MESTRADO EM BIOENERGIA E GRÃOS COINOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO JUNTAMENTE COM ADUBAÇÃO NITROGENADO VIA FOLIAR NO CULTIVO DE SOJA

Por

WMARLEY GOULART SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioenergia e Grãos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Iporá, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Bioenergia e Grãos

Rio Verde – GO Julho – 2024

MESTRADO EM BIOENERGIA E GRÃOS COINOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO JUNTAMENTE COM ADUBAÇÃO NITROGENADO VIA FOLIAR NO CULTIVO **DE SOJA**

por

WMARLEY GOULART SILVA

Comitê de Orientação: Prof. Dr. Sihélio Júlio Silva Cruz – IF Goiano

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - S

Goulart Silva, wmarley

S586

COINOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO JUNTAMENTE COM ADUBAÇÃO NITROGENADO VIA FOLIAR NO CULTIVO DE SOJA / wmarley Goulart Silva. Iporá 2024.

31f. il.

Orientador: Prof. Me. Sihélio Júlio Silva Cruz. Coorientadora: Prof^a. Dra. Silvia Sanielle Costa de Oliveira. Dissertação (Mestre) - Instituto Federal Goiano, curso de

0233154 - Mestrado Profissional em Bioenergia e Grãos - Integral (Campus Rio Verde).

1. Glycine max L. 2. Bioinsumos. 3. Fertilidade do solo.. I. Título.



Identificação da Produção Técnico-Científica

WMARLEY GOULART SILVA:79340571134

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano Sistema Integrado de Bibliotecas

Rio Verde, 26 de agosto de 2025.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

[] Tese [] Artigo Científico [] Capítulo de Livro [X] Dissertação [] Monografia - Especialização [] Livro [] TCC - Graduação [] Trabalho Apresentado em Evento Produto Técnico e Educacional - Tipo: Nome Completo do Autor: Wmarley Goulart Silva Matrícula: 2022102331540017 Título do Trabalho: COINOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO JUNTAMENTE COM ADUBAÇÃO NITROGENADO VIA FOLIAR NO CULTIVO DE SOJA. Restrições de Acesso ao Documento Documento confidencial: [X] Não [] Sim, justifique: ____ Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 26/08/2025 O documento está sujeito a registro de patente?] Sim [X]Não O documento pode vir a ser publicado como livro? [X] Não DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA O/A referido/a autor/a declara que: o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade; obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue; cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Ciente e de acordo:

Assiriatara do Orientado

Assinado de forma digital por WMARLEY GOULART SILVA:79340571134

VA:79340571134 Dados: 2025.10.17 105331 - 03707
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 1/2025 - CCEG-IP/CEG-IP/GE-IP/CMPIPR/IFGOIANO

COINOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO COM ADUBAÇÃO NITROGENADA VIA FOLIAR NO CULTIVO DE SOJA.

Autor: Wmarley Goulart Silva

Orientador: Sihélio Júlio Silva Cruz

TITULAÇÃO: Mestre em Bioenergia e Grãos - Área de Concentração Agroenergia

APROVADA em 21 de março de 2025.

Assinado eletronicamente Dr.ª Nara Elisa Lobato Rodrigues Avaliador externo - Consultora Agronômica Avaliadora interna - IF Goiano Campus Iporá Autônoma

Assinado eletronicamente Prof.ª Dr.ª Daline Benites Bottega

Assinado eletronicamente Prof. Dr. Sihélio Júlio Silva Cruz Presidente da Banca - IF Goiano Campus Iporá

Documento assinado eletronicamente por:

- Sihelio Julio Silva Cruz, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 01/04/2025 10:43:22.
- Daline Benites Bottega, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 01/04/2025 13:39:21.
- Nara Elisa Lobato Rodrigues, Nara Elisa Lobato Rodrigues Professor Avaliador de Banca Instituto Federal Goiano (1), em 01/04/2025 16:44:53.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 01/04/2025. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/ e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 693520 Código de Autenticação: c03d192659



AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida, saúde, família, e oportunidades.

Aos meus familiares, amigos e professores, em especial ao Sihélio Júlio Silva Cruz, que me apoiou em toda caminhada até aqui.

A Babington Paulo, pelo apoio, companherismo, presença constante de carinho e incentivo.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Iporá, na pessoa do Professor Dr. Sihélio, pela orientação.

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO	08
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10

Página

COINOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO JUNTAMENTE COM ADUBAÇÃO NITROGENADO VIA FOLIAR NO CULTIVO DE SOJA

por

WMARLEY GOULART SILVA

(Sob Orientação do Professor Dr. Sihélio Júlio Silva Cruz – IF Goiano)

RESUMO

O experimento foi desenvolvido em área de produção comercial no município de Diorama, GO. O delineamento experimental utilizado foi o esquema fatorial (4 x 2), em blocos ao acaso, com 4 repetições por tratamento. O fator A foi constituído pela inoculação das sementes de soja com (i) Bradyrhizobium japonicum, com (ii) Azospirillum brasilense, (iii) coinoculação com B. japonicum e A. brasilense e sem inoculação (controle). O segundo fator foi constituido pela aplicação ou não de nitrogênio (N) via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifolíolos). A parcela experimental foi composta por 5 linhas de 5,0 m cada, espaçadas de 0,45 m, totalizando 11,25 m². A cultivar de soja ultilizada no experimento foi a Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF. Foram avaliados número de nódolus por planta, massa seca de nódulos, massa seca por nódulo, altura de plantas, índice de área foliar, índice SPAD de clorofila, massa seca da parte aérea, massa seca de raízes, massa seca total, massa de mil grãos e produtividade de grãos a 13% de umidade. Ao final, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e os efeitos se significativos comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A técnica de inoculação e/ou coinoculação das sementes de soja com Bradyrhizobium japonicum e/ou Azospirillum brasilense juntamente com a aplicação de nitrogênio via pulverização foliar aumentou a massa e o número de nódulos nas raízes de plantas de soja. Os processos de inoculação e/ou coinoculação de sementes com Bradyrhizobium japonicum e/ou Azospirillum brasilense aumentam o crescimento da parte aérea e raízes das plantas de soja, com reflexos positivos na produtividade de grãos.

PALAVRAS-CHAVE: Glycine max L.; Bioinsumos; Fertilidade do solo.

COINOCULATION WITH NITROGEN-FIXING BACTERIA ALONG WITH FOLIAR NITROGEN FERTILIZATION IN SOYBEAN CULTIVATION

by

WMARLEY GOULART SILVA

(Under the advising of Professor Dr. Sihélio Júlio Silva Cruz – IF Goiano)

The experiment was conducted in a commercial production area in the municipality of Diorama, GO. The experimental design used was a factorial scheme (4 x 2) with a randomized block design, with 4 repetitions for each treatment. Factor A consisted of soybean seed inoculation with (i) Bradyrhizobium japonicum, (ii) Azospirillum brasilense, (iii) co-inoculation with B. japonicum and A. brasilense, and without inoculation (control). The second factor was the application or not of nitrogen (N) via foliar spray at the V4 phenological stage (four trifoliate leaves). The experimental plot consisted of 5 rows of 5.0 m each, spaced 0.45 m apart, totaling 11.25 m². The soybean cultivar used in the experiment was Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF. The parameters evaluated included the number of nodules per plant, dry mass of nodules, dry mass per nodule, plant height, leaf area index, SPAD chlorophyll index, shoot dry mass, root dry mass, total dry mass, thousand-grain weight, and grain yield at 13% moisture. At the end, the data obtained were subjected to analysis of variance, and if significant, the effects were compared by Tukey's test at a 5% probability. The technique of inoculation and/or co-inoculation of soybean seeds with Bradyrhizobium japonicum and/or Azospirillum brasilense, along with the application of nitrogen via foliar spray, increases the mass and number of nodules on the roots of soybean plants. The processes of inoculation and/or co-inoculation of seeds with Bradyrhizobium japonicum and/or Azospirillum brasilense enhance the growth of the shoot and roots of soybean

plants, with positive effects on grain yield.

KEYWORDS: Glycine max L.; Bioinputs; Soil fertilit.

1. INTRODUÇÃO

Entre as culturas de interesse econômico no Brasil, a soja (*Glycine max* L.) é a principal delas. No ranking de produção mundial, o Brasil ocupa o segundo lugar, ficando atrás somente dos EUA, com uma produção em torno de 312 milhões de toneladas em uma área de mais de 77 milhões de hectares, com média de 3.262 kg ha⁻¹ (CONAB, 2023). Na cultura da soja, um dos elementos mais requeridos é o nitrogênio, sendo ele o responsável pelo seu crescimento e sustentação.

Como alternativa para impedir o uso demasiado de fertilizantes nitrogenados, são feitas inoculação e coinoculação com as bactérias *Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense*, que fazem simbiose com a planta (Hungria *et al.*, 2018). Segundo Hungria *et al.* (2018), a inoculação com o *Bradyrhizobium japonicum* faz com que a planta capte o nitrogênio da atmosfera, sendo que, pela ação da enzima nitrogenase, a amônia é reduzida e transformada em compostos nitrogenados, sendo formados os nódulos, e o nitrogênio é aproveitado pela planta. Ainda segundo Hungria *et al.* (2018), a inoculação do *Azospirillum brasilense* permite a síntese de fitormônios, que promovem o crescimento da planta, principalmente o crescimento radicular, favorecendo, assim, a nodulação quando associado à bactéria *Bradyrhizobium* japonicum

O nitrogênio é o elemento demandado em maior quantidade pela cultura da soja, por ser o nutriente responsável pela elevação do nível de proteína no grão. Para a soja produzir 3.000 kg de grãos por hectare, ela necessita de 240 kg de nitrogênio, sendo 195 kg a quantidade exportada pela cultura (Hungria, 2001). Hungria (2001) comenta ainda sobre a existência de fontes que aportam nitrogênio à cultura, incluindo a decomposição da matéria orgânica presente no solo, a fixação feita por agentes não biológicos como descargas elétricas, agentes biológicos que fixam o nitrogênio atmosférico e a aplicação de fertilizantes nitrogenados ao solo. Sendo essa última fonte, a mais rapidamente disponibilizada às plantas, porém a um elevado custo de aplicação.

A associação entre estirpes das bactérias *Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense*, que têm características simbiontes (conhecidas também por rizóbios ou bradirrizóbios), e a planta de soja

ocorre através de um processo no qual a semente e a radícula liberam exsudatos, que atraem e estimulam o crescimento de rizóbios na rizosfera das plantas (Hungria, 2001).

Mesmo diante de tantas conquistas alcançados pela cultura da soja no mercado brasileiro e mundial, ainda são grandes os obstáculos que precisam ser superados, a fim de solucionar gargalos que impedem maior dinamismo do mercado, assim como a baixa produtividade observada na maioria das regiões brasileiras (Moura *et al.*, 2020).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No crescimento e desenvolvimento da cultura da soja, o elemento exigido em maior quantidade é o nitrogênio (N), por ser um componente estrutural da clorofila, de enzimas e proteínas, participando de diversas reações metabólicas na planta. Sua deficiência pode acarretar muitos distúrbios fisiológicos, como a má formação de raízes, menor crescimento foliar, em razão da menor taxa fotossintética e, como consequência, menores produção e translocação de fotoassimilados, resultando, assim, em diminuição do crescimento e em perdas de produtividade (Taiz & Zeiger, 2017).

O nitrogênio (N) é encontrado naturalmente no solo, obtido pela decomposição e mineralização da matéria orgânica, feitas por microrganismos decompositores. Porém, com o elevado nível de extração deste nutriente por culturas com alta produtividade, este elemento tende a não conseguir suprir as exigências das plantas. Todavia pode ser fornecido por fertilizantes químicos nitrogenados, fixação do nitrogênio atmosférico (N²) por descargas elétricas e pela fixação biológica do nitrogênio (FBN). A FBN ocorre pela associação simbiótica de leguminosas com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, as quais têm a capacidade de fixar o nitrogênio do ar atmosférico (78% da atmosfera é composta por nitrogênio), transformando em NH +, deixando-o disponível para a planta hospedeira (Hoffmann, 2007).

No Brasil, a FBN é uma tecnológica de grande sucesso, chegando a ocupar a maior parte das áreas cultivadas com soja no país, sendo sua comercialização em 2023 de mais de 80 milhões de doses de inoculante (ANPII, 2023), utilizando principalmente a espécie *Bradyrhizobium japonicum*; possibilitando redução dos fertilizantes nitrogenados, gerando uma economia nacional anual de, aproximadamente, US\$ 13 bilhões (EMBRAPA, 2018).

Buscam-se cada vez mais alternativas ecologicamente corretas e economicamente viáveis frente à crescente demanda do mercado pelos produtos derivados da soja. Neste contexto, pesquisadores têm buscado novas estratégias para maximizar a técnica de inoculação, como a aplicação em cobertura e a coinoculação, também denominada de inoculação mista, que consiste na união de diferentes microrganismos, gerando um efeito sinérgico, superando

resultados de forma isolada. Como exemplo, pode-se citar a bactéria promotora de crescimento *Azospirilum brasilense*, bem como o aumento de rendimento da cultura através de adubos foliares, tornando a commodity mais competitiva no mercado internacional (Ferlini, 2006; Barbaro, 2009).

As bactérias promotoras de crescimento em plantas desempenham importantes funções que melhoram o desempenho vegetal, funções relacionadas a hormônios de crescimento e à fixação biológica nitrogenada. Bactérias do gênero *Bradyrhizobium* são amplamente estudadas no que se diz respeito à fixação do elemento nitrogênio em plantas leguminosas. Já a bactéria do gênero *Azospirillum*, além de também promover a FBN, também promove o crescimento de pelos radiculares e melhora a eficiência das raízes quanto à absorção de água e nutrientes (Chibeba, 2015).

A formação de nódulos é iniciada nos pelos radiculares. Chibeba (2015) conclui que a coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense* consegue promover nodulação precoce em plantas, já que a bactéria *Azospirillum brasilense* está envolvida na indução mais acelerada do crescimento radicular. Os fitormônios que promovem melhor desenvolvimento radicular e a fixação biológica de nitrogênio proporcionam incremento de produtividade (Battisti & Simonetti, 2016).

Bactérias do gênero *Bradyrhizobium* são gram-negativas, diazotróficas, procariotas e necessitam da enzima nitrogenase para efetuarem a fixação biológica (Fernandes & Rodrigues, 2014). Conseguem capturar o nitrogênio atmosférico e reduzi-lo a compostos como nitratos e amônia, aproveitáveis pela planta. É uma forma de fornecer N à cultura com menores custos e riscos ambientais reduzidos (Melo & Zilli, 2009).

Segundo Hungria (2001), as bactérias, especificamente as do gênero *Bradyrhizobium*, penetram na planta, através de um processo infeccioso, promovem o crescimento de células específicas na planta responsáveis pela formação de nódulos onde as bactérias permanecem alocadas. Quando esses nódulos estão em pleno funcionamento, sua coloração interna é avermelhada por conta da presença de uma proteína chamada leghemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio na manutenção das atividades dos microrganismos. A presença da bactéria *Bradyrhizobium* no solo consegue suprir de maneira eficiente cerca de 94% do

nitrogênio que

a soja demanda para produzir grãos (Hungria et al. 2001; Brandelero; Peixoto; Ralisch, 2008).

A soja, no início do processo de fixação nitrogenada, se torna um tanto clorótica, pois as bactérias utilizam parte de seus fotoassimilados para produzir a energia necessária à realização da FBN. Em contrapartida, a planta sintetiza suas proteínas pela utilização do nitrogênio fixado biologicamente pelas bactérias e se recupera do amarelecimento inicial rapidamente (Fernandes & Rodrigues, 2014).

A bactéria *Azospirillum brasiliensis* é um organismo diazotrófico, quando a bactéria se associa à planta em mutualismo, fixando nitrogênio e obtendo em troca o carbono (Araujo, 2013). A utilização da bactéria *Azospirillum brasilense* promove inúmeros benefícios para a cultura da soja, já que sintetiza hormônios vegetais como a giberelina, citocinina, auxina e etileno, benéficos para a planta e responsáveis por seu crescimento e desenvolvimento, principalmente na parte radicular (Munareto *et al.*, 2019).

Por ocorrer a expansão da área radicular, a planta acaba por sintetizar mais nutrientes, fazendo com que aumente a nodulação, juntamente com a estrutura e a fertilidade do solo. Essa técnica vem sendo aplicada cada vez mais, tendo em vista que ocorrem muitas perdas nas aplicações dos fertilizantes nitrogenados, por fim gerando impactos ao meio ambiente (Munareto *et al.*, 2019).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em área de produção comercial no município de Diorama, GO. A cultura da soja foi implantada em novembro de 2022, em sistema de semeadura direta. A soja foi semeada no espaçamento de 0,45 m entre linha, utilizando 16 sementes por metro linear, objetivando uma densidade final de 300 mil plantas ha⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi o esquema fatorial (4 x 2), com delineamento em blocos ao acaso, com 4 repetições em cada tratamento. O fator A foi constituído pela inoculação das sementes de soja com (i) *Bradyrhizobium japonicum*, com (ii) *Azospirillum brasilense*, (iii) coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense*, e sem inoculação (controle). O segundo fator foi constituido pela aplicação ou não de nitrogênio (N) via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifolíolos). A parcela experimental foi composta por 5 linhas de 5,0 m cada, espaçadas 0,45 m, totalizando 11,25 m². A cultivar de soja ultilizada no experimento foi a Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF.

A coinoculação foi feita misturando as duas rizobactérias, nas mesmas proporções utilizadas quando inoculadas isoladamente, ou seja, 150 mL do inoculante contendo *B. japonicum* + 200 mL de inoculante contendo *A. brasilense* para 50 kg de sementes de soja, no Laboratório de Técnologia de Sementes na Fazenda Escola do IFGoiano, Campus Iporá.

Aos 50 dias após a semeadura, amostras de plantas de soja foram colhidas e as seguintes variáveis mensuradas: altura de planta (AP), medindo a haste principal do colo até o meristema apical com o auxílio de régua graduada em centímetro (cm); e número de nódulos (NN), obtido pela contagem do número de nódulos presentes nas raízes.

Em seguida, foram avaliados o número e a massa seca dos nodúlos. Para este procedimento, os nódulos foram destacados e colocados em estufa por 48 horas a 65 °C, com pesagem do material seco em balança analítica com precisão de 0,0001 g, tendo sido, então, calculados a razão entre a massa de matéria seca dos nódulos e o número de nódulos para obtenção da massa de matéria seca média por nódulo.



Figura 1. Avaliação do número de nódulos por planta de soja – Diorama – GO.

Após as análises morfologicas, foram feitas as análises de crescimento, conforme preconizado por Benincasa (2003), tendo sido determinados o índice de área foliar (IAF), a matéria seca da parte aérea das plantas (MSPA) e das raízes (MSR) e a matéria seca total (MST).

Para a mensuração da massa de matéria seca da parte aérea das plantas (M.S.P.A) e das raízes (MSR), as plantas foram seccionadas em folha, caule e raiz e, em seguida, acondicionadas em sacos de papel, colocadas para secar em estufa de circulação de ar forçada com temperatura de 65 °C até obter massa constante, posteriormente, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g, sendo os resultados expressos em g/planta. A massa seca da parte aérea foi obtida pela soma da massa seca das folhas com a massa seca do caule, e a massa seca total foi obtida pela somatória de todas as partes da planta (folhas, caule e raízes).





Figura 2. Coleta de amostras da parte aérea das plantas de soja nas parcelas experimentais para determinação da mass seca. Diorama - GO.

Ao final do ciclo da cultura, no ponto de maturação de colheita dos grãos (R9), foi feita a colheita manual das plantas de 3 linhas de 3,0 m na área central da parcela, para determinação da massa de mil grãos e da produtividade de grãos a 13% de umidade. No Laboratório de Técnologia de Sementes, foi feita a pesagem dos grãos para obtenção da massa de mil grãos, corrigindo para 13% de umidade, com a finalidade de estimar a produtividade.



Figura 3. Avaliação da massa de mil grãos e sua produtividade. Diorama – GO.

Ao final, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e os efeitos, se significativos, foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis número de nódulo e massa seca de nódulos por planta, analisando a interação "aplicação de nitrogênio (N)" x "inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio" através da comparação de médias pelo teste de Tukey (< 0,05), foram observados efeitos significativos (Tabela 1). A aplicação de N juntamente com a inoculação de *B. japonicum* e/ou coinoculação com *B. japonicum* e A. brasilense aumentou o número e a massa seca de nódulos por planta de amendoim. No entanto, os tratamentos não auteraram a massa seca média de cada nódulo.

Tabela 1 — Efeito da aplicação de nitrogênio via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifolíolos) e da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense*, no número de nódulos por planta, na massa seca de nódulos por planta e na massa seca de nódulo de plantas de soja (cv. Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF).

	1	<i>3</i> \			,	
	Nodules					
	No. per plant		Plant dry mass ⁻¹ (mg)		Nodule dry mass ⁻¹ (mg)	
Nitrogen application (N)	no	yes	no	yes	no	yes
Inoculation						
Control	41 Bb	49 Ab	211 Bb	221 Ab	5.1 a	4.5 a
Bradyrhizobium japonicum	48 Bb	59 Aa	224 Ba	245 Aa	4.6 a	4.1 a
Azospirillum brasilense	44 Ab	48 Ab	209 Ab	210 Ab	4.7 a	4.4 a
B. japonicum + A. brasilense	54 Ba	63 Aa	241 Ba	256 Aa	4.5 a	4.1 a
CV (%)		11.8	1	13.9	1	6.8

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesse estudo, o aumento do número de nódulos por planta e, consequentemente, da massa seca de nódulos por planta está relacionado principalmente com a inoculação e/ou co-inoculação das bactrérias fixadoras de N durante o tratamento de sementes, destacando assim a relevância dos microrganismos que fazem o processo de simbiose com leguminosas, como, por exemplo, a soja.

Segundo Cardodo e Andreote (2016), é essencial a compreensão de que o solo é um grande acervo de microrganismos, que desempenham importante papel na composição do solo. Podem ser enumeradas, entre as mais diferentes funções atribuídas a eles, algumas amplamente conhecidas, como a degradação de compostos orgânicos e, por

conseguinte, a ciclagem de nutrientes. Além dessas atribuições, nesse estudo atestamos a fixação biológica de nitrogênio, por meio de simbiose com as plantas, sendo as leguminosas uma família com alto potencial simbiótico. A eficiência da relação simbiotica pode e deve ser aferida através do número, da massa e do tamanho dos nódulos (Ferreira & Castro, 1995).

Os resultados obtidos na Tabela 1 certificam que tanto a inoculação com *B. japonicum*, quanto a coinoculação com *B. japonicum* e/ou *A. brasilense* promoveram uma eficiente infestação de bactérias nas raízes, provocando aumento da formação de nódulos, dando origem a colônias de bactérias, as quais, por meio de processos bioquímicos, fixaram o nitrogênio na planta.

Analisando a interação "aplicação de N" x "inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio" pela comparação de médias pelo teste de Tukey (< 0,05), foram observados efeitos significativos paras as variáveis morfofisiológicas altura de planta, área foliar e índice SPAD de clorofila (Tabela 2). Neste caso, a aplicação de N e a inoculação e/ou coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* no tratamento de sementes aumentaram a altura, a área foliar e a produção de clorofila nas plantas de soja.

Tabela 2 — Efeito da aplicação de nitrogênio via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifológico) e da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense*, na altura de plantas, no índice de área foliar e no índice SPAD de clorofila de plantas de soja (cv. Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF).

	Soybean plants						
	Plant height (cm)		Leaf are	Leaf area index LAI		SPAD chlorophyll index	
Nitrogen application (N)	no	yes	no	yes	no	yes	
Inoculation							
Control	41 Bb	49 Ab	3.3 Bb	3.7 Ab	22 Bb	30 Ac	
Bradyrhizobium japonicum	48 Ba	56 Aa	3.6 Bb	4.2 Ab	25 Bb	34 Ab	
Azospirillum brasilense	45 Bb	52 Ab	3.4 Bb	4.1 Ab	24 Bb	34 Ab	
B. japonicum + A. brasilense	50 Ba	58 Aa	3.9 Ba	4.7 Aa	28 Ba	39 Aa	
CV (%)	6.6		14.8		8.2		

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesse estudo, ficou demonstrado, pelos resultados obtidos (Tabela 2), que a técnica de inoculação e/ou coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* no tratamento de sementes é extremamente eficiente, promovendo maior crescimento e maior capacidade de absorção de energia através de uma maior área foliar e índices de clorofila (Taiz & Zeiger, 2017).

Esses microrganismos reduzem o $N_2\,para$ a forma de amônia, cujos mecanismos possibilitam a

assimilação e a incorporação de N no crescimento celular e atuação nos processos fisiológicos (Mantilla-Paredes *et al.*, 2009).

Segundo Ronsani et al. (2013), técnicas de aplicação como inoculação nas sementes durante a semeadura, inoculação no sulco de semeadura e inoculação pós-emergência são significativamente eficientes, promovendo uma boa nodulação e um bom crescimento em plantas de soja.

Nesse sentido, a maior oferta de nitrogênio promovida pela aplicação de N e inoculação e/ou coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* no tratamento das sementes foi responsavel pelo aumento dos índices SPAD de clorofilas nas plantas de soja. Segundo Muhammad et al. (2022), o nitrogênio é um elemento essencial para a produção de clorofila, molécula que permite às plantas realizar a fotossíntese ao capturar a energia da luz solar para produzir alimentos. Além disso, o nitrogênio é um componente fundamental dos aminoácidos, que são os blocos de construção das proteínas, incluindo aquelas envolvidas na síntese de clorofila e nos processos fotossintéticos (Swoczyna *et al.*, 2022). A disponibilidade de nitrogênio afeta diretamente a taxa de fotossíntese e, consequentemente, o crescimento e a produtividade das plantas (Li *et al.*, 2018).

Outro fator que contribuiu com um maior crescimento foi a suplementação de N via pulverização foliar, aumentando a capacidade da planta em realizar processos fisiológicos. Segundo Rosa Filho (2012), grande parte do nitrogênio utilizado pela planta na síntese de proteína é absorvida antes da floração, e a quantidade deste nutriente armazenado nos tecidos é que vai definir os teores de proteínas nos grãos.

Estudos comprovam que, para a cultura da soja, são necessários aproximadamente 80 kg de N para produzir 1,000 kg de grãos (Hungria & Mendes, 2015). Grande parte desse nitrogênio requerido pela cultura é obtido pelo estabelecimento de uma relação simbiótica com bactérias fixadoras de N, como *Rhizobium* spp. e *Bradyrhizobium* spp., tendo como resultado final a formação de nódulos no sistema radicular das plantas pela Fixação Biológica do Nitrogênio (Kumar *et al.*, 2020).

Nesse sentido, a interação entre aplicação de N e inoculação e/ou coinoculação também foi observada para a produção de massa seca pelas plantas de soja (Tabela 3). Somente com os

processos de inoculação e coinoculação com B. japonicum e A. brasilense foi possível

aumentar as médias de acúmulo de massa seca, porém com a aplicação de N via pulverização foliar, os incrementos foram significativamente maiores, principalmente para os tratamentos com *B. japonicum* e coinoculação

Tabela 3 – Efeito da aplicação de nitrogênio via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifolíolos) e da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense*, na massa seca da parte aérea (M.S.P.A), massa seca das raízes (M.S.R) e massa seca total (M.S.T) de plantas de soja (cv. Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF).

	Soybean plants					
	S.D.M. plant ⁻¹ (g) R.D.M plant ⁻¹ (g		plant ⁻¹ (g)	T.D.M plant ⁻¹ (g)		
Nitrogen applicatio (N)	não	sim	não	sim	não	sim
Inoculation						
Control	8.1 Bb	10.5 Ab	7.0 Bb	8.9 Ab	15.1 Bc	19.4 Ab
Bradyrhizobium japonicum	9.7 Ba	12.9 Aa	7.9 Ba	9.6 Aa	17.6 Bb	22.5 Aa
Azospirillum brasilense	8.8 Bb	11.1 Ab	7.3 Ab	8.7 Ab	16.1 Bb	19.8 Ab
B. japonicum + A. brasilense	_11.2 B	a 13.4 Aa	9.3 Ba	10.1 Aa	20.5 Ba	23,5 Aa
CV (%)	7.9		15.2		10.8	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A fixação biológica de nitrogênio possibilitou que as plantas de soja obtivessem nitrogênio da atmosfera pela simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (*B. japonicum e A. brasilense*), convertendo-o em compostos orgânicos vitais para seu crescimento, como aminoácidos e proteínas. A formação de proteínas é dependente da disponibilidade de nitrogênio (N) para a planta (Ferreira *et al.*, 2020).

A coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* mostrou-se uma prática eficiente nesse caso. A bactéria *Azospirillum brasilense* também é utilizada com sucesso em conjunto com a bactéria *Bradyrhizobium japonicum* no procedimento denominado coinoculação no cultivo de outras culturas (Fipke et al., 2016; Hungria; Nogueira; Araújo, 2015). São bactérias associativas que fazem a fixação biológica de nitrogênio (Fukami et al., 2016; Hungria; Nogueira; Araujo, 2013), produzem fitormônios (Cassán; Vanderleyden; Spaepen, 2014), solubilizam fosfato (Tahir et al., 2013) e induzem resistência a doenças e a estresses ambientais (Fukami et al., 2017).

Portanto, a coinoculação pode estar relacionada com os aumentos do acúmulo de massa seca pelas plantas de soja em razão da maior disponibilidade de nutrientes que fornecem à

planta, e com a produção de fitormônios pela bactéria *Azospirillum brasilense*, que induzem o crescimento de raízes, permitindo

exploração de maior volume de solo e, consequentemente, maior acesso a nutrientes e água (Pérez-Montaño, 2014).

Bastos *et al.* (2012), avaliando o efeito da fixação biológica de nitrogênio através da coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* em sementes de feijão-caupi, também registraram aumentos significativos na produção de matéria seca pelos nódulos, raízes e parte aérea das plantas. Para feijão comum também foram observados aumentos significativos de acúmulo de matéria seca no estudo de Moraes *et al.* (2010). Plantas de milho, algodão e soja também apresentaram taxas de crescimento maiores quando inoculadas e/ou coinoculadas com *B. japonicum e A. brasilense* (Alves, 2006).

Para as variáveis massa de mil grãos e produtividade de grãos a 13% de umidade, não ocorreu interação entre os fatores aplicação de N e inoculação e/ou coinoculação com *B. japonicum e A. brasilense* em sementes de soja (Tabela 4). Analisando isoladamente os fatores inoculação e/coinoculação, para massa de mil grãos, as maiores médias foram obtidas com a coinoculação das sementes com *B. japonicum e A. brasilense*. Já a produtividade de grãos foi maior quando da inoculação com *B. japonicum* e da coinoculação das sementes com *B. japonicum e A. brasilense*.

Tabela 4 – Efeito da aplicação de nitrogênio via pulverização foliar no estádio fenológico V4 (quatro trifolíolos) e da inoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense*, na massa de mil grãos (M.M.G) e na produtividade de grãos a 13% de umidade de plantas de soja (cv. Brasmax BÔNUS IPRO 8579 RSF).

_	Plantas de Soja				
_	M.M.	G(g)	Produtividade (kg ha ⁻¹)		
Aplicação de nitrogênio (N)	não	sim	<u>não</u>	sim	
Inoculação					
Controle	233 с	238 c	2788 b	2821 b	
Bradyrhizobium japonicum	251 b	247 b	3265 a	3291 a	
Azospirillum brasilense	229 c	234 c	2802 b	2862 b	
B. japonicum + A. brasilense	280 a	276 a	3412 a	3509 a	
CV (%)	16.3		10.2		

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados positivos na produtividade de grãos registrados aqui nesse estudo (Tabela 4) também foram obtidos em outros trabalhos de pesquisa. Além da inoculação anual com *Bradyrhizobium japonicum*, a Embrapa passou a indicar, a partir da safra 2013/2014, o uso conjunto de uma segunda bactéria para a inoculação da soja, em um processo denominado de coinoculação (Hungria *et al.*, 2013), com duas estirpes selecionadas da espécie *Azospirillum brasilense*, que já eram recomendadas para as culturas de milho, trigo e arroz desde 2009/2010 (Hungria, 2011; Hungria & Nogueira, 2019). As plantas de soja coinoculadas com *Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense* apresentam nodulação mais abundante e precoce (Chibeba *et al.*, 2015; Hungria *et al.*, 2015), com ganho médio de produtividade de 16% (Hungria *et al.*, 2013), o dobro do proporcionado pela inoculação anual apenas com *Bradyrhizobium japonicum*.

Segundo Rondina *et al.* (2020), a capacidade de FBN dessas estirpes de *A. brasilense* é modesta quando comparada à capacidade de *Bradyrhizobium japonicum*, contudo, o principal processo microbiano pelo qual elas beneficiam as plantas consiste na síntese de fitormônios, que promovem o crescimento vegetal, principalmente do sistema radicular. Esse processo favorece, inclusive, a nodulação por *Bradyrhizobium japonicum* e a FBN, pela ampliação do sistema radicular, além de aumentar o volume de solo explorado, favorecendo a absorção de água e nutrientes, incluindo maior aproveitamento dos fertilizantes químicos (Barbosa *et al.*, 2021). No estudo de Prado et al. (2022), no cultivo de soja, houve incremento no número de nódulos da ordem de 29,3% e no rendimento de grãos da ordem de 12,4% pela coinoculação.

Os resultados aqui apresentados também enfatizam a viabilidade da coinoculação na cultura da soja, de modo a contribuir para aumentar a renda do produtor e a sustentabilidade do sistema de produção. A média das respostas observadas foi de 24,3 e 6,5 %, quando comparada à coinoculação com o controle e com a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*, respectivamente. Essa constatação indica que há possibilidade de aumentar as respostas à coinoculação em áreas comerciais de soja. Para que esses benefícios sejam atingidos, deve-se sempre levar em conta o emprego das boas práticas de inoculação, para que a sobrevivência das bactérias coinoculadas e a

qualidade dos inoculantes sejam asseguradas para promover os benefícios esperados.

5. CONCLUSÕES

A técnica de inoculação e/ou coinoculação das sementes de soja com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense*, juntamente com a aplicação de nitrogênio via pulverização foliar, aumenta a massa e o número de nódulos nas raízes das plantas de soja.

Os processos de inoculação e/ou coinoculação de sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e/ou *Azospirillum brasilense* aumentam o crescimento da parte aérea e raízes das plantas de soja, com reflexo positivos na produtividade de grãos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Alves, B. J. R.** 2006. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, 41: p. 449-456.
- **ANPII.** 2023. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes. Comportamento do mercado de inoculantes é alvo de pesquisa da Anpii. 2023. Disponível em:https://www.anpii.org.br/site/>. Acesso em: junho de 2018.
- Araújo, E. D. O.; Mercante, F. M.; Vitorino, A.; Nunes, D.; Paim, L. & Mendes, D. 2013. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e à inoculação com *Azospirillum brasilense e Herbaspirillum seropedicae*. In Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Florianópolis. Ciência do solo: para quê e para quem: anais. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013.
- Bastos, V. J., Melo, D. A., Alves, J. M. A., Uchôa, S. C. P., Silva, P. M. C., Teixeira Junior, D. J. 2012. Avaliação da fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi submetido a diferentes manejos da vegetação natural na savana de Roraima. Revista Agro@mbiente Online; 6, 133-139.
- Barbaro, I. M., Machado, P. C., Bárbaro Junior, L. S., Ticelli, M., Bergantini, F., Silva, J. A. A. 2009. Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e coinoculação. Colloquium Agrariae, 5: p.1-7.
- Barbosa, J. Z.; Hungria, M.; Sena, J. V. S.; Poggere, G.; Reis, A. R.; Corrêa, R. S. 2021. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. Applied Soil Ecology, 163: e103913.
- **Battisti, A. M. & Simonetti, A. P. M. M.** 2016. Inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. Revista Cultivando o Saber, Cascavel Pr, 8: p. 294-301.
- **Brandelero, E. M., Peixoto, C. P. & Ralisch, R.** 2008. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. Semina: Ciências Agrárias, Londrina Pr, 3: p.581-588.
- Cardoso, E. J. B. N. & Andreote, F. D. 2016. Microbiologia do Solo, ESALq, Piracicaba, ed. 2, 2016. 221 p.
- Cassán, F., Vanderleyden, J. & Spaepen, S. 2014. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. Journal of Plant Growth Regulation; 33, 440-459.
- Chibeba, A. M., Guimarães, M. F., Brito, O. R., Nogueira, M. A., Araujo, R. S. & Hungria, M. 2015. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. American Journal of Plant Sciences, 6: 1641-1649.
- **CONAB** Companhia Nacional de Abastecimento. Produção Nacional de Grão de soja safra 2021/2022 (2023). Acessado em 27 de janeiro:
- https://www.conab.gov.br/ultimas noticias/4847-producao-nacional-de-graos-e-estimada-em-312-2-milhoes-de-toneladas-nasafra-2022-11
- 23#:~:text=Com% 20essa% 20redu% C3% A7% C3% A3o% 20no% 20processamento,para% 206

- % 20milh%C3%B5es%20de%20toneladas.
- **EMBRAPA.** 2018. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Fixação biológica de nitrogênio (FBN).
- **Fernandes, J. R. C. & Rodrigues, P.** 2014. Importância da Inoculação com Bactérias *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* na Produção de Leguminosas e o Uso de Azoto. Disponível em: http://www.agronegocios.eu/noticias/importancia-da-inoculacao-com-bacteriasrhizobium-e-bradyrhizobium-na-producao-de-leguminosas-e-o-uso-do-azoto/ Acesso em: junho de 2024.
- **Ferlini, H. A.** 2006. Co-inoculación en soja (*Glicyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Articulos Técnicos Agricultura.
- **Ferreira, E. P. B., Silva, O. F., Wander, A. E.** 2020. Economia da coinoculação de rizóbio e azospirilo em feijãocomum irrigado em produção comercial e familar. Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB), v. 55.
- **Ferreira, E. M. & Castro, I. V.** 1995. Nodulation and growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) in soils previously treated with sewage sludge. Soil Biol. Biochem., 27:177-1183.
- Fipke, G. M., Conceição, G. M., Grando, L. F. T., Ludwig, R. L., Nunes, U. R. & Martin, T. N. 2016. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. Ciência e Agrotecnologia; 40, 522-533.
- **Fukami, J., Ollero, F. J., Megías, M. & Hungria, M.** 2017. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. AMB Express; 7, 153.
- **Fukami, J., Nogueira, M. A., Araujo R. S. & Hungria, M.** 2016. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. AMB Express; 6, 3.
- **Hoffmann, L**. 2007. Biologia molecular da fixação biológica do nitrogênio. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (Ed.). Microbiota do solo e qualidade ambiental. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, p.153-164.
- **Hungria**, **M.**, **Campo**, **R. J.** & **Mendes**, **I. C.** 2001. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina Pr: Embrapa Soja, 48 p.
- **Hungria, M.** 2011. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).
- **Hungria, M., Nogueira, M. A. & Araujo, R. S.** 2013. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. Biology and Fertility of Soils; 49, 791-801.
- **Hungria, M., Mendes, I. C.** 2015. Nitrogen fixation with soybean: The perfect symbiosis? Biological Nitrogen Fixation 2–2: 1009–1024.
- Hungria, M.; Nogueira, M. A.; Prando, A. M.; Oliveira, A. B. de; Lima, D. de; Conte, O.; Harger, N.; Oliveira, F. T. de. 2018. Ações de transferência de tecnologia em inoculação/ coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja na safra 2017/18 no estado do Paraná. Londrina Pr: Embrapa.
- **Hungria, M., Nogueira, M. A.** 2019. Tecnologias de inoculação da cultura da soja: mitos, verdades e desafios. In: KAPPES, C. (Ed.). Boletim de Pesquisa 2019/2020. Rondonópolis: Fundação MT, p. 50-62. (Fundação MT. Boletim, 19).

- Li, Y., He, N., Hou, J., Xu, L., Liu, C., Zhang, J., Wang, Q., Zhang, X. & Wu, X, 2018. Factors Influencing Leaf Chlorophyll Content in Natural Forests at the Biome Scale. *Front. Ecol. Evol*; 6: 64.
- Kumar, N., Srivastava, P., Vishwakarma, K., Kumar, R., Kuppala, H., Maheshwari, S.K., Vats, S. 2020. The *Rhizobium*-plant symbiosis: state of the art. In: Varma A, Tripathi S, Prasad R, eds. Plant Microbe Symbiosis. Cham: Springer International Publishing, 1–20.
- Munareto, J. D., Martin, T. N., Fipke, G. M., Cunha, V. S. & Rosa, G. B. 2019. Nitrogen management alternatives using *Azospirillum brasilense* in wheat. Pesq Agropec Bras. 54: e00276.
- Mantilla-Paredes, A. J., Cardona, G. I., Peña-Venegas, C. P., Murcia, U., Rodríguez, M. & Zambrano, M. M. 2009. Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. Revista de Biología Tropical: 915–927.
- **Melo, S. R. & Zilli, J.** 2009. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. Pesq. agropec. bras., Brasília, 9: p.1177-1183.
- **Moura, J. C.** 2020. Aplicação de fertilizante foliar Manni-Plex® B-Moly em campo de produção de sementes de milho híbrido. Dissertação de Mestrado Profissional em Bioenergia e Grãos. IFGoiano, Rio Verde, 33p.
- Muhammad, I., Yang, L., Ahmad, S., Mosaad, I. S. M., Al-Ghamdi, A. A., Abbasi, A. M. & Zhou, X. B. 2022. Melatonin application alleviates stress-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage by regulating antioxidant defense system of maize: a meta-analysis. Antioxidants, 11: 512, 2022.
- **Pérez-Montaño, F.** 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. Microbiol. Res. 169: p. 325-336.
- Prando, A. M., Oliveira, A. B. de., Lima, D. de., Possamai, E. J., Reis, E. A., Nogueira, M. A. & Hungria, M. 2022. Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2020/2021 no Paraná. Londrina: Embrapa Soja, 24 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 181).
- **Ronsani, A. L., Pinheiro., Purin, P.** 2013. Efeitos de diferentes formulações e técnicas de inoculação no crescimento da soja. XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Ago. 2013. Florianópolis SC.
- Rondina, A. B. L.; Sanzovo, A. W. S.; Guimarães, G. S.; Wendling, J. R.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. 2020. 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, 56: 537-549.
- **Rosa filho, O.** 2012. Evolução Tecnológica da Produção de Trigo no Sul do Brasil: 1977-2007.
- Swoczyna, T., Kalaji, H. M., Bussotti, F., Mojski, J. & Pollastrini, M. 2022. Environmental stress what can we learn from chlorophyll *a* fluorescence analysis in woody plants? A review. *Front. Plant Sci.* 13:1048582.
- Tahir, M., Mirza, M. S., Zaheer, A., Dimitrov, M. R., Smidt, H. & Hameed, S. 2013. Isolation and identification of phosphate solubilizer *Azospirillum*, *Bacillus* and *Enterobacter*

strains by 16SrRNA sequence analysis and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Australian Journal of Crop Science; 7: 1284-1292.

Taiz, L. & Zeiger, E. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6a. ed. Artmed Editora, 888p.