

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**Rúbia Catharina da Silva Carvalho**

**CO-INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS  
PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS NO  
DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DA SOJA**

Dracena

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
CAMPUS DE DRACENA**

**Rúbia Catharina da Silva Carvalho**

**CO-INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS  
PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS NO  
DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DA SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Tecnológicas – Unesp,  
Câmpus de Dracena como parte das  
exigências para conclusão do curso.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Shintate Galindo

Dracena  
2023

Inserir nesta página a versão digitalizada do  
**certificado de aprovação.**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Dracena



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JULIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS  
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: Co-inoculação com microrganismos promotores de crescimento de plantas no desenvolvimento e produtividade da soja


Modalidade: Trabalho de Atividades de pesquisa


Autor: Rúbia Catharina da Silva Carvalho


Orientador (a): Prof. Dr. Fernando Shintate Galindo

Número de Créditos: 12

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 16/06/2023

  
Prof. Dr. Fernando S. Galindo  
UNESP/FCAT - DRACENA  
(18) 98120-8054  
fernando.galindo@unesp.br  
Prof. Dr. Fernando  
Shintate Galindo

  
Prof. Dr. Marcelo  
Carvalho Minhoto Teixeira  
Filho

  
Prof. Dr. Samuel Ferrari

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai Fernando Carvalho e minha mãe Rosana Carvalho, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, me encorajando em todas as etapas da minha vida e me incentivando a sempre dar o meu melhor. Agradeço por todo amor, apoio e por serem minha fonte constante de inspiração. Sou imensamente grata pela dedicação, sacrifícios e pelo exemplo de determinação que vocês sempre demonstraram.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ser o meu sustento, pela sua presença constante em minha vida, por sua graça e orientação. Tudo o que vivi e conquistei ao longo da minha trajetória, aconteceu segundo o seu propósito e plano para a minha vida.

Aos meus pais Fernando e Rosana, pela força e coragem que me moldaram. Vocês me ensinaram a enfrentar os desafios de cabeça erguida, a persistir diante das dificuldades e a nunca desistir dos meus sonhos. Cada conquista minha é um reflexo direto da força e coragem que sempre me deram.

Aos meus amigos, em especial ao Túlio Mattocheck, Giovana Pompilio, Thais Martins e Herlon Trevisan que foram como irmãos. Agradeço por estarem ao meu lado durante toda a jornada, não só acadêmica, mas também pessoal. Suas palavras de encorajamento, apoio e companheirismo tornaram a minha trajetória mais leve.

Ao Rodrigo, que sempre me incentivou, apoiou e acreditou em mim quando eu mesma tinha dificuldade em acreditar. Obrigada por ser um exemplo de força, por sempre estar ao meu lado, por me acalmar nos momentos de aflição e por me fazer acreditar que eu posso conquistar além do que eu imagino.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Galindo, por sua orientação valiosa, pelo constante incentivo e paciência. Sua expertise, conselhos e disponibilidade foram fundamentais para a realização deste estudo. Obrigada pelos ensinamentos que enriqueceram a minha formação acadêmica e pessoal.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Campus de Dracena, por proporcionar o ambiente acadêmico propício para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço aos professores e funcionários pela dedicação em transmitir conhecimento e pelo suporte durante toda a minha jornada acadêmica.

Ao grupo GEPESAS, por toda colaboração e dedicação que foram de suma importância para a condução do experimento. Agradeço por cada momento de estudo colaborativo, em que nos ajudamos mutuamente a superar dificuldades e a aprimorar nossas habilidades.

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.*

*(Josué 1:9).*

## RESUMO

A utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs) é crescente, principalmente em condições tropicais e podem promover benefícios no crescimento e desenvolvimento da soja, com reflexo na produtividade de grãos. Considerando os benefícios verificados em diversas culturas com a inoculação de MPCPs, especialmente em função do efeito fitohormonal atuando diretamente na promoção de crescimento vegetal, desenvolvimento do sistema radicular, e conseqüentemente maior absorção e aproveitamento de água e nutrientes, além do potencial de aumento da FBN e na solubilização e eficiência de uso dos nutrientes aplicados via fertilizantes, acredita-se que a coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. juntamente com MPCPs, como exemplo *Azospirillum brasilense*, *Bacillus aryabhatai* e *Trichoderma harzianum* podem favorecer o desenvolvimento da cultura, e conseqüentemente a produtividade de grãos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de coinoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas e do fungo *T. harzianum* no crescimento, desenvolvimento e produtividade da soja. A pesquisa foi desenvolvida no município de Dracena - SP, em um Argissolo Vermelho distrófico típico de textura arenosa. O experimento foi realizado em blocos casualizados com quatro repetições e 8 tratamentos: 1) controle – inoculação apenas com *Bradyrhizobium* sp. sem coinoculações; 2) inoculação com *Bradyrhizobium* sp. + *A. brasilense*; 3) inoculação com *Bradyrhizobium* sp + *Bacillus aryabhatai*; 4) inoculação com *Bradyrhizobium* sp + *Trichoderma harzianum*; 5) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai*; 6) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *T. harzianum*; 7) *Bradyrhizobium* sp + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*; 8) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*. Todos os tratamentos foram aplicados pulverizados em área total no início do desenvolvimento vegetativo (V1/V2), exceto a inoculação com *Bradyrhizobium* sp. que foi realizada nas sementes. As coinoculações com *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *T. harzianum* e *Bradyrhizobium* sp + *B. aryabhatai* + *T. harzianum* propiciaram maior ICF e beneficiaram as trocas gasosas, com maior produção de massa seca em parte aérea e raízes no florescimento, refletindo em maior enchimento e produtividade de grãos, com maior produtividade de grãos de soja. No entanto, o tratamento com coinoculação com todos os MPCPs testados (*Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*) não propiciou benefícios ao cultivo de soja, demonstrando que possivelmente houve um efeito antagônico da junção de todos esses microrganismos inoculados em conjunto.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill, coinoculação na soja, microrganismos promotores de crescimento de plantas, inoculação na agricultura tropical.

## ABSTRACT

The use of plant growth promoting microorganisms (MPCPs) is increasing, especially in tropical conditions and can promote benefits in the growth and development of soybeans, with an impact on grain yield. Considering the benefits verified in several cultures with the inoculation of MPCPs, especially due to the phytohormonal effect acting directly in the promotion of plant growth, development of the root system, and consequently greater absorption and use of water and nutrients, in addition to the potential for increasing BNF and in the solubilization and efficiency of use of nutrients applied via fertilizers, it is believed that co-inoculation with *Bradyrhizobium* sp. together with MPCPs, such as *Azospirillum brasilense*, *Bacillus aryabhatai* and *Trichoderma harzianum* can favor the development of the crop, and consequently the grain production. This work aimed to evaluate the effect of co-inoculations with plant growth-promoting bacteria and the fungus *T. harzianum* on soybean growth, development and grain yield. The research was carried out in the municipality of Dracena - SP, in a typical dystrophic Ultisol with a sandy texture. The experiment was carried out in randomized blocks with four replications and 8 treatments: 1) control – inoculation only with *Bradyrhizobium* sp. no co-inoculations; 2) inoculation with *Bradyrhizobium* sp. + *A. brasilense*; 3) inoculation with *Bradyrhizobium* sp + *Bacillus aryabhatai*; 4) inoculation with *Bradyrhizobium* sp + *Trichoderma harzianum*; 5) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai*; 6) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *T. harzianum*; 7) *Bradyrhizobium* sp + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*; 8) *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*. All treatments were applied sprayed in the total area at the beginning of the vegetative development (V1/V2), except the inoculation with *Bradyrhizobium* sp. which was carried out on the seeds. Co-inoculations with *Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *T. harzianum* and *Bradyrhizobium* sp + *B. aryabhatai* + *T. harzianum* provided greater ICF and benefited gas exchange, with greater production of dry matter in shoots and roots at flowering, reflecting in greater filling and grain production, with higher soybean grain productivity. However, treatment with co-inoculation with all tested MPCPs (*Bradyrhizobium* sp + *A. brasilense* + *B. aryabhatai* + *T. harzianum*) did not provide benefits to soybean cultivation, demonstrating that possibly there was an antagonistic effect of the combination of all these microorganisms inoculated together.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merrill, coinoculation in soybeans, plant growth-promoting microorganisms, inoculation in tropical agriculture.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Foto aérea retirada do Google Earth com a área experimental (localizada junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP de Dracena - SP) em evidência..... 32
- Figura 2** - Chuva, temperatura mínima, média e máxima na área experimental durante a condução do experimento.....33
- Figura 3** – Foto comparativa dos tratamentos em florescimento pleno (R2)..... 40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Atributos químicos e granulométricos do solo nas camadas 0-0,20m e 0,20-0,40m antes do início do experimento.....	31
<b>Tabela 2</b> – Resumo dos tratamentos.....	34
<b>Tabela 3</b> – Índice de clorofila foliar, massa seca de parte aérea e raízes, fotossíntese líquida, transpiração, concentração interna de CO <sub>2</sub> na câmara subestomática e condutância estomática em função das coinoculações com MPCPs na cultura da soja.....	41
<b>Tabela 4</b> – Número de vagens por planta, grãos por vagem, grãos por planta, altura de plantas, massa seca de palhada, massa de 100 grãos e produtividade de grãos em função das coinoculações com MPCPs na cultura da soja.....	44

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	Alumínio
Azo	<i>Azospirillum brasilense</i>
B	Boro
Bac	<i>Bacillus aryabhatai</i>
BPCPs	Bactérias promotoras de crescimento de plantas
C.V	Coefficiente de variação (%)
Ca	Cálcio
CaO	Óxido de cálcio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CoMo	Cobalto e molibdênio
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
Ctl	Controle
Cu	Cobre
dm <sup>-3</sup>	Decímetro cúbico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
Fe	Ferro
FMA	Fungos micorrízicos arbusculares
FSP	Fungos solubilizadores de fosfato
g	Gramas
H	Hidrogênio
H <sub>2</sub> O	Água
ha <sup>-1</sup>	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICF	Índice de clorofila foliar
IRGA	Analisador de gases a infravermelho
K	Potássio
kg	Quilograma
L	Litros
m	Metros
m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Metros ao quadrado por segundos

mg	Miligrama
mL	Mililitros
Mmol	Milimol
Mn	Manganês
MgO	Óxido de magnésio
MPCPs	Microrganismos promotores de crescimento de plantas
N	Nitrogênio
P	Fósforo
PRNT	Poder Relativo de Neutralização Total
R1	Florescimento pleno da soja
R2	Florescimento pleno da soja
R3	Início do desenvolvimento das vagens da soja
R5	Início do enchimento de grãos da soja
R6	Pleno enchimento de grãos da soja
R8	Maturação plena da soja
RPCPs	Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas
S	Enxofre
Sem.	Semeadura
SIDRA	Sistema IBGE de Recuperação Automática
SO <sub>4</sub>	Sulfato
t	Tonelada
T max.	Temperatura máxima
T med.	Temperatura média
T min.	Temperatura mínima
Tricho	<i>Trichoderma harzianum</i>
V2	Segundo nó da soja
Zn	Zinco

## LISTA DE SÍMBOLOS

<i>A</i>	Taxa fotossintética líquida
<i>E</i>	Transpiração
<i>C<sub>i</sub></i>	Concentração interna de CO <sub>2</sub>
<i>G<sub>s</sub></i>	Condutância estomática
μmol	Micromol

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
2 OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.1 Objetivos Específicos.....	17
3 REVISÃO DE LITERATURA .....	18
3.1 Importância econômica e social da soja.....	18
3.2 Limitações no cultivo da soja .....	19
3.3 Nitrogênio na cultura da soja.....	20
3.4 Fixação biológica de nitrogênio .....	22
3.5 <i>Azospirillum brasilense</i> .....	23
3.6 <i>Bacillus aryabhattai</i> .....	26
3.7 <i>Trichoderma</i> spp. ....	27
3.8 Importância da coinoculação.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	46

## 1 INTRODUÇÃO

Com o intuito de suprir à necessidade crescente de produção de alimentos, fibras e energia decorrente de uma população em vertiginosa expansão, associado à escassez de novas áreas agricultáveis e mudanças climáticas, a produtividade e a qualidade da soja devem ser crescentes em uma velocidade maior do que em outras épocas da humanidade (GALINDO et al., 2018). Tecnologias de fácil aplicação, baixo custo e que permitam reduzir a aplicação de insumos externos sem afetar ou aumentando a produtividade agrícola são progressivamente mais desejadas na agricultura mundial. Nesse contexto, destaca-se a inoculação com microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs) (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) na cultura da soja, no Brasil, possui uma resposta altamente positiva, visto que, a aplicação de inoculantes com microrganismos promotores de crescimento de plantas permite que haja uma economia de aproximadamente US\$ 12 bilhões por ano, em fertilizantes nitrogenados (SANTOS; NOGUEIRA; HUNGRIA, 2019; ZILLI et al., 2019; EMBRAPA, 2020). Além de permitir, alta absorção de nutrientes e água, tendo impacto positivo na produtividade, sendo esse um dos casos mais exitosos de sucesso de utilização via inoculação de microrganismos benéficos as grandes culturas.

Nesse contexto, a coinoculação baseia-se na utilização de mais de um microrganismo, de maneira combinada, como exemplo *Bradyrhizobium* sp. e *A. brasilense*, *B. aryabhattai* e *T. harzianum*, produzindo uma interação que potencialmente beneficia os resultados de inoculação isolada, conhecido como efeito sinérgico, superando desse modo os resultados de crescimento e produtividade que seriam alcançados com os mesmos, se utilizados de forma separada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008). No caso da soja, entende-se como coinoculação a utilização de microrganismos em conjunto com a inoculação tradicional com *Bradyrhizobium* sp. Como exemplo, nos países Argentina, Brasil e África do Sul, produtos contendo em sua base *Azospirillum brasilense* têm sido muito recomendado para coinoculação em soja, em conjunto com *Bradyrhizobium* (REIS, 2007). No que se refere à nutrição de plantas e qualidade agrícola, os principais microrganismos estudados na

atualidade são as BPCPs, com destaque aos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*. No Brasil, além das bactérias, pesquisas com fungos do gênero de *Trichoderma* vem ganhando destaque nos últimos anos, em especial ao *Trichoderma harzianum*, principalmente na área de controle biológico, graças a ação de três diferentes mecanismos: o antagonismo, o mico parasitismo e a antibiose (ALMEIDA et al., 2022). Além de estudos com o gênero *Trichoderma*, diversas pesquisas com fungos solubilizadores de fosfato (FSP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) com intuito de solubilizar fosfatos existentes ou adicionados ao solo e/ou aumentar a absorção de nutrientes devido à expansão na área de exploração do solo, incrementando o desenvolvimento das plantas (COUTINHO et al., 2017).

Considerando os benefícios verificados em diversas culturas com a inoculação com MPCPs, especialmente em função do efeito fitohormonal atuando diretamente na promoção de crescimento vegetal, desenvolvimento do sistema radicular, e conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes (HUNGRIA et al., 2013; XIAO-YING et al., 2015; GALINDO et al., 2018), controle biológico de plantas, produção de antibióticos naturais e efeito protetor contra fitopatógenos secundários do solo (SANTOYO et al., 2012; MAZZUCHELLI et al., 2014; SIVASAKTHI et al., 2014; JARDIN, 2015), além do potencial de aumento da FBN e na eficiência do uso do N (PANKIEWICZ et al., 2015; GALINDO et al., 2016). Portanto, acredita-se que a coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. juntamente com MPCPs, tendo como exemplos, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus aryabhattai* e *Trichoderma harzianum* podem favorecer o desenvolvimento da cultura, e conseqüentemente a produção de grãos. A adoção de tecnologias e produtos que tenham efeito bioestimulante, biopromotor ou atenuadores de efeitos de estresses abióticos são promissoras, principalmente em função do baixo custo de aplicação e potencial efeito promotor de crescimento de raízes e parte aérea, com potenciais benefícios à cultura da soja.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito de coinoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) e do fungo *Trichoderma harzianum* no crescimento, desenvolvimento e produtividade da soja.

### **2.1 Objetivos Específicos**

Investigar os sinergismos dos microrganismos na promoção do crescimento e desenvolvimento da planta de soja;

Determinar se a coinoculação desses microrganismos pode resultar em aumento no crescimento vegetal;

Analisar o desempenho da cultura e as trocas gasosas, otimizando o uso de nutrientes e promovendo um ambiente favorável para o crescimento e desenvolvimento das plantas;

Fornecer subsídios para aprimorar as estratégias de manejo da cultura da soja, visando aumentar a produtividade de forma sustentável em solo arenoso.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Importância econômica e social da soja

No cenário atual do agronegócio no mundo, a soja tem uma importância relevante na balança comercial e a sua expansão está completamente associado às novas práticas agrícolas, à evolução de atividades científicas e às inovações tecnológicas (PICCOLI, 2018). A soja, atualmente, é um dos produtos principais da cadeia do agronegócio, sendo a oleaginosa mais produzida no mundo destacando mais uma vez a sua relevância para a economia devido a sua alta exportação brasileira, a soja é utilizada até como moeda de troca para vários agricultores, corretores e produtores de grãos, o que resulta em múltiplos lucros tendo participação no aumento do PIB (produto interno bruto) do Brasil (IBGE, 2014), que gera aproximadamente 37% dos empregos brasileiros e tem forte influência na balança comercial do Brasil (COSTA, 2005).

Sua produção mundial gira em torno de 123.829,5 milhões de toneladas, sendo 40 milhões de hectares ocupados pelo Brasil, na safra de 2021/2022 (EMBRAPA, 2022), sendo essa cultura uma importante fonte de proteína na ração animal, além de ser também importante matéria-prima para uma variedade de produtos, incluindo óleo, farelo, biocombustíveis e alimentos processados.

A produção brasileira de soja assume dimensões significativas quando se trata das transações econômicas mundiais. Isso porque não é apenas os grãos que possuem importância econômica, os derivados desta cultura também são bem aceitos no mercado estrangeiro e quando são somados juntos, possuem uma relevância significativa nas exportações, respondendo por aproximadamente 12,5% (IBGE, 2008).

O Brasil é responsável por, em média, 39,9% das exportações mundiais de soja, 24,8% de farelo de soja e 21,5% de óleo de soja” (FERREIRA, 2011). A soja é, sem dúvida, o destaque do agronegócio brasileiro diante do seu potencial de geração de diversos subprodutos. O farelo é bastante usado na alimentação de animais. O petróleo bruto, por outro lado, é processado a partir de esmagamento, degomagem e refino. Foi observado por Costa (2005) que

grande parte do óleo originado no Brasil é consumido internamente, enquanto o farelo e os grãos são destinados ao comércio externo, principalmente nos países da Europa e Ásia.

De acordo com os dados do IBGE (2020) no Levantamento Sistemático da Produção Agrícola pelo SIDRA (Sistema IBGE de Recuperação Automática), a área plantada em hectares na safra 2019/2020 foi de 79.246.491, sustentando a tendência e crescendo ano a ano, com 120,4 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

### **3.2 Limitações no cultivo da soja**

Para a produção de grãos, a falta de água é um dos fatores determinantes. Ao comparar as perdas por estresses bióticos e abióticos, como por exemplo a seca, estes resultam em perdas mundiais de 50% (FARIAS, 2011). A água é um fator essencial para as plantas, constituindo cerca de 90% da sua composição, a escassez hídrica pode ser especialmente prejudicial durante fases importantes do seu ciclo como o desenvolvimento, germinação, floração e enchimento de grãos (EMBRAPA, 2005). A sua deficiência é mais crítica nos períodos de desenvolvimento, germinação, floração e enchimento de grãos (EMBRAPA, 2005). Durante essas fases, a falta de água pode afetar a produção de energia e nutrientes, bem como a estrutura celular e o desenvolvimento das plantas. Por isso, é importante garantir o fornecimento adequado de água para as plantas, especialmente em áreas onde a disponibilidade hídrica é limitada ou em épocas de seca prolongada.

A luz solar é o gatilho para a fotossíntese, na qual o dióxido de carbono juntamente com a água é convertido em carboidratos, sendo utilizados para o crescimento e manutenção da planta. A sensibilidade dessa oleaginosa ao fotoperíodo é uma das principais limitações que afetam sua adaptação a um determinado local (FARIAS, 2011). Essa sensibilidade da cultura ao fotoperíodo afeta o momento em que as plantas florescem, o que pode afetar a produtividade e o rendimento da cultura.

A temperatura média ideal está entre 20°C e 30°C e a floração da soja ocorre apenas em temperaturas acima de 13°C (LOPES, 2013), a temperatura também pode afetar outros aspectos do desenvolvimento da soja, como o

tempo de maturação e a produção de grãos. Com relação aos solos brasileiros, estes possuem um teor baixo de nitrogênio, e sua disponibilidade pode variar dependendo da textura do solo, clima do local, teor de matéria orgânica e qualidade e quantidade dos resíduos culturais presentes no local. (HUNGRIA et al., 2006).

As limitações físicas é outro fator a levar em consideração. "O aumento do nível de compactação dos solos, acima de limites tolerados pelas plantas, tem sido considerado uma das principais causas de perdas de produtividades agrícolas" (MORAES, et al., 2020). Em um sistema de plantio direto, o acúmulo de matéria orgânica pode alterar a compactação. Se a compactação for causada pelo uso excessivo de máquinas e implementos agrícolas, alterações na retenção de água podem ser resultados de alterações ocasionadas na distribuição do tamanho dos poros (STEFANOSKI, et al, 2013).

### **3.3 Nitrogênio na cultura da soja**

O nitrogênio (N) é um componente de ácidos nucleicos e proteínas, necessário para todos os processos biológicos, em razão disso é altamente exigido pelas plantas. Se tratando da soja, o nitrogênio é o elemento que a cultura requer em maior quantidade, além de ser o nutriente responsável por aumentar o teor de proteína no grão. Estima-se que seriam necessários 80 kg de nitrogênio para cada 1000 kg de grão produzido (HUNGRIA, 2007), isso significa que é necessário que a soja absorva em torno de 320 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, sendo 260 kg ha<sup>-1</sup> exportado, já que o teor médio de nutrientes no grão é de 6,5% (CRISPINO et al., 2001).

O N é um nutriente muito móvel no floema e sua disponibilidade na planta quando comprometida, resulta em sintomas de deficiência de nutriente na planta, especialmente nas folhas mais velhas, levando à clorose e posteriormente a necrose. Na deficiência de nitrogênio, a ligação entre os carboidratos solúveis e as proteínas é alta por conta da falta desse nutriente para a síntese proteica (HUNGRIA, 2007). Esse nutriente pode ser obtido pela soja por meio de diferentes formas, solo, fertilizantes nitrogenados, fixação não biológica e pelo processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

As reservas de nitrogênio no solo residem na matéria orgânica presente no solo, que é limitada e pode acabar velozmente, em virtude das condições de umidade e temperatura que predomina no Brasil. Tais agilizam a decomposição de matéria orgânica no solo, assim como as perdas por volatilização e a lixiviação de nitrogênio, tendo como resultado teores baixos de nitrogênio no solo (HUNGRIA, 2007).

A fixação biológica de nitrogênio é uma atividade natural dos organismos vivos pela qual estes incorporam o nitrogênio atmosférico de maneira assimilável no solo. Esta é decorrente da atividade de processos naturais como combustão, descargas elétricas de  $N_2$  e vulcanismo. A forma que as plantas assimilam mais rapidamente é através dos fertilizantes nitrogenados, seu processo de obtenção pelas plantas inicia-se com a produção de amônia anidra ( $NH_3$ ), sendo este um gás proveniente da reação dos gases de síntese. Que é uma combinação de nitrogênio do ar e hidrogênio na proporção 1:3 podendo ser alcançado de fontes diversas, como “fuel oil”, nafta, gás natural ou outros derivados do petróleo (DIAS; FERNANDES, 2006).

A união entre estirpes de bactérias do gênero *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, que dispõem de características simbióticas (especificamente o *Bradyrhizobium* também conhecidas como rizóbios ou bradirrizóbios), e a soja, decorre-se por meio do processo no qual ocasiona a liberação de secreções pela semente e pela raiz, denominados como exsudatos, que são atrativos e estimulantes do crescimento de rizóbios na rizosfera da planta (HUNGRIA, 2001).

A planta de soja que estão em estágio inicial de nodulação apresentam aspecto amarelo quando comparadas às plantas que receberam aplicação de base nitrogenada, exatamente pelo fato de que as formulações comerciais estão imediatamente disponíveis para as plantas resultando na economia de energia, uma vez que a soja não precisa ter gasto de energia para absorvê-lo. Em contrapartida, a planta de soja, no processo de fixação biológica, tem um baixo gasto energético durante a formação dos nódulos, sendo esse gasto repostado ainda na fase vegetativa da planta, o que corresponde a uma nutrição satisfatória e boa produtividade (HUNGRIA, 2001).

### 3.4 Fixação biológica de nitrogênio

Em torno de 78% de gás  $N_2$  constitui a atmosfera, no entanto, há um problema para a fixação desse elemento, a presença de uma ligação tripla, que o torna estável em temperatura ambiente (VIEIRA, 2017). Portanto, apesar da sua grande proporção, os organismos (animais e plantas) não são capazes de obter esse elemento de forma direta por serem eucariotos. No entanto, há uma parte desses organismos que pertencem ao grupo dos procariontes, sendo estes denominados de diazotróficos, podem realizar uma conversão enzimática e redução do nitrogênio atmosférico em amônia, sendo os causadores da incorporação de nitrogênio na biomassa, tendo como resultado a fixação biológica de nitrogênio (MARIN et. al, 1999).

O solo abriga numerosas e diversas populações de microrganismos que possuem funções ecológicas e nichos específicos, contribuindo para atividades bióticas no meio ambiente. Os principais organismos presentes no solo englobam os grupos dos fungos, vírus, macrofauna, bactérias e algas, e a diversidade desses microrganismos associa-se à presença quantitativa e qualitativa de matéria orgânica no solo.

“Em relação à diversidade de microrganismos do solo, em torno de 160.000 espécies são conhecidas e descritas na literatura” (NUNES; REZENDE, 2015), sendo as bactérias os organismos mais presentes.

Quando observados os fungos, bactérias e archaea com outros organismos que compõem a biologia do solo, obtém-se atividades em maiores quantidades em virtude da capacidade metabólica que se encontra nestes. Isso é um resultado relacionado diretamente à variabilidade metabólica e genética desses organismos, determinada por sua origem e evolução (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

Vários estudos estão voltados para a microbiologia do solo, onde existem uma série de “serviços ecológicos” (CARDOSO; ANDREOTE, 2016) fornecidos pela maioria dos microrganismos contidos nos solos, um dos quais é o FBN.

A fixação biológica de nitrogênio tem como característica uma potente simbiose entre as plantas leguminosas e as bactérias diazotróficas, tendo como resultado a formação de nódulos localizados nas raízes das plantas onde fixam nitrogênio, causados por estes microrganismos. Essas bactérias formadoras de

nódulos são intrínsecas exclusivamente para cada tipo de planta. (EMBRAPA, 2019).

Os microrganismos que são diazotróficos são classificados como diazotróficos simbióticos, associativos ou de vida livre. Os diazotróficos associativos, tem colaboração para o crescimento da planta, porém sem a formação de diferentes estruturas. Enquanto os diazotróficos de vida livre, estes usam  $N_2$  fixado para benefício do seu metabolismo, visando sua manutenção (PINTO, 2017).

Os microrganismos simbióticos vivem em associação com uma planta, tendo como exemplo disso a bactéria *Bradyrhizobium* e a cultura da soja. Os microrganismos simbióticos estão naturalmente presentes no solo ou podem ser introduzidos por meio de produtos comerciais. A formação dos nódulos tem início desde o momento em que as sementes germinam, quando as raízes secretam moléculas atraindo os rizóbios quimicamente. Em seguida, as bactérias adentram a raiz da soja e proporcionam o crescimento de células vegetais específicas, formando nódulos. Os nódulos eficazes são aqueles que expressam uma coloração rosa em seu interior. Essa cor se dá em consequência da atividade da hemoproteína leg-hemoglobina, que conduz oxigênio para as atividades vitais dos microrganismos aeróbicos (HUNGRIA, 2001).

A soja torna-se um pouco clorótica quando inicia-se o processo de fixação de nitrogênio, devido ao fato de que as bactérias usam uma parte dos fotoassimilados para fornecer a energia indispensável para realizar a fixação biológica de nitrogênio. Por outro lado, é sintetizado pela planta, suas proteínas a partir do nitrogênio fixado biologicamente por bactérias e a planta se recupera rapidamente do amarelecimento que sofreu no início (FERNANDES; RODRIGUES, 2014).

### **3.5 *Azospirillum brasilense***

Em 1978, foi descrita por Beijerinck, a primeira espécie do gênero. "O Brasil sempre teve um papel significativo nas pesquisas referentes ao *Azospirillum* tendo início com a Dra. Johanna Döbereiner, que ressaltava a capacidade da fixação biológica de nitrogênio" (HUNGRIA, 2016). Apesar dos

enormes avanços, a eficiência agrônômica desse microrganismo foi confirmada no Brasil pela Embrapa Soja em 2004 e em 2009 foi comercializado o primeiro inoculante.

O gênero *Azospirillum* consiste em um grupo de bactérias classificadas como diazotróficas capazes de produzir fitormônios e penetrar no tecido vegetal, promovendo a produção endógena desses sistemas. Essas bactérias são nomeadas de facultativas e associativas, uma vez que, podem sobreviver no solo no formato de cistos ou realizar a colonização de seus hospedeiros (MOREIRA, 2010). De acordo com a Embrapa Agrobiologia, foram identificadas, até o momento, do gênero *Azospirillum* 15 espécies, com enfoque em 3 espécies que são as mais estudadas se tratando de genética e ecofisiologia sendo elas o *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum amazonense* e *Azospirillum lipoferum*, encontrados em associação com diversas gramíneas e em diferentes solos e regiões (HUNGRIA, 2011), amplamente distribuídas no solo.

O desenvolvimento do *Azospirillum brasilense* é beneficiado em temperaturas variando de 28 a 41°C e em variados tipos de solos, sendo associados a várias culturas de relevância agrônômica nas mais variadas regiões climáticas do planeta (ECKERT et al., 2001). Muitas linhagens estão sendo comercializadas do gênero *Azospirillum* como inoculantes, indicados para promover o crescimento de plantas. Quando empregados em conjunto com a adição de nitrogênio mineral, esses inoculantes podem aumentar a produção de grãos de trigo em até 31% e de milho em até 26% (HUNGRIA, 2011).

Embora as pesquisas de inoculação com *Azospirillum brasilense* em espécies leguminosas sejam limitadas, pesquisas já evidenciaram que a coinoculação de *Azospirillum brasilense* com *Bradyrhizobium japonicum* em sementes expressaram efeitos positivos no desenvolvimento das culturas (GARCIA, 2015). A inoculação mista ou coinoculação constitui-se no uso combinado de *Bradyrhizobium japonicum*, sendo o causador do aumento da nodulação por meio da fixação simbiótica do nitrogênio da atmosfera, e a bactéria *Azospirillum brasilense* como intensificadora dessa nodulação, decorrente dos hormônios que são liberados estimulando o crescimento radicular e vegetal, resultando em uma absorção de nutrientes maior devido à

extensa dimensão de solo que foi explorada pelas raízes (BENINTENDE et al., 2010).

Estudos conduzidos por Hungria et al., (2011) constatou-se que a coinoculação na cultura da soja impactou em um aumento médio de rendimento de 427 kg ha<sup>-1</sup> ou 16,1% quando comparado com a área que não houve inoculação. Enquanto, a inoculação utilizando apenas o *Bradyrhizobium* resultou em um aumento de produtividade de 22 kg ha<sup>-1</sup> ou 8,4% quando comparado com o controle sem nenhuma inoculação.

O microrganismo *Azospirillum brasilense* tem o potencial de promover o crescimento radicular por meio da liberação de hormônios como o AIA (ácido 3-indolacético), citocininas e giberelinas, tendo como resultado dessa promoção uma planta mais desenvolvida e produtiva (TIEN et al., 1979). A síntese desses hormônios pelo *Azospirillum brasilense* tem influência na fisiologia da planta, induzindo a manifestação de genes Nod, tendo influência na fisiologia e morfologia das raízes, resultando em uma formação maior de raízes adventícias e aumento dos pelos radiculares encarregados pela absorção de nutrientes e água (HAMAOU, 2001). Além disso, o *A. brasilense* é capaz de exercer a atividade de fixação biológica de nitrogênio, no entanto em menores taxas quando comparados a outros microrganismos noduladores como o *Bradyrhizobium* (BENINTENDE et al., 2010).

Estudos também mostraram que a utilização do *Azospirillum brasilense* resulta em melhorias nos parâmetros fotossintéticos das plantas, como um maior teor de clorofila. Isso leva ao desenvolvimento de plantas com maior vigor, o que pode inibir o aumento de populações fitopatogênicas (BARASSI et al., 2008).

O *Azospirillum* tem sido amplamente estudado e utilizado como promotor de crescimento e biocontrole em plantas, sendo resultados satisfatórios. Essas bactérias são capazes de atuar no controle biológico de forma indireta por formar compostos antagônicos contra agentes patogênicos, contribuindo para o manejo integrado de doenças de plantas (STAMFORD, 2005).

### 3.6 *Bacillus aryabhatai*

*Bacillus aryabhatai* é uma espécie de bactéria que pertence ao gênero *Bacillus*. O gênero *Bacillus* é composto por 191 espécies e quatro subespécies, que são naturalmente encontradas no solo, ar e água. Esta bactéria é aeróbica, gram-positiva e formadora de esporos. Tem sido fortemente estudada devido aos seus potenciais de aplicação em vários campos, pois seu uso vai além da agricultura, incluindo utilização também no tratamento de efluentes, limpeza, biorremediação, tratamento séptico, desodorização e na produção de enzimas e produtos químicos (GOVERNMENT OF CANADA, 2018).

Na agricultura, estudos têm demonstrado o potencial do *Bacillus aryabhatai* em promover o crescimento e desenvolvimento das plantas, melhorar a disponibilidade de nutrientes, estimular a germinação de sementes, o crescimento das raízes, aumentar o rendimento da cultura, além disso, tem mostrado potencial para biocontrole contra patógenos de plantas, reduzindo assim a incidência de doenças de plantas (MARULANDA et al., 2009; HARTHMANN et al., 2010; MELO, 2015).

Como outros membros do gênero *Bacillus*, *B. aryabhatai* demonstrou possuir propriedades promotoras do crescimento de plantas, como a produção de fitohormônios e a solubilização de nutrientes, como fosfatos, tornando-os mais disponíveis para as plantas. Essa solubilização de nutrientes pode melhorar a absorção pelas raízes e contribuir para um melhor crescimento e desenvolvimento das plantas.

Conforme mencionado por Lima et al., (2019), os mecanismos utilizados pelas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) para estimular o crescimento das plantas podem ser diretos ou indiretos. De acordo com o autor, o crescimento indireto ocorre por meio da prevenção ou redução dos efeitos prejudiciais de organismos patogênicos, por meio da promoção da resistência a patógenos. Essa espécie de *Bacillus* tem a capacidade de produzir substâncias antimicrobianas que inibem o crescimento de patógenos, ajudando a reduzir a incidência de doenças nas plantas.

Enquanto a promoção direta está relacionada ao aumento da absorção dos nutrientes pelas plantas, ocasionado pelas RPCPs, como a fixação biológica do nitrogênio, produção de fitohormônios e mobilização e solubilização do fosfato.

Especificamente, a espécie de *Bacillus subtilis* têm um efeito positivo e muito benéfico na nodulação das plantas (ARAÚJO et al., 2010), atuando também de forma indireta na exclusão de doenças e diretamente na produção ou modificação da concentração de fitohormônios, solubilização de fosfatos minerais e outros nutrientes do solo e na fixação de nitrogênio, através do aumento da produção de raízes e sideróforos (GAGNÉ-BOURQUE et al., 2015). Portanto, essas bactérias podem promover o aumento da produtividade agrícola (BRAGA JUNIOR et al., 2018), principalmente quando associadas a outras práticas de manejo, como a fertilização (LIMA, 2010; BRAGA JUNIOR et al., 2017).

### **3.7 *Trichoderma* spp.**

O fungo do gênero *Trichoderma* é amplamente conhecido e utilizado como agente de biocontrole de doenças em sistemas de cultivo convencional, integrado e orgânico em todo o mundo, especialmente na América Latina (MOREL et al., 2021). Além disso, o *Trichoderma* também é conhecido por seu papel como promotor de crescimento vegetal.

O *Trichoderma* possui um potencial significativo devido à sua habilidade de proteger as plantas, estimular o crescimento vegetativo e controlar populações de patógenos em diversas condições agrícolas. Adicionalmente também atua como inoculante e corretor do solo, por ser capaz de liberar enzimas que degradam materiais orgânicos no solo, contribuindo para a ciclagem de nutrientes e melhorando a estrutura e a fertilidade do solo, tendo impacto em uma melhor competência nutricional, biodegradação e decomposição, o que resulta em um aumento da produtividade das culturas (INAYATI et al., 2019).

Numerosos estudos estão sendo executados com o fungo *Trichoderma* para analisar seu impacto no crescimento de plantas como promotor destes (LI et al., 2015; OLIVEIRA 2017; BONONI et al., 2020), estes estudos têm demonstrado resultados promissores em culturas como, soja, trigo, tomate e eucalipto (JUNGES, 2016; LI et al., 2015; OLIVEIRA, 2017; BONONI et al., 2020).

Na carência de fitopatógenos, o *Trichoderma* atua na produção de fitormônios, como as giberelinas e auxinas, proporcionando uma interação superior com as raízes, aumentando o processo de brotamento devido ao alongamento celular, promove o crescimento de raízes adventícias e laterais e o aumento da área foliar. Além do mais, o *Trichoderma* promove uma melhor absorção de nutrientes e água. Isso ocorre devido ao aumento do solo explorado pelas raízes, ao aumento da taxa fotossintética e à melhoria na arquitetura das plantas (HARMAN, 2000).

Os benefícios da utilização do *Trichoderma* são observados no aumento da massa seca, no crescimento do caule e folhas das plantas que foram submetidas a inoculação, na resistência à fatores de estresse abiótico e biótico, no desenvolvimento de frutos e plântulas. Além disso, seu uso adequado reduz os riscos ambientais associados ao uso excessivo e inadequado de insumos e agroquímicos na agricultura (VIEIRA, 2014).

O *Trichoderma* tem influência positiva na germinação de sementes, no desenvolvimento de raízes, no desenvolvimento das plantas e na produtividade de grãos (AKLADIOUS, ABBAS, 2012; WOO et al, 2014; ABHANG, KEDAR, 2019; THAPA et al, 2020). Isso se deve principalmente à sua aptidão de solubilizar o fósforo (OLIVEIRA et al., 2021), e sintetizar os hormônios de auxinas e ácido indol-acético (CHAGAS et al., 2017).

### **3.8 Importância da coinoculação**

As BPCPs desempenham funções importantes no desempenho da planta melhorando-a, funções referentes à fixação biológica de nitrogênio e ao hormônio do crescimento. O gênero das bactérias *Bradyrhizobium* são extensamente estudadas quanto à fixação de nitrogênio em leguminosas. Enquanto a bactéria *Azospirillum*, além de promover a fixação biológica de nitrogênio, também proporciona o crescimento dos pelos da radícula e torna as raízes mais eficientes em termos de absorção de nutrientes e água (CHIBEBA, 2015).

A nodulação tem início nos pelos radiculares, desse modo, Chibeba (2015) afirma que a coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* promovem a precoce nodulação em plantas, uma vez que o *Azospirillum* está

ligado à indução acelerada do crescimento da radícula. Fito-hormônios que proporcionam desenvolvimento melhor da radícula e fixação biológica de nitrogênio promovem aumento da produtividade (BATTISTI; SIMONETTI, 2016).

Levando em consideração as limitações da cultura da soja e o potencial de FBN, atribuído às mais variadas culturas, nota-se que a coinoculação com os microrganismos *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* tem respostas positivas em relação ao desenvolvimento da cultura (BARBARO et al., 2017).

A fixação biológica de nitrogênio é uma das principais vantagens do *Bradyrhizobium*, excluindo ou reduzindo a adubação nitrogenada durante o cultivo (FAGUNDES, 2019), também contribui para o desenvolvimento da planta, resultando no aumentando da produtividade. Além do mais, a inoculação possibilita a ciclagem de nutrientes quando realizada em plantas que serão utilizadas com a finalidade de adubo verde (FRANCHI, 2020). Enquanto as bactérias do gênero *Azospirillum* proporcionam o aumento do sistema radicular, tendo como consequência a exploração de um maior volume de solo e um alcance maior de água pelas raízes das plantas, tendo influência direta na absorção de nutrientes e na nodulação da planta (FRANCHI, 2020).

A coinoculação tem como resultado o aumento da eficácia no desenvolvimento da planta, isto é, em razão do desenvolvimento das raízes ocasionado pelo uso do *Azospirillum*, que posteriormente levará a um maior incremento de nodulação contribuindo para a fixação biológica de nitrogênio (EMBRAPA, 2014). Além disso, a inoculação é um método que respeita as exigências atuais de sustentabilidade econômica, agrícola, social e ambiental (HUNGRIA et al., 2013).

A Embrapa Soja desenvolveu diversos testes combinados com a tecnologia de coinoculação, que novamente demonstram as vantagens do uso combinado com *Bradyrhizobium* sp. e *A. brasilense* (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2017).

Embora estes gêneros tenham efeitos benéficos sobre as plantas, em certas circunstâncias, pode ocorrer antagonismo entre eles.

O antagonismo entre *Azospirillum* e *Bacillus* pode ocorrer devido à competição por recursos no ambiente. Ambos os gêneros bacterianos dependem de nutrientes disponíveis no solo, como fontes de carbono e

nitrogênio. Portanto, quando essas bactérias são introduzidas no mesmo ambiente, podem competir por esses recursos, resultando em antagonismo.

Além disso, algumas espécies de *Bacillus* produzem compostos antimicrobianos, como antibióticos e enzimas líticas (KUPPER et al., 2003; ARAUJO; HENNING; HUNGRIA, 2005), que podem inibir o crescimento de *Azospirillum*. Esses compostos podem ter efeitos prejudiciais nas células de *Azospirillum*, reduzindo sua viabilidade e capacidade de colonização das raízes das plantas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Caracterização da área experimental

O estudo foi realizado em condições de campo, no município de Dracena – SP (21° 29' S e 51° 52' O, 420 m de altitude), em um Argissolo Vermelho distrófico típico de textura arenosa, na safra 2022/2023 (Figura 1). A caracterização dos atributos químicos e físicos do solo foi realizada antes da implantação do experimento de acordo com Raij et al., (2001) e Embrapa, (2017) (Tabela 1). As condições climáticas no período de condução do experimento são apresentadas na Figura 2. A área experimental apresentava histórico de cultivo com *Urochloa decumbens* não pastejada e manejada apenas com roçadeira há mais de 12 anos, sendo uma área de cultivo de cana-de-açúcar antes da implantação da área de pastagem. Dessa forma, a presente pesquisa pode ser considerada como área de abertura de cultivo agrícola.

**Tabela 1.** Atributos químicos e granulométricos do solo nas camadas 0-0,20m e 0,20-0,40m antes do início do experimento. Dracena, SP.

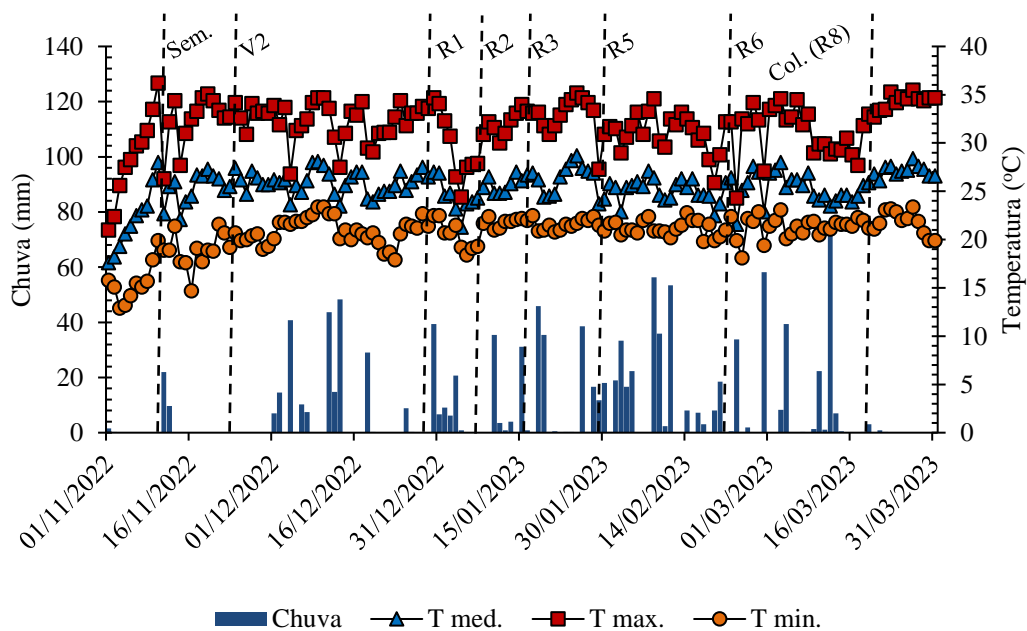
Atributos químicos do solo	Unidade	0-0,20m	0-0,40m
N total	g kg <sup>-1</sup>	0,51	0,42
P (resina)	mg dm <sup>-3</sup>	4	2
S (SO <sub>4</sub> )	mg dm <sup>-3</sup>	4	4
Matéria orgânica	g dm <sup>-3</sup>	14	11
pH (CaCl <sub>2</sub> )		5,1	4,4
K (resina)	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	3	1,2
Ca (resina)	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	11	8
Mg (resina)	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	7	3
H+Al	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	18	25
Al	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	1	6
B (água quente)	mg dm <sup>-3</sup>	0,07	0,17
Cu (DTPA)	mg dm <sup>-3</sup>	1,2	1,1
Fe (DTPA)	mg dm <sup>-3</sup>	23	19
Mn (DTPA)	mg dm <sup>-3</sup>	15,9	23,8
Zn (DTPA)	mg dm <sup>-3</sup>	0,9	0,4
Capacidade de troca catiônica (pH 7.0)	mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	39	37,2
Saturação por bases	%	54	33
<b>Granulometria</b>			
Argila	g kg <sup>-1</sup>	91	125
Areia	g kg <sup>-1</sup>	870	829
Silte	g kg <sup>-1</sup>	39	46

*n* = 20.

**Figura 1.** Foto aérea retirada do Google Earth com a área experimental (localizada junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP de Dracena - SP) em evidência.



**Figura 2.** Chuva, temperatura mínima, média e máxima na área experimental durante a condução do experimento com soja. Dracena - SP, 2022/2023.



## 4.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições, contendo 8 tratamentos: 1) controle – inoculação apenas com *Bradyrhizobium* sp. sem coinoculações; 2) 500 mL ha<sup>-1</sup> do inoculante líquido (produto comercial) contendo as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense* (garantia de 2 × 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia [UFC]/mL); 3) 500 mL ha<sup>-1</sup> do inoculante líquido (produto comercial) contendo a cepa CMAA 1363 de *Bacillus aryabhatai* (garantia de 1 × 10<sup>8</sup> UFC/mL); 4) 500 mL ha<sup>-1</sup> do inoculante em pó solúvel (produto comercial) contendo o isolado IBLF006 de *Trichoderma harzianum* (garantia de 1 × 10<sup>10</sup> UFC/g); 5) 500 mL ha<sup>-1</sup> de *A. brasilense* + 500 mL ha<sup>-1</sup> de *B. aryabhatai*; 6) 500 mL ha<sup>-1</sup> de *A. brasilense* + 500 mL ha<sup>-1</sup> de *T. harzianum*; 7) 500 mL ha<sup>-1</sup> de *B. aryabhatai* + 500 mL ha<sup>-1</sup> de *T. harzianum*; 8) 500 mL ha<sup>-1</sup> de *A. brasilense* + 500 mL ha<sup>-1</sup> de *B. aryabhatai* + 500 mL ha<sup>-1</sup> de *T. harzianum*.

Todos os tratamentos receberam inoculação com *Bradyrhizobium* sp. nas sementes. A aplicação de *A. brasilense*, *B. aryabhatai* e *T. harzianum* dos tratamentos constituídos de coinoculações (tratamentos número 2 até 8) foram aplicados juntos em uma mesma calda e foi realizada a aplicação via pulverização com bomba costal em área total no estágio fenológico V2 da soja (2 trifólios completamente desenvolvidos, 10 dias após emergência) (FEHR e CAVINESS, 1977), com vazão de 200 L ha<sup>-1</sup>. Um resumo dos tratamentos é apresentado na Tabela 2. As parcelas experimentais foram compostas por 5 linhas de 5 m de comprimento, com espaçamento entrelinhas de 0,45 m, tendo como área útil as 4 linhas centrais, excluindo-se 1,00 m de cada extremidade.

**Tabela 2.** Resumo dos tratamentos aplicados no estudo.

Inoculação	<i>Bradyrhizobium</i> sp. nas sementes	Forma de Inoculação
Controle	Sim	Sem coinoculação
<i>Azospirillum brasilense</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>Bacillus aryabhatai</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>Trichoderma harzianum</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>A. brasilense</i> + <i>B. aryabhatai</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>A. brasilense</i> + <i>T. harzianum</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>B. aryabhatai</i> + <i>T. harzianum</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2
<i>A. brasilense</i> + <i>B. aryabhatai</i> + <i>T. harzianum</i>	Sim	Pulverizado em área total em V2

### 4.3 Manejo cultural da soja

Sessenta dias antes da semeadura da soja, 1,0 t ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico (PRNT 86%, com CaO 31% e MgO 21%) foi aplicado sem incorporação, com o intuito de elevar a saturação por bases para 70% (CANTARELLA et al., 2022). Trinta dias antes da semeadura da soja, 0,75 t ha<sup>-1</sup> de gesso agrícola foi aplicado sem incorporação, seguindo recomendação de Cantarella et al., (2022). A dessecação do capim-braquiária foi realizada quinze dias antes da semeadura da soja (final de outubro), com Glifosato (2 L ha<sup>-1</sup> do produto comercial) e Cletodim (0,5 L ha<sup>-1</sup> do produto comercial). Juntamente com a dessecação do capim-braquiária, foi realizada aplicação de 2 kg ha<sup>-1</sup> de B na forma de ácido bórico (17% B).

A cultivar de soja Pioneer 97Y91 IPRO (GMR 7.6) foi utilizada na safra 2022/2023, com semeadura realizada no dia 10/11/2023, com densidade de semeadura de 13 sementes viáveis por m<sup>-2</sup>, em sistema de semeadura direta. As sementes foram previamente tratadas com cobalto e molibdênio (CoMo, na dose recomendada do produto comercial – 150 mL ha<sup>-1</sup>, 1,5% de Co e 15% de Mo) e após secas à sombra, foi realizada inoculação com *Bradyrhizobium* sp. (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, recomendadas para a cultura da soja, com inoculante comercial líquido com garantia de 1 × 10<sup>10</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) na dose de 600 mL ha<sup>-1</sup> (seis vezes a dose recomendada do produto comercial, em

função de tratar-se de uma área de abertura de agricultura). Logo após semeadura, foi realizada a correção da dessecação com Diquat ( $2 \text{ L ha}^{-1}$  do produto comercial).

A adubação de semeadura foi realizada, para todos os tratamentos, com aplicação de  $750 \text{ kg ha}^{-1}$  do formulado 04-14-08 (N-P-K), no sulco de semeadura, ao lado e abaixo das sementes. Plantas daninhas foram controladas ao longo do ciclo utilizando-se controle pós-emergente. Insetos-praga e doenças foram controladas utilizando-se recomendações técnicas para a cultura da soja, específica para região de Dracena – SP. Por fim, foi realizada a dessecação para colheita da soja no estágio R7.3 (75% da soja amarelada), no dia 11/03/2023, uma semana antes da colheita, utilizando-se Diquat ( $2 \text{ L ha}^{-1}$  do produto comercial). A soja foi cultivada do dia 10/11/2022 até 18/03/2023, totalizando 128 dias da semeadura até colheita e 123 dias da emergência até colheita, respectivamente. Vale ressaltar que o cultivo da soja foi realizado totalmente em sequeiro, isto é, sem irrigação suplementar.

#### **4.4 Avaliações realizadas**

As avaliações realizadas foram divididas em dois estádios fenológicos da cultura: No florescimento pleno da soja (estádio R2) e em ocasião de colheita (estádio R8) (FEHR e CAVINESS, 1977).

##### **4.4.1 Avaliações em R2:**

- Índice de clorofila foliar (SPAD): O índice de clorofila foliar (SPAD) foi determinado no florescimento pleno da cultura da soja (época da diagnose nutricional da cultura), de maneira indireta e não destrutiva, utilizando-se um clorofilômetro portátil SPAD-502 (Minolta corp; Spectrum Technologies, Plainfield, III). Foram realizadas no período da manhã dez leituras aleatórias no terceiro trifólio completamente expandido (folha diagnose nutricional da cultura), do ápice para base da planta, de cada parcela experimental, seguindo recomendação de Cantarella et al., (2022).

- As trocas gasosas foram avaliadas com o IRGA - analisador de gases a infravermelho (LI- 6400XT; LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). As leituras foram

realizadas no período da manhã (9 as 11h), no terceiro trifólio completamente expandido (folha diagnose nutricional da cultura), do ápice para base da planta, de cada parcela experimental, utilizando-se radiação constante ( $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), concentração de  $\text{CO}_2$  do ar em  $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$  e temperatura da folha em  $25^\circ\text{C}$  (adaptado de JIANG e XU, 2001; LISBOA et al., 2019; JOSHI-PANERI et al., 2023). Foram quantificadas a taxa fotossintética líquida ( $A$ ), a transpiração ( $E$ ), a concentração interna de  $\text{CO}_2$  na câmara subestomática ( $C_i$ ) e a condutância estomática ( $G_s$ ).

- Massa seca de parte aérea e raízes: A massa seca de parte aérea de soja foi considerada como toda parte aérea da planta (hastes, flores e folhas), enquanto a massa seca de raízes foi considerada como toda raiz com nódulos, sem separação. Cinco plantas por parcela foram coletadas, com abertura de trincheiras de cerca de 0,50 m de profundidade para coleta de raízes, tomando-se o máximo cuidado para retirada de raízes com nódulos das plantas. Após a coleta, as amostras (separadamente, parte aérea e raízes com nódulos) foram acondicionadas em sacos de papel. As amostras de raízes com nódulos foram lavadas em água corrente e por fim imersas em água deionizada, e armazenadas em novos sacos de papel após retirada do excesso de umidade. As amostras foram mantidas em estufa de ventilação forçada na temperatura de  $65^\circ\text{C}$  até massa constante, posteriormente pesadas em balança analítica para obtenção da massa seca de parte aérea e raízes com nódulos, com os dados extrapolados para  $\text{kg ha}^{-1}$ .

#### **4.4.2 Avaliações em R8:**

- Altura de plantas (R8): Considerada como altura da base até o ápice da haste principal, mensurado em dez plantas por parcela experimental;

- Número de vagens por planta (R8): Obtida pela média da contagem manual do número de vagens de dez plantas por parcela experimental;

- Número de grãos por vagem (R8): Obtida pela média da contagem manual do número de grãos de dez vagens aleatórias por parcela experimental;

- Número de grãos por planta (R8): Obtida pela multiplicação do número médio de vagens por plantas e grãos por vagens;
- Massa de 100 grãos (R8): Determinado em balança analítica de precisão (0,01 g), corrigida à 13% de umidade (bulbo úmido);
- Massa seca de parte aérea (R8): A massa seca de parte aérea de soja foi considerada como toda parte aérea da planta (hastes e folhas ainda presas – quando presentes), retirando-se as vagens com grãos, isto é, não foi considerado como massa seca de parte aérea a massa das vagens e grãos. Dessa forma, cinco plantas por parcela foram coletadas, e acondicionadas em estufa (65°C) com circulação de ar por 72 horas. Após esse período, o material vegetal foi pesado em balança de precisão e os dados extrapolados para kg ha<sup>-1</sup>.
- Produtividade de grãos (R8): Determinado pela colheita das plantas nas quatro linhas centrais da parcela. Após trilha mecânica, a produtividade de grãos de soja foi quantificada em balança de precisão e os dados extrapolados para kg ha<sup>-1</sup> corrigida à 13% de umidade (bulbo úmido).

#### **4.5 Análise estatística**

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro e Wilk e homocedasticidade de Levene ( $p < 0,05$ ). Posteriormente, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA, teste F), para avaliação dos efeitos dos fatores nas variáveis respostas estudadas. O efeito dos tratamentos, quando significativo ( $p \leq 0,05$ ), foram analisados por teste de médias (Scott-Knott) utilizando o pacote ExpDes do software R (R Development Core Team, 2015).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A coinoculação com *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhattai* + *T. harzianum* mostrou um desempenho superior em comparação com outros tratamentos durante o florescimento pleno da soja (estádio R2) (Tabela 3). Isso foi evidenciado pelo aumento do índice de clorofila foliar, que indica uma maior capacidade das folhas em captar luz para a fotossíntese. A maior área foliar resultante desse aumento contribuiu para uma taxa fotossintética mais elevada.

Além disso, os dados de massa seca da parte aérea e das raízes também demonstraram os efeitos positivos da coinoculação. A massa seca é uma medida da biomassa produzida pelas plantas, sendo influenciada pela eficiência fotossintética e pelo suprimento de nutrientes. O aumento observado na massa seca indica um maior crescimento e desenvolvimento das plantas tratadas com a coinoculação (Tabela 3).

Por fim, a correlação entre a transpiração e a condutância estomática é uma relação esperada. A transpiração ocorre quando a água é perdida através dos estômatos presentes nas folhas (Tabela 3). A condutância estomática refere-se à abertura dos estômatos, que regula a transpiração e a troca gasosa nas plantas. Uma maior taxa fotossintética, associada ao aumento do índice de clorofila foliar, pode levar a uma maior transpiração e condutância estomática devido ao aumento da demanda por água e CO<sub>2</sub> durante a fotossíntese, já que, à medida que a planta realiza a transpiração, seus estômatos permanecem abertos durante esse processo, permitindo a captação de CO<sub>2</sub> e a realização da fotossíntese. Essa abertura dos estômatos é essencial para a troca gasosa e para a absorção de dióxido de carbono pelas folhas, que é um dos principais componentes necessários para a fotossíntese. A fixação do CO<sub>2</sub> é fundamental para a produção de carboidratos e outros compostos orgânicos pela planta, fornecendo energia e sustentando seu crescimento e desenvolvimento. (BARBOZA; TEIXEIRA FILHO, 2017).

**Tabela 3.** Índice de clorofila foliar (ICF SPAD), massa seca de parte aérea e raízes, fotossíntese líquida (A), transpiração (E), concentração interna de CO<sub>2</sub> na câmara subestomática (Ci) e condutância estomática (Gs) em função das coinoculações com microrganismos promotores de crescimento de plantas na cultura da soja. Dracena-SP, 2022/2023.

----- Avaliações no florescimento pleno da soja (R2) -----				
Tratamentos <sup>1</sup>	ICF (SPAD) <sup>3</sup>	A (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	E (mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Ci (μmol CO <sub>2</sub> mol air <sup>-1</sup> )
Ctl	21,77 b	15,23 b	4,20 b	320,4 a
Azo	23,19 b	16,15 b	4,25 b	309,7 a
Bac	24,72 b	19,74 a	4,20 b	287,1 b
Tricho	26,10 a	19,43 a	4,24 b	289,2 b
Azo+Bac	26,74 a	20,28 a	4,23 b	295,1 b
Azo+Tricho	26,96 a	20,42 a	4,38 a	296,3 b
Bac+ Tricho	27,51 a	20,98 a	4,43 a	289,2 b
Azo+Bac+Tricho	23,90 b	16,14 b	4,19 b	289,7 b
Erro Padrão	0,68	0,83	0,049	5,74
Média Geral	25,11	18,55	4,27	297,1
C.V. <sup>2</sup>	5,49	8,97	2,30	3,82
Tratamentos <sup>1</sup>	Gs (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Massa seca de parte aérea (kg ha <sup>-1</sup> )	Massa seca de raízes (kg ha <sup>-1</sup> )	
Ctl	1,58 b	3009 b	351,9 d	
Azo	2,15 b	3081 b	428,5 c	
Bac	2,07 b	3206 b	399,6 c	
Tricho	2,41 a	3341 a	461,2 b	
Azo+Bac	2,40 a	3423 a	468,1 b	
Azo+Tricho	2,72 a	3601 a	517,5 a	
Bac+ Tricho	2,81 a	3519 a	505,5 a	
Azo+Bac+Tricho	1,93 b	3144 b	399,6 c	
Erro Padrão	0,15	64,64	15,33	
Média Geral	2,26	3290	441,5	
C.V. <sup>2</sup>	13,70	3,93	7,01	

Fonte: Elaborado pelo autor.

<sup>1</sup>Ctl = controle (sem inoculação), Azo = *Azospirillum brasilense*, Bac = *Bacillus aryabhattai*, Tricho = *Trichoderma harzianum*;

<sup>2</sup>C.V. = Coeficiente de variação (%);

<sup>3</sup>Foi adotado o seguinte critério para apresentação dos números pós casas da vírgula: Valores de 0 até 100: 2 casas depois da vírgula; Valores de 100 até 500: 1 casa depois da vírgula; Valores acima de 500: sem nenhuma casa depois da vírgula.

Os resultados obtidos nas avaliações do índice de clorofila foliar (ICF SPAD), massa seca de parte aérea e raízes, fotossíntese líquida (A), transpiração (E) e condutância estomática (Gs) demonstraram

consistentemente que as coinoculações com *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhatai* + *T. harzianum* apresentaram desempenho superior em comparação com os tratamentos controle, apenas *A. brasilense*, *B. aryabhatai*, *T. harzianum*, *A. brasilense* + *B. aryabhatai* e *A. brasilense* + *B. aryabhatai* + *T. harzianum* (Tabela 3). Esses resultados reforçam a eficiência da coinoculação desses microrganismos benéficos para a cultura da soja, exceto a combinação dos três microrganismos juntos.

A diferença observada em R2, e evidenciada na Figura 3 entre os tratamentos de coinoculação (*A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhatai* + *T. harzianum*, ambos com inoculação com *Bradyrhizobium* sp.) e os tratamentos isolados pode ser explicada pela interação sinérgica entre os microrganismos presentes nos tratamentos de coinoculação que quando combinados em um tratamento de coinoculação, podem atuar de forma complementar e sinérgica, potencializando os efeitos benéficos sobre as plantas, conforme descrito por Galindo et al. (2018), estudando a coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasilense* na soja.

Ao combinar esses microrganismos em um tratamento de coinoculação, seus efeitos benéficos podem ser potencializados. O *Azospirillum* é capaz de fixar nitrogênio atmosférico fornecendo um suprimento adicional de nutrientes às plantas, além de propiciar maior desenvolvimento de raízes e parte aérea, resultando em um aumento do crescimento vegetal, enquanto o *Trichoderma* pode promover um sistema radicular mais desenvolvido e resistente a doenças (TEIXEIRA FILHO e GALINDO, 2019; ALMEIDA et al., 2022). O *Bacillus*, por sua vez, está relacionado com a produção de substâncias antimicrobianas podendo auxiliar na proteção das plantas contra patógenos, além de crescimento de raízes e parte aérea (MELO et al., 2015).

Por outro lado, nos tratamentos isolados, a presença de apenas um dos microrganismos pode não ser suficiente para desencadear respostas visíveis tão expressivas no crescimento da parte aérea e das raízes das plantas. Portanto, a diferença observada na Figura 3 entre os tratamentos de coinoculação e os tratamentos isolados pode ser atribuída à interação sinérgica entre os microrganismos presentes nos tratamentos de coinoculação, resultando em um maior efeito benéfico no crescimento e desenvolvimento das plantas de soja.

**Figura 3.** Foto comparativa dos tratamentos em florescimento pleno (R2). Dracena – SP, 2022/2023.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados das avaliações realizadas no estágio R2 (florescimento pleno) da cultura da soja impactaram nos resultados das avaliações realizadas no estágio R8 (momento da colheita) devido à relação entre o desenvolvimento vegetativo, reprodutivo e maturação da planta.

Durante o estágio R2, a planta de soja está em pleno florescimento, o que é uma fase crítica para a determinação do potencial produtivo. Nesse momento, a planta está produzindo flores e iniciando a formação dos grãos. A coinoculação com *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhatai* + *T. harzianum*, que demonstrou um melhor desempenho durante o florescimento pleno, contribuiu para uma melhor nutrição e saúde da planta, resultando em um aumento na área foliar, na taxa fotossintética e na capacidade de fixação de CO<sub>2</sub>.

Esses fatores promovem um aumento na produção de fotoassimilados (carboidratos) pela planta durante o estágio R2, o que pode ter efeitos positivos no enchimento de grãos e no desenvolvimento da planta até o estágio R8. Com

uma maior disponibilidade de nutrientes e carboidratos provenientes da fotossíntese, a planta terá condições favoráveis para desenvolver uma maior quantidade de grãos por planta (Tabela 4).

**Tabela 4.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, grãos por planta, altura de plantas, massa seca de palhada, massa de 100 grãos e produtividade de grãos em função das coinoculações com microrganismos promotores de crescimento de plantas na cultura da soja. Dracena-SP, 2022/2023.

----- <i>Avaliações em ocasião de colheita da soja (R8)</i> -----				
Tratamentos <sup>1</sup>	Altura de plantas (m) <sup>3</sup>	Vagens por planta	Grãos por vagem	Grãos por planta
Ctl	0,86 a	40,83 b	2,60 a	105,8 b
Azo	0,87 a	44,50 b	2,73 a	121,6 b
Bac	0,86 a	45,16 b	2,73 a	123,6 b
Tricho	0,87 a	48,50 a	2,73 a	132,6 a
Azo+Bac	0,86 a	48,83 a	2,70 a	131,6 a
Azo+Tricho	0,87 a	50,50 a	2,76 a	139,6 a
Bac+ Tricho	0,86 a	51,66 a	2,73 a	141,2 a
Azo+Bac+Tricho	0,86 a	43,33 b	2,63 a	114,5 b
Erro Padrão	0,02	1,83	0,08	6,22
Média Geral	0,86	46,66	2,70	126,3
C.V. <sup>2</sup>	3,86	7,86	6,05	9,85
Tratamentos <sup>1</sup>	Massa de 100 grãos (g)	Massa seca de palhada (kg ha <sup>-1</sup> )	Produtividade de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	
Ctl	15,73 d	4030 c	3096 d	
Azo	16,79 c	4311 c	3345 c	
Bac	17,34 c	4398 c	3402 c	
Tricho	18,18 b	4752 c	3818 b	
Azo+Bac	18,12 b	4949 b	3910 b	
Azo+Tricho	19,04 a	5492 a	4234 a	
Bac+ Tricho	19,11 a	5652 a	4171 a	
Azo+Bac+Tricho	16,71 c	4218 c	3389 c	
Erro Padrão	0,30	164,9	113,3	
Média Geral	17,63	4725	3671	
C.V. <sup>2</sup>	3,43	6,98	6,18	

Fonte: Elaborado pelo autor.

<sup>1</sup>Ctl = controle (sem inoculação), Azo = *Azospirillum brasilense*, Bac = *Bacillus aryabhattai*, Tricho = *Trichoderma harzianum*;

<sup>2</sup>C.V. = Coeficiente de variação (%);

<sup>3</sup>Foi adotado o seguinte critério para apresentação dos números pós casas da vírgula: Valores de 0 até 100: 2 casas depois da vírgula; Valores de 100 até 500: 1 casa depois da vírgula; Valores acima de 500: sem nenhuma casa depois da vírgula.

O aumento no número de grãos por planta indica um potencial maior de produção, no entanto a massa individual dos grãos pode variar de acordo com alguns fatores como o tamanho, o peso e o desenvolvimento dos grãos. O crescimento dos grãos depende de fatores ambientais, como disponibilidade de água, nutrientes e luz solar, bem como das características genéticas da planta.

Em algumas situações, um maior número de grãos por planta pode resultar em grãos menores e mais leves, levando a uma massa de 100 grãos menor. Por outro lado, um aumento no número de grãos pode estar associado a um aumento na massa total de grãos colhidos, mesmo que a massa de 100 grãos permaneça relativamente constante. A massa de 100 grãos é uma medida de qualidade e potencial de rendimento da cultura (Tabela 4).

Além disso, a maior produção de biomassa durante o estágio R2 também pode refletir em uma maior massa seca de palhada, que é importante para a cobertura do solo e para a proteção contra erosão (Tabela 4).

No estágio R8, esses efeitos cumulativos se manifestam na produtividade de grãos, ou seja, na quantidade total de grãos colhidos por área (Tabela 4). A melhor nutrição, o aumento na área foliar, a maior taxa fotossintética e a maior produção de carboidratos proporcionados pela coinoculação com *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhattai* + *T. harzianum* durante o estágio R2 contribuem para um aumento na produtividade de grãos. Portanto, os resultados das avaliações realizadas durante o estágio R2 da cultura da soja, especialmente quando influenciados pela coinoculação com microrganismos benéficos, tiveram um impacto positivo no desenvolvimento da planta, no enchimento de grãos e, conseqüentemente, na produtividade de grãos no estágio R8. A interação entre microrganismos e plantas podem resultar em um aumento significativo na produtividade das culturas (EMMETT et al. 2017).

Os dados desse estudo destacaram especialmente a coinoculação com *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhattai* + *T. harzianum* como uma abordagem promissora. No entanto, outras pesquisas também têm demonstrado a eficiência da coinoculação desses mesmos microrganismos em diferentes culturas (GALINDO et al., 2016; GALINDO et al., 2018; TEIXEIRA FILHO e GALINDO, 2019; ALMEIDA et al., 2022). Esses estudos corroboram os achados do presente estudo, sugerindo que a interação sinérgica entre

esses microrganismos pode trazer benefícios significativos para o crescimento, desenvolvimento e desempenho das plantas.

Portanto, considerando tanto os resultados deste estudo específico quanto as evidências de pesquisas anteriores, a coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. e *A. brasilense* + *T. harzianum* e *B. aryabhatai* + *T. harzianum* é uma estratégia promissora para melhorar a produtividade e a saúde das plantas em diversas culturas agrícolas. Ainda, de acordo com Vacheron et al., (2015), a interação equilibrada entre as plantas e os microrganismos contribui para um melhor crescimento e desenvolvimento das plantas. As comunidades microbianas associadas às plantas desempenham um papel significativo no crescimento das plantas, nutrição das plantas e ciclo do carbono. Essa interação benéfica entre as plantas e os microrganismos é facilitada por uma ampla gama de mecanismos. Por exemplo, os microrganismos podem secretar substâncias como o ácido indol-3-acético (AIA), etileno, citocininas e giberelinas, que são hormônios vegetais conhecidos por estimular o crescimento das plantas. Esses hormônios podem promover o alongamento celular, o desenvolvimento de raízes e a divisão celular, resultando em um aumento da produtividade das plantas (MEZA et al., 2015).

Especificamente, a inoculação com a bactéria *A. brasilense* tem sido amplamente estudada e demonstrou benefícios para diversas culturas. Estudos conduzidos por Alvarez et al., (2019) e Galindo et al., (2019) mostraram que a inoculação com *A. brasilense* resultou em um aumento do teor de clorofila foliar e uma maior eficiência fotossintética. Esses efeitos favorecem o crescimento vegetal e o acúmulo de matéria seca nos tecidos vegetais, semelhantemente ao verificado na presente pesquisa. Portanto, a interação entre as plantas e os microrganismos, incluindo a secreção de hormônios vegetais e os benefícios proporcionados pela inoculação com *A. brasilense*, desempenha um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas. Esses mecanismos contribuem para uma maior produtividade das culturas, promovendo aumento no teor de clorofila foliar, melhor eficiência fotossintética e maior acúmulo de matéria seca nos tecidos vegetais (VACHERON et al., 2015; MEZA et al., 2015; ALVAREZ et al., 2019; GALINDO et al., 2019).

## 6 CONCLUSÃO

A coinoculação com *Bradyrhizobium* sp. + *A. brasilense* + *T. harzianum* e *Bradyrhizobium* sp. + *B. aryabhattai* + *T. harzianum* propiciou maior crescimento e desenvolvimento da soja em comparação aos demais tratamentos, indicando melhor desenvolvimento vegetativo e radicular das plantas.

Tais efeitos positivos verificados no florescimento pleno da soja (R2) apresentaram impactos nos estádios posteriores, como o estágio R8 (momento da colheita).

Desse modo, os resultados demonstraram que a interação entre as plantas de soja e os microrganismos benéficos aplicados desempenham papel importante no crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura. E que possivelmente a utilização de todos os microrganismos em conjunto é prejudicial ao desenvolvimento da cultura em função de efeitos antagônicos.

## REFERÊNCIAS

ABHANG, P. B.; KEDAR, S. S. *Trichoderma*: A bio-control agent for management soil born diseases. In: ABHANG, P. B.; KEDAR, S. S. Innovative Approaches in Agriculture and Environmental Development, chap. 34, p. 375. Índia: **JPS Scientific Publications**, 2019.

AKLADIOUS, S. A.; ABBAS, S. M. Application of *Trichoderma harziunum* T22 as a biofertilizer supporting maize growth. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 35, p. 8672-8683, 2012.

ALMEIDA, N. O.; OLIVEIRA, C. M.; ULHOA, C. J.; CÔRTEZ, M. V. C. B.; LOBO JUNIOR, M.; ROCHA, M. R. 2022. *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* are potential biocontrol agents of *Meloidogyne javanica* in banana cv. **Grande Naine. Biological Control**. 175:105054.

ALVAREZ, R. C. F.; BENETÃO, J.; BARZOTTO, G. R.; ANDRADE, M. G. O.; LIMA, S. F. (2019) Application methods of *Azospirillum brasilense* in first and second-crop corn. **Revista Brasileira De Engenharia Agrícola e Ambiental** 23:840–846.

ARAÚJO, A. S. F. D.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C. & ARAÚJO, F. F. D. (2010) - Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N<sub>2</sub> e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, vol. 40, n. 1, p. 182-185. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000249>>. Acesso em: 07 fev. 2023.

ARAÚJO, F. F. de; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p.1639-1645, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11274-005-3621-x>>. Acesso em: 23 mar. 2023.

BARASSI, C. A.; SUELDO et al., Potencialidad de *Azospirillum* en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: **Asociación Argentina de Microbiología**, Argentina, p. 49-59, 2008.

BÁRBARO, I. M. MIGUEL, F. B., SILVA, J. A. A., LIBÓRIO, P. H. S., SOBRINHO, M. R., FINOTO, E. L., MATEUS, G. P., BORGES, W. L. B. B., FREITAS, R. S. Viabilidade técnica e econômica da co-inoculação de soja no estado de São Paulo. **Revista Nucleus**, Edição especial, p. 45-58, 2017.

BÁRBARO, I. M. et al., Técnica alternativa: co-inoculação com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade da cultura da soja no Norte do Estado de São Paulo. **Informações Tecnológicas**, Campinas, 2008. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br>>. Acesso em: 07 fev. 2023.

BARBIERI; STUMPF. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008.

BARBOZA, G. C.; TEIXEIRA FILHO, J. Transpiração foliar e condutância estomática da cana-de-açúcar em função do clima e disponibilidade de água. **Irriga**, v.22, n.4, p.675-689, 2017.

BATTISTI, A. M.; SIMONETTI, A. P. M. M. Inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista Cultivando O Saber**, Cascavel - Pr, v. 8, n. 3, p.294-301, 20 out. 2016.

BENINTENDE, SILVIA., et al. Comparación entre coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, Argentina, v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.

BONONI, L. **Bioprospecção de *Trichoderma* spp. envolvidas na solubilização de fosfato e no controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja**. 137 fls. 2020. Tese (Ciências: área de concentração: Microbiologia Agrícola). Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP, 2020.

BRAGA JUNIOR, G. M.; COLONIA, B. S. O.; CHAGAS, L. F. B.; SCHEIDT, G. N.; MILLER, L. O. & CHAGAS JUNIOR, A. F. (2017) – Soybean growth promotion and phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* strains in greenhouse. **International Journal of Current Research**, vol. 9, n. 5, p. 50914-50918.

BRAGA JUNIOR, G. M.; CHAGAS, L. F. B.; AMARAL, L. R. O.; MILLER, L. O. & CHAGAS JUNIOR, A. F. (2018) - Efficiency of inoculation by *Bacillus subtilis* on soybean biomass and productivity. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 13, n. 4, art. e5571. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v13i4a5571>

CÂMARA, G. **Introdução ao agronegócio soja**. 2015. Disponível em: <[https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5746644/mod\\_resource/content/1/LPV%200584%202017%20-%20REVISAO%20Soja%20Apostila%20Agronegocio%20%282%29.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5746644/mod_resource/content/1/LPV%200584%202017%20-%20REVISAO%20Soja%20Apostila%20Agronegocio%20%282%29.pdf)>. Acesso em: 14 mar. 2023.

CANTARELLA, H.; ZAMBROSI, F. C. B.; QUAGGIO, J. A.; DUARTE, A. P.; CEREAS. IN: CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATTOS, J. R. D.; BOARETTO, R. M.; VAN RAIJ, B. **Boletim 100: Recomendações técnicas de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 3. ed. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas. 2022. pp. 213-238. (Boletim Técnico 100).

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

CHAGAS, L. F. B.; JUNIOR, A. F. C.; SOARES, L. P.; & FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 3, p. 97-102, 2017.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. F.; BRITO, O. R.; ARAÚJO, R. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Inoculação de soja com *Bradyrhizobium* e

*Azospirillum* promove nodulação precoce. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 7., 2015, Curitiba - Pr. Congresso **mercsoja** 2015. Curitiba - Pr: Embrapa Soja, v. 7, p. 1 – 4, 2015.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Primeiro levantamento da safra 2019/20 de grãos indica produção de 245 milhões de t. 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3080-primeiro-levantamento-da-safra-2019-20-de-graos-indica-producao-de-245-8-milhoes-de-t>>. Acesso em: 17 mar. 2023.

COSTA, N. L. **Complexo soja**: sua importância para o agronegócio, a balança comercial e a economia brasileira. Monografia de especialização. Frederico Westphalen: Universidade Regional Integrada, 2005.

COUTINHO, F. P.; MATOS E SILVA, E.; YANO-MELO, A. M.; 2017. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e solubilizadores de fosfato na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon). **Revista Biociências**. 23:46-53.

CRISPINO, C. C.; et. al. Adubação nitrogenada na cultura da soja. Londrina: **Embrapa Soja**, 2001. (Comunicado Técnico, 75).

DIAS, V. P.; FERNANDES, E. **Fertilizantes**: uma visão global sintética. 2006.

ECKERT, BARBARA et al. *Azospirillum doebereinae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass Miscanthus. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Neuherberg, Germany, v. 51, p. 17-26, 2001.

EMBRAPA. **Fixação Biológica de Nitrogênio**. 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio/>> Acesso em: 19 mar. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Soluções tecnológicas**: Fixação Biológica de Nitrogênio em Soja. 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/3780/fixacao-biologica-de-nitrogenio-em-soja>>. Acesso em: 23 abr. 2022.

EMBRAPA. **Tecnologia de Produção de Soja** – Paraná 2005. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54357/1/Sistemas-de-Producao-5.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de Produção de Soja: Região Central do Brasil 2003. A importância da soja**, n.1. Londrina: Embrapa Soja 2003. Disponível em: <[https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/imp\\_ortancia.htm](https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/imp_ortancia.htm)>. Acesso em: 19 mar. 2023.

EMBRAPA. **Soluções tecnológicas**. Coinoculação nas culturas de soja e feijoeiro. Embrapa Soja. 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2017. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Manual de métodos de análises de solos**. 3.ed. revista. Rio de Janeiro.

EMBRAPA. **Soja em números (safra 2019/20)**. 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 19 mar. 2023.

EMMETT, B. D.; YOUNGBLUT, N. D.; BUCKLEY, D. H.; DRINKWATER, L. E. (2017) Plant phylogeny and life history shape rhizosphere bacterial microbiome of summer annuals in an agricultural field. **Front Microbiol** 8:2414.

FAGUNDES, F. L. **Influência da adubação nitrogenada na nodulação e produtividade da cultura da soja**. Monografia. 35 pg. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Cachoeira do Sul, RS. 2019.

FARIAS, J. R. B. Limitações climáticas à obtenção de rendimentos máximos de soja. **Mercosoja**. Quinto Congresso de la Soja del Mercosur. 2011. Rosário – Argentina.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glicynemax*) com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. Artículos Técnicos – Agricultura. 2006. Disponível em: <[http://www.engormix.com/co\\_inoculacion\\_soja\\_glicyne\\_s\\_articulos\\_800\\_AGR.htm](http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glicyne_s_articulos_800_AGR.htm)>. Acesso: 07 fev. 2023.

FERNANDES, J. R. C.; RODRIGUES, P. **Importância da inoculação com bactérias *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* na produção de leguminosas e o uso do azoto**. 2014. Disponível em: <<http://www.agronegocios.eu/noticias/importancia-da-inoculacao-com-bacterias-rhizobium-e-bradyrhizobium-na-producao-de-leguminosas-e-o-uso-do-azoto/>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

FERREIRA, F. M. **A importância da soja e seus derivados para a economia brasileira** a partir da década de 1970. Monografia. 39 pg. Três Rios, RJ. 2011.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. STAGES OF SOYBEAN DEVELOPMENT. Ames: Iowa State University, (**Special Report**, 80), 12p. 1977.

FRANCHI, L. ***Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: o que são, sinergia e importância. Agroinovadores**. 2020. Disponível em: <<https://agro.genica.com.br/2020/07/20/bradyrhizobium-e-azospirillum/>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

GAGNÉ-BOURQUE, F.; MAYER, B. F.; CHARRON, J.; VALI, H.; BERTRAND, A. & JABAJI, S. (2015) - Accelerated growth rate and increased drought stress resilience of the model grass *Brachypodium distachyon* colonized by

*Bacillus subtilis* B26. **Plos One**, vol. 10, n. 6, art. e0130456. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130456>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

GALINDO, F. S.; RODRIGUES, W. L.; BIAGINI, A. L. C.; FERNANDES, G. C.; BARATELLA, E. B.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; BUZETTI, S. TEIXEIRA FILHO, M. C. M. (2019) Assessing forms of application of *Azospirillum brasilense* associated with silicon use on wheat. **Agronomy** 9:678.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ROSA, P. A. L.; TRITAPEPE, C. A. 2018. Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 22:51-56.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTE, J. L. M. 2016. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 40:e015036.

GARCIA, ARIANI. **Doses de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas, na produção e na qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2015. 54f. Dissertação (Sistema de Produção), Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2015.

GOVERNMENT OF CANADA (2018) - ***Bacillus megaterium*– information sheet**. [cit. 2019-11-18]. Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/fact-sheets/chemicals-glance/bacillus-megaterium.html>>. Acesso: 14 mar. 2023.

HAMAOU, BIANCA et al. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. **Agronomie**, Jerusalem-Israel, v. 21, n. 6-7, p. 553-560, 2001.

HARMAN, GARY E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**. Geneva-Nova York, v.84, n.4, p. 377–393, 2000.

HARTHMANN, O. E. L.; MÓGOR, A. F.; WORDELL FILHO, J. A. & DA LUZ, W. C. (2010) - Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. **Ciência Rural**, vol. 40, n. 2, p. 462-465. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000256>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. **Embrapa Soja**, Londrina, 2001. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/459673/1/circTec35.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

HUNGRIA, M. et al. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N<sub>2</sub> fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

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

HUNGRIA, MARIANGELA. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja**, 2011.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: Incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. **Comissão de Nutrição vegetal, Fertilidade e Biologia do solo**. Pg 151-153. 2013.

HUNGRIA, M. *Azospirillum*: um velho novo aliado. **Fertbio**. Centro de Convenções de Goiânia, GO. 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/150694/1/Mariangela-Hungria-Azospirillum-Fertbio.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2023.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: Uma tecnologia ambientalmente sustentável e economicamente bem sucedida. **Comissão de Nutrição vegetal, Fertilidade e Biologia dos solos**. Pg 203-205. 2017.

IBGE. **Base de dados estatísticos**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática**. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/tabelas>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

IBGE. Pesquisas: **Censo Agropecuário**. 2014. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo2.asp?e=v&p=CA&z=t&o=11>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

INAYATI, A.; et al. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Trichoderma virens*. In: **AIP Conference proceedings**. AIP Publishing LLC, 2019. p. 080012.

JARDIN, P. 2015. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**. 196:3-14.

JIANG, H.; XU, D. Q., 2001. The cause of the difference in leaf net photosynthetic rate between two soybean cultivars. **Photosynthetica** 39,453-459.

JOSHI-PANERI, J.; SHARMA, S.; GURUPRASAD, K. N.; KATARIA, S. **Enhancing the Yield Potential of Soybean after Magneto-Priming: Detailed Study on Its Relation to Underlying Physiological Processes**. *Seeds* 2023, 2, 60-84. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/seeds2010006>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

JUNGES, E.; et al. *Trichoderma* spp. na produção de mudas de espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 2, p. 237-244, 2016.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 251-257, 2003.

LI, R.-X. et al. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0130081, 2015.

LIMA, F. F. (2010) - **Bacillus subtilis e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**. Dissertação de Mestrado. Teresina, Universidade Federal do Piauí. 52 p.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. & SCHMIDELL, W. (2019) - **Biotecnologia Industrial – processos fermentativos e enzimáticos**, vol. 3. Editora Blucher, 616 p.

LOPES, A. L. C. Cultivo e manejo da soja: Ênfase no sistema de plantio convencional. **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**. Dossiê Técnico. 2013. Disponível em: <<http://respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjc2OTI>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

LISBOA, L. A. M.; STELUTTI, A.; LIMA, K. C. S.; RAFACHINHO, G. B.; CHEDID, R. A.; BRENHA, J. A. M.; ALMEIDA, P. H. C.; CRISPIM, N. P. O.; RODRIGUES, G. B.; DE FIGUEIREDO, P. A. M. (2019). Physiological Parameters of Soybean Under Different Intensities of Artificial Light. **Journal of Agricultural Science**, 11(8)188-195.

MANDARINO, J. **Origem e história da soja no Brasil**. 2017. Disponível em: <<https://blogs.canalrural.com.br/embrapasoja/2017/04/05/origem-e-historia-da-sojano-brasil/>>. Acesso em: 08 mar. 2023.

MARIN, V. A. et al., **Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. 1999.

MARULANDA, A.; BAREA, J.-M. & AZCÓN, R. (2009) - Stimulation of Plant Growth and Drought Tolerance by Native Microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from Dry Environments: Mechanisms Related to Bacterial

Effectiveness. **Journal of Plant Growth Regulation**, vol. 28, n. 2, p. 115-124. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00344-009-9079-6>>. Acesso em: 08 mar. 2023.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. 2014. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**. 10:40-47.

MELO, I. S. DE (2015) - Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: Melo, I.S. de & Azevedo, J.L. de (Eds.) - **Ecologia microbiana**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, p. 87-116.

MEZA, B.; BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. (2015) Involvement of indole-3-acetic acid produced by *Azospirillum brasilense* in accumulating intracellular ammonium in *Chlorella vulgaris*. **Res Microbiol** 166:72–83.

MORAES, M. T.; BERTOLLO, A. M.; DEBIASI, H. Impactos da compactação, descompactação e rotação de culturas no sistema de plantio direto. **Equipe mais soja**. 2020. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/impactos-da-compactacao-descompactacao-e-rotacao-de-culturas-no-sistema-de-plantio-direto/>>. Acesso em: 09 jan. 2023.

MOREIRA, FATIMA MARIA DE SOUZA et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74, 2010.

MOREL, M.; CASTILLO, Y.; GARCÍA, S.; CONCE, M.; DE DIOS MOYA, J.; REYNOSO, T.; ... & ALONZO, K. Avaliação da capacidade endofítica de linhagens nativas de *Trichoderma* spp. em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) em malha doméstica. **APF**, v. 10, n. 1 p. 25-40, 2021.

NUNES, R. R.; REZENDE, M. O. O. **Recurso Solo**: propriedades e usos. 1. ed. São Carlos: Editora Cubo, 2015.

OLIVEIRA, J. B. **Promoção do crescimento e da produtividade de trigo pelo emprego de cepas comerciais de *Trichoderma* spp.** 40 fls. 2017. Dissertação (Produção Vegetal). Universidade Estadual de Goiás (UEG), Câmpus Ipameri, 2017.

PANKIEVICZ V. C. S, AMARAL F. P., SANTOS K. F. D. N., AGTUCA B., XU Y., SCHUELLER M. J., ARISI A. C. M., STEFFENS M. B. R., SOUZA E.M., PEDROSA F. O., STACEY G., FERRIERI R. A. 2015. Robust biological nitrogen fixation in a model grass-bacterial association. **Plant Journal** 81:907-919.

PICCOLI, E. **A importância da soja para o agronegócio**: Uma análise sob o enfoque do aumento da produção de agricultores no município de Santa Cecília do Sul. Monografia, 45 pg. 2018. Tapejara, RS.

PINTO, J. V. E. **Caracterização e identificação de bactérias diazotróficas associativas oriundas de área de mineração de ferro.** Dissertação. Universidade Federal de Lavras. 59 pg. Lavras, Minas Gerais. 2017.

R CORE TEAM. 2015. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível in: <https://www.R-project.org/>.

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 205, Dez. 2019.

SANTOYO, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M.; DEL, C.; GOVINDAPPA, M. 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology** 22:855-872.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research** 9:1265-1277.

STAMFORD, NEWTON, P. et al. Microbiota dos solos tropicais. MICHEREFF, SJ; ABDRADE, DEGT; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais.** Recife: UFRPE, p. 61-92, 2005.

STEFANOSKI, D. C. et. al. Uso e manejo do solo e seus impactos sobre a qualidade física. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** vol.17 no.12. Campina Grande Dec. 2013.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S. Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal. **Tópicos em Ciência do Solo.** 1ed.: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2019, v. 10, p. 577-648.

THAPA, S.; RAI, N.; LIMBU, A. K.; & JOSH., A. Impact of *Trichoderma* sp. in agriculture: a mini-review. **J. Biol. Today's World**, v. 9, n. 227, p. 10.35248, 2020.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Florida-EUA, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979.

VACHERON, J.; RENOUD, S.; MULLER D, BABALOLA OO, PRIGENT-COMBARET C (2015) Alleviation of abiotic and biotic stresses in plants

by *Azospirillum*. In: Cassan FD, Okon Y, Creus C (eds) **Handbook for *Azospirillum*: technical issues and protocols**. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 333–365.

VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. 2001. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agrônômico, 285p.

VIEIRA, P. M. **Identificação, expressão e análise de genes de *Trichoderma harzianum* com potencial biotecnológico**. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Embrapa Meio Ambiente. 1ª ed. 165 pg. Brasília, DF. 2017. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/175460/1/2017LV04.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2023.

WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; & LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.

XIAO-YING G, CHUN-E H, TAO L, ZHU O. 2015. Effect of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth of greenhouse tomato and rhizosphere microbial community. **Journal of Northeast Agricultural University** 22:32-42.

ZILLI, J. E. et al. The importance of denitrification performed by nitrogen-fixing bacteria used as inoculants in South America. **Plant and Soil**, The Hague, v. 451, n. 1-2, Mar. 2019.