

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO –
CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS – AGRONOMIA

BIOPROSPECÇÃO E POTENCIAL DE MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NA
SOJA POR BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Autora: Germanna Gouveia Tavares
Orientador: Prof. Dr. Alan Carlos Costa

Rio Verde – GO
Março – 2026

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO –
CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AGRÁRIAS – AGRONOMIA

BIOPROSPECÇÃO E POTENCIAL DE MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NA
SOJA POR BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Autora: Germanna Gouveia Tavares
Orientador: Prof. Dr. Alan da Carlos Costa

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Área de concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

Rio Verde – GO
Março – 2026

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

T231b Tavares, Germanna Gouveia
BIOPROSPECÇÃO E POTENCIAL DE MITIGAÇÃO DO
DÉFICIT HÍDRICO NA SOJA POR BACTÉRIAS
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS /
Germanna Gouveia Tavares. Rio Verde 2026.

89f. il.

Orientador: Prof. Dr. Alan Carlos Costa.
Tese (Doutor) - Instituto Federal Goiano, curso de 0232014 -
Doutorado em Ciências Agrárias - Agronomia - Rio Verde
(Campus Rio Verde).

1. Glycine max. 2. Bactérias promotoras de crescimento vegetal.
3. Déficit hídrico. 4. Trocas gasosas. I. Título.

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, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matrícula:

Título do trabalho:

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim 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;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, 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;
- Que 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.

Documento assinado digitalmente
GERMANNA GOUVEIA TAVARES
Data: 10/06/2026 09:58:06-0300
Verifique em <https://validar.ifg.gov.br>

Local

/ /

Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Documento assinado digitalmente
ALAN CARLOS DA COSTA
Data: 15/06/2026 14:50:39-0300
Verifique em <https://validar.ifg.gov.br>

Assinatura do(a) orientador



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

Documentos 11/2026 - DAIT-REI/PROPPI-REI/IFGOIANO

BIOPROSPECÇÃO E POTENCIAL DE MITIGAÇÃO DO DÉFICIT HÍDRICO NA SOJA POR BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS

Autor: Germanna Gouveia Tavares

Orientador: Dr. Alan Carlos da Costa

TITULAÇÃO: Doutorado em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração
em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em, 20 de março de 2026.

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa (Presidente)

Prof. Dr. Adinan Alves da Silva (Avaliador interno)

Profa. Dra. Caroline Müller (Avaliadora interna)

Prof. Dr. Jadson Bélem de Moura (Avaliador externo)

Prof. Dr. Édson Luiz Souchie (Avaliador interno)

Documento assinado eletronicamente por:

- Alan Carlos da Costa, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO , em 01/04/2026 08:49:22.
- Caroline Muller Amaral, 2024202344060001 - Discente, em 01/04/2026 08:50:08.
- Edson Luiz Souchie, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO , em 01/04/2026 09:05:58.
- Adinan Alves da Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO , em 01/04/2026 09:30:36.
- Jadson Belem de Moura, Jadson Belem de Moura - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde (10651417000500), em 01/04/2026 14:49:03.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 01/04/2026. 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: 806552
Código de Autenticação: 6da587d8d5



AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre me guia e ilumina meus caminhos para que eu consiga vencer os obstáculos da vida

A minha família, minha mãe Zenaide Martins e meu esposo João Carlos, por serem meus parceiros e não me deixarem desistir desta caminhada.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, que desde a adolescência no curso técnico até o doutorado moldaram meus passos e desenvolvimento pessoal com oportunidade de qualificação profissional, graças ao ensino público e de qualidade oferecido aos estudantes.

Agradeço as instituições de apoio (FAPEG, CAPES, CNPq, FINEP, CEBIO e CEAGRE), pelo apoio financeiro para a execução dos projetos de pesquisa.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, Prof. Dr. Marconi Batista Teixeira, pela oportunidade e pelo trabalho de excelência desenvolvido em prol do PPGCA-AGRO.

Ao meu orientador, Professor Dr. Alan Carlos da Costa, por estar presente na minha formação acadêmica, desde a graduação até o doutorado. Obrigada pela oportunidade, ensinamentos, paciência e por ser um exemplo de profissional e de pessoa.

Aos meus coorientadores, ao longo desta trajetória acadêmica e de vida, Prof. Dr. Edson Luiz Souchie e Dr. Adinan Alves da Silva, agradeço também às pós-doutorandas Dra. Cintia Faria, Dra. Luciana Minervina e Dra. Caroline Müller, que sem a ajuda e seus conhecimentos este trabalho não seria possível, que me incentivaram e direcionaram pelos melhores caminhos a seguir.

Aos membros da banca, Dr. Adinan Alves, Dra. Caroline Müller, Dr. Édson Souchie, Dr. Jadson Moura e Dr. Alan Carlos da Costa, pelas sugestões e contribuições para a melhoria deste trabalho.

A todos os colegas, egressos e/ou atuais integrantes do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal “LECO” e do Laboratório de Microbiologia Agrícola, por todos os momentos de aprendizagem, pelo apoio na execução do projeto e atividades do grupo e pela oportunidade de fazer amigos.

A todos os professores que fizeram parte da minha jornada acadêmica e contribuíram, direta ou indiretamente, para que eu conseguisse todas as formações pelas quais passei, desde o curso técnico até o doutorado, sou imensamente grata pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional que me foi proporcionada.

Deixo a todos meu muito obrigada.

BIOGRAFIA DA AUTORA

GERMANNA GOUVEIA TAVARES, filha de Zenaide Martins de Gouveia e Germano Pereira Tavares, nasceu dia 4 de abril de 1996, na cidade de Rio Verde, Goiás.

Em fevereiro de 2012, ingressou no curso de Técnico de Administração pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – Goiás, formando-se em setembro de 2013.

Em fevereiro de 2014, ingressou no curso de Bacharelado em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – Goiás, graduando-se em março de 2019.

Em abril de 2019, iniciou no curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, março de 2021.

Em abril de 2022, ingressou no Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, sob a orientação do professor Alan Carlos da Costa, concluindo com a defesa da tese em 2026.

Sumário

ÍNDICE DE TABELAS	11
ÍNDICE DE FIGURAS	12
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	17
RESUMO	19
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
2. OBJETIVOS	24
2.1 Geral.....	24
2.2 Específicos	24
CAPÍTULO I.....	26
Bioprospecção de cepas de <i>Bradyrhizobium</i> spp. de solos do Cerrado brasileiro isoladas em plantas-iscas de soja	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1. Isolamento de bactérias diazotróficas nativas do Cerrado brasileiro	29
4.2. Avaliação da capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN)	30
4.3. Quantificação da solubilização do fosfato natural reativo e Fosfato férrico (FePO ₄)... 30	
4.4. Produção de ácido indolacético (AIA).....	30
4.5. Produção de sideróforos	31
4.6. Sequenciamento dos genes <i>glnII</i> e <i>reCA</i>	31
4.7. Seleção, estocagem e preservação dos isolados	32
4.8. Preparo dos inoculantes	32
4.9. Experimentos em casa de vegetação.....	32
4.10. Trocas gasosas, fluorescência da clorofila e pigmentos fotossintéticos.....	33
4.11. Análises morfológicas da parte aérea e do sistema radicular	33
4.12. Análises estatísticas	34
5. RESULTADOS.....	34
5.1. Identificação das bactérias	38
5.2 Trocas gasosas	38
5.3. Fluorescência da clorofila	40
5.4. Pigmentos fotossintéticos (ICF).....	42
5.5. Características morfológicas da parte aérea e alocação de biomassa	43
5.6. Características morfológicas do sistema radicular	44
5.7. Proporção de raízes por classes de diâmetro no CTR, AST e VTR	48
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÃO	56

8. REFERÊNCIAS	57
CAPÍTULO II	65
Water Deficit Mitigation Potential of Native Rhizobacteria from the Brazilian Cerrado in Soybean Plants	65
Abstract	65
8. INTRODUCTION	66
9. MATERIALS AND METHODS	68
9.1. Experimental conditions	68
9.2. Selection of rhizobacteria based on functional traits	68
9.3. Bacterial identification	69
9.4. Phylogenetic analysis	70
9.5. Inoculant preparation	70
9.7. Evaluations	72
9.8. Statistical analysis	73
10. RESULTS	73
10.1. Functional traits: Phosphate solubilization capacity	73
10.2. Bacterial identification and phylogenetic relationships	74
10.3. Plant water relations	75
10.4. Gas exchange	75
10.5. Chlorophyll a fluorescence	77
10.6. Photosynthetic Pigments	78
10.7. Morphological traits	78
11. DISCUSSION	80
12. CONCLUSIONS	83
13. REFERENCES	83
14. CONCLUSÃO GERAL	89

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo I. Bioprospecção de cepas de *Bradyrhizobium* spp de solos do Cerrado brasileiro isoladas em plantas iscas de soja

Tabela 1. *Sequenciamento dos genes glnII e recA*

Tabela 2. pH e solubilização *in vitro* de fosfato natural reativo e fosfato de ferro por bactérias de *Glycine max*.

Tabela 3. Diâmetro médio de raiz (DMR, mm), comprimento de raiz fina (CRF, cm), comprimento de raiz grossa (CRG, cm), comprimento total de raiz (CTR, cm), área de superfície de raiz fina (ASRF, cm²), área de superfície de raiz grossa (ASRG, cm²), área de superfície total de raiz (ASTR, cm²), volume de raiz fina (VRF, cm³), volume de raiz grossa (VRG, cm³) e volume total de raiz (VTR, cm³) em plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação com bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Raízes finas (RF, 0,5 < Ø < 2,0 mm) e raízes grossas (RG, Ø > 2,0 mm).

Chapter II. Water deficit mitigation potential of native rhizobacteria from the Brazilian Cerrado in soybean plants

Table 1. Treatments combining inoculation and water regime

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I. Bioprospecção de cepas de *Bradyrhizobium* spp de solos do Cerrado brasileiro isoladas em plantas iscas de soja

Figura 1. Mapa do Brasil com o estado de Goiás demarcado (A) e mapa do estado de Goiás (B) ampliado com os 10 pontos das coletas de solo nativo.

Figura 2. Avaliação de fixação de nitrogênio em meio semissólido livre de N. Positivo, em que a seta vermelha indica a formação de véu de crescimento da bactéria (A), e controle negativo (B).

Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) -A e mapa de calor B - de Reactive rock phosphate, pH Reactive rock phosphate, FePO₄ e pH FePO₄. Análise das variáveis de solubilização de fosfatos Reactive rock phosphate e FePO₄ pelas bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. isoladas de plantas iscas de soja (*Glycine max*). 208 *Bradyrhizobium zhanjiangense*, 227 *Bradyrhizobium centrosematis*, 526 *Bradyrhizobium japonicum*; 542 *Bradyrhizobium americanum*, 547 *Bradyrhizobium canariense*, 549 *Bradyrhizobium diazoefficiens*, 557 *Bradyrhizobium genosp.*, 558 *Bradyrhizobium sp.*, 652 *Bradyrhizobium japonicum*, 849 *Bradyrhizobium canariense*, 1022 *Bradyrhizobium guangdongense*.

Figura 4. Taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [A], condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [B], taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [C], relação entre concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) [D] em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 5. Eficiência do uso da água instantânea (EUA, $\mu\text{mol mmol}^{-1}$) [A] e eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) [B] em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam

as médias \pm EP ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 6. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) [A], rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II (ΦP_o) [B], rendimento quântico do transporte de elétrons além da QA (Φ_{Eo}) [C], rendimento quântico da dissipação de calor (ΦDo) [D], índice de desempenho fotossintético (Pi_ABS) [E], Fluxo específico de absorção de luz do complexo antena por centro de reação (ABS/RC) [F], fluxo de energia capturado para a redução de QA por centro de reação (TRo/RC) [G], fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC) [H] e fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas do complexo antena (Dlo/RC) [I] em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 7. Teores de clorofila *a* (Chl *a*, ICF) [A], clorofila *b* (Chl *b*, ICF) [B], clorofila total (Chl *a+b*) [C] e razão entre clorofilas *a* e *b* (Chl *a/b*, ICF) em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 4$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 8. Altura de planta (AP, cm) [A] e diâmetro de caule (DC, mm) [B] em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 4$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 9. Massa seca de folhas (MSF, g) [A] e massa seca de raiz (MSR, g) [B] em folhas de plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 4$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 10. Finura de raiz (FR, cm cm^{-3}) [A], comprimento específico de raiz (CER, cm g^{-1}) [B], densidade de tecido radicular (DTR, g cm^{-3}) [C] e área de superfície específica (ASE, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) [D] em plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias \pm EP ($n = 3$). Médias seguidas de letras diferentes entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Figura 11. Proporção de raízes finas e grossas no comprimento total radicular (CTR, cm) [A], área de superfície radicular (ASR, cm^2) [B] e volume total radicular (VTR, cm^3) [C] em plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação de bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam as médias ($n = 3$). Classes de diâmetros: raízes finas (RF, $0,5 < \varnothing < 2,0$ mm) e raízes grossas (RG, $\varnothing > 2,0$ mm).

Chapter II. Water deficit mitigation potential of native rhizobacteria from the Brazilian Cerrado in soybean plants

Figure 1. Phosphate solubilization capacity. *In vitro* phosphate solubilization capacity of native bacterial isolates (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)) for calcium phosphate (red), rock phosphate (blue), and iron phosphate (yellow).

Figure 2. Phylogenetic relationships. Similarity tree based on 16S rRNA gene sequences of soybean rhizospheric bacteria, showing phylogenetic relationships with closely related strains. Numbers in blue above nodes represent posterior probability values.

Figure 3. Plant water status. Predawn leaf water potential (Ψ_w) in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by

Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

Figure 4. Gas exchange. Photosynthetic rate (A) [A], stomatal conductance (g_s) [B], transpiration rate (E) [C], instantaneous carboxylation efficiency (A/C_i) [D], intercellular and ambient CO_2 concentration ratio (C_i/C_a) [E], and water use efficiency (WUE) [F] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

Figure 5. Chlorophyll *a* fluorescence. Potential quantum yield of PSII (F_v/F_m) [A], non-photochemical quenching (NPQ) [B], and electron transport rate (ETR) [C] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

Figure 6. Photosynthetic pigments. Total chlorophyll concentration in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

Figure 7. Morphological traits. Plant height (PH) [A], stem diameter (SD) [B], and leaf area (LA) [C] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

<i>A</i>	Taxa fotossintética	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
AF	Área foliar	m^2
AFE	Área foliar específica	$\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$
AP	Altura da planta	Cm
ASE	Área de superfície específica	$\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$
ASRF	Área de superfície de raízes finas	cm^2
ASRG	Área de superfície de raízes grossas	cm^2
ASRMF	Área de superfície de raízes muito finas	cm^2
AST	Área de superfície total	cm^2
CC	Capacidade de campo	
CE	Comprimento específico de raiz	cm g^{-1}
C_i/C_a	Relação entre concentração interna e externa de CO_2	
CRA	Conteúdo relativo de água	%
CRF	Comprimento de raízes finas	Cm
CRG	Comprimento de raízes grossas	Cm
CRMF	Comprimento de raízes muito finas	Cm
CTR	Comprimento total de raiz	Cm
DC	Diâmetro do caule	Mm
DCR	Densidade de comprimento radicular	cm cm^{-3}
DMR	Diâmetro médio radicular	Mm
DTR	Densidade de tecido radicular	g cm^{-3}
<i>E</i>	Taxa transpiratória	$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
ETR	Taxa de transporte de elétrons	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
EUA	Eficiência instantânea do uso da água	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1}$ H_2O
FR	Finura de raiz	cm cm^{-1}
FSII	Fotossistema II	
F_v/F_m	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	
g_s	Condutância estomática	$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

MSF	Massa seca da folha	g planta ⁻¹
MSPA	Massa seca da parte aérea	G
MSR	Massa seca da raiz	g planta ⁻¹
MST	Massa seca total	G
NF	Número de folhas	
NN	Número de nós	
NPQ	Coefficiente de extinção não fotoquímica	
VRF	Volume de raízes finas	cm ³
VRG	Volume de raízes grossas	cm ³
VRMF	Volume de raízes muito finas	cm ³
VTR	Volume total de raízes	cm ³
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo do fotossistema II	cm ³
Ψ_w	Potencial hídrico foliar antemanhã	Mpa

RESUMO

TAVARES, GERMANNNA GOUVEIA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, março de 2026. **Bioprospecção e potencial de mitigação do déficit hídrico na soja por bactérias promotoras de crescimento de plantas.** Orientador: DSc. Alan Carlos da Costa. Coorientadores: DSc. Edson Luiz Souchie, DSc. Adinan Alves da Silva.

A soja (*Glycine max*) é uma das commodities agrícolas mais importantes para a alimentação mundial, porém enfrenta perdas recorrentes de produtividade em função de estresses ambientais, especialmente o déficit hídrico. Além disso, a cultura apresenta elevadas exigências nutricionais para atingir produtividades compatíveis com a crescente demanda global por alimentos. Este estudo investigou o potencial de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) na mitigação dos efeitos da seca em *G. max*, bem como no estímulo ao desenvolvimento vegetal. Inicialmente, foram conduzidos ensaios *in vitro* para a identificação de traços funcionais das bactérias e posterior caracterização genética. A partir dessa triagem, 11 isolados de bactérias, identificados como pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* spp., foram selecionados com base nos traços funcionais avaliados. Em seguida, dois experimentos em casa de vegetação foram realizados para simular condições de campo. O primeiro experimento teve como objetivo selecionar as bactérias com maior potencial para promover o desenvolvimento de plantas inoculadas, enquanto o segundo avaliou a capacidade dessas bactérias em aumentar a tolerância das plantas ao déficit hídrico. Em ambos os ensaios, foram analisadas as trocas gasosas, a fluorescência da clorofila *a*, os pigmentos fotossintéticos e o crescimento vegetal sob condições de irrigação adequada e déficit hídrico no solo, com e sem inoculação de bactérias nativas ou comerciais, além de parâmetros morfológicos de parte aérea e do sistema radicular. Os resultados indicaram que as cepas de rizobactérias promotoras do crescimento aumentaram as taxas fotossintéticas, a eficiência do transporte de elétrons e o crescimento radicular, tanto em condições bem irrigadas quanto sob déficit hídrico.

PALAVRAS-CHAVES: *Glycine max*; bactérias promotoras de crescimento vegetal; déficit hídrico; trocas gasosas.

ABSTRACT

TAVARES, GERMANN GOUVEIA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, Março de 2026. **Bioprospecting and potential for mitigating water deficit in soybeans using plant growth-promoting bacteria.** Orientador: DSc. Alan Carlos da Costa. Coorientadores: DSc. Edson Luiz Souchie, DSc. Adinan Alves da Silva.

Soybean (*Glycine max*) is one of the most important agricultural commodities for global food supply; however, it frequently experiences yield losses due to environmental stresses, particularly drought. In addition, the crop has high nutritional requirements to achieve productivity levels that meet the growing global demand for food. This study investigated the potential of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to mitigate the drought effects in *G. max* and to enhance plant development. Initially, in vitro assays were carried out to identify functional traits of the bacteria, followed by genetic characterization. Based on this screening, 11 bacterial isolates, identified as belonging to the genus *Bradyrhizobium* spp., were selected according to the evaluated functional traits. Subsequently, two greenhouse experiments were carried out to simulate field conditions. The first experiment aimed to select bacteria with the greatest potential to promote the growth of inoculated plants, while the second evaluated the ability of these bacteria to enhance plant tolerance to water deficit. In both experiments, gas exchange, chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments, and plant growth were assessed under well-watered and water-stress conditions, with and without inoculation using native or commercial bacteria, in addition to morphological evaluations of shoot and root systems. The results indicated that plant growth-promoting bacterial strains improved photosynthetic rates, electron transport efficiency, and root growth under both well-watered and drought stress conditions.

Keywords: *Glycine max*; plant growth-promoting rhizobacteria; drought; gas exchange.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor de soja do mundo, com expectativa de crescimento de 3,6% na área semeada para soja em comparação à safra 2024/25, alcançando aproximadamente 49,1 milhões de hectares. Nesse contexto, a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) estima a produção de 177,6 milhões de toneladas na safra 2025/26, frente a 171,5 milhões de toneladas colhidas na temporada anterior (Conab, 2025).

A busca pela sustentabilidade no agronegócio constitui questão crítica na atualidade, dada a necessidade de equilibrar a produção agrícola com a conservação ambiental e a equidade social (Silva *et al.*, 2021). A intensificação desordenada da produção agrícola tem provocado impactos ambientais significativos, como degradação do solo, contaminação de recursos hídricos e perda de biodiversidade (Silva & Souza, 2020). Esses desafios são agravados pelas mudanças climáticas, que afetam diretamente a produtividade agrícola e a segurança alimentar em escala global (Ferreira *et al.*, 2019).

Com o avanço das mudanças climáticas e o aumento das temperaturas médias, prevê-se a ampliação da frequência, intensidade e duração dos períodos de estiagem, intensificando o déficit hídrico sobre as culturas agrícolas (Kørup *et al.*, 2018). Na região Centro-Oeste do Brasil, a ocorrência de veranicos tem se tornado mais frequente, coincidindo com estádios críticos do desenvolvimento vegetativo (V4) e reprodutivo (R1) da soja. Nessas fases, a deficiência hídrica compromete o alongamento celular, a expansão foliar, a taxa fotossintética e a translocação de nutrientes, resultando em perdas expressivas de produtividade (Hidalgo-Santiago *et al.*, 2021).

Estima-se que a escassez de água seja o principal fator responsável pela redução da produtividade agrícola, superando inclusive os efeitos combinados de patógenos (Gupta *et al.*, 2020). O déficit hídrico afeta diversos processos fisiológicos, levando as plantas a responderem rapidamente por meio do fechamento estomático. Embora esse mecanismo aumente a resistência difusiva ao vapor d'água e reduza a transpiração, também limita o suprimento de CO₂ para a fotossíntese, diminui a dissipação da energia térmica e compromete o transporte de nutrientes via fluxo de massa (Flexas *et al.* 2018).

Paralelamente à busca por elevadas produtividades, observa-se aumento na extração de nutrientes do solo e, conseqüentemente, nas exigências nutricionais das plantas. Nesse cenário, alternativas como o uso de bactérias promotoras de crescimento

vegetal têm ganhado destaque, uma vez que auxiliam as plantas na superação de estresses abióticos e favorecem a absorção de nutrientes, contribuindo para o aumento da produtividade agrícola.

Alguns microrganismos, por meio da liberação de metabólitos, compostos orgânicos voláteis (COVs) ou da indução de resistência sistêmica, são classificados como hidrocapacitores, desempenhando papel relevante na regulação térmica das plantas. Além disso, contribuem para o fortalecimento do sistema radicular e estimulam a síntese de fitormônios, exopolissacarídeos e outros compostos que reforçam os mecanismos fisiológicos de tolerância ao estresse (Shaffique *et al.*, 2022).

Diversos microrganismos desempenham papel fundamental na fixação biológica de nitrogênio (FBN), com benefícios expressivos para as áreas agrícolas brasileiras, especialmente na cultura da soja. Essa prática resulta em uma economia anual estimada em aproximadamente US\$ 12 bilhões, decorrente da redução do uso de fertilizantes nitrogenados (Prando *et al.*, 2022), além de contribuir para a sustentabilidade do sistema produtivo ao minimizar os impactos ambientais associados à agricultura convencional (Babujia, Hungria; Franchini, 2010).

O uso e os benefícios das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), na produção de grãos têm sido amplamente estudados em diferentes culturas, como feijão comum e soja (Hungria *et al.*, 2013), milho (Sandini *et al.*, 2019), trigo (Hussain *et al.*, 2020) e arroz (Rawat *et al.*, 2022). Nesse contexto, os bioinsumos surgem como alternativa estratégica, aliando sustentabilidade à expansão da produção agrícola.

Os mecanismos de ação das BPCV, incluindo gêneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Streptomyces* e algumas enterobactérias, podem ser classificados em diretos ou indiretos. Os mecanismos diretos envolvem a produção e secreção de compostos que atuam diretamente na nutrição vegetal, como a disponibilização de nitrogênio (N) e fósforo (P), além da síntese de fitormônios. Já os mecanismos indiretos estão associados à interação com a microbiota da rizosfera, promovendo maior proteção ou tolerância das plantas a estresses bióticos, como pragas e patógenos, e abióticos, como salinidade, déficit hídrico e estresse iônico (Dias; Santos, 2022).

Entre esses microrganismos, bactérias do gênero *Bacillus* destacam-se pela capacidade de atenuar os efeitos do estresse hídrico e promover o crescimento das culturas agrícolas, por meio da produção de osmólitos compatíveis (como betaínas), da formação

de biofilmes e da síntese de metabólitos envolvidos na resposta ao estresse ambiental (Tordin, 2017). Dessa forma, cresce o número de estudos voltados à introdução dessas bactérias em condições decampo e à aplicação em escala comercial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Babujia, L. C.; Hungria, M.; Franchini, J. C.; Brookes, P. C. Microbial Biomass And Activity At Various Soil Depths In A Brazilian Oxisol After Two Decades Of No-Tillage And Conventional Tillage. *Soil Biology & Biochemistry*, V. 42, P. 2174–2181, 2010.
- Dias, A. Dos S.; Santos, C. C. Bactérias Promotoras De Crescimento De Plantas: Conceitos E Potencial De Uso. Nova Xavantina, Mt: Pantanal, 2022. 98 P.
- Ferreira, M. A.; Mendes, P. A.; Oliveira, G. L. Agricultura De Precisão: Avanços E Perspectivas. *Tecnologia Agrícola*, V. 30, N. 1, P. 45-59, 2019.
- Flexas, J.; Carriquí, M.; Nadal, M. Gas Exchange And Hydraulics During Drought In Crops: Who Drives Whom? *Journal Of Experimental Botany*, V. 69, P. 3791–3795, 2018. Doi: 10.1093/Jxb/Ery235.
- Gupta, A.; Rico-Medina, A.; Caño-Delgado, A. I. The Physiology Of Plant Responses To Drought. *Science*, V. 368, N. 6488, P. 266-269, 2020.
- Hidalgo-Santiago, L.; Navarro-León, E.; López-Moreno, F. J.; Arjó, G.; González, L. M.; Ruiz, J. M.; Blasco, B. The Application Of The Silicon-Based Biostimulant Codasil® Offset Water Deficit Of Lettuce Plants. *Scientia Horticulturae*, V. 285, P. 110177, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110177>
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1007/S00374-012-0771-5>
- Prando, A. M.; Oliveira, A. B. De; Lima, D. De; Possamai, E. J.; Reis, E. A.; Nogueira, M. A.; Hungria, M. Coinoculação Da Soja Com *Bradyrhizobium* E *Azospirillum* Na Safra 2020/2021 No Paraná. Londrina: Embrapa Soja, 2022. 24 P. (Circular Técnica, 181).

- Rawat, P.; Shankhdhar, D.; Shankhdhar, S. C. Synergistic Impact Of Phosphate Solubilizing Bacteria And Phosphorus Rates On Growth, Antioxidative Defense System, And Yield Characteristics Of Upland Rice (*Oryza Sativa L.*). *Journal Of Plant Growth Regulation*, V. 41, P. 2449–2461, 2022.
- Sandini, I.; Pacentchuk, F.; Franco, D.; Sandini, A. Bacterial Consortium Of *Azospirillum Brasilense* And *Pseudomonas Fluorescens* On The Stimulation Of Growth Of Corn Culture. *Ciência Rural*, V. 54, 2024. Doi: 10.1590/0103-8478cr20230123.
- Shaffique, S. Et Al. Role Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgpr) In The Mitigation Of Abiotic Stress In Plants: Current Perspectives. *Environmental And Experimental Botany*, V. 194, P. 104695, 2022.
- Silva, E. A.; Souza, M. R. Sustentabilidade No Agronegócio: Princípios E Práticas. *Ciência Rural*, V. 50, N. 6, E20190456, 2020.
- Silva, R. J.; Santos, M. A.; Oliveira, P. C. Sustentabilidade No Agronegócio: Desafios E Perspectivas Para O Equilíbrio Entre Produção E Meio Ambiente. *Revista Brasileira De Ciências Agrárias*, V. 16, N. 3, P. 234-248, 2021.
- Tordin, C. Cientistas Usam Bactérias Para Ajudar Plantas A Resistir À Seca. Embrapa, 2017. Disponível Em: Embrapa Notícias. Acesso Em: 17 Maio 2024.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Prospectar isolados do gênero *Bradyrhizobium* spp. e outras bactérias benéficas de solos nativos do Cerrado, capazes de associar-se a plantas de soja (*Glycine max*), promovendo o desenvolvimento vegetal, mitigação de estresse hídrico e a disponibilização de nutrientes de forma mais eficiente, com vistas ao aumento sustentável da produtividade.

2.2 Específicos

Avaliar as respostas fisiológicas, morfológicas e nutricionais de plantas de soja em condições irrigadas e sob déficit hídrico associadas a bactérias nativas do Cerrado.

Identificar alterações na morfologia do sistema radicular de *Glycine max* em associação com bactérias nativas.

Caracterizar três novos microrganismos promotores de crescimento vegetal, nativos e adaptados às condições do Cerrado brasileiro, com potencial de uso em larga escala na agricultura.

CAPÍTULO I

Bioprospecção de cepas de *Bradyrhizobium* spp. de solos do Cerrado brasileiro isoladas em plantas-isca de soja

RESUMO: Culturas de grande importância econômica, como a soja (*Glycine max*), apresentam elevadas exigências nutricionais para a obtenção de altas produtividades. Nesse contexto, algumas bactérias desempenham papel fundamental na fixação biológica de nitrogênio (FBN), proporcionando benefícios expressivos às áreas agrícolas brasileiras e resultando em economia anual estimada em aproximadamente US\$ 12 bilhões, em função da redução do uso de fertilizantes nitrogenados. Este estudo investigou o potencial de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) oriundas de solos nativos do Cerrado no estímulo ao crescimento de plantas de *G. max*. Inicialmente, foram conduzidos ensaios *in vitro* para avaliação do potencial funcional de 12 isolados bacterianos (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849, 1022 e controle). Em seguida, foi realizado um experimento em casa de vegetação com as bactérias selecionadas, visando à avaliação de parâmetros fisiológicos, como trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos e crescimento vegetal, em plantas inoculadas e não inoculadas com bactérias nativas. Adicionalmente, foram avaliados parâmetros morfológicos e de crescimento do sistema radicular. Todas as bactérias testadas foram identificadas geneticamente como pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*. Nos ensaios *in vitro* de solubilização de fosfato natural e ferro, destacaram-se os isolados 547, 557 e 849, evidenciando o potencial para incremento nutricional. Quanto às trocas gasosas, os isolados 547 e 557 apresentaram maiores taxas fotossintéticas, sendo que o isolado 557 também demonstrou maior eficiência no uso de água e melhor aproveitamento dos elétrons no fotossistema II. Em relação ao sistema radicular, observou-se maior volume de raízes finas em plantas inoculadas com os isolados 547 e 557. Os isolados 547 e 557 demonstraram elevado potencial para promover melhorias fisiológicas em plantas de soja, sendo necessários estudos adicionais para validar a eficiência e viabilidade de uso em condições de campo.

Palavras-chave: *Glycine max*; bactérias nativas; fixação biológica de nitrogênio.

3. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma leguminosa de elevada importância econômica e nutricional, amplamente cultivada em diversas regiões do mundo. Originária do leste da Ásia, sua domesticação e cultivo remontam a mais de 3.000 anos (EMBRAPA, 2024). Atualmente, o Brasil ocupa a posição de maior produtor mundial, com produção recorde de 171,5 milhões de toneladas na safra 2024/25 (CONAB, 2025). Estudos indicam que sistemas de produção de soja de alta produtividade no Brasil (acima de 6 t ha⁻¹) demandam aproximadamente 480 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N) ao longo do ciclo da cultura, sendo que a cerca de 85 a 90% desse N é suprido pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico realizada por microrganismos simbióticos (Carciochi *et al.*, 2021).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal desempenham papel fundamental no crescimento e na sanidade das plantas, uma vez que contribuem para a disponibilização de nutrientes, a melhoria das propriedades do solo e a adaptação das plantas a estresses abióticos e condições ambientais adversas (Hidayat *et al.*, 2024).

O solo abriga variedades de microrganismos, incluindo bactérias e fungos, que interagem entre si e com os microrganismos da rizosfera para estabelecer relações simbióticas com as plantas. Essas interações são altamente complexas e dependentes da espécie vegetal e das condições ambientais, de modo que alterações nesse equilíbrio podem comprometer o crescimento das plantas ou favorecer o surgimento de doenças (Han *et al.*, 2020). As plantas, por sua vez, utilizam estratégias específicas para recrutar e manter os microrganismos benéficos, como a liberação de quimioatrativos e a ativação de mecanismos de sinalização que regulam as interações planta-bactéria (Gómez-Godínez *et al.*, 2023).

As bactérias envolvidas na fixação biológica de nitrogênio (FBN) proporcionam benefícios expressivos às áreas agrícolas brasileiras, especialmente à cultura da soja. Essa associação resulta em economia anual estimada em aproximadamente US\$ 12 bilhões, decorrente da redução no uso de fertilizantes nitrogenados (Prando *et al.*, 2022), além de contribuir para a sustentabilidade dos sistemas produtivos ao mitigar impactos ambientais associados à agricultura intensiva (Franchini, 2010). A substituição de fertilizantes nitrogenados por microrganismos fixadores de nitrogênio na cultura da soja permitiu, na safra 2019/20, a redução estimada de 183 milhões de toneladas de CO₂ equivalente, o que

corresponde a cerca de cinco milhões de euros em créditos de carbono (Telles, Nogueira e Hungria, 2023).

O uso de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal constitui uma alternativa sustentável para garantir elevada produtividade agrícola. Essas bactérias, que habitam a rizosfera, promovem o crescimento das plantas por meio de diferentes mecanismos, como a fixação biológica de nitrogênio, a síntese de fitormônios envolvidos no crescimento radicular, incluindo auxinas, etileno (El-Minisy et al., 2025), citocinina e giberelinas (Orozco-Mosqueda et al., 2023); a solubilização de fósforo inorgânico (Zaheer et al., 2019; Sen et al., 2024), a produção de sideróforos (Mustafa et al., 2019), a síntese de enzimas antioxidantes (Fukami et al., 2018) e o aumento da eficiência de absorção de nutrientes como N, P e K (Soltani et al., 2025)

No contexto da interação mutualística entre plantas e rizóbios, as plantas produzem flavonoides que atuam como moléculas sinalizadoras específicas, desencadeando a ativação dos genes *nod* (Oldroyd, 2013) em rizóbios compatíveis, que são responsáveis pelo processo de nodulação. Esses genes codificam enzimas essenciais à formação dos nódulos e à subsequente redução do nitrogênio atmosférico a amônia, forma assimilável pelas plantas (Lepetit, Brouquisse, 2023).

A FBN envolve uma parceria simbiótica altamente especializada entre bactérias conhecidas como rizóbios e plantas de leguminosas, resultando na conversão do nitrogênio atmosférico em compostos nitrogenados que beneficiam diretamente o metabolismo vegetal (Herridge et al., 2022). A FBN mediada por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tem se mostrado uma solução sustentável e eficiente para suprir o nitrogênio necessário à cultura da soja (Salvagiotti et al., 2008).

No entanto, a eficiência é influenciada por diversos fatores ambientais. Além disso, muitas das estirpes comerciais atualmente utilizadas no Brasil foram originalmente isoladas em regiões com condições edafoclimáticas distintas das áreas mais quentes e secas do Centro-Oeste brasileiro (Hungria et al., 2015). Embora os solos brasileiros sejam naturalmente pobres em estirpes de *Bradyrhizobium* compatíveis com a soja, os programas de seleção de linhagens baseiam-se majoritariamente em isolados exóticos (Klepa et al. 2024), reforçando a necessidade de estudos com estirpes nativas adaptadas às condições locais.

Diante desse cenário, cresce a demanda por estratégias de manejo que conciliem altas produtividades com menor dependência de insumos externos e uso racional de

recursos naturais, visando à sustentabilidade dos sistemas agrícolas e à segurança alimentar global (Fernandez-Osorio, 2024). A utilização de estirpes nativas e bem adaptadas tem demonstrado eficácia no aumento da produtividade e da sustentabilidade dos cultivos no Brasil (Santos *et al.*, 2017). Assim, o presente estudo tem como objetivo selecionar cepas de *Bradyrhizobium* spp. promotoras do crescimento vegetal, nativas do Cerrado brasileiro, visando otimizar a nutrição das plantas e contribuir para o aumento sustentável da produtividade da soja.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Isolamento de bactérias diazotróficas nativas do Cerrado brasileiro

Foram coletadas 10 amostras de solos de Cerrado (Figura 1), provenientes de regiões distintas do estado de Goiás, com coleta realizada em área de mata nativa. Para a obtenção de plantas-isca, sementes de soja não tratadas foram semeadas em copo plástico de 200 ml, com uma planta por copo, em triplicata, utilizando-se amostras compostas de cada solo como substrato. Aos 45 dias após a emergência das plantas, as raízes contendo solo rizosférico aderido foram coletadas para o isolamento bacteriano. O isolamento das bactérias simbióticas foi realizado em meio de cultura YMA, conforme descrito por Vincent (1970), seguido de purificação dos isolados, coloração de Gram e avaliação da morfologia celular em microscópio óptico.

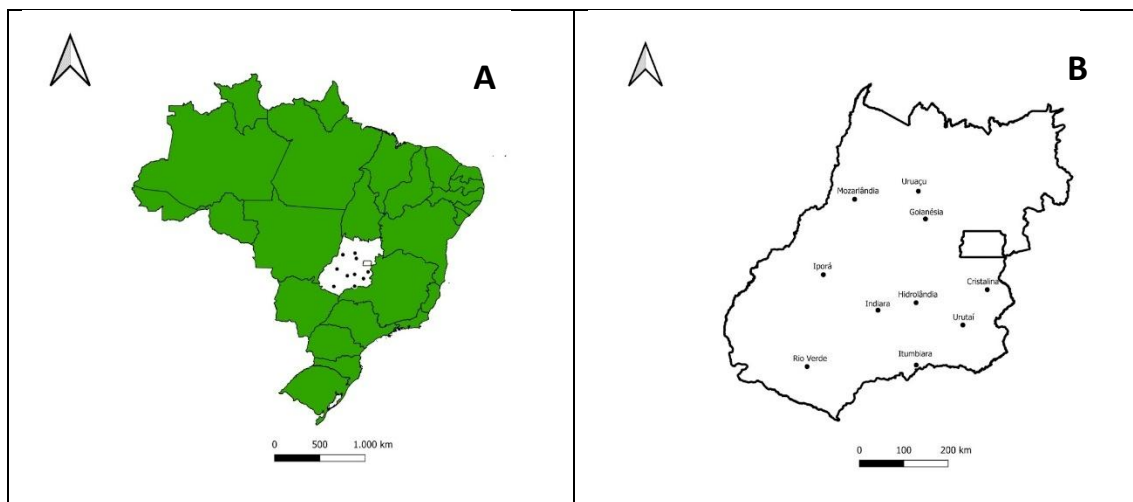


Figura 1. Mapa do Brasil com o Estado de Goiás demarcado (A) e mapa do Estado de Goiás (B) ampliado com os 10 pontos das coletas de solo nativo.

4.2. Avaliação da capacidade de fixação biológica de nitrogênio (FBN)

Os isolados bacterianos foram inicialmente selecionados com base na atividade de FBN, avaliada pelo crescimento em meio semissólido livre de nitrogênio (Döbereiner et al., 1995). Para avaliação, os isolados foram cultivados em triplicata em frascos tipo penicilina contendo meio NFB sem nitrogênio. Após sete dias de incubação, foi realizada uma análise qualitativa, considerando-se como indicativo de bactérias fixadoras de nitrogênio o crescimento acompanhado da formação de uma fina película em forma de véu, conforme descrito por Döbereiner *et al.* (1995).

4.3. Quantificação da solubilização do fosfato natural reativo e Fosfato férrico (FePO₄)

As bactérias selecionadas foram cultivadas em meio líquido GL (10 g L⁻¹ de glicose e 2 g L⁻¹ de extrato de levedura), sob agitação constante, por sete dias, a 28 ±1°C. Posteriormente, a densidade óptica das culturas foi padronizada (DO₆₀₀ = 0,1) utilizando solução salina estéril (0,85%).

As culturas padronizadas foram inoculadas em triplicata (1 mL) em frascos contendo 9 mL de meio GL suplementado, separadamente, com 5g L⁻¹ de fosfato natural reativo (12% P) ou 2 g L⁻¹ de fosfato de ferro (FePO₄), conforme metodologia descrita por Silva *et al.* (2020). As amostras foram incubadas sob agitação constante (90 rpm) por sete dias, a 28 ±1°C. O meio GL suplementado com cada fonte de fosfato foi utilizado como controle.

Após o período de incubação, o pH foi determinado e a concentração de fósforo inorgânico solubilizado foi quantificada pelo método colorimétrico do ácido ascórbico (Murphy e Riley, 1962), com leitura em leitora de microplacas (INNO, LTEK, Coreia do Sul) a 725 nm. A solubilização de fósforo foi estimada a partir da equação da curva padrão para fosfato de rocha $y = 0,0016x + 0,0733$ $R^2 = 0,9784$ e para fosfato de ferro $y = 0,0013x + 0,1554$ $R^2 = 0,9784$.

4.4. Produção de ácido indolacético (AIA)

A quantificação de AIA foi realizada conforme metodologia de Gordon e Weber (1951). Para isso, 1 mL das culturas bacterianas padronizadas foi inoculado em meio caldo nutriente (3 g L⁻¹ de extrato de levedura e 5 g L⁻¹ de peptona), suplementado com 100 µg mL⁻¹ de triptofano. As culturas foram incubadas por sete dias a 28 ±1°C, sob agitação constante (90 rpm). Como controle, foi utilizado o meio de cultura caldo nutriente com triptofano na ausência de cultura bacteriana.

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por cinco minutos a 10°C. Em seguida, 150 µL do sobrenadante foram transferidos para microplacas, adicionando-se 150 µL do reagente Salkowski (1,875 g de FeCl₃.6H₂O, 100 mL de H₂O e 150 mL de H₂SO₄). As placas foram mantidas no escuro por 15 min a 28°C, e a leitura foi realizada a 530 nm em leitora de microplacas (INNO, LTEK, Coreia do Sul). As concentrações de AIA foram determinadas a partir da curva de calibração seguindo a equação $y = 0,0188x + 0,4631$ (Pereira *et al.*, 2012).

4.5. Produção de sideróforos

A produção de sideróforos foi avaliada utilizando o método universal adaptado por Schwyn e Neilands (1987). Os isolados bacterianos foram cultivados em meio triptocaseína de soja diluído (1:10) e incubados a 28°C por sete dias. As suspensões celulares foram centrifugadas a 12.000 rpm por 10 minutos, sendo transferido 1 mL do sobrenadante para tubos de ensaio, aos quais foi adicionado 1 mL da solução indicadora de cromoazuroil S. A mudança da coloração azul para amarelo-alaranjada em até 15 minutos foi considerada indicativa da produção de sideróforos.

4.6. Sequenciamento dos genes *glnII* e *recA*

As reações de PCR foram realizadas com 10 µL de GoTaq Green Mix 2x (Promega Corporation, EUA), 0,4 µL de primer forward (10 µM), 0,4 µL de primer reverse (10 µM) e 8,2 µL de H₂O Milli-Q autoclavada. Para amplificação do gene *glnII*, foram utilizados os primers *TSglnIIF* (5' – AAGCTCGAGTACATCTGGCTCGACGG – 3') e *TSglnIIR* (5' – SGAGCCGTTCCAGTCGGTGTCG – 3'), enquanto para o gene *recA* utilizaram-se os primers *TSrecAF* (5' – CAACTGCMYTGCGTATCGTCGAAGG – 3') e *TSrecAR* (5' – CGGATCTGGTTGATGAAGATCACCATG – 3').

As amplificações foram conduzidas em termociclador (T100, Bio-Rad, EUA) com desnaturação inicial a 94°C por 4 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C por 30 s, 56°C por 30 s e 72°C por 90 s, com extensão final a 72°C por 4 minutos. Os produtos amplificados foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 0,8%, corado com brometo de etídio (100 ng mL⁻¹), registrados em fotodocumentador acoplado a transiluminador (UV302, Kasvi, Brasil).

Os amplicons foram purificados por precipitação com polietilenoglicol (Schmitz e Riesner, 2006) e submetidos ao sequenciamento pelo método de terminação de cadeia

(Sanger *et al.*, 1977), utilizando o sequenciador capilar 3500XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, EUA). A reação constituiu de 5 μL de produto de PCR, 1 μL de reagente Big Dye 3.1 (Applied Biosystems), 1,5 μL de tampão de diluição, 0,3 μL de primer forward ou reverse (10 M) e 2,2 μL de H_2O MilliQ autoclavada. O sequenciamento foi realizado em termociclador (modelo T100, BioRad, país) com desnaturação inicial a 95°C por 1 minuto, seguida de 25 ciclos a 95°C por 5 s cada e 60°C por 4 min.

Os produtos da reação de sequenciamento foram precipitados pela adição de 40 μL de isopropanol 75%, seguida de centrifugação a 12.000 g/10 min. Foram adicionados mais 100 μL de isopropanol 75% e novamente centrifugado a 12.000 g/5 min. Após descartar o sobrenadante, o sedimento foi seco e ressuscitado em 10 μL de formamida e desnaturado a 95°C/2 min. O sequenciamento foi realizado em sequenciador capilar 3500XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

4.7. Seleção, estocagem e preservação dos isolados

As estirpes foram selecionadas com base no maior número de traços funcionais apresentados. Para estocagem e preservação, culturas foram mantidas em meio YMA sob refrigeração e em meio YM suplementado com 30% de glicerol, armazenadas em freezer a -20°C.

4.8. Preparo dos inoculantes

Os inoculantes bacterianos foram preparados em caldo nutriente, incubados por 24 h a 30°C sob agitação a 90 rpm. A concentração celular foi determinada por contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), sendo padronizada para 10^7 UFC mL^{-1} com solução salina estéril (0,85%).

4.9. Experimentos em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Goiás, Brasil. Sementes de soja do cultivar Olimpo, safra 2025, foram inoculadas com os microrganismos benéficos (10^9 UFC mL^{-1}).

Foram avaliadas onze cepas nativas de *Bradyrhizobium* spp., em vasos de plástico de 450 mL contendo solo não esterilizado proveniente de área de Cerrado nativo. O experimento consistiu em 12 tratamentos (cepas enumeradas de acordo com a entrada no Biobanco do Laboratório de Microbiologia Agrícola): 208 (*Bradyrhizobium*

zhanjiangense), 227 (*B. centrosematis*), 526 (*B. japonicum*), 542 (*B. americanum*), 547 (*B. canariense*), 549 (*B. diazoefficiens*), 557 (*Bradyrhizobium* genosp.), 558 (*Bradyrhizobium* sp.), 652 (*B. japonicum*), 849 (*B. canariense*), 1022 (*B. guangdongense*) e controle sem inoculação.

As avaliações fisiológicas e morfológicas foram realizadas no estágio R1 (início do florescimento), e incluíram altura de parte aérea, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz (após material ser seco em estufa a 65°C).

4.10. Trocas gasosas, fluorescência da clorofila e pigmentos fotossintéticos

As trocas gasosas e parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram avaliados com um analisador de gases ao infravermelho (IRGA; LI6800xt, Licor®, Lincoln, Nebraska, EUA) com 1500 PAR a 25°C, para obter as taxas fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), e transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a). A eficiência do uso da água e a eficiência de carboxilação foram determinadas pela razão A/E e A/C_i , respectivamente. As medições foram realizadas entre 08 e 12 horas em casa de vegetação.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram avaliados com um fluorômetro portátil FluorPen (FP 100, Photon Systems Instruments, Alemanha). As medições foram determinadas em folhas previamente aclimatadas ao escuro para obtenção do rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II (Φ_{Po}), rendimento quântico do transporte de elétrons além da QA (Φ_{Eo}), rendimento quântico da dissipação de calor (Φ_{Do}), índice de desempenho fotossintético (Pi_{ABS}), Fluxo específico de absorção de luz do complexo antena por centro de reação (ABS/RC), fluxo de energia capturado para a redução de QA por centro de reação (TRo/RC), fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC) e fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas do complexo antena (Dlo/RC).

O conteúdo de clorofilas *a* e *b* foram determinadas utilizando o Clorofilog (Falker, Brasil).

4.11. Análise morfológicas da parte aérea e do sistema radicular

As plantas foram avaliadas quanto à altura da planta (AP, cm) e diâmetro de caule (DC, mm). A massa seca de folhas (MSF, g) e a massa seca de raiz (MSR, g) foram obtidas após secagem do material em estufa de circulação de ar a 65°C até peso constante.

O sistema radicular foi analisado por meio de imagens digitais (48 MP) processadas no software Safira v1.1 (Sistema de Análise de Fibras e Raízes, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Paulo, Brasil). As raízes foram classificadas em raízes muito finas ($\varnothing < 0,5$ mm), raízes finas ($0,5 < \varnothing < 2,0$ mm) e raízes grossas ($\varnothing > 2,0$ mm), conforme Böhm (1979). Determinaram-se as características morfológicas de diâmetro médio de raiz (DMR, mm), comprimento de raiz muito fina (CRMF, cm), comprimento de raiz fina (CRF, cm), comprimento de raiz grossa (CRG, cm), comprimento total de raiz (CTR, cm), área de superfície de raiz muito fina (ASRMF, cm²), área de superfície de raiz fina (ASRF, cm²), área de superfície de raiz grossa (ASRG, cm²), área de superfície total de raiz (AST, cm²), volume de raiz muito fina (VRMF, cm³), volume de raiz fina (VRF, cm³), volume de raiz grossa (VRG, cm³), volume total de raiz (VTR, cm³), comprimento específico de raiz, CE (CTR/MSR, cm g⁻¹), finura de raiz, FR (CTR/VTR, cm cm⁻³), densidade de tecido radicular, DTR (MSR/VTR, g cm⁻³) e área de superfície específica, ASE (AST/MSR, cm² g⁻¹).

4.12. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, com comparação de médias pelo teste Scott-Knott (5%) utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2019).

As análises multivariadas foram realizadas utilizando o software R v. 4.0.4 (R Core Team). O mapa de calor com agrupamento hierárquico foi gerado utilizando o pacote R “pheatmap” (Kolde & Kolde, 2015), com valores transformados em log₂, com os seguintes argumentos: “clustering_method = complete” e “clustering_distance_rows = euclidean”. A análise de componentes principais (PCA) utilizou dados padronizados, com autovalores (>1,0) e variância explicada (>70%) avaliados. A correlação de Pearson foi analisada considerando a significância da interação a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS

Tabela 1. *Sequenciamento dos genes glnII e recA.*

Bactéria	Gênero segundo 16S rRNA	Possíveis espécies segundo 16S	Gênero segundo <i>glnII</i>	Gênero segundo <i>recA</i>

208	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i> sp. GSM-469, <i>B. zhanjiangense</i> , <i>B. cajani</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
227	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. guangxiense</i> , <i>B. centrosematis</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
526	<i>Bradyrhizobium</i>		<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
542	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. daqingense</i> , <i>B. americanum</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
547	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. zhanjiangense</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
549	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. diazoefficiens</i> , <i>B. niftali</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
557	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. arachidis</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
558	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. cenepequi</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
652	<i>Bradyrhizobium</i>		<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
849	<i>Bradyrhibozium</i>	<i>B. canariense</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
1022	<i>Bradyrhizobium</i>		<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i>

A partir do isolamento, foram obtidas 564 bactérias provenientes de plantas-isca coletadas em 10 regiões do estado de Goiás, Brasil. Após purificação, todas as bactérias foram submetidas à coloração de Gram e à análise morfológica, resultando em 53 bastonetes Gram-negativos, 145 bastonetes Gram-positivos, 9 cocos Gram-negativos e 357 cocos Gram-positivos.

Os isolados bastonetes Gram-negativos foram selecionados para a avaliação da fixação biológica de nitrogênio (FBN), enquanto os Gram-positivos foram destinados à continuidade das análises de traços funcionais, pois o gênero *Bradyrhizobium* é Gram-Negativo.

No ensaio qualitativo de FBN, conduzido em meio de cultura sem nitrogênio, 11 isolados bacterianos avaliados apresentaram crescimento (Figura 1), evidenciando capacidade de fixação biológica de N. Nenhum dos isolados foi positivo para a produção de sideróforos ou de ácido indolacético (AIA).

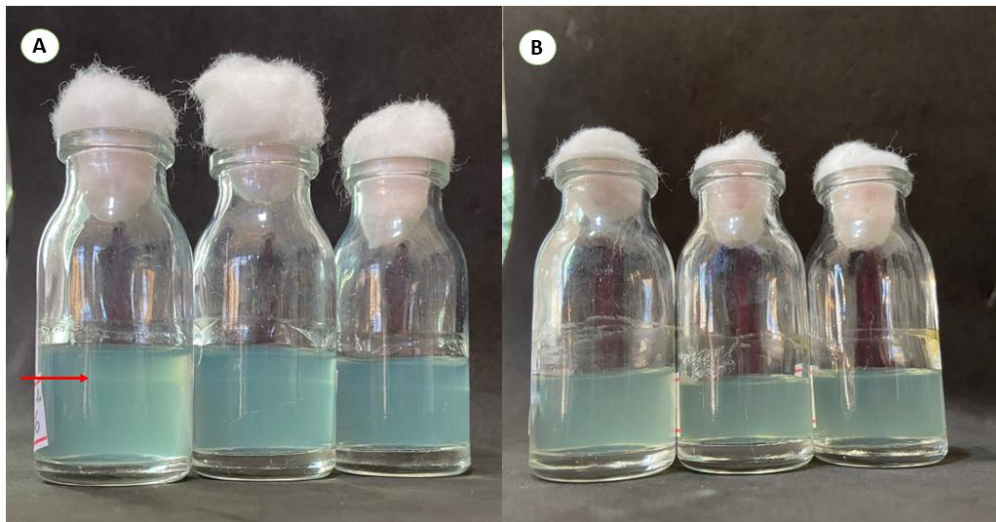


Figura 2. Avaliação de fixação biológica de nitrogênio em meio semissólido livre de N. Formação de véu de crescimento bacteriano indicada pela seta vermelha (A – resultado positivo) e ausência de crescimento no controle negativo (B).

No ensaio quantitativo de solubilização de fosfato natural reativo, os maiores valores (> 170) foram observados para os isolados 557 e 849 (Tabela 2). Os isolados 208 e 1022 não apresentaram capacidade de solubilização dessa fonte fosfatada. Não foi observada redução significativa do pH do meio associada à solubilização do fosfato natural reativo.

Para o fosfato de ferro (FePO_4), os maiores valores de solubilização foram observados nos isolados 547 ($1,22 \text{ mg L}^{-1}$), 557 ($1,06 \text{ mg L}^{-1}$) e 849 ($0,91 \text{ mg L}^{-1}$), enquanto os demais isolados apresentaram valores inferiores a $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 2). A capacidade de liberação de fósforo a partir do FePO_4 foi influenciada pela redução do pH do meio de cultura (Tabela 2), indicando possível envolvimento de mecanismos acidogênicos.

Tabela 2. pH e solubilização *in vitro* de fosfato natural reativo e fosfato de ferro (FePO₄) por bactérias isoladas de *Glycine max*.

Isolado	Fosfato natural reativo			FePO ₄		
	P (mg mL ⁻¹)	pH		P (mg mL ⁻¹)	pH	
208	0,00	D 7,0	a	0,00	c 5,7	a
227	87,00	C 7,3	a	0,49	b 6,0	a
526	143,98	B 6,9	a	0,48	b 5,3	a
542	122,63	B 7,6	a	0,00	c 5,7	a
547	26,07	D 7,3	a	1,22	a 6,1	a
549	80,44	C 6,9	a	0,00	c 5,7	a
557	179,82	A 7,4	a	1,06	a 6,0	a
558	123,57	B 6,7	a	0,54	b 5,2	a
652	52,00	C 7,5	a	0,40	b 5,8	a
849	173,88	a 7,1	a	0,91	a 5,5	a
1022	0,00	d 7,1	a	0,62	b 5,6	a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%).

Os dois primeiros componentes da análise de componentes principais (PCA) explicaram 76,5% da variação total dos dados. Observou-se que o isolado 849 apresentou maior correlação com a solubilização de fosfato natural reativo, enquanto o isolado 557 esteve mais associado à solubilização de FePO₄ (Figura 3A).

O *heatmap* evidenciou que a maioria dos isolados apresentou capacidade de solubilizar o fosfato natural reativo, enquanto, para o FePO₄, os valores de solubilização concentraram-se próximos a 1 mg mL⁻¹ (Figura 3B).

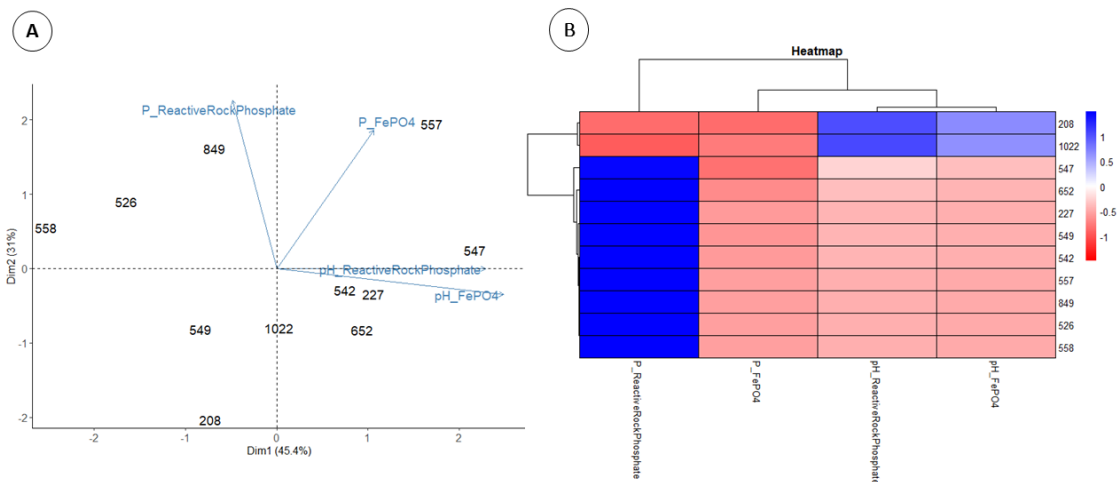


Figura 3. Análise de componentes principais (PCA; A) e mapa de calor (B) das variáveis fosfato natural reativo, pH do fosfato natural reativo, FePO_4 e pH FePO_4 . Análise da solubilização de fosfatos por bactérias do gênero *Bradyrhizobium* spp. isoladas de plantas-iscas de soja (*Glycine max*). (208 *Bradyrhizobium zhanjiangense*, 227 *B. centrosematis*, 526 *B. japonicum*; 542 *B. americanum*, 547 *B. canariense*, 549 *B. diazoefficiens*, 557 *Bradyrhizobium* genosp., 558 *Bradyrhizobium* sp., 652 *B. japonicum*, 849 *B. canariense*, 1022 *B. guangdongense*).

5.1. Identificação das bactérias

As onze bactérias identificadas apresentaram alta similaridade (>99%) e foram classificadas no gênero *Bradyrhizobium*, pertencente ao filo Pseudomonadota, classe Alphaproteobacteria. Os isolados foram identificados como: 208 *Bradyrhizobium zhanjiangense*, 227 *Bradyrhizobium centrosematis*, 526 *Bradyrhizobium japonicum*; 542 *Bradyrhizobium americanum*, 547 *Bradyrhizobium canariense*, 549 *Bradyrhizobium diazoefficiens*, 557 *Bradyrhizobium* sp., 558 *Bradyrhizobium* sp., 652 *Bradyrhizobium japonicum*, 849 *Bradyrhizobium canariense* e 1022 *Bradyrhizobium guangdongense* (acessos do Genbank descritos na Tabela S1).

Os genes constitutivos envolvidos na manutenção celular foram amplificados e sequenciados. O gene *glnII*, responsável pela codificação da isoforma II da glutamina sintetase, e o gene *recA*, que codifica a recombinase RecA, foram detectados em todos os isolados, exceto o gene *glnII* no isolado 558 (*Bradyrhizobium* sp.).

5.2 Trocas gasosas

Os resultados indicaram efeitos significativos dos tratamentos sobre a taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s) e taxa transpiratória (E) (Figura 4), evidenciando que as rizobactérias nativas do Cerrado influenciaram o desempenho fotossintético das plantas de soja.

Os tratamentos com os isolados bacterianos 547, 557 e 1022 apresentaram os maiores valores de A , com incrementos superiores a 40% em relação ao controle (Figura 4A). A maior g_s e E foram observadas no tratamento com o isolado 542, seguido do isolado 547. Em contraste, os isolados 549 e 558 apresentaram menores valores de g_s e E (Figura 4B e C).

A relação C_i/C_a não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos (Figura 4D).

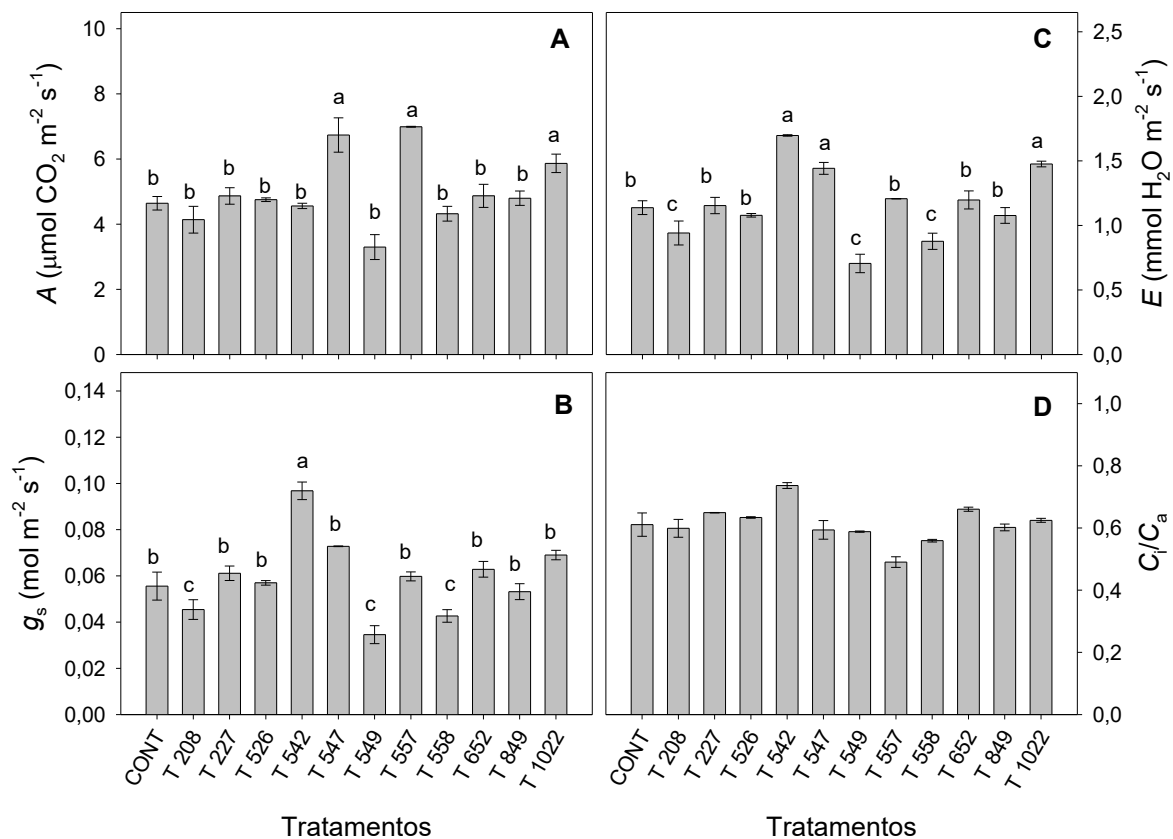


Figura 4. Taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [A], condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [B], taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) [C], relação entre concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) [D] em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (isolados 208, 227, 526, 542, 547, 549,

557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=3$). Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

A maior eficiência do uso da água (EUA) foi observada no tratamento com o isolado 557 (Figura 5A). Os isolados 547 e 557 apresentaram valores estatisticamente superiores de eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i), comparados aos demais tratamentos (Figura 5B).

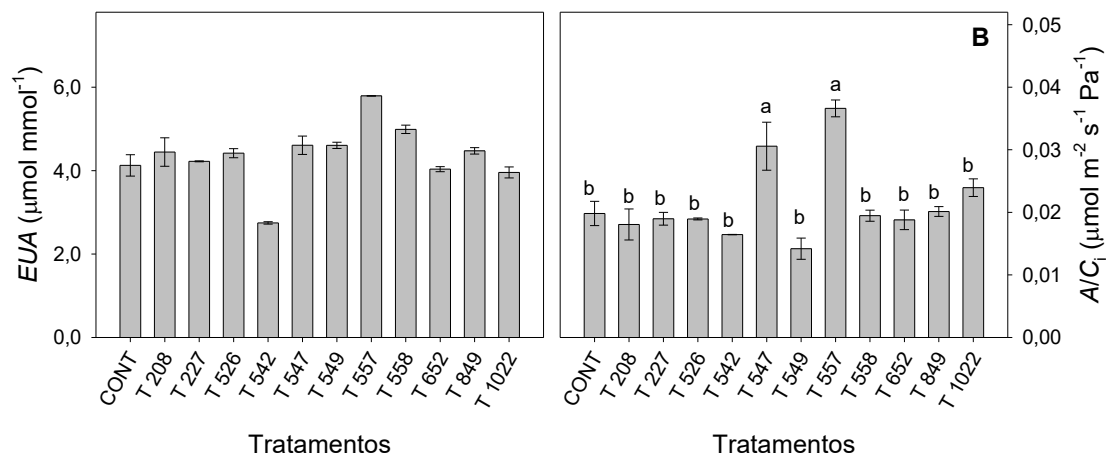


Figura 5. Eficiência do uso da água (EUA , $\mu\text{mol mmol}^{-1}$) [A] e eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) [B] em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (isolados 208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=3$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.3. Fluorescência da clorofila

De modo geral, os parâmetros de fluorescência da clorofila indicaram diferenças significativas entre os tratamentos para F_v/F_m , ΦP_o , ΦD_o , P_i_ABS e DIo/RC (Figura 6).

As variáveis F_v/F_m e ΦP_o apresentaram padrões semelhantes entre os tratamentos (Figura 6A e B). Os isolados 849, 542, 549 e 547 mantiveram valores equivalentes ao controle, enquanto 526, 1022 e 558 apresentaram leve redução nesses parâmetros.

Os maiores valores de ΦD_o foram observados nos tratamentos 526, 1022, 558, 652, 557 e 208 (Figura 6D). Para P_i_ABS , o maior valor médio foi registrado no isolado

849, enquanto o menor foi observado em 557 (Figura 6E). Os isolados 547 e 208 também apresentaram valores elevados de Pi_ABS .

Os parâmetros TRo/RC e ETo/RC variaram entre os isolados, com 849, 227, 542 e 557 apresentando os maiores valores de TRo/RC , e 849 destacando-se para ETo/RC , indicando maior eficiência no transporte de elétrons a partir do fotossistema II (Figura 6G e H).

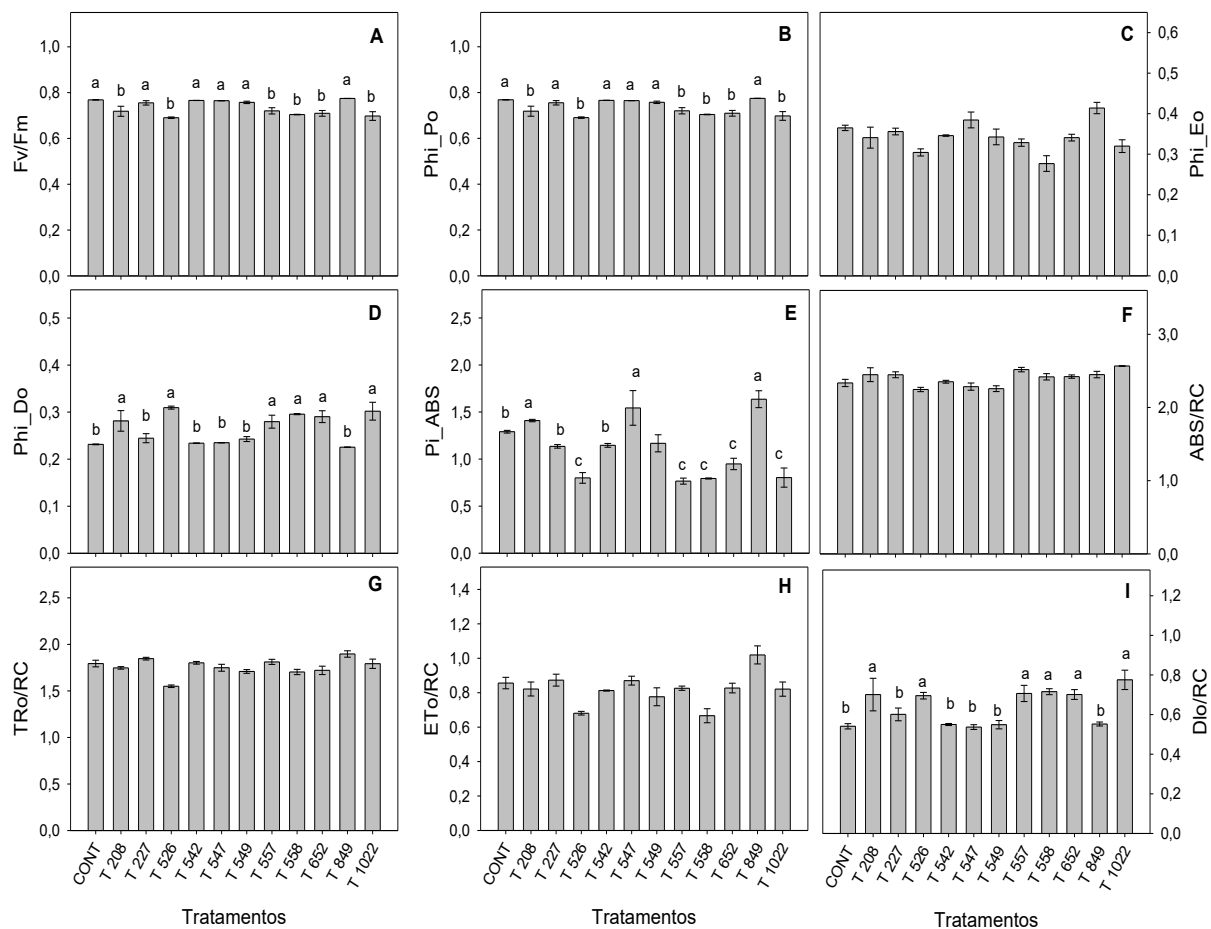


Figura 6. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) [A], rendimento quântico máximo da fotoquímica primária do fotossistema II (Φ_{Po}) [B], rendimento quântico do transporte de elétrons além da QA (Φ_{Eo}) [C], rendimento quântico da dissipação de calor (Φ_{Do}) [D], índice de desempenho fotossintético (Pi_ABS) [E], Fluxo específico de absorção de luz do complexo antena por centro de reação (ABS/RC) [F], fluxo de energia capturado para a redução de QA por centro de reação (TRo/RC) [G], fluxo de transporte de elétrons por centro de reação (ETo/RC) [H] e fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas do complexo antena (Dlo/RC) [I] em folhas

de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=3$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.4. Pigmentos fotossintéticos (ICF)

Os índices de clorofila *a* e clorofila total não foram significativamente afetados pelos tratamentos (Figura 7A e C). Em contraste, a clorofila *b* apresentou resultados significativos, com os isolados 208, 227, 526, 557, 558 e 652 exibindo os maiores valores (Figura 7B). A maior razão Chl *a/b* foi observada nos tratamentos 542, 547, 549 e 849 (Figura 7D).

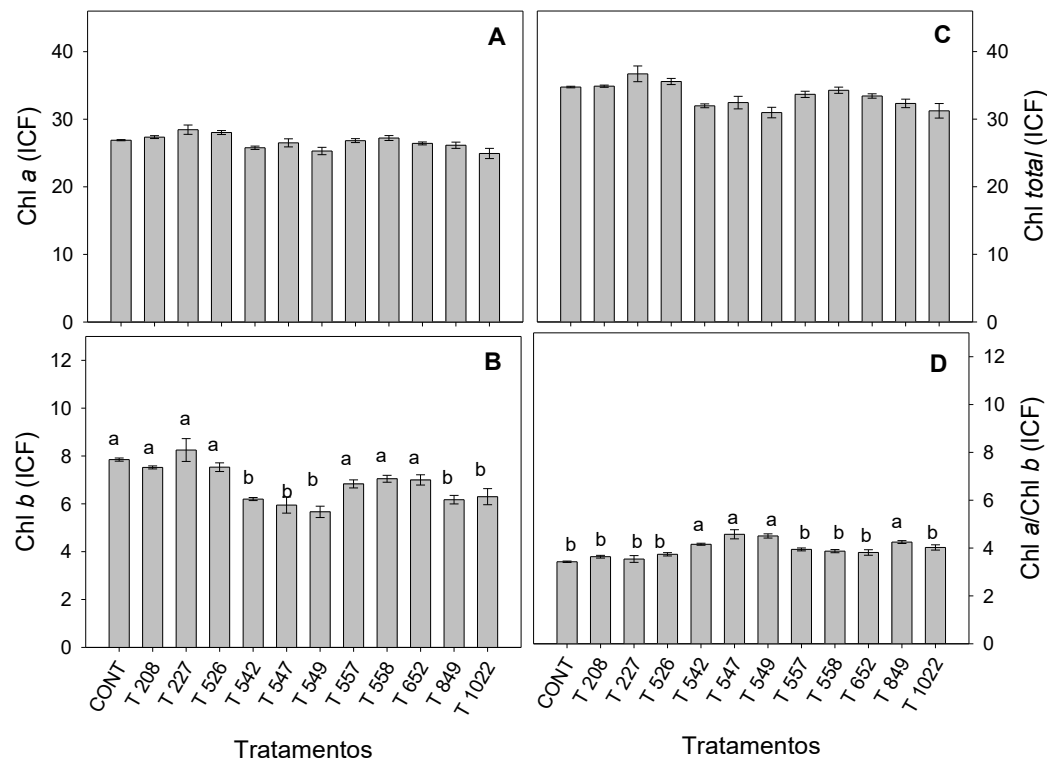


Figura 7. Teores de clorofila *a* (Chl *a*, ICF) [A], clorofila *b* (Chl *b*, ICF) [B], clorofila total (Chl *a+b*) [C] e razão entre clorofilas *a* e *b* (Chl *a/b*, ICF) em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=4$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.5. Características morfológicas da parte aérea e alocação de biomassa

Não foram observados efeitos significativos dos tratamentos sobre a altura de plantas (AP) e o diâmetro do caule (DC) (Figura 8B).

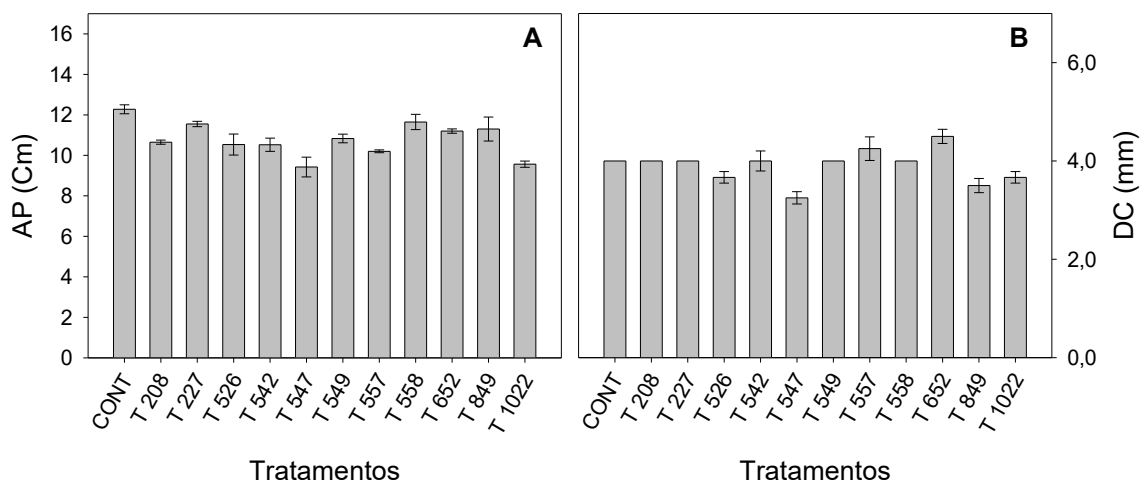


Figura 8. Altura de planta (AP, cm) [A] e diâmetro de caule (DC, mm) [B] em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=4$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Os resultados de alocação de biomassa indicaram efeito significativo para massa seca de folhas (MSF) nos tratamentos 208, 227, 652 e 849 (Figura 9A). Não houve diferenças significativas para massa seca de raiz (MSR) (Figura 9B).

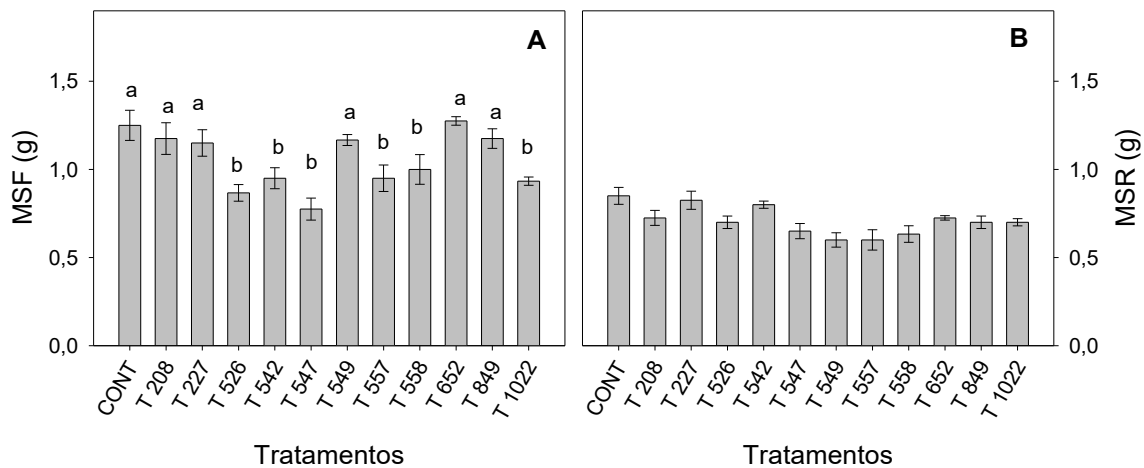


Figura 9. Massa seca de folhas (MSF, g) [A] e massa seca de raiz (MSR, g) [B] em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=4$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.6. Características morfológicas do sistema radicular

Os dados apresentados na Tabela 3 evidenciaram diferenças significativas entre os tratamentos para a maioria das variáveis de arquitetura e morfometria radicular, exceto para o comprimento de raiz grossa (CRG).

O diâmetro médio de raiz (DMR) foi influenciado pelos tratamentos ($p=0,0121$), embora o teste Scott-Knott não tenha separado grupos distintos, indicando variações graduais (0,87 a 1,36 mm). Os maiores valores foram observados nos isolados 557, 547 e 549, e os menores em 558 e 1022.

O maior comprimento de raiz fina (CRF) ocorreu no tratamento 1022 e no controle, enquanto os menores valores foram observados em 542 e 557. Embora o CRG não tenha diferido estatisticamente, apresentou tendência significativa ($p=0,0614$) e alto coeficiente de variação (40%), refletindo elevada variabilidade natural.

Os isolados 1022, 547 e 549 apresentaram maiores valores de ASRF, enquanto 542 e 557 apresentaram os menores. Para ASRG, os maiores valores foram observados no controle e em 227, e os menores em 542.

O maior volume de raiz fina (VRF) foi obtido nos tratamentos com os isolados 549 e 547 e os menores em 557 e 542. Para o volume de raiz grossa (VRG), o destaque foi para os tratamentos 227 e 526, com maiores volumes, e 542 com o menor VRG.

Os maiores valores de comprimento total de raiz (CTR), área de superfície total de raiz (ASTR) e volume total de raiz (VTR) foram registrados nos tratamentos controle e 1022; controle, 227, 1022 e 549; e controle, 227 e 549, respectivamente. Os isolados 542 e 557 apresentaram os menores para essas variáveis.

Tabela 3. Diâmetro médio de raiz (DMR, mm), comprimento de raiz fina (CRF, cm), comprimento de raiz grossa (CRG, cm), comprimento total de raiz (CTR, cm), área de superfície de raiz fina (ASRF, cm²), área de superfície de raiz grossa (ASRG, cm²), área de superfície total de raiz (ASTR, cm²), volume de raiz fina (VRF, cm³), volume de raiz grossa (VRG, cm³) e volume total de raiz (VTR, cm³) em plantas de soja submetidas aos tratamentos: sem inoculação com bactérias (CONT) e com inoculação de bactérias (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Raízes finas (RF, 0,5 < Ø < 2,0 mm) e raízes grossas (RG, Ø > 2,0 mm) em folhas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação *bacteriana* (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022).

TRAT	DMR	CRF	CRG	CTR	ASRF	ASRG	ASTR	VRF	VRG	VTR
CONT	1,04 ± 0,06 a	615 ± 24,8 a	73 ± 11,9	688 ± 27,9 a	205 ± 7,51 a	62 ± 8,79 a	267 ± 15,4 a	5,57 ± 0,26 a	4,68 ± 0,57 a	0,82 ± 10,3 a
208	0,95 ± 0,03 a	449 ± 17,5 b	42 ± 10,0	491 ± 27,1 b	144 ± 7,41 b	37 ± 7,14 b	181 ± 13,9 b	3,89 ± 0,24 b	2,88 ± 0,49 b	0,67 ± 6,77 b
227	1,05 ± 0,03 a	566 ± 40,3 a	75 ± 11,3	641 ± 31,0 a	190 ± 12,4 a	71 ± 6,60 a	261 ± 6,10 a	5,25 ± 0,40 a	6,16 ± 0,20 a	0,22 ± 11,4 a
526	1,06 ± 0,01 a	458 ± 32,6 b	69 ± 4,32	527 ± 36,9 b	151 ± 9,47 b	59 ± 2,03 a	210 ± 11,5 b	3,95 ± 0,21 a	4,99 ± 0,11 a	0,10 ± 8,95 a
542	0,98 ± 0,01 b	351 ± 2,15 c	18 ± 0,77	369 ± 2,93 b	123 ± 0,55 b	18 ± 0,63 b	141 ± 0,07 c	3,74 ± 0,06 b	1,44 ± 0,04 b	0,02 ± 5,18 c
547	1,31 ± 0,08 a	513 ± 8,79 b	53 ± 4,34	565 ± 13,1 b	209 ± 8,63 a	47 ± 1,71 b	256 ± 6,92 a	6,99 ± 0,68 a	3,69 ± 0,00 b	0,68 ± 10,7 a

549	$1,34 \pm 0,11$ a	$597 \pm 28,8$ a	35 1,79	±	$632 \pm 30,6$ a	$211 \pm 8,78$ a	$38 \pm 2,35$ b	$249 \pm 11,1$ a	$6,41 \pm 0,21$ a	$3,45 \pm 0,26$ b	$0,46 \pm 9,86$ a
557	$1,36 \pm 0,10$ a	$368 \pm 8,29$ c	47 1,38	±	$415 \pm 6,91$ c	$122 \pm 2,79$ b	$39 \pm 2,05$ b	$161 \pm 0,74$ c	$3,23 \pm 0,06$ b	$2,85 \pm 0,21$ b	$0,15 \pm 6,08$ b
558	$0,87 \pm 0,03$ a	$513 \pm 19,4$ b	43 0,38	±	$555 \pm 19,7$ b	$161 \pm 11,6$ b	$45 \pm 2,40$ b	$207 \pm 13,9$ b	$4,44 \pm 0,46$ b	$4,29 \pm 0,39$ a	$0,85 \pm 8,73$ a
652	$1,06 \pm 0,04$ a	$452 \pm 20,2$ b	62 11,6	±	$515 \pm 22,7$ b	$155 \pm 6,19$ b	$57 \pm 9,92$ a	$212 \pm 13,1$ b	$4,34 \pm 0,16$ b	$4,64 \pm 0,80$ a	$0,87 \pm 8,98$ a
849	$1,20 \pm 0,02$ a	$435 \pm 14,5$ b	47 0,82	±	$482 \pm 15,3$ b	$164 \pm 7,92$ b	$41 \pm 0,47$ a	$205 \pm 8,39$ b	$4,93 \pm 0,31$ a	$3,05 \pm 0,01$ b	$0,30 \pm 7,98$ a
1022	$0,92 \pm 0,02$ a	$695 \pm 12,4$ a	36 0,91	±	$731 \pm 11,5$ a	$222 \pm 8,92$ a	$38 \pm 0,85$ b	$260 \pm 8,07$ a	$6,13 \pm 0,39$ a	$3,28 \pm 0,08$ b	$0,31 \pm 9,40$ a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%).

Os índices radiculares de comprimento específico de raiz (CER), densidade de tecido radicular (DTR) e área de superfície específica (ASE) diferiram significativamente entre os tratamentos (Figura 10). Não houve efeito de tratamentos para variável finura de raiz (FR).

Os maiores valores de CER e ASE foram observados nos tratamentos 549 e 1022, enquanto os menores ocorreram em 542 (Figura 10B e D). Em contraste, o maior valor de DTR foi registrado em 542, e o menor em 549 (Figura 10C).

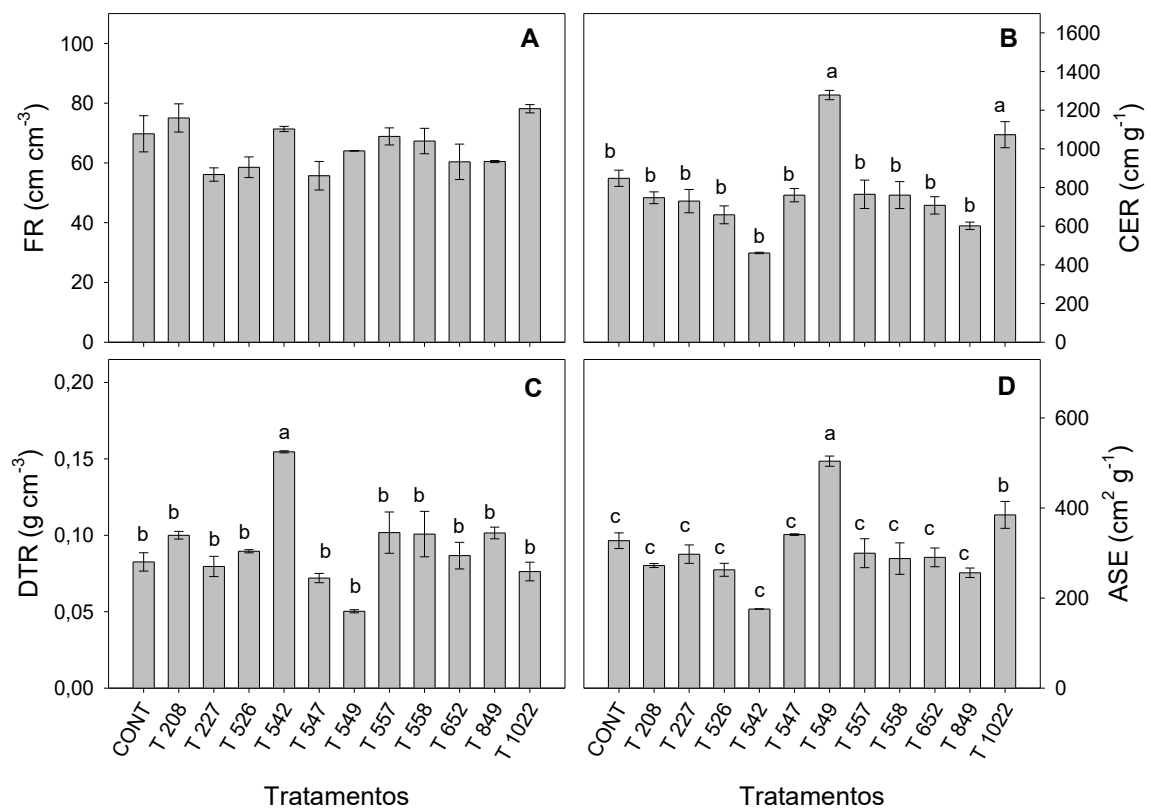


Figura 10. Finura de raiz (FR, cm cm⁻³) [A], comprimento específico de raiz (CER, cm g⁻¹) [B], densidade de tecido radicular (DTR, g cm⁻³) [C] e área de superfície específica (ASE, cm² g⁻¹) [D] em plantas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias \pm EP ($n=3$). Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

5.7. Proporção de raízes por classes de diâmetro no CTR, AST e VTR

Considerando o comprimento total (CTR) e a área de superfície total de raiz (ASTR), observou-se maior proporção de raízes finas nos tratamentos 542, 549 e 1022, com valores superiores a 94% e 85%, respectivamente (Figura 11A e B). Por outro lado, o volume total de raiz (VTR) indicou maior proporção de raízes grossas (VRG) nos tratamentos 227 e 526, com valores superiores a 50% (Figura 11C).

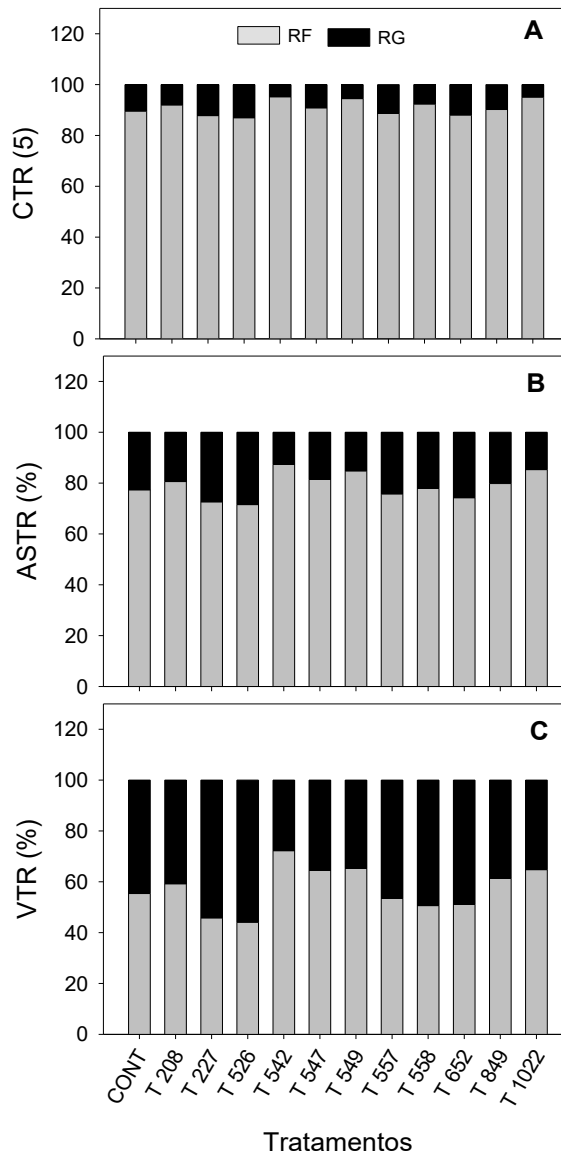


Figura 11. Proporção de raízes finas e grossas no comprimento total radicular (CTR, cm) [A], área de superfície radicular (ASR, cm²) [B] e volume total radicular (VTR, cm³) [C] em plantas de soja submetidas aos tratamentos sem inoculação (CONT) e com inoculação bacteriana (208, 227, 526, 542, 547, 549, 557, 558, 652, 849 e 1022). Barras representam médias ($n = 3$). Classes de diâmetros: raízes finas (RF, $0,5 < \varnothing < 2,0$ mm) e raízes grossas (RG, $\varnothing > 2,0$ mm).

6. DISCUSSÃO

Ainda são escassos os estudos que caracterizam a comunidade microbiana associada a solos de Cerrado nativo do estado de Goiás, especialmente aqueles voltados à seleção funcional de rizóbios eficientes para culturas de importância econômica. Neste contexto, o uso de plantas-iscas de soja mostrou-se uma estratégia eficiente para a prospecção de bactérias nativas do gênero *Bradyrhizobium*, com potencial para fixação de nitrogênio (FBN) e solubilização de fosfatos, contribuindo para a nodulação e para o desempenho fisiológico da cultura. Essa abordagem é particularmente relevante considerando as condições edafoclimáticas do Cerrado, caracterizadas por clima tropical semiúmido, com verões quentes e chuvosos e invernos secos, além de solos ácidos e altamente intemperizados.

Foram selecionados 11 isolados pertencentes ao gênero de interesse *Bradyrhizobium*, confirmados por sequenciamento dos genes *glnII* e *recA*, e que apresentaram capacidade de FBN e solubilização de fosfatos em condições *in vitro*. Espécies do supergrupo *Bradyrhizobium japonicum* têm sido amplamente relatadas em diferentes continentes e zonas climáticas (Avontuur *et al.*, 2019), reforçando a elevada plasticidade ecológica desse grupo. Em solos ácidos ou neutros, *Bradyrhizobium* frequentemente domina as comunidades nodulantes, representando até 99.97% da abundância total (HAN *et al.*, 2020). Além disso, leguminosas como a soja exercem papel ativo na seleção desses microrganismos na rizosfera, favorecendo a simbiose por meio da liberação de exsudatos radiculares específicos e sinais moleculares que atraem bactérias promotoras de crescimento vegetal.

O Plano Nacional de Fertilizantes 2050 destaca a FBN como tecnologia estratégica para a agricultura brasileira, estabelecendo metas ambiciosas de aumento da contribuição biológica de nitrogênio, especialmente em grandes culturas como milho, soja e forrageiras, em pelo menos 35% até 2030 e 50% até 2040, quando comparado com o ano de 2020 (Brasil, 2023). O nitrogênio é um macronutriente essencial, fundamental para a síntese de aminoácidos, proteínas, clorofilas e enzimas-chave do metabolismo fotossintético, além de desempenhar papel central na divisão e expansão celular em leguminosas.

Além da FBN, espécies de *Bradyrhizobium* apresentam múltiplos mecanismos promotores de crescimento vegetal, incluindo a melhoria da estrutura do solo, aumento

da absorção de nutrientes, modulação de moléculas extracelulares e secreção de compostos bioativos, como antibióticos, hormônios vegetais e moléculas de sinalização (Chaddad *et al.*, 2024). A inoculação com cepas eficientes de *Bradyrhizobium* tem sido associada ao aumento da absorção de N, da biomassa seca e do rendimento de grãos em soja (Mirriam *et al.*, 2023), efeitos que estão diretamente relacionados ao aumento da área foliar funcional, da atividade fotossintética e da produção de carboidratos.

No presente estudo, a solubilização do fosfato natural foi mais expressiva no isolado 849, enquanto para o fosfato de ferro destacaram-se os isolados 547, 557 e 849 (Tabela 2). O fósforo é reconhecidamente o segundo nutriente mais limitante ao crescimento vegetal, apesar da abundância nos solos sob formas orgânicas e inorgânicas, devido à elevada capacidade de fixação e cátions como Ca^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} , especialmente em função do pH do solo (Kavamura *et al.*, 2013; Johan *et al.*, 2021; Mirriam *et al.*, 2023). Em solos ácidos e altamente intemperizados, como os do Cerrado brasileiro, a eficiência de uso de fósforo é particularmente baixa (Sen *et al.* 2024), ressaltando a importância de bactérias solubilizadoras de fosfato como estratégia biológica para melhorar a nutrição fosfatada.

A utilização de inoculantes microbianos isolados de solos nativos tem sido apontada como alternativa promissora para aumentar a eficiência do uso de fertilizantes fosfatados (Sen *et al.*, 2024). Timofeeva *et al.* (2023) destacam que bactérias capazes de atuar simultaneamente na FBN e na solubilização de fosfatos apresentam vantagem funcional, uma vez que a secreção de fosfatases ácidas e alcalinas está diretamente associada à disponibilidade de fósforo inorgânico no solo. Além disso, a disponibilidade de nitrogênio pode modular a expressão dessas enzimas, evidenciando interação funcional entre os ciclos do N e do P, característica observada nos isolados avaliados neste estudo.

A soja apresenta elevada demanda de fósforo durante os estádios reprodutivos, especialmente no enchimento de grãos, quando a cerca de 60% do P total da planta é acumulado (Mirriam *et al.*, 2023). A solubilização microbiana de fosfatos ocorre, principalmente via produção de ácidos orgânicos, quelantes ou pela acidificação do meio (Pang *et al.*, 2024). Além disso, bactérias solubilizadoras de P podem produzir sideróforos, regular fitormônios e fixar nitrogênio, promovendo a aquisição nutricional integrada e aumentando o crescimento e rendimento das plantas (Pang *et al.*, 2024).

Os resultados observados neste estudo demonstraram que a inoculação com rizobactérias nativas do Cerrado induziu estratégias funcionais distintas em plantas de *G. max*, evidenciando modulação integrada entre trocas gasosas, desempenho fotoquímico e arquitetura do sistema radicular.

O incremento significativo de *A* observado nos tratamentos com os isolados 547, 557 e 1022 pode estar associado, ao menos em parte, à maior disponibilidade de fósforo e ferro proporcionada por essas bactérias (especificadamente 547 e 557). O ferro é componente essencial dos centros de reação do fotossistema II e da cadeia transportadora de elétrons, podendo influenciar diretamente a eficiência fotossintética. Estudos demonstram que a inoculação com *Bradyrhizobium* ssp., *Pseudomonas* sp., e outras bactérias promotoras de crescimento vegetal (PGPR) aumenta o fornecimento de macro e micronutrientes, favorecendo a eficiência da maquinaria fotossintética e, conseqüentemente, o crescimento e o rendimento da soja (Kailash *et al.*, 2022).

Os isolados 542, 547 e 1022 promoveram maior condutância estomática, resultado semelhante ao observado em grão-de-bico inoculado com *Bradyrhizobium japonicum* (Padilha, 2025). Esse efeito pode estar relacionado ao aumento da absorção de nitrogênio e à maior síntese de proteínas associadas ao aparato fotossintético, resultando em maior demanda por CO₂ e maior abertura estomática em condições ambientais favoráveis (Pramanik *et al.*, 2017).

Embora o isolado 542 tenha mantido elevadas taxas de transpiração, os isolados 547 e 1022 apresentaram taxas menores desse parâmetro, indicando maior eficiência no controle estomático, pois auxiliaram na produção de raízes para captação de maior volume água e nutrientes para que as plantas realizarem fotossíntese de forma eficaz e regulação da abertura e fechamento estomático. A regulação estomática representa um compromisso fisiológico entre assimilação de CO₂ e conservação hídrica, sendo fundamental para a adaptação das plantas a ambientes com disponibilidade hídrica variável (Conçenco *et al.*, 2009). Porém, a elevada g_s , E , e razão C_i/C_a , concomitantes a redução de *A*, observadas no isolado 542, indica limitação não estomática da fotossíntese caracterizada pelo desacoplamento entre difusão estomática e assimilação bioquímica de carbono.

Porém, a elevada g_s , E , e razão C_i/C_a , concomitantes a redução de A , observadas no isolado 542, indica limitação não estomática da fotossíntese caracterizada pelo desacoplamento entre difusão estomática e assimilação bioquímica de carbono. Foi aferido em plantas de beringela inoculada, uma limitação não estomática ao processo de fotossíntese, podendo ter causado o aumento da concentração intercelular de CO_2 e não aproveitamento deste carbono para conversão fotoquímica (Souza, 2025).

A maior eficiência instantânea de carboxilação observada nos tratamentos com os isolados 547 e 557, possivelmente por ter aumentado a quantidade de nutrientes absorvidos pela bactéria e aumento da raiz, auxiliando no maior fornecimento de água, reforçando o papel dessas bactérias na melhoria do aproveitamento do carbono assimilado. A taxa fotossintética é um dos principais determinantes do potencial produtivo das culturas, especialmente quando associada à inoculação com microrganismos promotores de crescimento (Long, Marshall e Zhu, 2015).

Foi aferido em plantas de beringela inoculada, uma limitação não estomática ao processo de fotossíntese o que pode ter causado o aumento da concentração intercelular de CO_2 e não aproveitamento deste carbono para conversão fotoquímica (Souza, 2025).

A maior eficiência instantânea de carboxilação observada nos tratamentos com os isolados 547 e 557, possivelmente por ter aumentado a quantidade de nutrientes absorvidos pela bactéria e aumento da raiz, auxiliando no maior fornecimento de água, reforçando o papel dessas bactérias na melhoria do aproveitamento do carbono assimilado. A taxa fotossintética é um dos principais determinantes do potencial produtivo das culturas, especialmente quando associada à inoculação com microrganismos promotores de crescimento (Long, Marshall e Zhu, 2015).

A análise da fluorescência OJIP, de modo geral, sugere que os isolados mais eficientes (227, 542, 547, 549 e 849) apresentaram capacidade de induzir maior estabilidade funcional e estrutural dos centros de reação do FSII, além de aumentar a capacidade da utilização de energia absorvida, reduzindo perdas dissipativas e promovendo melhor conversão fotoquímica, corroborados pelas respostas de maior fluxo de elétrons e índice de performance e a manutenção de F_v/F_m (Figura 6).

As alterações observadas na razão Chl a/b , isolados 542, 547, 549 e 849, corroboram o efeito positivo da FBN sobre o metabolismo fotossintético, que indica boa

capacidade de absorção de energia luminosa. As clorofilas absorvem a luz e transformam essa energia luminosa em energia química, realizando a fotossíntese para produção dos carboidratos nas plantas, o índice relativo de clorofila está diretamente associado ao conteúdo na folha e capacidade de realização da fotossíntese (Lima, 2024).

Dessa forma, o ajuste no balanço entre absorção e dissipação de energia, corroborados também pelas respostas de fluorescência transiente da clorofila, observadas neste estudo reforçam a atuação das rizobactérias como reguladoras da maquinaria fotossintética. Pereira e Janse (2024) relatam que os *Bacillus* spp podem atuar em plantas de soja aumentando a eficiência de aproveitamento da energia luminosa e a capacidade de transferência entre os aceptores nos centros de reação do FSII, reflexo da maior F_v/F_0 , incremento em F_v/F_m e redução dos indicadores de perda de energia, demonstrando papel na regulação da matriz energética para posterior uso na fase bioquímica da fotossíntese e produção de carboidratos. Orozco-Mosqueda *et al.* (2021) demonstram que as bactérias atuam em múltiplas vias do metabolismo vegetal, afetando indiretamente a fotossíntese.

As variações observadas na arquitetura do sistema radicular evidenciam respostas morfológicas distintas entre os isolados bacterianos avaliados neste estudo, com destaque para os tratamentos 557, 547 e 549, que apresentaram maiores valores de diâmetro médio radicular (DMR). Resultados semelhantes foram relatados por Anklan (2025), que observaram aumentos de até 20% no diâmetro radicular de plantas de soja inoculadas com *Azospirillum brasilense* em comparação ao controle. Esse incremento sugere estímulo ao espessamento das raízes e maior investimento em tecidos condutivos e estruturais, indicando que microrganismos promotores de crescimento podem influenciar diretamente a funcionalidade hidráulica do sistema radicular (Baca Cabrera *et al.*, 2024).

Os maiores valores de VRF, ASRF, ASTR e VTR observados nos isolados 547, 549 e 1022 indicam estímulo à formação de raízes finas e maior expansão da superfície de absorção, sugerindo maior capacidade de exploração do solo e aquisição de água e nutrientes (Wasaya *et al.*, 2018), o que favorece a disponibilidade de recursos essenciais ao desenvolvimento vegetal e à atividade fotossintética. Em contraste, os isolados 542 e 557 apresentaram reduções em CTR, ASTR e VTR, e aumento da DTR para o isolado 542, evidenciando um sistema radicular menos expansivo e com menor investimento em raízes finas, esse comportamento sugere uma estratégia fisiológica mais conservativa,

caracterizada por menor custo metabólico de manutenção e maior investimento estrutural das raízes (Grover *et al.*, 2021).

O destaque do isolado 227 para ASRG e VTR sugere maior desenvolvimento de raízes estruturais, característica associada ao aumento da sustentação hidráulica e da capacidade de condução de água. Dessa forma, os resultados demonstram que os isolados bacterianos modulam não apenas o crescimento radicular, mas também a estratégia funcional de aquisição e conservação de recursos adotada pela planta (Vacheron *et al.*, 2013).

A evolução das pesquisas com bactérias fixadoras de nitrogênio como *Azospirillum* indicaram a capacidade de produzir fitohormônios *in vitro* e *in vivo*, dentre eles auxina, citocinina, giberelinas, etileno, ácido abscísico e outros reguladores como óxido nítrico e poliaminas (Cassan *et al.*, 2020). Quando a produção é modulada por BPCV a identificação de receptores de citocinina nas plantas, mas, devido ao hormônio estar associado diretamente a auxina, é difícil a identificação exata dos efeitos da promoção (Lugtenberg, 2015), apesar disso estudos indicam acúmulo de clorofila, maior desenvolvimento radicular e alongamento celular em plantas cultivadas com cepas bacterianas capazes de superprodução de citocinina (Olanrewaju; Glick; Babalola, 2017).

Com base nos resultados de morfometria das raízes é possível reconhecer três padrões fisiológicos distintos de resposta da soja aos isolados bacterianos: 1) Isolados expansivos e eficientes (547, 549, 1022), com capacidade de favorecer o desenvolvimento de raízes finas, investindo em maior área de absorção e maior eficiência específica, otimizando o uso da água e nutrientes. 2) Isolados estruturais (652, 526, 849), que estimulam espessamento e suporte radicular, sem necessariamente ampliar área ativa, sugerindo efeito mais anatômico que funcional. 3) Isolados conservativos (542, 557), que induzem densificação e redução da área radicular, configurando estratégia de economia energética e tolerância à seca.

Além disso, ao analisar a integração das respostas de características da parte aérea e radiculares são observadas estratégias morfofisiológicas distintas induzidas pelas rizobactérias, como: A) Estimulação fotossintética (549, 547, 1022), com maior conversão fotoquímica (aumento de F_v/F_m e P_i_{ABS}) e assimilação de CO_2 (aumento de A e g_s) e maior demanda e absorção de nutrientes (expansão de área e volume radicular), resultando em eficiência metabólica e alto crescimento vegetativo; B) Ajuste fotoprotetor

e conservativo (542, 557), com redução de Pi_ABS e A , mas aumento de EUA e DTR , indicando fechamento parcial dos estômatos e densificação radicular, resultando em resiliência hídrica e manutenção funcional sob estresse; C) Equilíbrio estrutural (652, 526, 849), com integração entre eficiência e suporte (incremento de $Chl\ b$, DC e VRG), resultando no balanço entre assimilação, sustentação hidráulica e mecânica e exploração radicular.

O desempenho superior do controle, em grande parte das variáveis radiculares, pode estar associado ao maior investimento da planta no crescimento do sistema radicular como estratégia compensatória para maximizar a absorção de água e nutrientes, em função da ausência de microrganismos promotores de crescimento.

A predominância de repostas positivas em parâmetros de área e eficiência radicular, neste estudo, sugere que as rizobactérias nativas podem atuar como bioestimulantes multifuncionais, capazes de ajustar a arquitetura do sistema radicular, conforme as demandas ecofisiológicas das plantas de soja, plasticidade essa, crucial para adaptação das culturas no bioma Cerrado e, conseqüentemente, para manutenção da produtividade frente as adversidades climáticas.

7. CONCLUSÃO

Todos os isolados avaliados foram identificados geneticamente como pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*. Nos testes *in vitro*, os isolados 547, 557 e 849 destacaram-se pela maior capacidade de solubilização de fosfato de ferro, sendo que os isolados 557 e 849 também apresentaram elevada solubilização de fosfato natural, indicando elevado potencial para incremento nutricional.

Nos parâmetros de trocas gasosas, as plantas inoculadas com os isolados 547 e 557 apresentaram maior taxa fotossintética e eficiência de carboxilação, evidenciando maior potencial dessas bactérias em otimizar a produção de energia metabólica. O isolado 547 também se destacou por promover maior condutância estomática e maior razão entre clorofila a e b , reforçando seu papel no incremento da eficiência fotossintética.

Em relação ao sistema radicular, os isolados 547 e 549 favoreceram o desenvolvimento de raízes finas, aumentando o potencial de absorção de água e nutrientes. O maior volume total de raízes observado no controle e no isolado 1022 sugere investimento compensatório das plantas em crescimento radicular na ausência de maior

eficiência simbiótica. De forma geral, os isolados 547 e 557 demonstraram elevado potencial funcional, tanto em ensaios *in vitro* quanto em condições de casa de vegetação, promovendo melhorias fisiológicas relevantes em plantas de soja.

8. REFERÊNCIAS

- Ashraf, Mhpjc.; Harris, P.Jc.(2013) Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*, v. 51, n. 2, p. 163-190.
- Altschul. S. F.. Gish. W.. Miller. W.. Myers. E. W.. Lipman. D. J (1990). Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215. 403–410. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(05)80360-2).
- Anklan , Michele Aline (2025). Mitigação de estresse por encharcamento em soja promovida por *Azospirillum* brasileiro e extrato de algas. 2025.81f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- Avontuur, J. R., Palmer, M., Beukes, C. W., Chan, W. Y., Coetzee, M. P.A., Blom, J., Stępkowski, T, Kyrpides, N. C., Woyke, T., Shapiro, N., Whitman, W. B., Venter, S. N., Steenkamp, E. T (2019). Genome-informed Bradyrhizobium taxonomy: where to from here? *Systematic and Applied Microbiology*, Volume 42, Issue 4, Pages 427-439. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.03.006>.
- Bouremani, N., Cherif-Silini, H., Silini, A., Bouket, A. C., Luptakova, L., Alenezi, F. N., Baranov, O., Belbahri, L (2023). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Rampart against the Adverse Effects of Drought Stress. *Water*, n. 15, v.3, p.418. <https://doi.org/10.3390/w15030418>
- Brasil (2023). Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. Secretaria de Desenvolvimento Industrial, Inovação, Comércio e Serviços. Plano nacional de fertilizantes 2050 : uma estratégia para os fertilizantes no Brasil / Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, Secretaria de Desenvolvimento Industrial, Inovação, Comércio e Serviços. -- Brasília : SDIC/MGI.
- Baca Cabrera, J. C., Vanderborght, J., Couvreur, V., Behrend, D., Gaiser, T., Nguyen, T. H., Lobet, G. (2024). Propriedades hidráulicas da raiz: uma exploração de sua variabilidade em escalas. *Plant Direct.* 8(4):e582. doi: 10.1002/pld3.582. PMID: 38590783; PMCID: PMC10999368.

- Carciochi, W. D., Crespo, C., Eliceche, M., & Barbieri, P. A (2021). Nitrogen and Sulfur Recycling and Diagnostic in Cover Crop-Maize Systems. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 21, n. 1, p. 801–812. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00402-y>.
- Chaddad, Z., Lamrabet, M., Bennis M., Kaddouri, K., Alami, S., Bouhnik, O., El Idrissi, M. M(2024). Nitrogen-Fixing Bradyrhizobium spp. as Plant Growth-Promoting Bacteria to Improve Soil Quality and Plant Tolerance to Biotic and Abiotic Stresses. In: Dheeman, S., Islam, M.T., Egamberdieva, D., Siddiqui, M.N. (eds) *Soil Bacteria*. Springer, Singapore. p. 71–99. https://doi.org/10.1007/978-981-97-3473-3_3.
- Conab (2025). Levantamento da safra brasileira de grãos 2025/2026. Companhia Nacional de Abastecimento. 2025. Disponível em: [Primeiro levantamento da Conab aponta para uma colheita de 354,7 milhões de toneladas de grãos na safra 2025/2026](#).
- Concenço, G.; Ferreira, E.A.; Aspiazu, I.; Silva, A.F.; Galon, L.; Ferreira, F.A.; Silva, A. A.; Andres, A (2009). Uso da água por plantas de arroz em competição com biótipos de *Echinochloa crusgalliresistente* e suscetível ao herbicida quinclorac. *Planta Daninha*, Viçosa, v.27, n. 2, p.249-256, 2009.
- Darriba. D.. Taboada. G.L.. Doallo. R.. Posada. D (2012). jModelTest 2: more models. new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. v. 9. p.772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>.
- Dias. A Dos S; Santos.. C.C (2022). Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso – Nova Xavantina. MT: Pantanal.
- De Freitas, Vanessa Fogaça et al., (2022). Strategies to deal with drought-stress in biological nitrogen fixation in soybean. *Applied Soil Ecology*, v. 172, p. 104352.
- Döbereiner. J. V. L. Baldani; J. I. Baldani (1995). Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Embrapa-SPI. Itaguaí. Embrapa CNPAB. Brasília. 60 p.
- Embrapa Soja (2024) - [Embrapa Soja: ciência e inovação para o campo. 2024. - Portal Embrapa](#).
- El-Minisy, A. M., Bekheet, S.A., Eltarras, A., El-Shabrawi, H., Amer, A. M., El-Assal, S., Ezz M., Hassaneen, M (2025). *Serratia rubidaea* SR19: A Cadmium -Tolerant Bacterium Enhancing Phosphate Solubilization, IAA Production, and Promoting

- Cucumber Seed Germination, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 103546, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2025.103546>.
- Fernandez-Osorio (2024) – Desafios y Perspectivas de la Seguridad Alimentaria en Iberoamérica. *Idn Brief*. Disponível em: [IDN Brief janeiro 2024 versão final.pdf](#).
- Ferreira. D. F (2019). SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. *REVISTA BRASILEIRA DE BIOMETRIA*. v. 37. n. 4. p. 529-535. <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- Gonçalves, Paula Wellen Barbosa (2022). Efeito do tratamento de sementes de *Cicer arietinum* com cobalto, molibdênio e bactérias promotoras de crescimento de plantas na fixação biológica de nitrogênio. [S.l.]: Universidade Estadual Paulista (Unesp).
- Gordon. S. A.; Weber. R. P (1951). Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiology*. v. 26. p. 192-195.
- Fukami J, Cerezini P, Hungria M (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*. May 4;8(1):73. doi: 10.1186/s13568-18-0608-1. PMID: 29728787; PMCID: PMC5935603.
- Gómez-Godínez, L. J., Aguirre-Noyola, J. L., Martínez-Romero, E., Arteaga-Garibay, R. I., Ireta-Moreno, J., Ruvalcaba-Gómez, J. M. A (2023). Look at Plant-Growth-Promoting Bacteria. *Plants* 12(8), 1668; <https://doi.org/10.3390/plants12081668>.
- Grover M, Bodhankar S, Sharma A, Sharma P, Singh J and Nain L (2021) PGPR Mediated Alterations in Root Traits: Way Toward Sustainable Crop Production. *Front. Sustain. Food Syst*. 4:618230. doi: 10.3389/fsufs.2020.618230
- Han. Q.. Ma. Q.; Chen. Y.. Tian. B.; Xu. L.. Bai. Y.. Chen. W.. Li X. (2020). Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean. *The ISME Journal*. v.14. n.8. p. 1915–1928. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0648-9>.
- Herridge. D.F.. Giller. K.E.. Jensen. E.S. Peoples. M.B (2022). Quantifying country-to-global scale nitrogen fixation for grain legumes II. Coefficients, templates and estimates for soybean, groundnut and pulses (Review). v.474. n.1-2. p. 1-15.
- Hidayat, F., Pane, R. D. P., Sapalina, F., Listia, E., Lubis, M. E. S., Oshiro, M., Sakai, K., Tashiro, Y (2024). Novel multifunctional plant growth-promoting bacteria isolated from the oil palm rhizosphere under long-term organic matter application. *Journal of*

- bioscience and bioengineering, v. 138, n. 5, p. 406-414.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.07.008>.
- Hungria, M.; Nogueira, M.A.; Araujo, R.S. (2015). Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium canariense* and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *Am. J. Plant Sci.* 6, 811–817.
- Johan, P. D., Ahmed, O. H., Omar, L., Hasbullah, N. A (2021). Phosphorus transformation in soils following co-application of charcoal and wood ash. *Agronomy*, v. 11, n. 10, p. 2010. <https://doi.org/10.3390/agronomy11102010>.
- Kailash Chand Kumawat, Inderjeet Singh, Sharon Nagpal, Poonam Sharma, Rajeev Kumar Gupta, Asmita Sirari (2022). Co-inoculation of indigenous *Pseudomonas oryzihabitans* and *Bradyrhizobium* sp. modulates the growth, symbiotic efficacy, nutrient acquisition, and grain yield of soybean. *Pedosphere*, V. 32, n. 3, p. 438-451.
[https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60085-](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60085-).
- Kavamura, V. N., Santos, S. N., Da Silva, J. L., Parma, M. M., Ávila, L. A., Visconti, A., Zucchi T. D., Taketani R. G., Andreote F. D., De Melo, I. S., Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought, *Microbiological Research*, Volume 168, Issue 4, 2013, Pages 183-191,
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>.
- Klepa. M.S.. Dizenzo. G.C.. Hungria. M.. Gonzalez V. Comparative genomic analysis of *Bradyrhizobium* strains with natural variability in the efficiency of nitrogen fixation. competitiveness. and adaptation to stressful edaphoclimatic conditions. *Microbiology Spectrum*. v. 12. n. 7. 2024.
- Kolde. Raivo; Kolde. Maintainer Raivo. Package ‘pheatmap’. R package. v. 1. n. 7. p. 790. 2015.
- Kumar. S.; Stecher. G.; Suleski. M.; Sanderford. M.; Sharma. S.; Tamura. K. Mega12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. *Molecular Biology and Evolution*. v.41. p.1–9. 2024.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msae263> .
- Lepetit M, Brouquisse R. New insights into the control of symbiotic nitrogen fixation by carbon supply. *Mol Plant*. 2023 Nov 6;16(11):1724-1726. doi: 10.1016/j.molp.2023.09.021. Epub 2023 Oct 4. PMID: 37794681.

- Lima, Ana Carolina Murad. Soja irrigada com efluente tratado de abatedouro: cultivo em interação com a inoculação de *Bradyrhizobium* spp. 2024. Tese (Doutorado em Engenharia de Sistemas Agrícolas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, University of São Paulo, Piracicaba, 2025. doi:10.11606/T.11.2025.tde-06052025-104122. Acesso em: 2026-01-03.
- Long, S.P.; Marshall-Colon, A.; Zhu, X.G. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. *Cell*, v.161, p.56-66, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.019>.
- Miriam, Akello, Mugwe, Jayne, Nasar, Jamal, Kisaka, Oscar, Ranjan, Shivani, Gitari, Harun (2023). Role of Phosphorus and Inoculation with *Bradyrhizobium* in Enhancing Soybean Production, *Advances in Agriculture*, 2023, 3231623, 14 pages. <https://doi.org/10.1155/2023/3231623>.
- Murphy. J.; Riley. J. P (1962). A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. v. 27. p.31-36.
- Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U., Batool, R (2019). Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00602-w>.
- Olanrewaju, O. S.; Glick, B. R.; Babalola, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 33, n. 11, p. 0, 2017.
- Orozco-Mosqueda, M. Del C. et al. Plant growth-promoting bacteria as bioinoculants: Attributes and challenges for sustainable crop improvement. *agronomy* MDPI AG, , 1 jun. 2021.
- Orozco-Mosqueda Mdc, Kumar A, Fadiji Ae, Babalola Oo, Puopolo G, Santoyo G (2023). Agroecological Management of the Grey Mould Fungus *Botrytis cinerea* by Plant Growth-Promoting Bacteria. *Plants* (Basel). Feb 1;12(3):637. doi: 10.3390/plants12030637. PMID: 36771719; PMCID: PMC9919678.
- Oldroyd GE (2013). Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat Rev Microbiol*. Apr;11(4):252-63. doi: 10.1038/nrmicro2990. PMID: 23493145.
- Padilha, K.S.M.A (2025). Identificação e inoculação de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de grão-de-bicoData, UFMG.

- Pang, F., Li, Q., Solanki, M. K., Wang, Z., Xing, Y-X, Dong, D-F. Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. *Frontiers Microbiol.*, V. 15, 2024 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383813>
- Pramanik, K.; Mitra, S.; Sarkar, A.; Soren, T.; Maiti, T.K (2017). Characterization of cadmium resistant *Klebsiella pneumoniae* MCC 3091 promoted rice seedling growth by 91 alleviating phytotoxicity of cadmium. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 24419. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0033-z>).
- Pereira. G. V. M.; Magalhães. K. T.; Lorenzetti. E. R.; Souza. T. P.; Schwan. R. F. A (2012) multiphasic approach for the identification of endophytic bacterial in strawberry fruit and their potential for plant growth promotion. *Physiology and Biotechnology.* v. 63. p.405-417.
- Pereira, D. E Janse, R. A. L. *Bacillus* spp. alivia o efeito do déficit hídrico sobre o metabolismo fotossintético e de proteção da soja. 2024. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2024.
- 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).
- R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Austria.
- Rambaut. A (2018). Figtree ver 1.4.4. Institute of Evolutionary Biology. University of Edinburgh. Edinburgh.
- Rawat, P. S.; Shankhdhar, D.; Shankhdhar, S. C. (2021). Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v.21, n.1, p.49-68.
- Ronquist. F.. Teslenko. M.. Mark. P.V.D.. Darling. A.. Hohna. S.. Larget. B.. Liu. L.. Suchard. M.A.. Huelsenbeck. J.P. (2012). MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61. 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>.

- Salvagiotti, K.G. Cassman, J.E. Specht, D.T. Walters, A. Weiss, A. Dobermann (2008). Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review, *Field Crops Research*, Volume 108, Issue 1, Pages 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001>.
- Sanger, F.; Nicklen, S.; Coulson, A. R (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 74, n. 12, p. 5463–5467.
- Santos, J. W. M. Dos; Silva, J. F. Da; Ferreira, T. D. Dos S.; Dias, M. A. M.; Fraiz, A. C. R.; Es Cobar, I. E. C.; Santos, R. C. Dos; Lima, L. M. De; Morgante, C. V.; Fernandes-Júnior, P. I (2017). Molecular and symbiotic characterization of peanut bradyrhizobia from the semi-arid region of Brazil. *Applied Soil Ecology*, v. 121, p. 177-184.
- Schmitz, A.; Riesner, D (2006). Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. *Analytical Biochemistry*, v. 354, p. 311-313.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., and Lane, D. J (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173:697-703.
- Schwyn. B.; Neilands. J.B (1987). Universal assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*. v. 160. p. 47-56.
- Seixas. G. et al. (2020). Dinâmica do cultivo da soja no Brasil: análise territorial e produtiva. *Revista de Estudos Agrícolas*. v. 35. n. 2. p. 145-160.
- Sen, A., Saha, N., Sarkar, A., Poddar, R., Pramanik, K., Kundu, R (2024). Enhancing phosphorus availability and growth of green gram (*Vigna radiata*) in acidic red and laterite soil through liquid formulations of native phosphate solubilizing bacteria, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 61, 103413. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103413>
- Sievers. F.. Wilm. A.. Dineen. D.. Gibson. T.J.. Karplus. K.. Li. W.. Lopez. R.. McWilliam. H.. Remmert. M.. Soding. J.. Thompson. J.D.. Higgins. D.G. Fast (2011). scalable generation of highquality protein multiple sequence alignments using Clustal omega. *Molecular Systems Biology* v.7. p.539. <https://doi.org/10.1038/msb.2011.75>.
- Silva. C. f. Vitorino. L.C.; Mendonça. M.A.C.; Araujo. W.L.; Dourado. M.N.; Albuquerque. L.C.; Soares. M.A.; Souchie. E.L (2020). Screening of plant growth-

- promoting endophytic bacteria from the roots of the medicinal plant *Aloe vera*. South African Journal of Botany. v. 134. p. 3-16.
- Soltani, H., Hassani, A., Sari, M. B. A., Hanifei, M (2025). The phosphate solubilizing and N fixing *Pantoea agglomerans* bacteria affecting yield and biochemical properties including nutrient uptake of different tomato genotypes. Journal of Trace Elements and Minerals. v. 12, 100225. <https://doi.org/10.1016/j.jtemin.2025.100225>.
- Souza, José Ebson Janoca de. Efeito de nanopartículas de zinco e bionoculante nas respostas fisiológicas de plantas de berinjela ao deficit hídrico / José Ebson Janoca de Souza. – Pombal, 2025
- Sugiyama. M. et al. (2015) Soybean nitrogen fixation and the impact of environmental factors. Agronomy Journal. v. 107. n. 3. p. 1159-1171.
- Tamura K. Stecher G. Kumar S (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. Molecular Biology and Evolution 38:3022-3027.
- Telles, T. S., Nogueira, M. A., Hungria, M. (2023). Economic value of biological nitrogen fixation in soybean crops in Brazil, Environmental Technology & Innovation, Volume 31, 103158, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103158>.
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., Sedykh, S. E (2023). Plant Growth-Promoting Soil Bacteria: Nitrogen Fixation, Phosphate Solubilization, Siderophore Production, and Other Biological Activities. Plants, 12(24), 4074; <https://doi.org/10.3390/plants12244074>.
- Vacheron J, Desbrosses G, Bouffaud M-L, Touraine B, Moënne-Loccoz Y, Muller D, Legendre L, Wisniewski-Dyé F and Prigent-Combaret C (2013) Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. Front. Plant Sci. 4:356. doi: 10.3389/fpls.2013.00356
- Vincent. J. M (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. Oxford: Blackwell. 164 p. 1970.
- Wasaya A, Zhang X, Fang Q, Yan Z (2018) Root phenotyping for drought tolerance: review. Agronomy 8:1–19. doi: 10.3390/agronomy8110241
- Wei W., Ma. M., Jiang. X.; Fan. F.; Meng. F.. Cao. F.. Chen. H.. Guan. D.. Li. L.. Li. J. (2025). Long-term effects of nitrogen fertilization and Bradyrhizobium inoculation on diazotrophic community structure and diversity in soybean cultivation. Applied Soil Ecology. v. 206.

Zaheer, A., Malik, A., Sher, A., Qaisrani, M. M., Mehmood, A., Khan, S. U., Ashraf, M., Mirza, Z., Karim, S., Rasool, M (2019). Isolation, characterization, and effect of phosphate-zinc-solubilizing bacterial strains on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, Saudi Journal of Biological Sciences, v. 26, n. 5, p. 1061-1067, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.04.004>.

CAPÍTULO II

Water Deficit Mitigation Potential of Native Rhizobacteria from the Brazilian Cerrado in Soybean Plants

ABSTRACT

Soybean, one of the most important agricultural commodities, constantly faces productivity losses due to environmental stresses, especially drought, particularly during critical stages such as grain filling (R5). This study investigated the potential of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), including *Bradyrhizobium* sp., *Mesorhizobium plurifarium*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Ralstonia* sp., *Rhizobium miluonense*, *Bradyrhizobium japonicum*, and *Bacillus megaterium*, in mitigating drought effects in soybean. A greenhouse experiment was carried out to evaluate physiological parameters related to water status, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic pigments, and plant growth under well-watered and drought-stressed conditions, with and without inoculation of native or commercial bacteria. The results indicated that the PGPR strains *P. nitroreducens* and *Ralstonia* sp. improved photosynthetic rates, electron transport efficiency, and root growth under water deficit. Although leaf water potential (Ψ_w) did not show significant differences, bacterial inoculation positively influenced metabolic efficiency and plant growth. Rhizobacteria are promising tools to enhance the drought tolerance of soybean. The most responsive variables to bacterial treatments were photosynthetic rate (*A*), electron transport rate (ETR), and water use efficiency (*A/E*). *P. nitroreducens* and *Ralstonia* sp. stood out by improving photosynthetic performance and water use efficiency, while *R. miluonense* contributed to maintaining transpiration rates. The best results under drought conditions were observed with *P. nitroreducens* and

Ralstonia sp. Thus, inoculation with rhizobacteria can be recommended as a strategy to enhance soybean tolerance to water deficit.

8. INTRODUCTION

In recent years, there has been a growing interest in soybean cultivation [*Glycine max* (L.) Merrill]. Currently, the global soybean cultivation area reaches 144.2 million hectares, with a total production of 427.41 million tons in 2025/2026 (FAO, 2026). Brazil is currently the world's largest producer and exporter of soybeans, with a production of 179 million tons in the 2025/26 growing season (CONAB, 2026). Soybean production is mainly concentrated in Midwest region, which account for 46.5%, following by the South region with 29.9% of the national planting area (CONAB, 2026).

The cultivated area in Brazil has increased almost ninefold between 1985 and 2023, expanding from 4.4 million hectares to nearly 40 million hectares (MapBiomass, 2024). This growth is attributed to the rising demand for soybeans, which has driven higher prices and greater investments in technology across the entire soybean production chain. Soybean is widely used in human nutrition due to its delicate flavor and high nutritional value, providing proteins, amino acids, fiber, minerals, vitamins, and isoflavones beneficial to health (Chen et al., 2022).

Drought is considered one of the most significant challenges in modern agriculture, directly affecting the primary metabolism of plants. One of the first responses to water limitation is stomatal closure, which reduces water loss but also limits CO₂ uptake, consequently decreasing photosynthesis (Batista, 2020) and affecting plant growth and yield. In addition, soil water deficit conditions lead to the accumulation of reactive oxygen species (ROS), causing lipid peroxidation, chlorophyll degradation, and protein breakdown, further reducing photosynthetic efficiency (Cheng et al., 2021).

Several technologies have been studied to mitigate drought effects in crops. Among them, the use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) stands out. These bacteria produce phytohormones that stimulate root growth and improve water and nutrient uptake, particularly under drought conditions (Khosro et al., 2024; Akhtar et al., 2020; Woo et al., 2020; Chandra et al., 2019).

Additionally, PGPR can produce volatile organic compounds (VOCs), osmolytes, antioxidants, extracellular polymeric substances (EPS), siderophores, and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, which directly or indirectly contribute to stress mitigation (Ahmad et al., 2022). The activation of these mechanisms

helps maintain or enhance photosynthetic rates and increase total sugars and other metabolites, playing a crucial role in improving plant stress tolerance (Su et al., 2024).

Several studies have reported the beneficial PGPR effects in crop production. For instance, the inoculation of *Streptomyces alboflavus* (Araujo et al., 2023) and co-inoculation of *Cupriavidus necator* and *Pseudomonas fluorescens* (Pereira et al., 2020) in maize under moderate drought enhanced root growth and increased nitrogen and phosphorus content. Bacteria from the genus *Rhizobium* are capable of fixing atmospheric nitrogen, which is otherwise unavailable to plants, while also mitigating the effects of environmental stress and promoting disease resistance (Magalhaes et al., 2024).

Studies have also shown improved photosystem II performance and reduced lipid peroxidation in maize plants inoculated with *Providencia* sp. and *Proteus mirabilis* under drought conditions (Vishnupradeep et al., 2022). In soybean, inoculation with the endophyte *Bacillus licheniformis* increased the number of pods and the expression of iron-related genes, while enhanced Mn, Zn, and Ca uptake in plants grown in alkaline soils (Roriz et al., 2023).

Furthermore, the exopolysaccharides secretion by *Pantoea alhagi* in rice plants enhanced antioxidant enzyme activity (CAT, POD, and SOD) and increased proline and soluble sugar contents, contributing to greater drought tolerance (Sun et al., 2020). Under heat stress, thermotolerant PGPR stimulated heat-responsive genes (*GmHSP*, *GmLAX3*, and *GmAKT2*) and reduced ROS generation in soybean plants (Khan et al., 2020).

In soybean cultivation, the symbiosis between plants and microorganisms, especially with genera such as *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*, provides significant benefits. Commercial inoculants often include strains such as *B. japonicum*, *B. elkanii*, *B. diazoefficiens*, and *A. brasilense* (Hungria et al., 2015). *Bradyrhizobium canariense* can supply up to 60% of the plant's nitrogen needs through biological nitrogen fixation (BNF) via nodulation (Salvagiotti et al., 2008). *Azospirillum* spp. also promotes plant growth by fixing atmospheric nitrogen, producing phytohormones, enhancing root development, and consequently improving tolerance to both abiotic and biotic stresses (Fukami et al. 2018).

Biofertilizers are essential components of sustainable agriculture, playing a fundamental role in enhancing soil productivity by increasing nutrient availability and inducing physiological traits that strengthen plant development (Elhaissofi et al., 2022).

Specifically, bacterial biofertilizers are crucial for promoting sustainable agriculture by improving nutrient availability and plant resilience (Elhaisoufi et al., 2022).

Selecting native rhizobacteria from the Brazilian Cerrado is a promising strategy to maximize soybean productivity under water deficit, particularly in the Midwest region of Brazil, where drought events are frequent. This is because the ability of these microorganisms to support plant growth is directly related to their own capacity to survive under harsh environmental conditions, such as water deficit (Agnolucci et al., 2019). Therefore, this study aims to select plant growth-promoting rhizobacteria native to the Brazilian Cerrado to enhance soybean tolerance and productivity under drought conditions.

9. MATERIALS AND METHODS

9.1. Experimental conditions

The experiment was carried out in a climate-controlled greenhouse at the Laboratory of Ecophysiology and Plant Productivity of the Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus, Goiás, Brazil, during the 2023/24 growing season. Soybean plants (cultivar GH2376 IPRO) were grown in 8 kg pots containing a substrate composed of soil and sand (2:1). Seeds were inoculated with beneficial microorganisms (10^9 CFU mL⁻¹). The substrate was fertilized with single superphosphate (SSP; 21% P), monoammonium phosphate (MAP; 11% N, 55% P), a potassium source (60% K), and limestone (filler type) to raise base saturation to 60%. Five native bacterial strains were selected as inoculants based on their phosphate solubilization capacity, evaluated through in vitro functional trait assays.

9.2. Selection of rhizobacteria based on functional traits

The bacterial strains were grown in nutrient broth (3 g beef extract, 5 g peptone) and their optical density (OD₆₀₀) was adjusted using 0.85% saline solution. Phosphate solubilization was assessed using three different phosphorus sources: Ca₃(PO₄)₂ (5 g L⁻¹), reactive rock phosphate (5 g L⁻¹; 12% P), and FePO₄ (2 g L⁻¹) (Silva et al., 2020). The

final pH of the culture medium and the inorganic phosphorus concentration were determined using the colorimetric method described by Murphy and Riley (1962).

9.3. Bacterial identification

Bacterial identification was performed through amplification of the 16S ribosomal RNA gene using polymerase chain reaction (PCR) followed by sequencing. PCR was performed directly from bacterial colonies using sterilized toothpicks to transfer cells into PCR tubes containing the reaction mixture. The PCR mixture contained 10 μL of 5X PCR buffer, 1 μL of primer fD1 (10 μM), 1 μL of primer rP1 (10 μM), 1 μL of dNTPs (10 mM), 0.2 μL of GoTaq DNA polymerase (5 U μL^{-1} ; Promega), and 36.8 μL of MilliQ autoclaved water. The primers fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and rP1 (5'-ACGGTTACCTTGTTACGACTT-3') were described by Weisburg et al., 1991.

Amplifications were performed in a thermocycler (T100, BioRad) with the following conditions: initial denaturation at 94°C for 4 min; 40 cycles of 94°C for 30 s, 60°C for 30 s, and 72°C for 90 s; followed by a final extension at 72°C for 4 min. PCR products were verified by electrophoresis in 0.8% agarose gel stained with ethidium bromide (100 ng mL^{-1}) and visualized under UV transillumination.

PCR products were purified by polyethylene glycol (PEG) precipitation following Schmitz and Riesner (2006) and sequenced by the Sanger method in 1977. Sequencing reactions consisted of 5 μL PCR product, 1 μL BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems), 1.5 μL sequencing buffer, 0.3 μL primer (fD1 or rP1 at 10 μM), and 2.2 μL MilliQ autoclaved water. The thermocycler program was: initial denaturation at 95°C for 1 min, followed by 25 cycles of 95°C for 5 s and 60°C for 4 min.

Sequencing products were precipitated with 40 μL of 75% isopropanol, centrifuged at 12,000 g for 10 min, washed with 100 μL of 75% isopropanol, and centrifuged again at 12,000 g for 5 min. The pellet was dried, resuspended in 10 μL of formamide, and denatured at 95°C for 2 min. Sequencing was performed on an ABI 3500XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

The sequences were compared using BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) against the GenBank database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) (Altschul et al.,

1990) with a similarity threshold above 98%. Sequences were aligned using MEGA12 software (Kumar et al., 2024).

9.4. Phylogenetic analysis

Phylogenetic relationships were inferred based on the aligned 16S rRNA sequences using CLUSTAL OMEGA (Sievers et al., 2011) and sequences obtained from GenBank. The evolutionary model TrN+I+G was selected using the Bayesian Information Criterion (BIC) in JMODELTEST 2 (Darriba et al., 2012), with base frequencies A = 0.2421, C = 0.2238, G = 0.3169, T = 0.2172; p-inv = 0.3130; and gamma shape = 0.4610.

Phylogenetic trees were constructed using MRBAYES v3.2.6 (Ronquist et al., 2012) based on Bayesian inference with four independent runs, each consisting of 10×10^6 generations, sampling every 500 generations. The first 2,500 trees were discarded as burn-in to ensure chain convergence. Tree robustness was tested by bootstrap with 5,000 replicates using MEGA12 (Kumar et al., 2024). Trees were visualized and edited using FigTree v1.4.4.

9.5. Inoculant preparation

The bacterial strains used were obtained from the Agricultural Microbiology Laboratory Culture Collection of the IF Goiano – Rio Verde Campus and are native to soils from Cerrado forest fragments. Bacteria were grown in nutrient broth (3 g beef extract, 5 g peptone) at room temperature on a shaker (100 rpm) for 24 h. Cell suspensions were adjusted to 10^9 CFU mL⁻¹. Seeds were individually treated with 2 mL kg⁻¹ of each inoculant. Commercial inoculants were included as additional treatments.

The experiment consisted of 16 treatments: inoculation with seven diazotrophic bacteria (five native—547 *Bradyrhizobium* sp., 580 *Mesorhizobium plurifarium*, 660 *Pseudomonas nitroreducens*, 905 *Ralstonia* sp., and 1136 *Rhizobium miluonense*—and two commercials—*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), combined with two soil water regimes: well-watered (80% of pot maximum water holding capacity, MWHC) and water deficit (50% MWHC). Two controls were used: a positive control (well-watered without bacteria) and a negative control (drought without bacteria), as detailed in Table 1.

Water deficit (WD) was imposed at phenological stages R1 and R5, when 90% of the plants had reached these stages, and maintained for seven days. After the first drought

cycle at R1, plants were rehydrated until R5, when the second drought cycle was applied for seven days, followed by physiological evaluations.

The soil water retention curve was determined using five pots with saturated soil. Pots were weighed daily until moisture stabilization. The average of the last four weights was used to calculate water loss and daily irrigation needs until the onset of water deficit.

Table 1. Treatments combining inoculation and water regime.

Treatment	Bacteria	ID	Origin	Water Regime
1	Control	–	–	Well-watered
2	Control	–	–	Drought
3	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	547	Native	Well-watered
4	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	547	Native	Drought
5	<i>Mesorhizobium plurifarum</i>	580	Native	Well-watered
6	<i>Mesorhizobium plurifarum</i>	580	Native	Drought
7	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	660	Native	Well-watered
8	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	660	Native	Drought
9	<i>Ralstonia</i> sp.	905	Native	Well-watered
10	<i>Ralstonia</i> sp.	905	Native	Drought
11	<i>Rhizobium miluonense</i>	1136	Native	Well-watered
12	<i>Rhizobium miluonense</i>	1136	Native	Drought
13	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Commercial	Commercial	Well-watered

14	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Commercial	Commercial	Drought
15	<i>Bacillus megaterium</i>	Commercial	Commercial	Well-watered
16	<i>Bacillus megaterium</i>	Commercial	Commercial	Drought

9.7. Evaluations

Soybean plants were evaluated at the R5 reproductive stage (grain filling).

9.7.1. Water relations

Leaf water potential (Ψ_w) was measured predawn using a Scholander-type pressure chamber (Model 3005-1412, Soilmoisture Equipment Corp., Goleta, CA, USA). Relative water content (RWC) was calculated based on fresh mass (FM), turgid mass (TM), and dry mass (DM) as described in equation 1 (Barrs, Weatherley, 1962):

$$\text{RWC (\%)} = (\text{FM} - \text{DM}) / (\text{TM} - \text{DM}) \times 100 \quad (1)$$

Measurements were performed between 5:00 and 6:00 a.m.

9.7.2. Gas exchange and chlorophyll a fluorescence

Photosynthetic rate (A ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiration rate (E ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance (g_s ; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), intercellular and ambient CO_2 concentration ratio (C_i/C_a), initial fluorescence (F_0), maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), regulated energy dissipation (Y_{NPQ}), and electron transport rate (ETR) were measured using an infrared gas analyzer (IRGA; LI-6800XT, Licor®, Lincoln, NE, USA) between 8:00 a.m. and 12:00 p.m.

9.7.3. Photosynthetic pigments

Chlorophylls and carotenoids were extracted with dimethyl sulfoxide (DMSO) saturated with calcium carbonate following Ronen and Galun (Ronen, Galun, 1984). Leaf discs (0.59 cm^2) were incubated in 5 mL DMSO at 65°C for 24 h. Absorbance was measured at 480, 649.1, and 665.1 nm in a UV-VIS spectrophotometer (Evolution 60S, Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Chlorophyll a (Chl_a), chlorophyll b (Chl_b), and

total carotenoids (Carot) were determined following Wellburn [37], as described in equations 2, 3, and 4. Total chlorophyll (Chl_t) was calculated as the sum of Chl_a and Chl_b.

$$\text{Chl}_a = 12.47 \times A_{665.1} - 3.62 \times A_{649.1} \quad (2)$$

$$\text{Chl}_b = 25.06 \times A_{649.1} - 6.5 \times A_{665.1} \quad (3)$$

$$\text{Carot} = (1000 \times A_{480} - 1.29 \times \text{Chl}_a - 53.78 \times \text{Chl}_b) / 220 \quad (4)$$

9.7.4. Biometric parameters

Plant height, stem diameter, and leaf area were measured. Leaf area was estimated using digital images processed in ImageJ software.

9.8. Statistical analysis

The experiment followed a completely randomized design with 16 treatments (8 bacterial inoculants \times 2 water regimes) and six replicates, totaling 96 experimental units. Each pot contained two plants. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and means were compared using Dunnett's test ($p \leq 0.05$) in R software.

10. RESULTS

10.1. Functional traits: Phosphate solubilization capacity

Quantitative analysis of phosphate solubilization revealed that all bacterial isolates could solubilize calcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Isolate *Pseudomonas nitroreducens* (660) showed the highest solubilization capacity, reaching 812.62 mg L^{-1} , along with a pH reduction to 5.4, confirming its phosphate solubilization ability. For reactive rock phosphate, *Ralstonia* sp. (905) exhibited the highest solubilization, with 960.44 mg L^{-1} and a pH drop to 3.8. Notably, isolates 660 and 1136 (*Rhizobium miluonense*) were unable to solubilize this phosphate source. In the case of iron phosphate (FePO_4), only *Bradyrhizobium* sp. (547) and *Mesorhizobium plurifarum* (580) demonstrated minimal solubilization, with 1.22 and 0.43 mg L^{-1} , respectively (Figure 1).

Figure 2. Phylogenetic relationships. Similarity tree based on 16S rRNA gene sequences of soybean rhizospheric bacteria, showing phylogenetic relationships with closely related strains. Numbers in blue above nodes represent posterior probability values.

10.3. Plant water relations

Soybean plants inoculated with *P. nitroreducens* (660) under water deficit exhibited significantly more negative predawn leaf water potential (Ψ_w) values (Figure 3). In contrast, no significant differences in Ψ_w were observed among the other treatments under either water deficit or well-watered conditions.

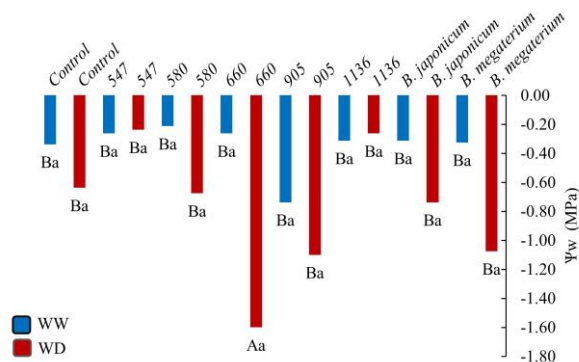


Figure 3. Plant water status. Predawn leaf water potential (Ψ_w) in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

10.4. Gas exchange

Photosynthetic rate (A) was significantly improved by inoculation with *Bradyrhizobium* sp. (547), *Bradyrhizobium japonicum*, and *Bacillus megaterium* under water deficit, and by *P. nitroreducens* (660) under well-watered conditions (Figure 4A). Stomatal conductance (g_s) showed no significant differences overall, except for *Rhizobium miluonense* (1136), which exhibited higher g_s under both irrigation regimes

(Figure 4B). Instantaneous carboxylation efficiency (A/C_i) significantly increased in treatments with *Bradyrhizobium* sp. (547), *B. japonicum*, and *B. megaterium* under both water conditions, as well as with *P. nitroreducens* (660) under well-watered conditions (Figure 4D).

The C_i/C_a ratio did not differ significantly between treatments and controls (Figure 4E). However, treatments with *Bradyrhizobium* sp. (547) and *B. japonicum* showed reduced A without altering C_i/C_a , suggesting limitations in the biochemical phase of photosynthesis rather than stomatal constraints. Water use efficiency (WUE) was significantly enhanced by *P. nitroreducens* (660) and *Ralstonia* sp. (905), whereas treatments with *M. plurifarium* (580) and *R. miluonense* (1136) exhibited lower WUE values (Figure 4F).

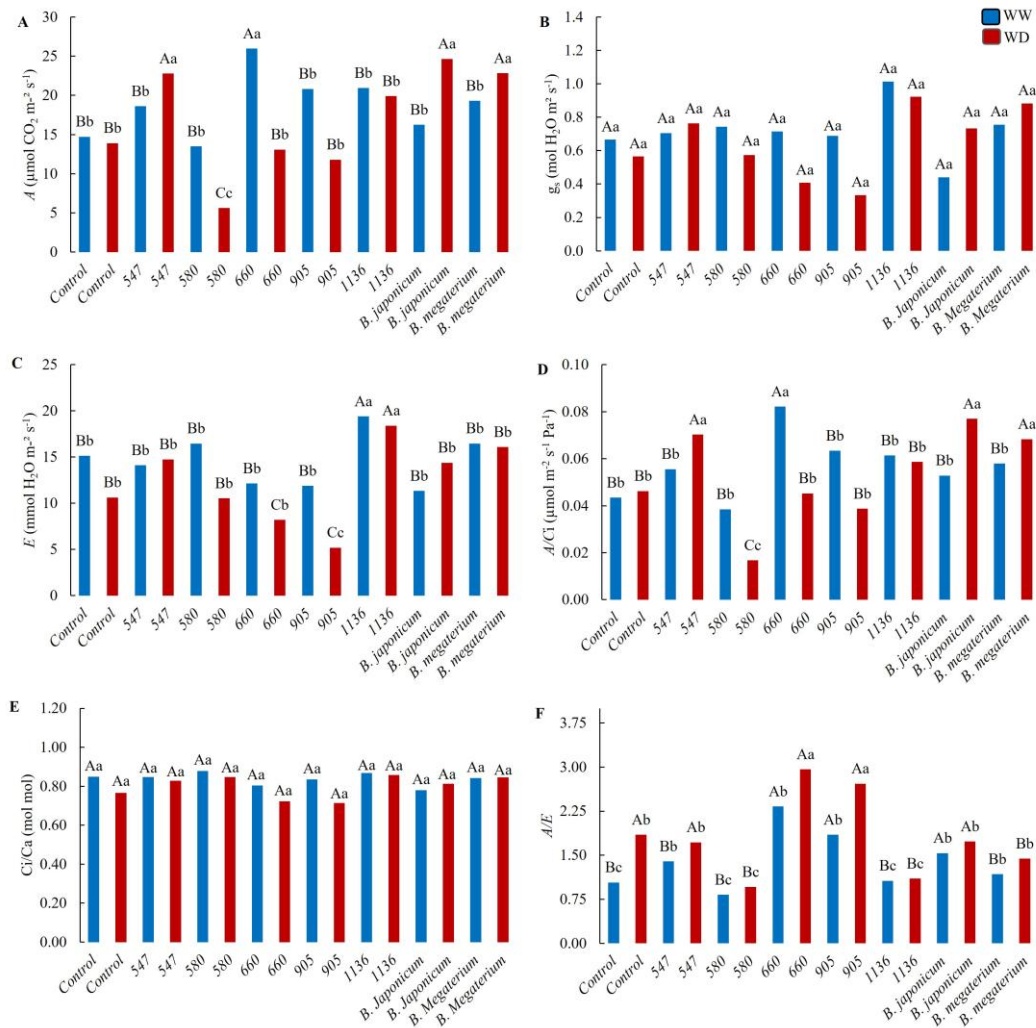


Figure 4. Gas exchange. Photosynthetic rate (A) [A], stomatal conductance (g_s) [B], transpiration rate (E) [C], instantaneous carboxylation efficiency (A/C_i) [D], intercellular

and ambient CO₂ concentration ratio (Ci/Ca) [E], and water use efficiency (WUE) [F] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

10.5. Chlorophyll a fluorescence

The potential quantum yield of PSII (F_v/F_m) and non-photochemical quenching (NPQ) did not show significant differences between treatments and controls (Figures 5A and 5B). In contrast, the electron transport rate (ETR) was significantly higher under water deficit in plants inoculated with *P. nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), *B. japonicum*, and *B. megaterium* compared to the water deficit control (Figure 5C).

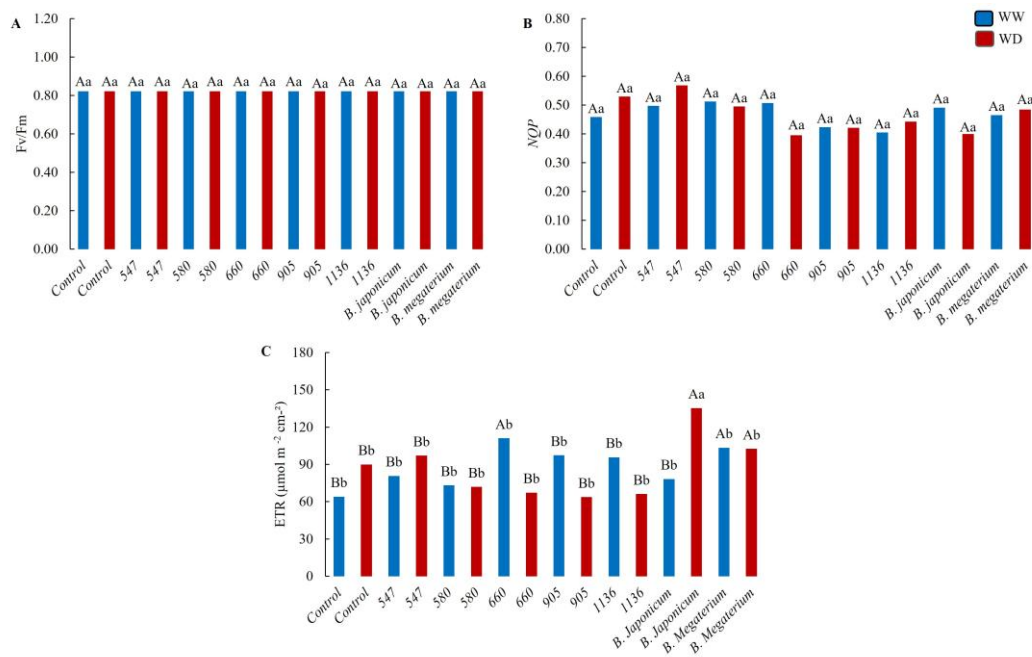


Figure 5. Chlorophyll a fluorescence. Potential quantum yield of PSII (F_v/F_m) [A], non-photochemical quenching (NPQ) [B], and electron transport rate (ETR) [C] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia*

sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

10.6. Photosynthetic Pigments

Chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids (data not shown) and total chlorophyll concentration (Chl_{tot}) did not show significant differences among treatments compared to the controls under either water regime (Figure 6).

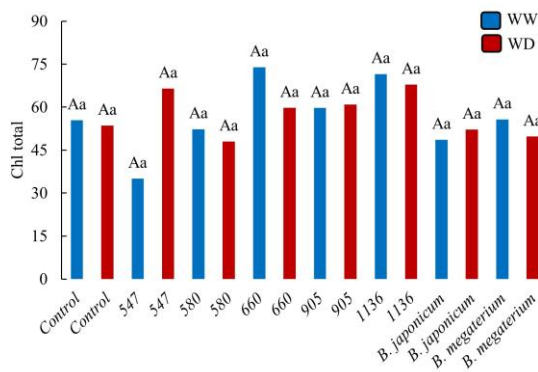


Figure 6. Photosynthetic pigments. Total chlorophyll concentration in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

10.7. Morphological traits

Plant height (PH) was significantly increased in treatments with *P. nitroreducens* (660) under water deficit and *R. miluonense* (1136) under well-watered conditions compared to the water deficit control (Figure 7A). Stem diameter (SD) was slightly but

significantly higher in the *Ralstonia* sp. (905) treatment under well-watered conditions (Figure 7B).

Leaf area (LA) increased significantly in plants inoculated with *P. nitroreducens* (660) under water deficit compared to both controls. Similarly, *R. miluonense* (1136) under well-watered conditions exhibited higher LA compared to the water deficit control (Figure 7C).

PH was positively correlated with photosynthetic performance, particularly in treatments with *P. nitroreducens* (660) and *B. japonicum*, both showing high CO₂ assimilation rates. Conversely, *M. plurifarium* (580) consistently exhibited the lowest values for both PH and photosynthetic activity, indicating reduced growth efficiency under both irrigation conditions.

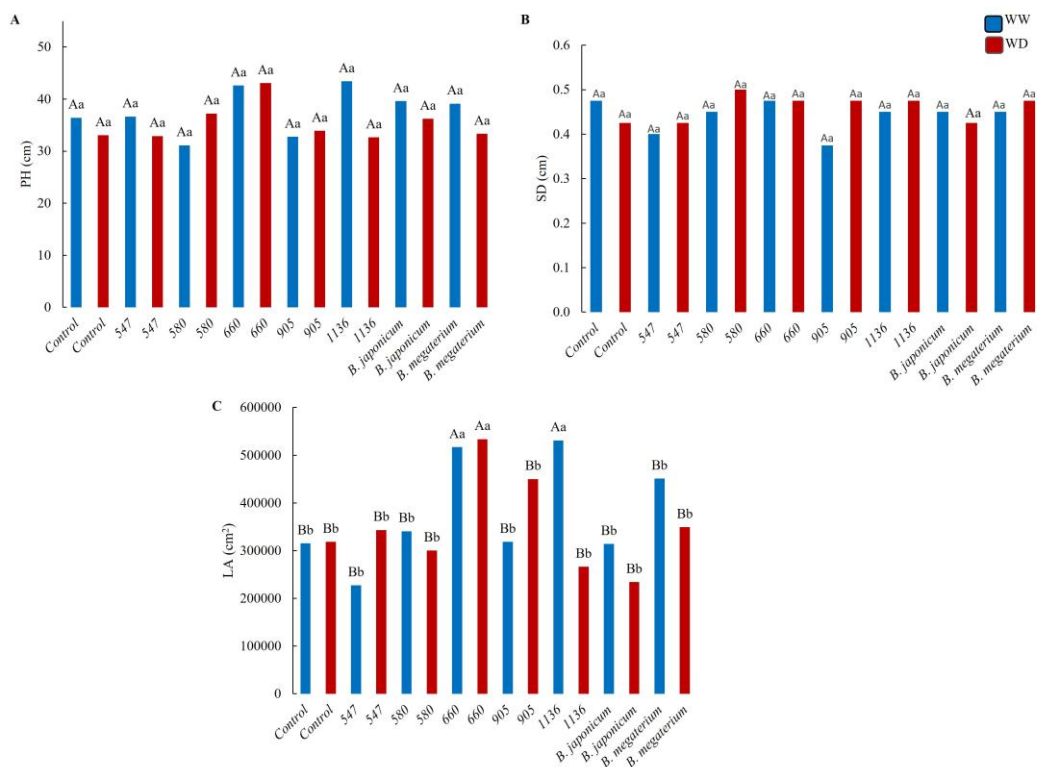


Figure 7. Morphological traits. Plant height (PH) [A], stem diameter (SD) [B], and leaf area (LA) [C] in soybean plants at the R5 stage in response to inoculation with native bacteria (*Bradyrhizobium* sp. (547), *Mesorhizobium plurifarium* (580), *Pseudomonas nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), and *Rhizobium miluonense* (1136)), commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*), and a non-inoculated

control, under two water regimes: 80% maximum water holding capacity (MWHC, well-watered; blue bars) and 50% MWHC (water deficit; red bars). Different letters indicate significant differences by Dunnett's test ($p \leq 0.05$). Uppercase letters compare with the well-watered control; lowercase letters compare with the water deficit control.

11. DISCUSSION

The results of this study highlight distinct physiological and morphological responses of soybean to inoculation with native and commercial bacterial strains under different water regimes. Native strains such as *Pseudomonas nitroreducens* (660) and *Rhizobium miluonense* (1136) demonstrated superior effectiveness in mitigating water deficit, as evidenced by the maintenance of photosynthetic activity and improved water use efficiency. This enhanced performance is likely associated with their adaptation to the local Cerrado environment.

Conversely, commercial strains such as *Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium* exhibited positive physiological effects in some variables but were less effective than the native strains. This observation suggests that selecting microorganisms adapted to local environmental conditions may be a more effective strategy to improve soybean resilience to drought.

The higher photosynthetic rates observed under water deficit can be attributed to the activity of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), which enhance water use efficiency (Figure 4F) and carbon fixation. Similar results were reported by (Suss, 2020) who demonstrated that co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* enhances soybean photosynthesis under drought due to the production of phytohormones and exopolysaccharides that promote root growth and increase water retention.

The PGPR induced differential morphophysiological responses in soybean plants exposed to water deficit during the early grain-filling stage (R5), a critical developmental phase highly sensitive to water restriction (Lima-Naoe et al., 2022). Water deficit limits water and nutrient uptake, affecting key physiological processes such as photosynthesis, transpiration, and photosynthetic enzymes activity, ultimately leading to yield losses (Rosa, 2024).

Inoculation with *P. nitroreducens* (660) positively influenced leaf water potential (Ψ_w) under drought (Figure 3), suggesting enhanced cellular hydration. This response is likely related to improved nutrient solubilization and stimulation of root development, increasing the plant's water uptake capacity. Similar mechanisms have been reported for *Bacillus* species, which improve root architecture under stress (Mendes et al., 2024).

According to Rosa (2024), plant adaptive mechanisms to environmental stresses are often enhanced through symbiotic interactions with beneficial microorganisms, particularly rhizobacteria, which play a crucial role in drought mitigation. The beneficial effects of *P. nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), *B. japonicum*, and *B. megaterium* on photosynthetic performance under drought are likely linked to the phytohormones production such as auxins and gibberellins. These compounds enhance root development and water retention, while the synthesis of exopolysaccharides improves soil structure and water availability (Knoll, 2023; Fernandes, 2022).

Under well-watered conditions, inoculation with *Bradyrhizobium* sp. (547), *P. nitroreducens* (660), and *R. miluonense* (1136) also enhanced photosynthetic rates (A), suggesting that these bacteria optimize CO₂ assimilation under favorable water availability. This can be attributed to improved nutrient acquisition (nitrogen, phosphorus, and iron) and regulation of photosynthetic metabolism.

Interestingly, *R. miluonense* (1136) increased both stomatal conductance (g_s) and transpiration (E) under well-watered conditions, indicating that the bacteria stimulated gas exchange processes and improved photosynthetic efficiency (Santos et al., 2025).

The reduction in transpiration (E) observed in the *Ralstonia* sp. (905) treatment under drought suggests an adaptive mechanism to reduce water loss while maintaining photosynthesis. Similar responses have been reported with *Azospirillum brasilense* in maize (Hungria et al., 2010) and with *Bacillus subtilis* and *Burkholderia seminalis* in tomato (Silva et al., 2024), highlighting the role of PGPR in regulating stomatal behavior and enhancing drought tolerance.

These responses are also associated with oxidative stress regulation, where PGPR enhance the plant's antioxidant defense systems, balancing reactive oxygen species (ROS) production under drought conditions (Pereira et al., 2022). The data support that appropriate selection of drought-adapted rhizobacteria is a viable strategy to improve

plant physiological performance under water scarcity. Although stomatal closure remains a primary response to drought in soybean, limiting CO₂ entry and impacting Calvin cycle efficiency (Knoll, 2023; Silva et al., 2023), bacterial inoculation mitigates these effects, enhancing photosynthetic efficiency and overall plant performance.

The variation in photosynthetic responses among treatments indicates that while some bacteria improve CO₂ assimilation (*A*), others primarily enhance the photochemical phase, as reflected by increased electron transport rate (ETR) without a direct increase in carbon fixation. Previous studies demonstrate that soybeans inoculated with *B. japonicum* under drought maintain growth and yield due to improved photochemical efficiency (Spanevello, 2023). This suggests that the plant's adaptive response depends not only on ETR enhancement but also on its effective conversion into photosynthesis.

Bradyrhizobium sp. (547) and *B. japonicum* regulate nitrogen fixation and influence photosynthesis variably under drought. Vinuesa et al. (2025) report that drought may reduce Rubisco activity and RuBP regeneration, limiting carbon assimilation despite maintained CO₂ diffusion into chloroplasts.

An increase in ETR under drought reflects reduced non-photochemical energy dissipation (lower NPQ), optimizing the use of absorbed light for photochemistry. Studies indicate that soybean cultivars with higher ETR and lower NPQ perform better under water stress, reinforcing the importance of these photoprotective mechanisms (Sanches, 2012). Although chlorophyll concentration did not differ significantly among treatments, the presence of rhizobacteria contributed to improved physiological traits and plant growth. This likely results from enhanced antioxidant enzyme activity and maintenance of leaf relative water content, as reported in other studies (Paiva et al., 2021).

The chlorophyll fluorescence results support this, with higher ETR values in treatments with *P. nitroreducens* (660), *Ralstonia* sp. (905), *B. megaterium*, and *B. japonicum*, indicating improved photochemical performance under drought.

Additionally, increased plant height and leaf area in treatments with *R. miluonense* (1136) and *P. nitroreducens* (660) reflect the PGPR role in enhancing nutrient uptake and root development, contributing to morphological resilience under stress.

The beneficial effects observed in physiological and morphological parameters during the early grain-filling stage (R5) reinforce the potential of rhizobacteria in mitigating water

deficit in soybean. These findings demonstrate that inoculated plants exhibit better physiological responses and growth under water-limited conditions compared to non-inoculated controls.

12. CONCLUSIONS

This study demonstrates that inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) significantly influences soybean adaptation to water deficit. Among native strains, *Pseudomonas nitroreducens* (660) and *Ralstonia* sp. (905) were the most effective, improving photosynthetic rate (*A*) and water use efficiency (WUE), while *Rhizobium miluonense* (1136) contributed to maintaining transpiration (*E*).

Commercial inoculants (*Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*) provided beneficial physiological and morphological effects but were less effective than native bacteria under water deficit conditions.

The most responsive variables to bacterial inoculation were *A*, electron transport rate (ETR), and WUE. The best physiological performances under drought were observed in treatments with *P. nitroreducens* (660) and *Ralstonia* sp. (905).

Therefore, the inoculation of native Cerrado bacteria represents a promising, sustainable strategy to enhance soybean resilience to drought, offering an effective tool to mitigate climate-related water limitations in agriculture.

13. REFERENCES

- Agnolucci, M., Avio, L., Pepe, A., Turrini, A., Cristani, C., Bonini, P., Cirino, V., Colosimo, F., Ruzzi, M., & Giovannetti, M. (2019). Bacteria associated with a commercial mycorrhizal inoculum: Community composition and multifunctional activity as assessed by Illumina sequencing and culture-dependent tools. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1956. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01956>
- Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B., Aziz, O., Mahmood, U. R., Fakhar, A., Rafique, M., Chen, Y., Yang, S. H., & Wang, X. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: A review. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 875774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.875774>
- Akhtar, S. S., Amby, D. B., Hegelund, J. N., Fimognari, L., Großkinsky, D. K., Westergaard, J. C., Müller, R., Moelbak, L., Liu, F., & Roitsch, T. (2020). *Bacillus licheniformis* FMCH001 increases water use efficiency via growth stimulation in

- both normal and drought conditions. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 297. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00297>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, *215*(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Araújo, V. L. V. P., Fracetto, G. G. M., Silva, A. M. M., Pereira, A. P. A., Freitas, C. C. G., Barros, F. M. R., Santana, M. C., Feiler, H. P., Matteoli, F. P., Fracetto, F. J. C., & Cardoso, E. J. B. N. (2023). Potential of growth-promoting bacteria in maize (*Zea mays* L.) varies according to soil moisture. *Microbiological Research*, *271*, 127352. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127352>
- Barrs, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, *15*(3), 413–428. <https://doi.org/10.1071/BI9620413>
- Batista, P. F., Müller, C., Merchant, A., Fuentes, D., Silva-Filho, R. O., da Silva, F. B., & Costa, A. C. (2020). Biochemical and physiological impacts of zinc sulphate, potassium phosphite and hydrogen sulphide in mitigating stress conditions in soybean. *Physiologia Plantarum*, *168*(2), 456–472. <https://doi.org/10.1111/ppl.13034>
- Catuchi, T., Soratto, R. P., Francisquini Júnior, A., Aranda, E. A., Guidorizzi, F. V. C., & Tiritan, C. S. (2017). Nitrogen management, nitrogen use efficiency, and seed yield and quality of creeping signalgrass. *Crop Science*, *57*(5), 2865–2874. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.02.0096>
- Chandra, D., Srivastava, R., Gupta, V. V. S. R., Sharma, A. K., Singh, N., Sharma, P., Prabha, R., & Sharma, J. P. (2019). Field performance of bacterial inoculants to alleviate water stress effects in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil*, *441*, 261–281. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04115-9>
- Chen, Z., Zhong, W., Zhou, Y., Ji, P., Wan, Y., Shi, S., Yang, Z., Gong, Y., Mu, F., & Chen, S. (2022). Integrative analysis of metabolome and transcriptome reveals the improvements of seed quality in vegetable soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Phytochemistry*, *200*, 113216. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113216>
- Cheng, H.-Q., Zou, Y.-N., Wu, Q.-S., & Kuča, K. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in trifoliate orange by regulating H⁺-ATPase activity and

- gene expression. *Frontiers in Plant Science*, 12, 659694. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.659694>
- CONAB (2026). *Acompanhamento da safra brasileira: Grãos (Soja)*. Portal de Informações Agropecuárias: Companhia Nacional de Abastecimento. <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/safra-serie-historica-graos.html> Accessed on May 10, 2026.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- De Lima-Naoe, A. M., Mucci-Peluzio, J., Torquato-Tavares, A., Araújo e Silva, R., Reina, E., & Koshy-Naoe, L. (2022). Performance of soybean cultivars under drought stress and sowing seasons in Brazilian Savannah. *Agro Productividad*, 15(4), 95-102. <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i4.2138>
- Elhaisoufi, W., Ghoulam, C., Barakat, A., Zeroual, Y., & Bargaz, A. (2022). Phosphate bacterial solubilization: A key rhizosphere driving force enabling higher P use efficiency and crop productivity. *Journal of Advanced Research*, 38, 13–28. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.08.014>
- Paiva, A. P. L., Magalhães, P. C., Carvalho, L. P., Jales, H. F., Gomes Júnior, C.C., Lana, Ubiraci, G. P., & Marriel, I. E. (2021). *Azospirillum brasilense para mitigação do estresse hídrico no sorgo BRS 332 submetido a diferentes doses de nitrogênio*. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 224: Embrapa Milho e Sorgo. Available at: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1131684/1/Boletim-224.pdf>. Accessed on May 10, 2026.
- FAO. (2026). Production Trends – Soybeans. Food and Agriculture Organization of the United Nations. U.S. Department of Agriculture. Available at: <https://www.fas.usda.gov/data/production/2222000>. Accessed on May 10, 2026.
- Fernandes, L. dos S. (2022). *Efeito da aplicação de microorganismos promotores de crescimento no milho (Zea mays L.) safrinha em condições de Cerrado* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Goiás]. 37p. Available at: <https://repositorio.ueg.br/jspui/handle/riueg/2620>. Accessed on May 10, 2026.
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8, 73. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>

- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, *331*, 413–425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2015). Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium canariense* and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, *6*(6), 811–817. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.66087>
- Khan, M. A., Asaf, S., Khan, A. L., Jan, R., Kang, S.-M., Kim, K.-M., & Lee, I.-J. (2020). Thermotolerance effect of plant growth-promoting *Bacillus cereus* SA1 on soybean during heat stress. *BMC Microbiology*, *20*, 175. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01822-7>
- Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., Poudel, T. R., Manghwar, H., & Liu, F. (2024). Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, *11*, 100341. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100341>
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, *41*(12), 1-9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Magalhães, S. P., Silva, F. G., Cordovil, H. P. L., Tenório, A. N. R. S., Silva, J. M., Suassuna, J. F., Bernardo, A. M. G., & Oliveira, C. M. (2024). Bactérias promotoras de crescimento vegetal na atenuação de estresse salino e déficit hídrico na agricultura. *Contribuciones a las Ciencias Sociales*, *17*, 7761. <https://doi.org/10.55905/revconv.17n.6-284>
- MapBiomias. (2024). Pasture, soybean and sugar cane occupy 77% of agriculture area in Brazil: MapBiomias' unprecedented survey reveals the dynamics of agricultural expansion in Brazil over the last 39 years. Available at: <https://brasil.mapbiomas.org/en/2024/12/06/pastagem-soja-e-cana-ocupam-77-da-area-de-agropecuaria-no-brasil/> Accessed on May 10, 2026.
- Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, *27*, 31–36. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)

- Pereira, E. J. (2022). *Germinação e crescimento inicial de tomate cereja comum inoculado com Bacillus subtilis e Burkholderia seminalis* [Trabalho de conclusão de curso, Instituto Federal Goiano], 28p. Available at: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/3065>. Accessed on December 8, 2025.
- Pereira, S. I. A., Abreu, D., Moreira, H., Vega, A., & Castro, P. M. L. (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) improve the growth and nutrient use efficiency in maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Heliyon*, 6(10), e05106. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05106>
- Ronen, R., & Galun, M. (1984). Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. *Environmental and Experimental Botany*, 24(3), 239–245. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(84\)90004-2](https://doi.org/10.1016/0098-8472(84)90004-2)
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Roriz, M., Pereira, S. I. A., Castro, P. M. L., Carvalho, S. M. P., & Vasconcelos, M. W. (2023). Impact of soybean-associated plant growth-promoting bacteria on plant growth modulation under alkaline soil conditions. *Heliyon*, 9(5), e14620. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14620>
- Salvagiotti, F., Cassman, K. G., Specht, J. E., Walters, D. T., Weiss, A., & Dobermann, A. (2008). Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research*, 108(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.03.001>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Santos, H. S. N., Ribeiro, R. C. F., David, A. M. de S., Santos Neto, J. A. dos, Xavier, A. A., & Santos, J. R. P. (2025). ACC deaminase-producing bacteria mitigate water deficit in tomato seeds. *Journal of Seed Science*, 47, e202547013. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v47292543>

- Schmitz, A., & Riesner, D. (2006). Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. *Analytical Biochemistry*, 354(2), 311–313. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.03.014>
- Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T. J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J. D., & Higgins, D. G. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*, 7, MSB201175. <https://doi.org/10.1038/msb.2011.75>
- Silva, A. C. B. da, Oliveira, F. G., & Braga, R. N. da F. G. P. (2023). Yield prediction in banana (*Musa* sp.) using STELLA model. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 45(1), e58947. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v45i1.58947>
- Silva, C. F., Vitorino, L. C., Mendonça, M. A. C., Araujo, W. L., Dourado, M. N., Albuquerque, L. C., Soares, M. A., & Souchie, E. L. (2020). Screening of plant growth-promoting endophytic bacteria from the roots of the medicinal plant *Aloe vera*. *South African Journal of Botany*, 134, 3–16. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.019>
- Su, F., Zhao, B., Dhondt-Cordelier, S., & Vaillant-Gaveau, N. (2024). Plant-growth-promoting rhizobacteria modulate carbohydrate metabolism in connection with host plant defense mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1465. <https://doi.org/10.3390/ijms25031465>
- Sun, L., Yang, Y., Wang, R., Li, S., Qiu, Y., Lei, P., & Gao, J., Xu, H., Zhang, F., & Lv, Y. (2020). Effects of exopolysaccharide derived from *Pantoea alhagi* NX-11 on drought resistance of rice and its efficient fermentation preparation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 946–955. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.199>
- Vishnupradeep, R., Bruno, L. B., Taj, Z., Karthik, C., Challabathula, D., Tripti, Kumar, A., Freitas, H., & Rajkumar, M. (2022). Plant growth promoting bacteria improve growth and phytostabilization potential of *Zea mays* under chromium and drought stress by altering photosynthetic and antioxidant responses. *Environmental Technology & Innovation*, 25, 102154. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102154>
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697–703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>

- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, *144*(3), 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- Woo, O.-G., Kim, H., Kim, J.-S., Keum, H. L., Lee, K.-C., Sul, W. J., & Lee, J.-H. (2020). *Bacillus subtilis* strain GOT9 confers enhanced tolerance to drought and salt stresses in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *148*, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.032>

14. CONCLUSÃO GERAL

Diante do uso crescente de microrganismos na agricultura e a busca pela sustentabilidade, busca-se cada vez mais novas cepas capazes de sobreviver a adversidades e associar-se a grandes culturas que tragam rentabilidade ao produtor. Neste estudo, resultados obtidos demonstram que tem cepas nativas do cerrado que são capazes de auxiliar as plantas a absorver mais nutrientes, suportarem déficit hídrico e serem tão eficazes quanto cepas comerciais. As cepas *Bradyrhizobium canariense* (547), *Pseudomonas nitroreducens* (660) and *Ralstonia* sp. (905) mostraram-se eficazes em auxiliar as plantas a aprimorar os processos de trocas gasosas, as duas últimas inoculadas em plantas sob déficit hídrico, mostrando potencial para aprimorar o desenvolvimento das plantas e para que novos estudos sejam realizados.

