benéfica e estimular a fixação biológica de N<sub>2</sub> (GAN et al., 2004), como o que ocorreu no presente estudo.

Mesmo tendo-se obtido maior número de nódulos nas raízes de soja nas camadas superficiais do solo com a aplicação de N associada à co-inoculação de *A. brasilense*, a massa

de nódulos não foi influenciada por esse tratamento, indicando que pode ter ocorrido uma compensação entre o número e a massa dos nódulos.

O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de co-inoculação de *A. brasilense* e estresse hídrico indicou maior massa seca de raízes na camada mais profunda do solo (20–50 cm) com a co-inoculação de *A. brasilense* associada com aplicação de N em condição em que não houve restrição hídrica, demonstrando que a falta de água pode influenciar negativamente os resultados proporcionados à planta tanto por parte da bactéria como do fertilizante nitrogenado, o qual pode ter tido sua solubilidade e absorção prejudicadas.

Fatores como o clima, microbiota do solo, método de co-inoculação, cultivar da planta hospedeira e adubação realizada podem influenciar a resposta da planta ao inoculante. A escolha correta da estirpe, tipo de inoculante, dose e número de células viáveis por semente é fundamental para o sucesso da inoculação, uma vez que algumas cepas bacterianas apresentam alta produção de fito-hormônios e podem inibir o crescimento das plantas se as doses forem excessivas (ARSAC et al., 1990. JAMES, 2000; HUNGRIA et al., 2013; BRACCINI et al., 2016).

A menor massa seca de raízes encontrada na camada superficial do solo (0–10 cm) com a utilização do gesso pode estar relacionada ao condicionamento do solo que ocorreu nas camadas mais profundas, fazendo com que a planta expandisse suas raízes em profundidade e não concentrasse suas raízes em maior quantidade na camada mais superficial. A análise da massa relativa de raízes nas diferentes profundidades em função dos tratamentos empregados revelou influência significativa da aplicação de gesso nas camadas de 0–10 cm ( $P = 0,001$ ) e 20–50 cm ( $P = 0,005$ ). Na camada superficial do solo (0–10 cm), a massa relativa de raízes foi maior no tratamento sem gesso (49%) do que no tratamento com gesso (42%). Porém, no subsolo (20–50 cm), a massa relativa de raízes foi maior com a aplicação de gesso (44%) do que sem a sua aplicação (38%). Esses resultados mostram que a aplicação de gesso proporcionou melhor distribuição de raízes no perfil do solo. O menor número de nódulos total encontrado (0–50 cm) com a utilização do gesso pode ter sido reflexo da mudança na distribuição do sistema radicular ao longo do perfil do solo. O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico para a massa seca total de raízes demonstrou que a aplicação de gesso foi capaz de equiparar o crescimento radicular da planta em situação de estresse hídrico ao crescimento radicular da planta em condição hídrica ótima. Já, na ausência de gesso, ocorreu a diminuição da massa seca total de raízes com a indução de estresse hídrico. Isso certamente se deve à melhoria do ambiente radicular no perfil do solo proporcionada pela aplicação do gesso.

O estresse hídrico reduziu a massa seca de raízes de soja na camada superficial do solo (0–10 cm) e diminuiu também o número e a massa seca de nódulos nas camadas de 0–10 e 10–20 cm. A fixação biológica do N<sub>2</sub> em espécies leguminosas é fortemente influenciada pela deficiência de água no solo, e o nível de prejuízo causado por esse estresse ao processo simbiótico depende do estágio de desenvolvimento que a planta se encontra, sendo mais prejudicial quando ocorre na fase de crescimento vegetativo da planta (VIEIRA, 2017). No presente estudo, o estresse hídrico induzido até 50 dias após a emergência da soja reduziu a massa seca de raízes em 16%, o número de nódulos em 31% e a massa seca de nódulos em 28% no perfil da coluna de solo (0–50 cm).

### 6.3 ALTERAÇÕES QUÍMICAS DO SOLO

As análises químicas das amostras de solo coletadas após o término do experimento indicaram que para a camada de 0–10 cm de profundidade, a co-inoculação de *A. brasilense* mais a aplicação de N proporcionou redução no teor de P se comparada ao tratamento apenas com a co-inoculação. Além disso, a co-inoculação e, principalmente, a co-inoculação + N promoveram diminuição no teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> do solo. A aplicação de gesso agrícola reduziu as concentrações de Mg e K, e aumentou os teores de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. O estresse hídrico promoveu maiores concentrações de Ca, Mg e K trocáveis no solo. As análises químicas das amostras de solo coletadas nessa camada não evidenciaram respostas significativas aos tratamentos empregados para os valores de acidez ativa (pH em CaCl<sub>2</sub>) e de saturação por Al. O teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi influenciado pela interação entre os tratamentos de co-inoculação e gesso, e o teor de K foi influenciado pela interação gesso × estresse hídrico (Tabela 12).

**Tabela 12.** Alterações nos atributos químicos da camada superficial do solo (0–10 cm), considerando a co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Saturação por Al %	Ca ----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Mg ----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	K ----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	P (Mehlich-1) ----- mg dm <sup>-3</sup> -----	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ----- mg dm <sup>-3</sup> -----
<b>Co-inoculação</b>							
Sem <i>A. brasilense</i>	5,1	0,6	44	9	1,2	20,1 ab	37,6 a
Com <i>A. brasilense</i>	5,1	0,5	44	10	1,2	24,2 a	24,8 b
Com <i>A. brasilense</i> + N	5,1	0,6	42	10	1,2	18,8 b	12,8 c
DMS	0,1	0,4	3,2	3,5	0,15	4,4	8,1
<b>Gesso</b>							
Sem gesso	5,1	0,6	37 b	15 a	1,3 a	20,3	7,7 b
Com gesso	5,1	0,5	50 a	4 b	1,1 b	21,8	42,4 a
DMS	0,1	0,3	2,2	2,4	0,10	3,0	5,4
<b>Estresse hídrico</b>							
Sem estresse hídrico	5,1	0,5	42 b	8 b	0,9 b	21,3	23,3
Com estresse hídrico	5,1	0,6	45 a	11 a	1,4 a	20,7	26,9
DMS	0,1	0,3	2,2	2,4	0,10	3,0	5,5
<i>Nível de significância</i>							
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns	ns	*	**
Gesso (G)	ns	ns	**	**	**	ns	**
Estresse hídrico (EH)	ns	ns	*	**	**	ns	ns
CI × G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
CI × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
G × EH	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre co-inoculação e gesso no teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada de 0–10 cm de profundidade (Tabela 13) revelou que a concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi mais baixa com a co-inoculação de *A. brasilense* e ainda menor com a co-inoculação + N, somente no tratamento com gesso. Porém, a aplicação de gesso aumentou o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> tanto na ausência de co-inoculação quanto na presença de co-inoculação, sem ou com N, sendo o aumento mais expressivo quando o gesso foi aplicado sem co-inoculação.

**Tabela 13.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de co-inoculação e gesso na concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada superficial do solo (0–10 cm).

Gesso	Co-inoculação			Efeito
	Sem <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i> + N	
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> no solo de 0–10 cm (mg dm <sup>-3</sup> )				
Sem gesso	8,5 Ba	8,0 Ba	6,6 Ba	ns
Com gesso	66,7 Aa	41,6 Ab	18,9 Ac	**
Efeito	**	**	*	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico no teor de K na camada de solo de 0–10 cm (Tabela 14) revelou que a aplicação de gesso reduziu o teor de K somente com estresse hídrico e que o estresse hídrico proporcionou maior concentração de K tanto na ausência como na presença de gesso.

**Tabela 14.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico no teor de K na camada superficial do solo (0–10 cm).

Estresse hídrico	Gesso		Efeito
	Sem gesso	Com gesso	
K trocável no solo de 0–10 cm (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )			
Sem estresse hídrico	1,00 Ba	0,86 Ba	ns
Com estresse hídrico	1,62 Aa	1,25 Ab	**
Efeito	**	**	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo e \*\*: significativo a 1%.

Na camada de 10–20 cm, a co-inoculação de *A. brasilense* promoveu diminuição no teor de K se comparado aos tratamentos sem co-inoculação e com co-inoculação mais aplicação de N. Nessa camada, a aplicação de gesso aumentou os teores de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, e reduziu a saturação por Al, bem como os teores de Mg e K. O estresse hídrico promoveu maiores concentrações de K, P e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Não ocorreram alterações significativas nos valores de pH para nenhum tratamento empregado. O teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi influenciado pela interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico (Tabela 15).

**Tabela 15.** Alterações nos atributos químicos no solo da camada de 10–20 cm, considerando a co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Saturação por Al %	Ca	Mg	K	P (Mehlich-1)	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
			----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			----- mg dm <sup>-3</sup> -----	
<b>Co-inoculação</b>							
Sem <i>A. brasilense</i>	4,2	18,5	18	6	0,7 a	15,0	29,0
Com <i>A. brasilense</i>	4,2	20,4	17	6	0,5 b	14,7	25,7
Com <i>A. brasilense</i> + N	4,2	19,1	18	5	0,7 a	14,6	28,2
DMS	0,1	6,9	3,0	1,6	0,1	2,3	5,9
<b>Gesso</b>							
Sem gesso	4,2	21,9 a	15 b	7 a	0,7 a	14,4	10,7 b
Com gesso	4,2	16,8 b	21 a	4 b	0,6 b	14,7	44,5 a
DMS	0,1	4,6	2,0	1,0	0,06	1,5	3,9
<b>Estresse hídrico</b>							
Sem estresse hídrico	4,2	20,0	17	5	0,5 b	13,6 b	24,4 b
Com estresse hídrico	4,2	18,7	18	6	0,8 a	15,5 a	30,8 a
DMS	0,1	4,6	2,0	1,0	0,06	1,5	3,9
<i>Nível de significância</i>							
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
Gesso (G)	ns	*	**	**	*	ns	**
Estresse hídrico (EH)	ns	ns	ns	ns	**	*	**
CI × G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CI × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
G × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre co-inoculação e estresse hídrico no teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada de 10–20 cm (Tabela 16) revelou que a co-inoculação com *A. brasilense* reduziu o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> em comparação aos tratamentos sem co-inoculação e com co-inoculação + N, somente na presença de estresse hídrico. O teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi maior com a indução do estresse hídrico nos tratamentos sem co-inoculação e com co-inoculação + N.



**Tabela 16.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico na concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no solo, na camada de 10–20 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Co-inoculação			Efeito
	Sem <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i> + N	
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> no solo de 10–20 cm (mg dm <sup>-3</sup> )				
Sem estresse hídrico	22,8 Ba	27,6 Aa	23,0 Ba	ns
Com estresse hídrico	35,2 Aa	23,7 Ab	33,4 Aa	**
Efeito	**	ns	**	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo e \*\*: significativo a 1%.

Na camada de solo mais profunda (20–50 cm), os tratamentos de co-inoculação isoladamente não ocasionaram alterações significativas nos atributos químicos avaliados. A aplicação de gesso aumentou os teores de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, e reduziu a saturação por Al. Já, o estresse hídrico proporcionou maiores teores de Ca, K, P, S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. O pH do solo e o teor de Mg não foram alterados significativamente pelos tratamentos. Houve influência significativa da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico no teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, e entre aplicação de gesso e estresse hídrico nos teores de K e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (Tabela 17).

**Tabela 17.** Alterações nos atributos químicos no solo da camada de 20–50 cm, considerando a co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense*, a aplicação de gesso e o estresse hídrico.

Tratamento	pH (CaCl <sub>2</sub> )	Saturação por Al %	Ca ----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----	Mg	K	P (Mehlich-1) ----- mg dm <sup>-3</sup> -----	S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Co-inoculação</b>							
Sem <i>A. brasilense</i>	4,0	29,2	15	5	0,4	15,3	88,2
Com <i>A. brasilense</i>	4,0	29,8	14	5	0,4	14,6	71,0
Com <i>A. brasilense</i> + N	4,0	33,0	14	4	0,4	15,2	85,5
DMS	0,1	5,9	2,5	1,3	0,09	2,7	20,8
<b>Gesso</b>							
Sem gesso	4,0	33,5 a	12 b	4	0,4	15,1	14,3 b
Com gesso	4,0	27,9 b	16 a	5	0,5	14,9	148,8 a
DMS	0,1	4,0	1,6	0,9	0,06	1,8	14,0
<b>Estresse hídrico</b>							
Sem estresse hídrico	4,0	32,5	13 b	4	0,4 b	14,0 b	73,9 b
Com estresse hídrico	4,0	28,9	15 a	5	0,5 a	16,1 a	89,3 a
DMS	0,1	4,0	1,6	0,9	0,06	1,8	14,0
<i>Nível de significância</i>							
Co-inoculação (CI)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Gesso (G)	ns	**	**	ns	ns	ns	**
Estresse hídrico (EH)	ns	ns	*	ns	**	*	*
CI × G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CI × EH	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
G × EH	ns	ns	ns	ns	*	ns	*

DMS: Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%; ns: não significativo; \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%. Médias seguidas por letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico no teor de K na camada de 20–50 cm (Tabela 18) demonstrou que a aplicação de gesso aumentou o teor de K na presença de estresse hídrico e que o estresse hídrico proporcionou maior concentração de K apenas na presença de gesso. Na ausência de estresse hídrico, a adição de gesso não interferiu no teor de K e, na ausência de gesso, o estresse hídrico também não influenciou o teor de K.

**Tabela 18.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico na concentração de K trocável no solo, na camada de 20–50 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Gesso		Efeito
	Sem gesso	Com gesso	
K trocável no solo de 20–50 cm (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )			
Sem estresse hídrico	0,40 Aa	0,38 Ba	ns
Com estresse hídrico	0,42 Ab	0,53 Aa	*
Efeito	ns	**	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo, \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%.

O desdobramento dos efeitos da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico para o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada de 20–50 cm (Tabela 19) indicou que o tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* + N proporcionou maior teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> em relação à co-inoculação de *A. brasilense*, somente na presença de estresse hídrico. A indução do estresse hídrico somente ocasionou aumento no teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no tratamento com co-inoculação + N.

**Tabela 19.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico na concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no solo, na camada de 20–50 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Co-inoculação			Efeito
	Sem <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i>	Com <i>A. brasilense</i> + N	
----- S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg dm <sup>-3</sup> ) -----				
Sem estresse hídrico	87,0 Aa	70,7 Aa	63,9 Ba	ns
Com estresse hídrico	89,4 Aab	71,2 Ab	107,1 Aa	*
Efeito	ns	ns	**	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo, \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%.

O desdobramento dos efeitos da interação gesso × estresse hídrico sobre o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada de 20–50 cm revelou que a aplicação de gesso aumentou o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, independentemente da indução ou não do estresse hídrico. A indução do estresse hídrico somente ocasionou maior teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no tratamento com gesso (Tabela 20).

**Tabela 20.** Desdobramento da interação entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico na concentração de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no solo, na camada de 20–50 cm de profundidade.

Estresse hídrico	Gesso		Efeito
	Sem gesso	Com gesso	
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> no solo de 20–50 cm (mg dm <sup>-3</sup> )		
Sem estresse hídrico	13,8 Ab	133,9 Ba	**
Com estresse hídrico	14,8 Ab	163,7 Aa	**
Efeito	ns	**	

Médias seguidas por letras diferentes, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%. ns: não-significativo, \*: significativo a 5% e \*\*: significativo a 1%.

Os menores teores de P e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no solo na camada de 0–10 cm encontrados no tratamento com co-inoculação de *A. brasilense* mais aplicação de N e os menores teores de K encontrados na camada de 10–20 cm em função da co-inoculação podem estar relacionados ao sinergismo existente entre o N com os demais nutrientes, o que faz com que a absorção desses nutrientes pela planta ocorra de forma mais acentuada (MALAVOLTA; MORAES, 2007). Tais efeitos também podem estar relacionados com a liberação de compostos pela rizosfera, promovidos pela co-inoculação com *A. brasilense*, compostos estes que alteram a solubilização de alguns nutrientes, como os fosfatos por exemplo (RODRIGUEZ et al., 2007; VOLFSON et al., 2013). A maior absorção desses nutrientes pelas plantas seria a explicação mais lógica para a redução nos teores encontrados no solo. Porém, os dados de extração de nutrientes pela parte aérea das plantas não indicaram aumento significativo desses nutrientes em decorrência da co-inoculação. Por outro lado, o número de nódulos nas camadas de 0–10 cm e 10–20 cm de profundidade foi significativamente maior com a co-inoculação de *A. brasilense* associado à aplicação de N, indicando que esses nutrientes encontrados em menores quantidades no solo podem ter sido absorvidos em maior quantidade pelo sistema radicular e não translocados para a parte aérea, permanecendo nas raízes com o objetivo de auxiliar no processo de nodulação.

O teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> encontrado em um nível mais baixo no solo no tratamento com co-inoculação mais aplicação de N pode ter sido decorrente de sua absorção e utilização para maximizar a fixação biológica de N<sub>2</sub> por meio de sua participação em proteínas como a ferredoxina, conhecida como proteína ferro-enxofre (MORTENSON; VALENTINE; CARNAHAN, 1962) que atua como doadora de elétrons para a Fe-proteína, a qual hidrolisa a adenosina trifosfato (ATP) e reduz a MoFe-proteína (HAGEMAN; BURRIS, 1978).

O desdobramento entre os tratamentos de co-inoculação e gesso para o teor de  $S-SO_4^{2-}$  na camada superficial do solo (0–10 cm) demonstrou que a co-inoculação de *A. brasilense* na presença de gesso diminuiu a concentração de  $S-SO_4^{2-}$  no solo e houve uma redução ainda maior com a co-inoculação mais aplicação de N, o que pode ser explicado pela maior absorção de S pelas plantas proporcionada pela co-inoculação (MORTENSON; VALENTINE; CARNAHAN, 1962), e também ao sinergismo existente entre o N com o S (MALAVOLTA; MORAES, 2007).

No caso da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico sobre o teor de  $S-SO_4^{2-}$  na camada de 10–20 cm, a co-inoculação com *A. brasilense* reduziu o teor de  $S-SO_4^{2-}$  no solo na presença de estresse hídrico, ou seja, a co-inoculação permitiu que a planta continuasse absorvendo S em maiores quantidades mesmo em condições de déficit hídrico; já, sem a co-inoculação e com a co-inoculação mais aplicação de N, a planta absorveu mais S apenas em condições ótimas de disponibilidade de água. Resultados semelhantes foram encontrados no desdobramento da interação entre os tratamentos de co-inoculação e estresse hídrico para o teor de  $S-SO_4^{2-}$  na camada de 20–50 cm, sendo que, nesse caso, a co-inoculação de *A. brasilense* em condições de estresse hídrico permitiu maior absorção de S pela planta se comparada ao tratamento com co-inoculação + N.

A fixação biológica do  $N_2$  requer um grande gasto energético devido ao fornecimento de energia necessário para uma sequência de reações que ocorrem durante esse processo (HOFFMANN, 2007). Devido à utilização de P na obtenção, armazenamento e utilização de energia na forma de ATP, teores insuficientes desse nutriente no solo limitam a fixação biológica, reduzindo o número e a biomassa de nódulos, bem como a atividade da enzima nitrogenase (SULIEMAN; TRAN, 2015). Desse modo, a menor concentração de P encontrada no solo no tratamento com co-inoculação pode ser justificada pela maior absorção de P pela planta e sua utilização na formação de moléculas de ATP utilizadas durante o processo de fixação biológica do  $N_2$ .

Uma das diversas estratégias evolutivas desenvolvidas pelas plantas que realizam simbiose com rizóbios para a mitigação de uma possível falta de P é a manutenção de uma maior concentração de P nos nódulos do que em outros órgãos (SULIEMAN; TRAN, 2015). Dessa forma, o não aumento na extração de P pela parte aérea das plantas no tratamento com co-inoculação + N pode ser explicada devido a maior parte desse nutriente ter se mantido na zona radicular.

Em estudos realizados por Hungria et al. (2010) foi identificada uma redução nos teores de nitrato, Ca e Mg no solo após a colheita do milho em função da inoculação das

sementes com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*. Os autores relacionaram tal redução ao aumento da capacidade de absorção desses nutrientes pelas plantas.

Os incrementos nos teores de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> observados neste estudo com a aplicação de gesso têm sido também reportados em diversos outros estudos (CAIRES et al., 2003; 2006; 2016; RAMPIM et al., 2011; FAGERIA et al., 2014; ZANDONÁ et al., 2015; CRUSCIOL et al., 2019; BESEN et al., 2021). Os incrementos nos teores de Ca e sulfato no solo com o uso de gesso se devem à composição do gesso agrícola e à forma como sua dissociação ocorre, sendo que aproximadamente 50% do gesso dissocia-se nas formas de Ca<sup>2+</sup> e SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, as quais participarão da troca iônica, atuando, respectivamente, como fontes de Ca e S (PAVAN, 1983).

Os aumentos nos teores de Ca e S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> observados em todas as camadas do solo avaliadas, associados às significativas reduções nos teores de Mg e K trocáveis nas camadas superficiais (0–10 cm e 10–20 cm) corroboram com os resultados encontrados em outros estudos (CAIRES et al., 1999; 2001; CRUSCIOL et al., 2016; BORGMANN et al., 2021) e são explicados pela formação e movimentação de pares iônicos entre os cátions e o sulfato (CaSO<sub>4</sub><sup>0</sup>, MgSO<sub>4</sub><sup>0</sup>, KSO<sub>4</sub><sup>-</sup>) (PAVAN, 1983). Caires et al. (2011a) constataram que, em longo prazo, até 72% do Mg trocável da camada de 0–20 cm se moveu para as camadas mais profundas do solo após a aplicação do gesso. No caso do K, as interações entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico nas camadas de 0–10 e 20–50 cm mostraram que a aplicação de gesso proporcionou redução de K na camada superficial (0–10 cm) somente na condição de estresse hídrico, evidenciando maior aproveitamento de K pelas plantas com o uso de gesso nesta condição de restrição hídrica. No subsolo (20–50 cm) houve maior teor de K com a aplicação de gesso somente quando foi induzido o estresse hídrico, o que pode ser um indicativo de que houve certa dificuldade na absorção de K do subsolo pelas raízes na presença de déficit hídrico, uma vez que o estresse hídrico dificultou a absorção desse K pela planta de soja.

O sulfato do gesso se movimenta ao longo do perfil do solo por meio da água de drenagem. A interação ocorrida entre os tratamentos de gesso e estresse hídrico sobre o teor de S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na camada de 20–50 cm deixa claro que a aplicação de gesso aumentou o teor de sulfato em maior magnitude no subsolo, com e sem estresse hídrico, mas que a indução de estresse hídrico proporcionou aumento ainda mais expressivo de sulfato no subsolo, já que a condição de déficit hídrico certamente dificultou todo o processo de transporte e absorção de S pela planta, resultando em um maior teor no solo.

A movimentação de sulfato juntamente com o Ca do gesso aplicado em superfície para as camadas mais profundas explicam também o aumento observado no teor de Ca trocável em todas as camadas do solo e a diminuição na saturação por Al nas camadas de 10–20 cm e 20–

50 cm que ocorreram após a aplicação do gesso, com conseqüente redução na toxicidade de Al para as plantas.

As maiores concentrações de nutrientes no solo encontradas na condição de estresse hídrico em todas as camadas de solo analisadas certamente se devem ao fato de a solubilização, movimentação e absorção de nutrientes ocorrerem de forma mais limitada em condição de déficit hídrico (TAIZ et al., 2017). Esses resultados corroboram com os dados de extração de nutrientes e de produção de massa seca da parte aérea da planta, considerando que houve menor extração de nutrientes e mais baixa produção de massa seca da parte aérea da soja em condição de deficiência hídrica.

## 7 CONCLUSÕES

- A co-inoculação das sementes de soja com *A. brasilense* não ocasionou benefícios evidentes no desenvolvimento da soja, independentemente das condições de deficiência de água e acidez no subsolo. Maiores benefícios foram obtidos quando a co-inoculação de *A. brasilense* foi associada com a aplicação de N-ureia na semeadura, especialmente para a absorção de Ca e a nodulação da soja.
- A co-inoculação de *Azospirillum brasilense* associada ao uso de gesso não potencializou o crescimento radicular da soja com o intuito de minimizar os efeitos negativos da acidez do subsolo, independentemente da condição hídrica durante o desenvolvimento das plantas.
- A aplicação de gesso aumentou os níveis de Ca e  $S-SO_4^{2-}$  no perfil do solo, reduziu a saturação por Al no subsolo, melhorou a distribuição de raízes no perfil do solo e aumentou a absorção de Ca e a fotossíntese líquida na planta de soja.
- O estresse hídrico reduziu a condutância estomática, a produção de massa seca da parte aérea, a absorção de N, P, K, Ca e Mg pela planta, a massa seca de raízes e o número e a massa seca de nódulos de soja.



## REFERÊNCIAS

- AGAMI, R. A.; MEDANI, R. A.; ABD EL-MOLA, I. A.; TAHA, R. S. Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 2, n. 5, p. 78–92, 2016.
- AMBROSINI, V. G. **Inoculação de sementes, fixação biológica de nitrogênio e resposta à adubação nitrogenada em soja na região centro-sul do Paraná**. 85 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.
- ARSAC, J.; LAMOTHE, C.; MULARD, D.; FAGES, J. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. **Agronomie**, v. 10, p. 640-654, 1990.
- BARBOSA, D. A.; PASSOS, G. P. FERREIRA, L. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; MERTZ-HENNING, L. M.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N.; Influência do déficit hídrico sobre parâmetros agrônômicos das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, 7., 2015, Florianópolis. **Resumos expandidos [...]** Florianópolis: Embrapa Soja, 2015.
- BARBOSA, J. Z.; HUNGRIA, M.; SENA, J. V. S.; POGGERE, G.; REIS, A. R.; CORRÊA, R. S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum* brasilense and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 163, 2021.
- BELNAP, J. Factors Influencing Nitrogen Fixation and Nitrogen Release. In: BELNAP, J.; LANGE, O. L. (Eds). **Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management**. Springer Verlag Berlin Heidelberg, Germany, p. 241–261, 2001.
- 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**. v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.
- BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 831-839, 2004.
- BESEN, M. R.; RIBEIRO, R. H.; ESPER NETO, M.; MINATO, E. A.; CONEGLIAN, C. F.; KACHINSKI, W. D.; TORMENA, C. A.; INOUE, T. T.; BATISTA, M. A. Lime and phosphogypsum application management: changes in soil acidity, sulfur availability and crop yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 45, 2021.
- BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K.; LIMA, L. H. S.; PICCININ, G. G. Coinoculação 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**, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 686p.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. *In: GRUISSEM, W.; BUCHANNAN, B.; JONES, R. (Eds). Biochemistry and molecular biology of plants* American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, p. 1158–1249, 2000.

BULEGON, L. G.; RAMPIM, L.; KLEIN, J.; KESTRING, D.; GUIMARÃES, V. F.; BATTISTUS, A. G.; INAGAKI, A. M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, v. 34, n. 2, p. 169–176, 2016.

CAIRES, E. F.; BLUM, J.; BARTH, G.; GARBUIO, F. J.; KUSMAN, M. T. Alterações químicas no solo e resposta da soja ao calcário e gesso aplicados na implantação do sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 2, p. 275-286, 2003.

CAIRES, E. F.; CHURKA, S.; GARBUIO, F. J.; FERRARI, R. A.; MORGANO, M. A. Soybean yield and quality a function of lime and gypsum applications. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 4, 2006.

CAIRES, E. F.; GARBUIO, F. J.; CHURKA, S.; JORIS, H. A.W. Use of phosphogypsum for crop grain production under a subtropical no-till cropping system. **Agronomy Journal**, v. 103, p. 1804–1814, 2011a.

CAIRES, E. F.; GUIMARÃES, A. M. A novel phosphogypsum application recommendation method under continuous no-till management in Brazil. **Agronomy Journal**, v.110, p.1987–1995, 2018.

CAIRES, E. F.; JORIS, H. A. W.; CHURKA, S. Long-term effects of lime and gypsum additions on no-till corn and soybean yield and soil chemical properties in southern Brazil. **Soil Use and Management**, v.27, p.45-53, 2011b.

CAIRES, E. F.; MASCHIETTO, E. H. G.; GARBUIO, F. J.; CHURKA, S.; JORIS, H. A. W. Surface application of gypsum in low acidic Oxisol under no-till cropping system. **Scientia Agricola**, v. 68, p. 209-216, 2011c.

CANTARELLA, H.; PROCHNOW, L. I. Determinação de sulfato em solos. *In: RAIJ, B. van; ANDRADE, E.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. Campinas: Instituto Agrônomo, p. 225-230, 2001.

CARVALHO, M. C. S.; VAN RAIJ, B. Calcium sulphate, phosphogypsum and calcium carbonate in the amelioration of acid subsoils for root growth. **Plant Soil**, v. 192, p. 37–48, 1997.

CARDOSO, N. R. P.; DA FONSECA, A. B.; FUJIYAMA, B. S.; RAMOS, J. A. DA SILVA JÚNIOR, M. L. **Efeito de doses de nitrogênio na nodulação e biomassa de plantas de soja**. Enciclopédia Biosfera, v.15, n. 27, Centro Científico Conhecer, Goiânia, p. 179-187. 2018.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *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**, v. 45, p. 28-35, 2009.

CEREZINI, P.; KUWANO, B. H.; SANTOS, M. B.; TERASSI, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. **Field Crops Research**, v. 196, p. 160–167, 2016.

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 Sciences**, v. 6, p. 1641–1649, 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília-DF, v. 9, n. 1, 2021.

CRUSCIOL, C. A. C.; ARTIGIANI, A. C. C. A.; ARF, O.; CARMEIS FILHO, A. C. A.; SORATTO, R. P.; NASCENTE, A. S.; ALVAREZ, R. C. F. Surface Application of Lime-Silicate-Phosphogypsum Mixtures for Improving Tropical Soil Properties and Irrigated Common Bean Yield. **Soil Science Society of America Journal**, v. 80, n. 4, 2016.

CRUSCIOL, C. A. C.; MARQUES, R. R.; CARMEIS FILHO, A. C. A.; SORATTO, R. P.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J.; CASTRO, G. S. A.; PARIZ, C. M.; CASTILHOS, A. M.; FRANZLUEBBERS, A. J. Lime and gypsum combination improves crop and forage yields and estimated meat production and revenue in a variable charge tropical soil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 115, p. 347–372, 2019.

DALL'AGNOL, A. **A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 72p.

DEN HERDER, G.; VAN ISTERDAEL, G.; BEECKMAN, T.; DE SMET, I. The roots of a new green revolution. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 11, p. 600–607, 2010.

EMBRAPA. (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2012 e 2013**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 262p.

FACHINELLI, R.; CECCON, G. Coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na soja em sucessão ao milho safrinha em solo arenoso e argiloso. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.9, n.2, p. 99-108, 2020.

FAGERIA, N. K.; MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; MORAES, M. F. Influence of Lime and Gypsum on Yield and Yield Components of Soybean and Changes in Soil Chemical Properties. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 45, n. 3, p. 271-283, 2014.

FAGERIA, N. K.; NASCENTE, A. S. Management of soil acidity of South American soils for sustainable crop production. **Advances in Agronomy**, v. 128, p. 221–275, 2014.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of the world's land and water resources for food and agriculture**. Managing system at risk, New York, 2011.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **World Land and Water prospects**. Rome: Land and Water Development Division, 2013.

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. **A Mudança Climática: Distintivo Desafio**. 2. ed. Yunga Séries – Aprendizado e Ação, 2016.

FIESP – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. **Safra Mundial de Soja 2019/20 – 10º Levantamento do USDA**. Informativo Fevereiro de 2020. 2020.

FIGLIARO, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 58, p. 342-349, 2011.

FIPKE, G. M.; CONCEIÇÃO, G. M.; GRANDO, L. F.; TELEKEN, L.; NUNES, R. L.; UBIRAJARA, R.; MARTIN, T. N. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, p. 522–533, 2016.

GAN, Y.; STULEN, I.; VAN KEULEN, H.; KUIPER, P. J. C. Low concentrations of nitrate and ammonium stimulate nodulation and N<sub>2</sub> fixation while inhibiting specific nodulation (nodule DW g<sup>-1</sup> root dry weight) and specific N<sub>2</sub> fixation (N<sub>2</sub> fixed g<sup>-1</sup> root dry weight) in soybean. **Plant and Soil**, v. 258, p. 281-292, 2004.

GUSAIN, Y. S.; SINGH, U.S.; SHARMA, A. K. Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 9, p. 764–773, 2015.

HAGEMAN, R. V.; BURRIS, R. H. Nitrogenase and nitrogenase reductase associate and dissociate with each catalytic cycle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 75, n. 6, p. 2699–2702, 1978.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 70p. (Doc. 349).

HOFFMANN, L. Biologia molecular da fixação biológica do nitrogênio. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Ed.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2007. p. 153-164.

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, 2008, p. 17-35.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina, Embrapa Soja, 2011. 36p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Doc. 283).

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**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M.; MENDES I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? *In*: BRUIJN, F. J. **Biological Nitrogen Fixations**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015, p. 1009-1021.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growthpromoting bacterium *Azospirillum brasilense*: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.

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**, v. 6, p. 811–817, 2015.

HYMOWITZ, T.; SINGH, R. J. Taxonomy and speciation. *In*: WILCOX, J. R. **Soybeans, Improvement, Production and Uses**, 2nd ed. Madison: American Society of Agronomy, p. 23–48, 1987.

INAGAKI, A. M.; GUIMARÃES, V. F.; RODRIGUES, L. F. O. S.; SILVA, M. B.; DIAMANTE, M. S.; RAMPIM, L.; MIORANZA, T. M.; DUARTE JÚNIOR, J. B. Phosphorus fertilization associated to inoculation of maize with diazotrophic bacteria. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 48, p. 3480–3487, 2014.

INAGAKI, T. M.; SÁ, J. C. M.; CAIRES, E. F.; GONÇALVES, D. R. P. Lime and gypsum application increases biological activity, carbon pools, and agronomic productivity in highly weathered soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 156-165, 2016.

IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (Eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 2014, 151p.

JABBOROVA, D.; KANNEPALLI, A.; DAVRANOV, K.; NARIMANOV, A.; ENAKIEV, Y.; SYED, A.; ELGORBAN, A. M.; BAHKALI, A. H.; WIRTH, S.; SAYYED, R. Z.; GAFUR, A. Co-inoculation of rhizobacteria promotes growth, yield, and nutrient contents in soybean and improves soil enzymes and nutrients under drought conditions. **Scientific Reports**, v. 11, 2021.

JAMES, E. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v. 65, p. 197- 209, 2000.

KILIÇ, H.; YAGBASANLAR, T. The effect of drought stress on grain yield, yield components and some quality traits of Durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. Durum) cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**: Cluj-Napoca. v. 38, n. 1, p. 164, 2010.

LEÃO, D. A. S.; FREIRE, A. L. O.; MIRANDA, J. R. P. Estado nutricional de sorgo cultivado sob estresse hídrico e adubação fosfatada. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 74-79, 2011.

LIU, F.; XING, S.; MA, H.; DU, Z.; MA, B. Cytokinin producing, plant growth promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 20, p. 9155–9164, 2013.

LYNCH, J. Roots of the second green revolution. **Australian Journal of Botany**, v. 55, n. 5, p. 493–512, 2007.

MALAVOLTA, E. O gesso agrícola no ambiente e na nutrição da planta - perguntas e respostas. *In*: II SEMINÁRIO SOBRE O USO DO GESSO NA AGRICULTURA. **Anais [...]** Uberaba, p.41-66, 1992.

MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Fundamentos do Nitrogênio e do Enxofre na Nutrição Mineral de Plantas Cultivadas. *In*: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Eds.). **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: IPNI, 2007. p. 189-249.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 319p.

MANTOVANI, D.; VESTE, M.; BOLDT-BURISCH, K.; FRITSCH, S.; KONING, L. A.; FREESE, D. Carbon allocation, nodulation, and biological nitrogen fixation of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) under soil water limitation. **Annals of Forest Research**, v. 58, p. 259–274, 2015.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Biotechnological Potential of Rhizobial Metabolites to Enhance the Performance of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* Inoculants with the Soybean and Maize Crops. **Applied Microbiology and Biotechnology Express**, v. 3, n. 21, 2013.

MARRA, L. M.; SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M.; FERREIRA, P. A. A.; SOARES, B. L.; CARVALHO, R. F.; LIMA, J. M.; MOREIRA, F. M. S. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant Soil**, v. 357, p. 289-307, 2012.

MENDES, C. I.; DOS REIS JUNIOR, F. B.; HUNGRIA, M.; DE SOUSA, D. M. G.; CAMPO, R. J. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.8, Brasília, 2008. p.1053-1060.

MERTZ-HENNING, L. M.; FERREIRA, L. C.; HENNING, F. A.; MANDARINO, J. M. G.; SANTOS, E. D.; OLIVEIRA, M. C. N. D.; NEPOMUCENO, A. E. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Effect of water deficit-induced at vegetative and reproductive stages on protein and oil content in soybean grains. **Agronomy**, v. 8, n. 3, p. 1–11, 2018.

MORANDO, R.; SILVA, A. O.; CARVALHO, L. C.; PINHEIRO, M. P. M. A. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 3, p. 114–129, 2014.

MORTENSON, L. E.; VALENTINE, R. C.; CARNAHAN, J. E. An electron transport factor from *Clostridium pasteurianum*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 7, n. 6, 1962.

MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I. E.; SCHNEIDER, F. J. A.; MALLMANN, M. S.; BONFADA, E. B.; PORTELA, V. O.; BONFADA, E. B.; KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Scientia Agraria**, v. 18, n. 2, p. 97-103, 2017.

NAOE, A. M. L.; PELUZIO, J. M.; CAMPOS, L. J. M.; NAOE, L. K.; SILVA, R. A. Co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars subjected to water deficit. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 24, n. 2, p. 89-94, 2020.

NAVEED, M.; HUSSAIN, M. B.; ZAHIR, A. Z.; MITTER, B.; SESSITSCH, A. Drought stress amelioration in wheat through inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. **Plant Growth Regulation**, v. 73, n. 2, p. 121–131, 2014.

NEIS, L.; PAULINO, H. B.; SOUZA, E. D.; REIS, E. F.; PINTO, F. A. Gesso agrícola e rendimento de grãos de soja na região do sudoeste de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 409-416, 2010.

OLIVEIRA, A. D.; FERNANDES, E. J.; RODRIGUES, T. J. D. Condutância estomática como indicador de estresse hídrico em feijão. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.86-95, 2005.

PAVAN, M. A. Ação dos corretivos e fertilizantes na dinâmica de íons no solo. In: IAPAR. **Curso de atualização em fertilidade do solo**. Londrina, 1983. p. 47-63.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; ZEMPULSKI, H. C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. **Manual de análise química do solo e controle de qualidade**. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 1992. 38p.

PEAK, D.; WEST, J.D.; MESSINGER, S.M.; MOTT, K.A. Evidence for complex, collective dynamics and emergent, distributed computation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.101, p.918-922, 2004.

PEDRAZA, R. O.; BELLONE, C. H.; BELLONE, S. C.; BOA SORTE, P. M. F.; TEIXEIRA, K. R. S. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 36-43, 2009.

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; CONTE, O. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2019/2020 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 22 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 166).

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; HARGER, N.; CONTE, O. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2018/2019 no Paraná.** Londrina: Embrapa Soja, 2019. 19 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 156).

RAMPIM, L.; LANA, M. C.; FRANDOLOSO, J. F.; FONTANIVA, S. Atributos químicos de solo e resposta do trigo e da soja ao gesso em sistema semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1687-1698, 2011.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552–555, 2007.

RONDINA, A. B. L.; SANZOVO, A. W. S.; GUIMARÃES, G. S.; WENDLING, J. R.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, 2020.

SILVA, D. J.; VENEGAS, V. H. A.; RUIZ, H. A.; SANT'ANNA, R. Translocation and redistribution of sulfur in corn and soybean plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 715-721, 2003.

SILVA, E. R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; ZOZ, T.; VENDRUSCOLO, E. P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill.)? **Archives of Microbiology**, v. 201, n. 3, p. 325-335, 2019.

SULIEMAN, S.; TRAN, L. Phosphorus homeostasis in legume nodules as an adaptive strategy to phosphorus deficiency. **Plant Science**, v. 239, p. 36-43, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 896p.

TANK, N.; SARAF, M. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR. **Journal of Basic Microbiology**, v. 49, p. 195–204, 2009.

VENKATESWARLU, B.; SHANKER, A. K. Climate change and agriculture: Adaptation and mitigation strategies. **Indian Journal of Agronomy**, v. 54, n. 2, p. 226-230, 2009.

VIEIRA, E. A.; SILVA, M. G.; MORO, C. F.; LAURA, V. A. Physiological and biochemical changes attenuate the effects of drought on the Cerrado species *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 115, p. 472–483, 2017.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 163 p. (21.ed.)

VITTI, C. G.; LUZ, P. H. C.; MALAVOLTA, E.; DIAS, A. S.; SERRANO, C. G. E. **Uso do gesso em sistemas de produção agrícola**. Piracicaba: GAPE, 2008. 104p.



VOLFSON, V.; FIBACH-PALDI, S.; PAULUCCI, N. S.; DARDANELLI, M. S.; MATAN, O.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Phenotypic variation in *Azospirillum brasilense* Sp7 does not influence plant growth promotion effects. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 67, p. 255-262, 2013.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, n. 184, p. 13-24, 2016.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. **Plant Signaling Behavior**, v. 5, p. 649-654, 2010.

ZAMBROSI, F. C. B.; ALLEONI, L. R. F.; CAIRES, E. F. Aplicação de gesso agrícola e especiação iônica da solução de um Latossolo sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 110-117, 2007.

ZANDONÁ, R. R.; BEUTLER, A. N.; BURG, G. M.; BARRETO, C. F.; SCHMIDT, M. R. Gesso e calcário aumentam a produtividade e amenizam o efeito do déficit hídrico em milho e soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 2, p. 128-137, 2015.

ZOZ, T.; STEINER, F.; GUIMARÃES, V. F.; CASTAGNARA, D. D.; MEINERZ, C. C.; FEY, R. Peroxidase activity as an indicator of water deficit tolerance in soybean cultivars. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1664-1671, 2013.

ZUFFO, A. M.; BRUZI, A. T.; REZENDE, P. M.; BIANCHI, M. C.; ZAMBIAZZI, E. V.; SOARES, I. O.; RIBEIRO, A. B. M.; VILELA, G. L. D. Morphoagronomic and productive traits of RR soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, p. 438-444, 2016.

ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; BUSCH, A.; SANTOS, D. M. S. Adubação nitrogenada na soja inibe a nodulação e não melhora o crescimento inicial das plantas. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 12, n. 2, p. 333-349, 2019.