



RESPOSTA DA SOJA A INOCULAÇÃO E CO-INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL E *Bradyrhizobium*

Elaine Martins da Costa¹, Fernanda de Carvalho², Juliana Araujo Esteves³, Rafaela Simão Abrahão Nóbrega⁴, Fatima Maria de Souza Moreira⁵

¹Doutoranda, Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Brasil
(elainemartins20@hotmail.com)

²Pós-doutoranda, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras

³Graduanda, Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Lavras

⁴Docente, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,

⁵Docente, Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

RESUMO

Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) podem promover o crescimento vegetal através de diferentes processos, além disso, quando co-inoculadas com rizóbios podem estimular a simbiose rizóbio-leguminosa. Com o objetivo de avaliar a nodulação e o crescimento da soja em resposta à inoculação e co-inoculação com RPCPs e estirpes do gênero *Bradyrhizobium* foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação, em condições axênicas, utilizando a cultivar de soja 5G 830 RR. No primeiro experimento, 11 estirpes de RPCPs foram avaliadas individualmente. No segundo experimento, foi avaliada a co-inoculação de sete estirpes de RPCPs com as estirpes CPAC 7 (*Bradyrhizobium japonicum*) e BR 29 (*Bradyrhizobium elkanii*). No primeiro experimento, 72% das estirpes aumentaram a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz, com incrementos de MSPA variando de 25 a 56%, para os tratamentos inoculados com as estirpes UFPI CB7-8 (*Paenibacillus rigui*) e UFPI CB-6 (*Enterobacter sp.*), respectivamente. No segundo experimento, as estirpes UFPI CB10-9 (*Enterobacter sp.*), UFPI B5-4 (*Enterobacter sp.*) e UFLA 07 (*Herbaspirillum sp.*) co-inoculadas com a estirpe CPAC 7 promoveram aumentos significativos no número de nódulos e na matéria seca de raiz. As estirpes CB-6 (*Enterobacter sp.*) e UFLA 214 (*Azospirillum brasilense*) aumentaram o número e a matéria seca de nódulos quando co-inoculadas com a estirpe BR 29, no entanto, em relação ao crescimento vegetal, as sete estirpes promoveram efeito negativos quando co-inoculadas com BR 29.

PALAVRAS-CHAVE: bactérias endofíticas; *Glycine max* (L.) Merr., inoculação, rizóbio.

RESPONSE OF SOYBEAN TO CO-INOCULATION AND INOCULATION WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA AND *Bradyrhizobium*

ABSTRACT

Plant growth promoting rhizobacterias (PGPRs) can promote plant growth by different processes, in addition, when co-inoculated with rhizobia can stimulate the rhizobia-legume symbiosis. To verify the nodulation and growth of soybean in response to inoculation and co-inoculation with PGPRs and *Bradyrhizobium* strains genus two experiments were conducted in a greenhouse in axenic conditions, using soybean cultivar 5G 830 RR. In the first experiment, 11 PGPRs strains were evaluated individually. In the second experiment, the co-inoculation of 7 PGPRs strains with strains CPAC 7 (*Bradyrhizobium japonicum*) and BR 29 (*Bradyrhizobium elkanii*) was evaluated. In the first experiment, 72% of the strains increased the shoot dry matter (SDM) and root dry matter (RDM) production, with SDM increments ranging from 25 to 56% for the treatments inoculated with strains UFPI CB7-8 (*Paenibacillus rigui*) and UFPI CB-6 (*Enterobacter* sp.), respectively. In the second experiment, strains UFPI CB10-9 (*Enterobacter* sp.), UFPI B5-4 (*Enterobacter* sp.) and UFLA 07 (*Herbaspirillum* sp.) co-inoculated with strain CPAC 7 promoted a significant increase in the number of nodules and RDM. UFPI CB-6 (*Enterobacter* sp.) and UFLA 214 (*Azospirillum brasilense*) strains increased the number and nodule dry matter when co-inoculated with strain BR 29, however, relative to plant growth, the seven strains promoted negative effect when co-inoculated with BR 29.

KEYWORDS: *Glycine max* (L.) Merr, inoculation, rhizobia, endophytic bacteria

INTRODUÇÃO

Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que ocorrem na rizosfera de uma determinada espécie vegetal e são capazes de estimular seu crescimento através de diferentes processos (KLOEPPER & SCHROTH, 1978). Elas podem ser de vida livre, associativas ou endofíticas, podendo ser ou não simbióticas. Dentre as RPCPs, estirpes dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Paenibacillus* e até mesmo estirpes de gêneros simbióticos como *Burkholderia* e *Rhizobium* são frequentemente descritas como potenciais promotoras do crescimento de plantas devido à atuação em diferentes processos biológicos, destacando-se a solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis, a produção de sideróforos, a síntese de fitohormônios, principalmente o ácido-3-indol acético (AIA) e evidentemente a fixação biológica de nitrogênio (FBN), no caso das bactérias diazotróficas (RADWAN et al., 2002; LI et al., 2008; JANGU & SINDHU, 2011; MARRA et al., 2012; COSTA et al. 2013; OLIVEIRA-LONGATTI et al. 2013; 2014).

A utilização da inoculação com RPCPs em culturas de importância agrícola representa uma importante estratégia, visando o aumento do crescimento e nutrição vegetal de forma econômica e sustentável. No entanto, são necessários estudos que busquem selecionar estirpes eficientes para culturas de interesse. COSTA et al. (2013) verificaram que algumas estirpes não nodulíferas produtoras de AIA dos gêneros *Bacillus*, *Enterobacter* e *Paenibacillus* aumentaram a produção de matéria seca da parte aérea e da raiz de feijão-caupi. Por outro lado, Li et al. (2008), não encontraram nenhum efeito da inoculação em soja com estirpes produtoras de AIA dos gêneros *Bacillus* e *Enterobacter*.

A técnica alternativa de co-inoculação de RPCPs com estirpes de rizóbio em leguminosas também tem sido sugerida para potencializar a nodulação, aumentar

crescimento das plantas e favorecer o processo de fixação biológica de nitrogênio, em resposta a interação positiva entre esses grupos de bactérias. Na cultura da soja, a co-inoculação de *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum/elkanii* aumentou a nodulação e produtividade de grãos (ARAÚJO & HUNGRIA, 1999). A co-inoculação de *Bacillus subtilis* com *Bradyrhizobium* promoveu aumento da matéria seca da raiz de plantas de feijão-caupi e leucena (ARAÚJO et al., 2010). Na simbiose *Bradyrhizobium* e feijão caupi, a matéria seca da raiz foi maior quando as plantas foram co-inoculadas com *Paenibacillus* (RODRIGUES et al., 2012). A matéria seca dos nódulos do feijoeiro-comum foi aumentada com a co-inoculação de estirpes de *Burkholderia fungorum* e *Rhizobium tropici* (CIAT 899^T) (OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013). Contudo, alguns resultados da co-inoculação em leguminosas, às vezes são contraditórios, ou seja, tanto pode estimular como inibir a nodulação e o crescimento vegetal, dependendo da interação entre os simbioss e as estirpes de RPCPs (CAMACHO et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a nodulação e o crescimento da soja em resposta à inoculação e co-inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal e estirpes inoculantes do gênero *Bradyrhizobium*.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem e caracterização das estirpes

No presente estudo foram utilizadas dezesseis estirpes de bactérias pertencentes à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (21° 13' 36,4" S e 44° 58' 44,0" W). A origem, a identificação genética e as características promotoras do crescimento vegetal dessas estirpes encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 Origem, identificação genética e características promotoras do crescimento vegetal das estirpes avaliadas

Estirpes	Origem (Local/SU)	Espécies ^(1,2,3)	Características ^(1,2,3)		
			Solub. P-Ca	Prod. AIA	FBN
UFPI CB-6	PI/AG	<i>Enterobacter</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB1-8	PI/AG	<i>Bacillus</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB2-9	PI/AG	<i>Brevibacillus brevis</i> ⁽¹⁾	-	+	-
UFPI CB4-1	PI/AG	<i>Paenibacillus rigui</i> ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB4-1A	PI/AG	<i>Bacillus subtilis</i> ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB7-1	PI/AG	<i>Bacillus</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB7-8	PI/AG	<i>Paenibacillus rigui</i> ⁽¹⁾	-	+	-
UFPI CB10-9	PI/AG	<i>Enterobacter</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB11-4	PI/AG	<i>Paenibacillus</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB11-6B	PI/AG	<i>Paenibacillus</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB11-7B	PI/AG	<i>Paenibacillus</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI CB9-2	PI/AG	<i>Rhizobium</i> sp. ⁽¹⁾	-	+	-
UFPI B5-4	PI/AG	<i>Enterobacter</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFPI B5-6	PI/AG	<i>Enterobacter</i> sp. ⁽¹⁾	+	+	-
UFLA 07	MG/RMB	<i>Herbaspirillum</i> sp. ⁽²⁾	-	-	+
UFLA 214	MG/RMB	<i>Azospirillum brasilense</i> ⁽³⁾	-	-	+

SU - Sistema de uso do solo, PI - Piauí, MG - Minas Gerais, AG - Agricultura, RMB - reabilitação após mineração de bauxita, ACMP - Áreas contaminadas por metais pesados, Solub. P-Ca - Solubilização de fosfato de cálcio (CaHPO₄), Prod. AIA - Produção de ácido-3-indol acético, FBN - Fixação biológica de nitrogênio em vida livre, ⁽¹⁾Dados extraídos de Costa (2013) e Costa et al. (2013); ⁽²⁾Araújo et al. (submetido), ⁽³⁾Moreira et al. (2008).

As estirpes de código UFPI foram isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos do Sudoeste piauiense (MARTINS, 2011), identificadas e avaliadas quanto as características promotoras do crescimento vegetal por COSTA (2013) e COSTA et al. (2013). As estirpes UFLA 07 (NÓBREGA et al., 2004) e UFLA 214 (MOREIRA et al., 2008) foram isoladas em áreas de reabilitação após mineração de bauxita e em áreas contaminadas por metais pesados respectivamente, ambas de ocorrência no estado de Minas Gerais, Brasil.

Experimento 1: Inoculação da soja com bactérias promotoras do crescimento vegetal

No período de maio a junho de 2012 foi conduzido um experimento em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ciência do Solo (DCS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras-MG (21° 13' 36,4" S e 44° 58' 44,0" W), com objetivo de avaliar a capacidade nódulífera e/ou promotora do crescimento da soja por onze estirpes de bactérias (UFPI CB-6, UFPI CB1-8, UFPI CB2-9, UFPI CB4-1, UFPI CB4-1A, UFPI CB7-1, UFPI CB7-8, UFPI CB10-9, UFPI CB11-4, UFPI CB11-6B e UFPI CB11-7) eficientes em promover o crescimento de feijão-caupi em estudos prévios (COSTA et al., 2013). Foram registrados, durante o período experimental, limites médios de temperaturas de 10 e 28°C na estação meteorológica próxima a casa de vegetação.

O experimento foi constituído por 17 tratamentos, com três repetições, em delineamento inteiramente casualizado, sendo 11 correspondentes às inoculações com estirpes de RPCPs mencionadas, quatro controles positivos, referentes às inoculações com estirpes inoculantes da soja, CPAC 15 (*Bradyrhizobium japonicum*), CPAC 7 (*Bradyrhizobium japonicum*), SEMIA 587 (*Bradyrhizobium elkanii*) e BR 29 (*Bradyrhizobium elkanii*) e dois controles negativos sem inoculação, um com baixa (-N) e o outro com alta (+N) concentração de nitrogênio (N) mineral.

Para a condução do experimento utilizaram-se garrafas recicláveis de 500 mL do tipo "long neck" revestidas com papel alumínio e contendo solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND; ARNON, 1950), diluída quatro vezes. Nos tratamentos inoculados e no controle sem inoculação e -N foi utilizada solução nutritiva Hoagland com 5,25 mg N L⁻¹. No controle sem inoculação e com +N foi utilizada a solução de Hoagland completa, com 52,5 mg N L⁻¹.

Em cada garrafa contendo solução nutritiva, foram colocadas duas fitas de papel filtro de 2 cm de largura e comprimento igual à altura da garrafa para servirem de suporte às raízes, e também para promover o contato da solução nutritiva com a planta. Posteriormente, todas as garrafas foram autoclavadas por 60 minutos, à pressão de 1,5 kg cm², a 121°C.

Antes da semeadura, as sementes de soja (cultivar 5G 830 RR) foram desinfestadas superficialmente utilizando-se álcool etílico a 98% (30 segundos), hipoclorito de sódio a 2% (2 minutos) e, em seguida, submetidas a lavagens sucessivas em água destilada estéril. Após a desinfestação, as sementes foram colocadas em placas de petri esterilizadas contendo papel filtro e algodão umedecido, onde permaneceram durante 48 horas, em câmara de crescimento a 28 °C, para emissão das radículas.

Para o preparo dos inoculantes, as estirpes bacterianas foram cultivadas em meio de cultura "79" líquido, sob agitação de 110 rpm, a 28°C, por um período de 3 dias (estirpes de crescimento rápido) a 5 dias (estirpes de crescimento intermediário). Para cada tratamento inoculado, foi adicionado 1 mL do inoculante

sobre a semente pré-germinada. Nos controles sem inoculação, foi adicionado 1 mL do meio de cultura sem inóculo.

Aos 30 dias após a instalação do experimento, as plantas foram coletadas para avaliação do número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST) e eficiência em relação ao controle sem inoculação e com +N (EFCN). A eficiência relativa de cada tratamento foi calculada pela seguinte fórmula: $EFCN = (MSPA \text{ inoculada} / MSPA \text{ com } +N) \times 100$.

Os dados do ensaio foram submetidos à análise de variância empregando-se o programa de análise estatística SISVAR^(R), versão 5.3 (FERREIRA, 2011). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Para as variáveis NN e MSN os dados foram transformados pela raiz quadrada de $Y + 0,5$.

Experimento 2: Co-inoculação da soja com bactérias promotoras do crescimento vegetal e *Bradyrhizobium*

O experimento foi conduzido entre os meses de dezembro de 2012 a janeiro de 2013, em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia, DCS, UFLA, em Lavras-MG (21° 13' 36,4" S e 44° 58' 44,0" W), utilizando a cultivar de soja 5G 830 RR. Nesse ensaio, utilizaram-se duas estirpes (UFPI CB-6 e UFPI CB10-9) que se destacaram no experimento descrito anteriormente, três estirpes (UFPI CB9-2, UFPI B5-4 e UFPI B5-6) que se destacaram nos processos promotores do crescimento vegetal e na promoção do crescimento de feijão-caupi em estudo conduzido por Costa (2013) e duas estirpes (UFLA 07 e UFLA 214) isoladas em área de reabilitação após extração de bauxita e contaminada por metais pesados em estudos conduzidos por Nóbrega et al. (2004) e Moreira et al. (2008), respectivamente. Durante o período experimental os limites médios de temperaturas obtidos na estação meteorológica próxima a casa de vegetação foram de 16 e 30°C.

Os tratamentos foram constituídos da inoculação individual das sete estirpes mencionadas em plantas de soja, na presença de baixa (-N) e alta (+N) concentração de nitrogênio mineral na solução nutritiva; co-inoculação das sete estirpes com as estirpes inoculantes da soja CPAC 7 (*Bradyrhizobium japonicum*) e BR 29 (*Bradyrhizobium elkanii*), dois controles positivos, referentes as inoculações individuais com as estirpes CPAC 7 e BR 29 e dois controles negativos sem inoculação, um com alta (+N) e o outro com baixa (-N) concentração de N mineral, totalizado 32 tratamentos. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições.

Para a condução do experimento, utilizaram-se garrafas recicláveis de 500 mL do tipo "long neck" revestidas com papel alumínio e contendo solução nutritiva de Hoagland (HOAGLAND & ARNON, 1950) diluída quatro vezes. Nos tratamentos inoculados e no controle sem inoculação e - N foi utilizada solução nutritiva de Hoagland com baixa concentração de nitrogênio (5,25 mg L⁻¹). No controle sem inoculação e com + N foi utilizada a solução de Hoagland completa, com 52,5 mg L⁻¹ de nitrogênio.

Os procedimentos de preparo da solução nutritiva, esterilização das garrafas com a solução nutritiva, preparo dos inoculantes, desinfestação das sementes foram os mesmos descritos para experimento anterior. Para cada tratamento inoculado, foi adicionado 1 mL do inoculante sobre a semente pré-germinada nas inoculações individuais. Nos tratamentos co-inoculados foi adicionado 1 mL de cada estirpe. Nos controles sem inoculação, foi adicionado 1 mL do meio de cultura sem inóculo.

Aos 30 dias após a instalação do experimento, as plantas foram coletadas para determinação do número de nódulos (NN), matéria seca de nódulos (MSN), matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), matéria seca total (MST) e eficiência em relação ao controle sem inoculação e com +N (EFCN), a qual foi determinada conforme descrito anteriormente. Os dados do ensaio foram submetidos à análise de variância empregando-se o programa de análise estatística SISVAR®, versão 5.3 (FERREIRA, 2011). Os efeitos dos tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Os dados de NN e MSN foram transformados em raiz quadrada de $Y + 0,5$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, os tratamentos influenciaram significativamente o NN, MSN, MSPA, MSR, MST e EFCN (Tabela 2). As estirpes inoculantes da soja, CPAC 15, CPAC 7, SEMIA 587 e BR 29 nodularam eficientemente, indicando que as condições foram favoráveis à ocorrência da nodulação e FBN durante o período experimental. Nenhuma das 11 estirpes avaliadas nodulou plantas de soja. Também não ocorreu nodulação nos controles negativos, indicando que não houve contaminação no experimento.

TABELA 2 Número de nódulo (NN), matéria seca dos nódulos (MSN), da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), total (MST) e eficiência em relação ao controle nitrogenado (EFCN) obtidos em plantas de soja inoculadas com estirpes de bactérias promotoras do crescimento de plantas.

Tratamentos	NN -	MSN -----	MSPA mg planta ⁻¹	MSR -----	MST -----	EFCN -- % --
UFPI CB-6	0c*	0d	616b	240b	856b	43b
UFPI CB1-8	0c	0d	563b	230b	793b	39b
UFPI CB2-9	0c	0d	510c	206b	716c	35c
UFPI CB4-1	0c	0d	586b	213b	800b	41b
UFPI CB4-1A	0c	0d	523c	216b	740c	36c
UFPI CB7-1	0c	0d	580b	173b	773c	40b
UFPI CB7-8	0c	0d	483c	183b	673c	34c
UFPI CB10-9	0c	0d	566b	233b	802b	39b
UFPI CB11-4	0c	0d	326d	150c	476d	23d
UFPI CB11-6B	0c	0d	343 d	116d	460d	23d
UFPI CB11-7B	0c	0d	223e	100d	323e	15e
BR 29	27b	32c	483c	200b	683c	34c
CPAC 15	59a	43b	603b	196b	800b	42b
SEMIA 587	29b	39b	513c	220b	733c	35c
CPAC 7	22b	54a	653b	186b	833b	45b
+ N (52,5 mg N L ⁻¹)	0c	0d	1.450a	553a	2.000a	100a
- N (5,255 mg N L ⁻¹)	0c	0d	396d	160c	556d	27d
CV (%)	25,42	16,90	10,37	13,22	8,75	11,04

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Todas as estirpes, incluindo as inoculantes da soja, apresentaram produções de MSPA inferior ao controle com +N mineral (Tabela 2). Dentre as estirpes avaliadas, apesar da incapacidade de nodular a soja, cinco estirpes (UFPI CB-6, UFPI CB1-8, UFPI CB4-1, UFPI CB7-1 e UFPI CB10-9) destacaram-se

significativamente das demais, promovendo produção de MSPA superior a duas das estirpes inoculantes da soja (BR 29 e SEMIA 587) e ao controle com -N. As estirpes UFPI CB2-9, UFPI CB4-1A e UFPI CB7-8 também apresentaram bom desempenho, agrupando-se com as estirpes inoculantes BR 29 e SEMIA 587 e apresentando produções de MSPA superior ao controle com -N. Os incrementos de MSPA, em relação ao controle com -N variaram de 25 a 56% para os tratamentos inoculados com as estirpes UFPI CB7-8 e UFPI CB-6, respectivamente.

Verificou-se que as oito estirpes que promoveram maior produção de MSPA também se destacaram na produção de MSR e MST, as quais apresentaram comportamentos superiores às demais estirpes e ao controle com -N, e semelhantes às estirpes inoculantes da soja (Tabela 2). Para a MST às estirpes UFPI CB-6, UFPI CB1-8, UFPI CB4-1 e UFPI CB10-9 agruparam-se as estirpes CPAC 15 e CPAC 7, enquanto as estirpes UFPI CB2-9, UFPI CB4-1A, UFPI CB7-1 e UFPI CB7-8 ficaram no mesmo grupo das estirpes BR 29 e SEMIA 587.

Em relação à EFCN, todas as estirpes avaliadas, juntamente com as estirpes inoculantes da soja, apresentaram menor eficiência em relação ao controle com +N mineral. No entanto, 72% das estirpes apresentaram eficiência significativamente superior em relação ao controle com -N (Tabela 2). Dentre as estirpes que apresentaram maior eficiência, destacam-se a UFPI CB-6, UFPI CB4-1, UFPI CB1-8, UFPI CB4-1, UFPI CB7-1 e UFPI CB10-9. Por outro lado, a estirpe UFPI CB11-7B suprimiu o crescimento das plantas, resultando em menor desempenho em relação ao controle com -N.

A incapacidade nodulífera das RPCPs em soja era esperada, uma vez que as estirpes avaliadas também não nodularam o feijão-caupi (COSTA et al., 2013). Além disso, nos estudos relacionados à nodulação em soja, são poucos os que relatam a formação de nódulos por gêneros e/ou estirpes de crescimento rápido, sendo que a maioria demonstra uma eficiente nodulação com estirpes de crescimento lento, principalmente as pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*.

Porém, mesmo não ocorrendo nodulação, 72% das estirpes foram eficientes em promover o crescimento das plantas de soja, possivelmente através da atuação em outros processos biológicos fitoestimuladores diferentes da FBN, como por exemplo, a síntese de AIA, que foi detectada para todas essas estirpes (COSTA et al., 2013). Uma característica importante dessas estirpes é sua capacidade de sobreviver e expressar o potencial de promoção do crescimento vegetal mesmo em solução nutritiva com baixa concentração de N mineral. Possivelmente, se não houvesse limitação de N, o efeito dessas estirpes no crescimento vegetal poderia ser maior. HUNG et al. (2007) trabalhando com estirpes isoladas de nódulos de soja verificaram que algumas estirpes não nodulíferas produtoras de AIA foram capazes de promover o crescimento das plantas quando inoculadas em soja, corroborando com os resultados desta pesquisa.

Embora a maioria dos trabalhos aborde apenas efeitos benéficos, algumas bactérias, além de sintetizarem substâncias promotoras do crescimento vegetal, possivelmente podem também sintetizar fitotoxinas que suprimem o crescimento das plantas (ANJUM et al., 2011). No presente trabalho, verificou-se que UFPI CB11-7B, mesmo sendo capaz de atuar em processos promotores do crescimento vegetal avaliados *in vitro* (COSTA et al., 2013), promoveu redução significativa na produção de matéria seca das plantas de soja, possivelmente devido à liberação de compostos fitotóxicos. Resultados semelhantes foram obtidos por ANJUM et al. (2011) que verificaram que algumas estirpes edofíticas de nódulos de *Vigna radiata* L. suprimiram o crescimento de diferentes cultivares dessa espécie.

No experimento 2, houve efeito significativo dos tratamentos sobre todas as variáveis avaliadas (Tabela 3). As estirpes inoculantes da soja CPAC 7 e BR 29 nodularam eficientemente a soja e os controles negativos não apresentaram nodulação, indicando que não houve contaminação no experimento. Nos tratamentos inoculados individualmente com as sete estirpes (UFPI CB-6, UFPI CB10-9, UFPI CB9-2, UFPI B5-4, UFPI B5-6, UFLA 07 e UFLA 214) também não ocorreu nodulação da soja, na presença de baixa (-N) e alta (+N) concentração de nitrogênio mineral na solução nutritiva.

TABELA 3 Número de nódulo (NN), matéria seca dos nódulos (MSN), da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR), total (MST) e eficiência em relação ao controle nitrogenado (EFCN) obtidos em plantas de soja co-inoculadas com estirpes promotoras do crescimento vegetal e *Bradyrhizobium*.

Tratamentos	NN	MSN	MSPA	MSR	MST	EFCN
	-	----- mg planta ⁻¹			-----	-- % -
UFPI CB-6 – N	0c*	0c	383e	164b	547d	54e
UFPI CB-6 + N	0c	0c	626c	188b	781c	89c
UFPI CB-6 + CPAC 7	0c	0c	121g	49d	170g	17g
UFPI CB-6 + BR 29	33a	18a	358e	127c	485e	51e
UFPI CB9-2 – N	0c	0c	408e	181b	590d	58d
UFPI CB9-2 + N	0c	0c	789a	293a	1.082a	111a
UFPI CB9-2 + CPAC 7	15b	3b	232f	47d	279f	33f
UFPI CB9-2 + BR 29	20b	13b	261f	89d	351f	37f
UFPI CB10-9 – N	0c	0c	305e	172b	477e	43e
UFPI CB10-9 + N	0c	0c	640c	216b	856b	90c
UFPI CB10-9 + CPAC 7	31a	7c	387e	135c	522e	54e
UFPI CB10-9 + BR 29	17b	7c	337e	123c	460e	48e
UFPI B5-4 – N	0c	0c	306e	179b	486e	43e
UFPI B5-4 + N	0c	0c	787a	327a	1.114a	111a
UFPI B5-4 + CPAC 7	32a	18a	373e	133c	506e	53e
UFPI B5-4 + BR 29	14b	10b	249f	136c	386f	35f
UFPI B5-6 – N	0c	0c	234f	141c	375f	33f
UFPI B5-6 + N	0c	0c	571d	226b	789c	81d
UFPI B5-6 + CPAC 7	0c	0c	282f	82d	364f	40f
UFPI B5-6 + BR 29	14b	2c	167g	122c	289f	24g
UFLA 07 – N	0c	0c	431e	162b	593d	61e
UFLA 07 + N	0c	0c	816a	276a	1.092a	115a
UFLA 07 + B CPAC 7	24a	16a	403e	123c	526e	57e
UFLA 07 + B BR 29	20b	13b	352e	77d	430e	50e
UFLA 214 – N	0c	0c	502d	141c	643d	71d
UFLA 214 + N	0c	0c	707b	175b	882b	100b
UFLA 214 + CPAC 7	16b	6b	362e	94d	456e	51e
UFLA 214 + BR 29	26a	23a	389e	122c	512e	55e
CPAC 7	18b	22a	375e	91d	446e	53e
BR 29	20b	12b	571d	177b	748c	81d
- N (5,25 mg N L ⁻¹)	0c	0c	242f	70d	312f	34f
+ N (52,5 mg N L ⁻¹)	0c	0c	707b	176b	906b	100b
CV (%)	36,22	24,75	11,04	19,06	10,27	11,42

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A co-inoculação das estirpes UFLA 07, UFPI CB10-9, UFPI B5-4 com a CPAC 7 resultou em maior NN (24, 31 e 32 nódulos planta⁻¹, respectivamente) em relação à inoculação individual com a estirpe CPAC 7 (18 nódulos planta⁻¹). No entanto, para NSN as estirpes UFLA 07 e UFPI B5-4 não influenciaram e a UFPI CB10-9 reduziu a produção em relação a inoculação individual com a estirpe CPAC 7 (Tabela 3). As estirpes UFPI CB-6 e UFPI B5-6 co-inoculadas com a CPAC 7 inibiram completamente a nodulação. Quando co-inoculadas com a CPAC 15, a UFPI CB-6 e UFLA 214 aumentaram o NN e MSN, a UFPI CB9-2, UFPI B5-4 e UFLA 07 não influenciaram a nodulação e as estirpes UFLA CB10-9 e UFPI B5-6 reduziram a MSN.

A co-inoculação em plantas de soja com *Bradyrhizobium japonicum* e estirpes de *Serratia proteamaculans* e *S. liquefaciens* produtoras de sideróforos, aumentou significativamente o NN (BAI et al., 2002). Em feijoeiro-comum a co-inoculação de uma estirpe de *Bacillus* com *Rhizobium tropici* aumentou o NN e a MSN, entretanto, essa mesma estirpe de *Bacillus* afetou negativamente a simbiose *Bradyrhizobium*-soja (CAMACHO et al., 2001). Por outro lado, ARAÚJO & HUNGRIA (1999) verificaram aumento da nodulação em soja devido à co-inoculação de *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum/elkanii*.

Em relação à produção de MSPA, MST e EFCN, não houve efeito positivo da co-inoculação das sete estirpes avaliadas com a estirpe CPAC 7. A co-inoculação da CPAC 7 com as estirpes UFPI CB10-9, UFPI B5-4, UFLA 07 e UFLA 214 não influenciou a MSPA, MST e EFCN, já com as estirpes UFPI CB-6, UFPI CB9-2 e UFPI B5-6 promoveu efeito negativo sobre essas variáveis (Tabela 3). No entanto, em relação a MSR, as estirpes UFPI CB10-9, UFPI B5-4 e UFLA 07 co-inoculadas com a estirpe CPAC 7 aumentaram significativamente a produção em relação a inoculação individual da CPAC 7, com incrementos de 48, 46 e 35% respectivamente. ARAÚJO et al. (2010) verificaram aumentos da matéria seca da raiz de plantas de feijão-caupi e leucena co-inoculadas com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium*. Na simbiose *Bradyrhizobium* e feijão caupi, a matéria seca da raiz foi maior quando as plantas foram co-inoculadas com *Paenibacillus* (RODRIGUES et al., 2012). Já BÁRBARO et al. (2009) verificaram que co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense* não influenciou nodulação, massa seca radicular e da parte aérea de plantas de soja

Em relação às co-inoculações com BR 29, as sete estirpes promoveram efeitos negativos em relação à MSPA, MSR, MST, MST e EFCN. No entanto, quando inoculadas individualmente, na presença de baixa concentração de N, as estirpes UFPI CB-6, UFPI CB9-2, UFPI CB10-9, UFPI B5-4 e UFLA 07 promoveram produção de MSR semelhantes à produção obtida com a inoculação da BR 29 e superior a inoculação com CPAC 7 e ao controle com -N. Além disso, na presença de alta concentração de N mineral as estirpes CB9-2, UFPI B5-4 e UFLA 07 promoveram produção de MSPA, MSR, MST e EFCN superior ao controle sem inoculação com +N mineral e aos demais tratamentos. Os incrementos de MST, em relação ao controle com +N chegaram até 23% no tratamento inoculado com a estirpe UFPI B5-4. Esses dados indicam que, apesar da incompatibilidade da co-inoculação com estirpes inoculantes da soja, essas estirpes apresentam potencial para inoculação em outras culturas agrícolas que não forma simbiose com rizóbios.

CONCLUSÕES

Com base nos experimentos foi possível afirmar que estirpes dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Paenibacillus* e *Rhizobium* aumentaram a produção de matéria seca da parte aérea e da raiz de plantas de soja quando inoculadas individualmente.

As estirpes UFPI CB10-9 (*Enterobacter* sp.), UFPI B5-4 (*Enterobacter* sp.) e UFLA 07 (*Herbaspirillum* sp.) co-inoculadas com a CPAC 7 promoveram aumentos significativos no número de nódulos e na matéria seca de raiz de plantas de soja.

As estirpes CB-6 (*Enterobacter* sp.) e UFLA 214 (*Azospirillum brasilense*) aumentaram o número e a matéria seca de nódulos quando co-inoculadas com a BR 29, no entanto, em relação ao crescimento vegetal, as sete estirpes avaliadas promoveram efeito negativos quando co-inoculadas com BR 29.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS

ANJUM, M. A.; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M.; ASHRAF, M. Isolation and screening of rhizobia for auxin biosynthesis and growth promotion of mung bean (*Vigna radiata* L.) seedlings under axenic conditions. **Soil Environmental**, v. 30, n. 1, p. 18-26, 2011.

ARAÚJO, A. S. F.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. Co-inoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre nodulação, fixação de N₂ e crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 182-185, 2010.

ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9 p. 1633-1643, 1999.

BAI, Y.; PAN, B.; CHARLES, T. C. SMITH, D. L. Co-inoculation dose and root zone temperature for plant growth promoting rhizobacteria on soybean [*Glycine max* (L.) Merr] grown in soil-less media. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, n. 12, p. 1953-1957, 2002.

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

CAMACHO, M.; SANTAMARÍA, C.; TEMPRANO, F.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D. N.; DAZA, A. Co-inoculation with *Bacillus* sp. CECT 450 improves nodulation in *Phaseolus vulgaris* L. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 11, p. 1058-1061, 2001.

COSTA, E. M. **Potencial de promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi em solos do Sudoeste piauiense**. 2013. 149 p. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; DE CARVALHO, F.; TROCHMANN, A.; FERREIRA, L. V. M.; MOREIRA, F. M. S. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. T. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agriculture Experiment Station, 1950. 32 p. (Circular, 347).

HUNG, P. Q. KUMAR, S. M.; GOVINDSAMY, V.; ANNAPURNA, K. Isolation and characterization of endophytic bacteria from wild and cultivated soybean varieties. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 1, p. 155-162, 2007.

JANGU, O. P.; SINDHU, S. S. Differential response of inoculation with indole acetic acid producing *Pseudomonas* sp. In Green Gram (*Vigna radiata* L.) and Black Gram (*Vigna mungo* L.). **Micobiology Journal**, v. 1, n. 5, p. 159-173, 2011.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology**, v. 71, n. 6, p. 642-644, 1978.

LI, J. HONG.; WANG, E. T.; CHENA, W. F.; CHENA, W. X. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 238-246, 2008.

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 and Soil**, v. 353, n. 1, p. 289-307, 2012.

MARTINS, R. N. L. **Bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio em solos sob cultivo de feijão-caupi no Pólo de produção Bom Jesus- PI**. 2011. 67 p. Dissertação (Mestrado em solos e nutrição de plantas) - Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2011.

MOREIRA, F. M. S.; LANGE, A.; KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; NÓBREGA, R. S.; LIMA, A. S. Associative diazotrophic bacteria in grass roots and soils from heavy metal contaminated sites. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, n. 4, p. 749-76, 2008.

NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; LIMA, A. S. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 28, n. 2, p. 269-279, 2004.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; MOREIRA, F. M. S. Evaluation of plant growth promoting traits of *Burkholderia* and *Rhizobium* strains isolated from Amazon soils for their co-inoculation in common bean. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 11, p. 948-959, 2013.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; L SOARES, L. B.; BOMFETI, C. A.; SILVA, K.; AVELAR FERREIRA, P. A. A.; MOREIRA, F. M. S. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 1239-1250, 2014.

RADWAN, T.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Production of índole-3-acetic acid by different strains of *Azospirillum* and *Herbaspirillum* spp. **Symbiosis**, v. 32, p. 39-54, 2002.

RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V. V.; BARROS, B. G. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 196-202, 2012.