

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
CURSO DE AGRONOMIA

ANGELO AUGUSTO LEVANDOSKI FERRANDO

AVALIAÇÃO DE ESTIRPES DE *Azospirillum* SOB DIFERENTES FORMAS DE CO-
INOCULAÇÃO NA CULTURA DA SOJA

PONTA GROSSA

2026

ANGELO AUGUSTO LEVANDOSKI FERRANDO

AVALIAÇÃO DE ESTIRPES DE *Azospirillum* SOB DIFERENTES FORMAS DE CO-
INOCULAÇÃO NA CULTURA DA SOJA

Trabalho apresentado à Disciplina OTCC como
requisito parcial para obtenção de Grau de
Engenheiro Agrônomo na Universidade Estadual de
Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Mazer Etto

PONTA GROSSA

2026



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
COLEGIADO DO CURSO DE AGRONOMIA
COORDENAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

OTCC - Ano 2026

AVALIAÇÃO DE TCC RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA

Título da Monografia: AVALIAÇÃO DE ESTIRPES DE Azospirillum SOB
DIFERENTES FORMAS DE Q-INOCLIAÇÃO NA CULTURA DA SOJA

Autor (a): ANGELO AUGUSTO LEVANDOSKI FERRANDO

Data da defesa: 17/04/2026 Horário: 15:20h Local: SAIA F-45

Avaliadores:

1-Orientador (a): EDUARDO FÁVERO CAIRES Assinatura: [Assinatura]

2-Avaliador (a): EVANDRO HENRIQUE G. MASCHKE Assinatura: [Assinatura]

3-Avaliador (a): EDUARDO AGUSTO AGNELLOS BARBOSA Assinatura: [Assinatura]

Itens a serem avaliados	Notas atribuídas		
	Orientador(a)	1º Avaliador(a)	2º Avaliador(a)
I- Apresentação oral (Até 2,0)	2,0	2,0	2,0
II- Trabalho escrito (Até 6,0)	5,5	5,8	5,6
III- Arguição (Até 2,0)	1,8	1,9	1,8
TOTAL	9,3	9,7	9,4
MÉDIA FINAL *	$9,5 + 0,5 = 10,0$		

* Orientador(a) nota final com uma casa após a vírgula

Atenção Professor(a) ORIENTADOR(A):

No caso de apresentação de trabalho, em **evento técnico-científico**, no qual o acadêmico conste como **autor**, poderá ser acrescentado **ATÉ 10%** da nota, na somatória final. Apresentar **comprovante** junto com os documentos entregues para a Coordenação de TCC.

FORMULÁRIO 4
OTCC
AGRONOMIA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por todas as pessoas que colocou em meu caminho durante esta trajetória da graduação.

À toda a minha família, em especial aos meus pais, Ana e Gilberto, à minha querida irmã, Angélica, ao meu cunhado, Rudi, e ao meu avô, Eduardo, que, desde o início da graduação me incentivaram a seguir este caminho, sempre com tanto apoio, carinho e dedicação. Agradeço também à Eduarda Guerlinguer, que participou dos momentos alegres e dos períodos difíceis e estressantes, sempre com muita paciência comigo, cuidado e companheirismo.

Aos meus orientadores de iniciação científica, Prof. Rafael Etto e Prof^a Carol Galvão, pela oportunidade que me concederam de poder participar do nosso querido grupo de pesquisa no LABMOM, onde fui muito bem acolhido e pude conhecer pessoas incríveis. Obrigado pelo tempo e ensinamentos, por todo conhecimento transmitido e por terem sido tão bons comigo e me incentivado a crescer pessoalmente e intelectualmente.

Ao Prof. Eduardo Fávero Caires, primeiramente por ter aceitado em ser meu orientador de TCC, e por toda a atenção, tempo, ensinamentos e dedicação.

A todos os amigos do LABMOM, família que tenho orgulho em fazer parte, por todos os momentos alegres, de descontração e de trabalho no laboratório, no campo ou na casa de vegetação.

A todos os amigos e colegas do curso, em especial aos companheiros desde o início.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pelos professores, colaboradores e por toda a estrutura disponibilizada.

Às agências de fomento, CNPq e Fundação Araucária, pela disponibilização de bolsas para a realização das iniciações científicas.

RESUMO

FERRANDO, A. A. L. **Avaliação de estirpes de *Azospirillum* sob diferentes formas de co-inoculação na cultura da soja**. Orientador: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires. Coorientador: Prof. Dr. Rafael Mazer Etto. Ponta Grossa, 2026. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2026.

De acordo com as Nações Unidas, em 2080, a população do planeta estará acima dos 10,3 bilhões de pessoas. As bactérias promotoras do crescimento vegetal são capazes de fixar nitrogênio simbioticamente, produzir fitohormônios, incrementar o crescimento radicular e reduzir estresses, aumentando a sustentabilidade produtiva. A prática da co-inoculação na soja, composta pela aplicação das bactérias de *Bradyrhizobium*, formadora de nódulos, e *Azospirillum*, produtora de ácido indol-3-acético (AIA) e fixadora de nitrogênio, é uma técnica que pode resultar em economia de fertilizantes, melhora do ambiente produtivo, desenvolvimento de raízes e ganhos em produtividade de grãos de soja. Existem diferenças no desempenho entre estirpes de *Azospirillum* em função dos métodos de co-inoculação. Este trabalho objetivou avaliar, ao longo do desenvolvimento da cultura da soja, diferentes formas de co-inocular três estirpes de *Azospirillum*, AbV5 (inoculante comercial comum do Brasil), HM053 (mutante excretor de NH_4^+) e Az39 (estirpe com caráter endofítico), sendo os métodos de aplicação via semente, solo e foliar. Verificou-se a promoção de crescimento vegetal e seu efeito em parâmetros biométricos de soja. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os tratamentos foram organizados em blocos casualizados, em esquema fatorial duplo 3×3 com três repetições. O primeiro fator foi caracterizado pelas estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39). O segundo fator foram as formas de co-inoculação (semente, solo e foliar). A aplicação isolada de *Bradyrhizobium diazoefficiens* (SEMIA 5080) na semente e as plantas não inoculadas compuseram os controles. A co-inoculação via semente foi realizada no momento da semeadura. As co-inoculações via solo e foliar foram realizadas entre os estádios fenológicos V3/V4 da cultura. As variáveis resposta coletadas foram submetidas à análise de variância e testes de comparação de médias por Tukey e Dunnett ($p < 0,05$), usando software RStudio (Windows 4.3.2). A partir do estágio V5, na terceira amostragem, os efeitos das co-inoculações passaram a apresentar mais dados significativos. Na quinta e última amostragem (estádio R5) observou-se interação entre os fatores. Em massa seca radicular, a estirpe AbV5 aplicada via solo e HM053 via semente apresentaram-se superiores em 44% em relação a inoculação convencional (apenas *Bradyrhizobium*). Na análise de massa fresca por nódulo, novamente AbV5 via solo e HM053 via semente foram superiores ao controle não inoculado, incrementando 36% e 29%, respectivamente. Quando se avaliou a massa seca de vagens, as aplicações de HM053 e AbV5 via semente apresentaram melhores resultados que os controles, o que pode representar ganhos no desempenho da cultura. As estirpes AbV5 e HM053 tiveram melhor desempenho nos métodos de co-inoculação via semente e/ou solo, a depender da variável. Az39 apresentou resultados semelhantes entre as formas de co-inoculação, porém com superioridade em relação às outras estirpes na co-inoculação via foliar.

Palavras-chave: *Glycine max*, fixação biológica de nitrogênio, bactérias promotoras do crescimento vegetal, co-inoculação, sustentabilidade.

ABSTRACT

FERRANDO, A. A. L. **Evaluation of *Azospirillum* strains under different co-inoculation methods in soybean cultivation.** Advisor: Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires. Co-advisor: Prof. Dr. Rafael Mazer Etto. Ponta Grossa, 2026. Undergraduate Thesis – State University of Ponta Grossa, 2026.

According to the United Nations, by 2080 the world population is expected to exceed 10.3 billion people. Plant growth-promoting bacteria are capable of fixing nitrogen symbiotically, producing phytohormones, enhancing root growth, and reducing stress, thereby increasing production sustainability. The practice of co-inoculation in soybean, consisting of the application of *Bradyrhizobium*, a nodule-forming bacterium, and *Azospirillum*, which produces indole-3-acetic acid (IAA) and fixes nitrogen, is a technique that can result in fertilizer savings, improved production environments, enhanced root development, and increased soybean grain yield. There are differences in performance among *Azospirillum* strains depending on the co-inoculation method. This study aimed to evaluate, throughout soybean development, different methods of co-inoculating three *Azospirillum* strains: AbV5 (a common commercial inoculant in Brazil), HM053 (an ammonium-excreting mutant), and Az39 (a strain with endophytic characteristics), applied via seed, soil, and foliar methods. Plant growth promotion and its effects on soybean biometric parameters were assessed. The experiment was conducted in a greenhouse at the State University of Ponta Grossa. Treatments were arranged in a randomized block design in a 3×3 factorial scheme with three replications. The first factor consisted of the *Azospirillum* strains (AbV5, HM053, and Az39), and the second factor comprised the co-inoculation methods (seed, soil, and foliar). The isolated application of *Bradyrhizobium diazoefficiens* (SEMIA 5080) to seeds and non-inoculated plants were used as controls. Seed co-inoculation was performed at sowing, while soil and foliar co-inoculations were carried out between the V3 and V4 phenological stages of the crop. The collected response variables were subjected to analysis of variance and mean comparison tests using Tukey and Dunnett ($p < 0.05$), with the aid of RStudio software (Windows 4.3.2). From the V5 stage, in the third sampling, the effects of co-inoculation began to show more significant results. In the fifth and final sampling (R5 stage), an interaction between factors was observed. For root dry mass, the AbV5 strain applied via soil and HM053 via seed showed a 44% increase compared to conventional inoculation (only *Bradyrhizobium*). In the analysis of fresh mass per nodule, AbV5 via soil and HM053 via seed were again superior to the non-inoculated control, increasing values by 36% and 29%, respectively. When pod dry mass was evaluated, HM053 and AbV5 applied via seed showed better results than the controls, which may indicate gains in crop performance. The AbV5 and HM053 strains performed better in seed and/or soil co-inoculation methods, depending on the variable analyzed. Az39 showed similar results across co-inoculation methods, but was superior to the other strains when applied via foliar co-inoculation.

Keywords: *Glycine max*, biological nitrogen fixation, plant growth-promoting bacteria, co-inoculation, sustainability.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultados das análises químicas do solo utilizado no experimento, antes e após a mistura com areia.....	20
Tabela 2 –	Cronograma das atividades realizadas durante a execução do experimento.....	22
Tabela 3 –	Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CPR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca radicular (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca radicular (MSR) de soja sob efeito da co-inoculação via semente de três estirpes de <i>Azospirillum</i> (AbV5, HM053 e Az39) aos 7 dias após emergência (DAE).....	25
Tabela 4 –	Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CPR), massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca radicular (MFR) de soja sob efeito da co-inoculação via semente de três estirpes de <i>Azospirillum</i> (AbV5, HM053 e Az39) aos 14 dias após emergência (DAE).	26
Tabela 5 –	Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento de parte aérea (CPA) e (B) comprimento radicular (CPR) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de <i>Azospirillum</i> (AbV5, HM053 e Az39) aos 28 dias após emergência (DAE).....	28
Tabela 6 –	Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento radicular (CPR), (B) massa fresca de parte aérea (MFPA), (C) número de nódulos (NN), (D) massa fresca de nódulos (MFN) e (E) massa fresca por nódulo (MF/N) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de <i>Azospirillum</i> (AbV5, HM053 e Az39) aos 42 dias após emergência (DAE).....	31
Tabela 7 –	Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento de parte aérea (CPA), (B) massa fresca radicular (MFR), (C) massa seca radicular (MSR), (D) massa fresca por nódulo (MF/N), (E) massa fresca de vagens (MFV) e (F) massa seca de vagens (MSV) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de <i>Azospirillum</i> (AbV5, HM053 e Az39) aos 63 dias após emergência (DAE).....	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1	A CULTURA DA SOJA	10
2.2	EXIGÊNCIA NUTRICIONAL E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	11
2.3	BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL.....	12
2.3.1	Gênero <i>Bradyrhizobium</i>	12
2.3.2	Gênero <i>Azospirillum</i>	14
2.4	CO-INOCULAÇÃO.....	16
2.5	MÉTODOS DE CO-INOCULAÇÃO NA SOJA	17
3	OBJETIVOS	18
3.1	OBJETIVO GERAL.....	18
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1	PREPARO DOS INOCULANTES	19
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	19
4.3	EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO	20
4.4	AVALIAÇÕES E ANÁLISES BIOMÉTRICAS	22
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1	IMPACTO DA INOCULAÇÃO COM <i>Azospirillum</i> NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	24
5.1.1	1ª Amostragem (7 DAE – Estádio VC)	24
5.1.2	2ª Amostragem (14 DAE – Estádio V2).....	25
5.1.3	3ª Amostragem (28 DAE – Estádio V5).....	26
5.1.4	4ª Amostragem (42 DAE – Estádio R3).....	28
5.1.5	5ª Amostragem (63 DAE – Estádio R5).....	32
6	CONCLUSÕES	35
7	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

De acordo com estimativas, a população mundial em janeiro de 2025 estava na casa de 8,09 bilhões de indivíduos. Segundo dados da ONU (Organização das Nações Unidas) para a década de 2080, a quantidade de pessoas no mundo será aproximadamente de 10,3 bilhões, uma vez que a taxa atual de nascimentos é quase duas vezes superior à taxa de óbitos por dia (UN World Population Prospects, 2024), e somente a partir de então a população começará a declinar.

Tendo em vista o aumento populacional, a cada dia que avançamos, a demanda por água e principalmente por alimentos cresce significativamente. Por esse fato, a produção agrícola deve ser ampliada focando essencialmente no aumento da produtividade e sustentabilidade (Benke; Tomkins, 2017), uma vez que a quantidade de terras aráveis no mundo não tende a aumentar significativamente nos próximos anos, por conta da minimização do avanço sobre a fronteira agrícola (Saath; Fachinello, 2018).

O Brasil é um dos países que mais produz alimentos em todo o mundo, principalmente grãos, como milho, soja, arroz e feijão. A soja detém uma grande participação na quantidade de grãos produzida pelo país. Estimativas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) evidenciam uma nova safra recorde de soja no Brasil em 2025/2026, com a produção de mais de 175 milhões de toneladas do grão.

O fato de o Brasil cultivar e colher safras recordes ano após ano se deve às boas práticas culturais e às tecnologias empregadas no país. Alguns exemplos dessas práticas são a consolidação do sistema plantio direto (Alves, Boddey, Urquiaga, 2003; Caires *et al.*, 2005), o uso de cultivares produtivas e resistentes/tolerantes a doenças e pragas (Campbell; Sederoff, 1996) e o emprego de recursos que, de algum modo, tendem a favorecer as plantas, como o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV).

Dentro da gama de produtos biológicos, as BPCV têm ganhado cada vez mais espaço no mercado por conta dos benefícios que elas trazem, como, por exemplo, a produção de fitohormônios, fixação biológica de nitrogênio (FBN), maior tolerância ao estresse hídrico e solubilização de nutrientes, além da redução de custos nas lavouras (Telles; Nogueira; Hungria, 2023). O nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais importantes para as plantas, responsável pela formação de aminoácidos, proteínas, enzimas, clorofila, ácidos nucleicos, vitaminas e metabólitos secundários, sendo de extrema relevância para a fotossíntese e incorporação de biomassa (Taiz *et al.*, 2017), resultando em maior produtividade das culturas.

Segundo Hungria, Campo e Mendes (2001), são requeridos cerca de 80 kg de N para produzir 1000 kg de grãos de soja. No entanto, essa alta quantidade de N pode ser suprida por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, capazes de associar-se com as plantas de soja formando nódulos, estruturas onde as bactérias trocam N atmosférico (N_2) convertido a amônia (NH_3) por compostos carbônicos fornecidos pelas plantas, em um processo simbiótico denominado FBN (Burris, 1974).

A partir de 2013, a tecnologia da co-inoculação passou a ser recomendada no Brasil pela Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (Hungria; Nogueira; Araújo, 2013). A co-inoculação na cultura da soja consiste em aplicar, conjuntamente com o *Bradyrhizobium*, bactérias do gênero *Azospirillum* em soja. O *Azospirillum* também pode fixar N_2 , porém sem formar nódulos; no entanto, pode atenuar estresses das plantas pela estimulação de fitohormônios, como o AIA (ácido indol-3-acético), ligado ao maior crescimento radicular, reduzindo efeitos do déficit hídrico (Nievas *et al.*, 2023). Por esses motivos, a co-inoculação tende a resultar em aumentos significativos na produtividade da soja em relação à inoculação apenas com *Bradyrhizobium*, frequentemente resultando em incrementos médios de 8 a 15% em ensaios de campo (Hungria; Nogueira; Araújo, 2013, 2015), evidenciando sinergismo entre as duas espécies.

A tecnologia da co-inoculação traz vários benefícios para a cultura da soja. No entanto, existe uma diversidade de estirpes bacterianas de *Azospirillum* que podem ser utilizadas na agricultura, além de vários métodos de se realizar a inoculação de bactérias, como via semente, sulco, solo ou foliar. Deste modo, pouco se sabe sobre o efeito e a eficiência de cada forma de co-inoculação relacionada à diferentes estirpes de *Azospirillum* que podem apresentar respostas distintas entre os métodos (Hungria; Nogueira; Araújo, 2013, 2015; Puente *et al.*, 2019). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos de três diferentes formas de co-inoculação de *Azospirillum* na soja, sendo as aplicações via semente, solo e foliar, associadas a três distintas estirpes de *Azospirillum*: AbV5 (referência de inoculante comercial), HM053 (mutante excretor de NH_4^+) e Az39 (estirpe de comportamento endofítico), avaliando as plantas em cinco estádios de desenvolvimento ao longo do ciclo da cultura em casa de vegetação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA SOJA

A soja (*Glycine max* L.) é uma planta pertencente à família Fabaceae (anteriormente Leguminosae), sendo caracterizada como herbácea e eudicotiledônea, possuindo um sistema radicular pivotante. Quanto ao metabolismo, são plantas que realizam o ciclo fotossintético C₃, ou seja, incorporam dióxido de carbono (CO₂) pelo Ciclo de Calvin-Benson, sendo o primeiro composto estável da fotossíntese o 3-fosfoglicerato (3-PGA) (Wang; Peterson; Brutnell, 2011).

Para a realização do ciclo C₃ de fixação de carbono, a planta necessita de uma alta quantidade de nitrogênio para formar as proteínas e enzimas participantes, em especial a enzima RuBisCo (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase), que é a principal responsável pela incorporação do carbono durante a fotossíntese (Kerbaudy, 2008). A soja também possui um curto ciclo para produção, em média 130 dias, o que contribui no Brasil com diversas vantagens, como a possibilidade da produção de múltiplas safras anuais, com diferentes culturas, em uma mesma área (CONAB, 2026).

No mundo, a soja é uma das mais importantes culturas em relação à economia (Costa Neto *et al.*, 2000), sendo também a principal commodity produzida no Brasil. Na safra 2025/2026, estima-se que o país cultivou aproximadamente 48,43 milhões de hectares do grão, obtendo uma produção total de 178 milhões de toneladas, correspondendo a uma produtividade de cerca de 3680 kg ha⁻¹ (CONAB, 2026). O cultivo deste grão se torna tão importante pelos seus diversos usos, sendo algumas finalidades a alimentação humana e animal, a produção de óleo vegetal, biodiesel e vernizes.

A CONAB, no ano de 2026, estima que o Paraná deve ser o terceiro maior produtor de soja do Brasil, com uma produtividade de cerca de 3780 kg ha⁻¹, um pouco superior à média do país. No entanto, apesar das cultivares atuais possuírem um alto potencial produtivo, este muitas vezes não pode ser alcançado devido a fatores externos às plantas como, por exemplo, períodos de estresse hídrico, problemas fitossanitários ou baixa disponibilidade de nutrientes no solo (Lanna *et al.*, 2021).

Os programas de melhoramento genético no Brasil e no mundo, há muito tempo, têm buscado inovações na produção de cultivares de soja e possibilitaram a atribuição de diversas características importantes às plantas. São exemplos de características visadas: maior extração de nutrientes do solo, maior número de vagens, maior número de grãos por vagem, maior

resistência a pragas, doenças e herbicidas, modificações no ciclo da cultura, tolerância a estresses abióticos, entre outros (Kiihl; Garcia, 1989; Joshi, 1999; Lin *et al.*, 2022).

É importante salientar que a soja, assim como várias plantas, pode interagir com microrganismos mitigadores de estresses ou simbióticos. Esses micróbios podem estar ligados a diversas estratégias de controle a adversidades, como por exemplo, alteração de taxas hormonais, alteração na morfologia radicular ou da parte aérea da planta, síntese de enzimas antioxidantes, produção de biofilme, disponibilização de nutrientes e alteração no status hídrico (Lanna *et al.*, 2021), o que pode auxiliar as plantas a alcançarem maior produtividade.

2.2 EXIGÊNCIA NUTRICIONAL E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

A soja possui alta demanda em macronutrientes como enxofre (S) (Sfredo; Lantmann, 2007), potássio (K) (Oliveira; Carmello; Mascarenhas, 2001) e, principalmente, N (Hungria; Mendes, 2015), para atingir uma elevada produção. O S atua na formação de aminoácidos, como cisteína e metionina, participando estruturalmente da composição de todas as proteínas e enzimas, sendo de extrema importância para a soja (Sfredo; Lantmann, 2007; Taiz *et al.*, 2017). O K é o segundo nutriente mais exportado pela soja, participando da regulação osmótica das plantas e de vários processos enzimáticos (Taiz *et al.*, 2017).

O N é o elemento essencial mais requerido pela soja, sendo componente de aminoácidos, proteínas, da própria clorofila e dos ácidos nucleicos, como DNA e RNA (Taiz *et al.*, 2017). A FBN tem grande importância para a cultura, podendo ser responsável pela maior parte do suprimento do N requerido pela soja (Hungria; Campo; Mendes, 2001).

O micronutriente molibdênio (Mo) também é requerido para a FBN (Campo; Albino; Hungria, 2000). O Mo, apesar de ser encontrado em concentrações extremamente baixas na matéria seca das plantas (Epstein; Bloom, 2005), é um componente de grande importância no ciclo do N. Ele faz parte da enzima nitrato redutase, a qual catalisa a reação responsável por reduzir nitrato a nitrito, durante a assimilação do N (Taiz *et al.*, 2017). Além disso, o Mo é um componente da molibdênio-ferro proteína (MoFe-proteína), a qual constitui uma parte do complexo da enzima nitrogenase em microrganismos, responsável por reduzir o N_2 a NH_3 (Kerbaudy, 2008), disponibilizando-a à planta por meio de uma simbiose.

O Co, por sua vez, é um elemento benéfico que também participa ativamente da FBN (Campo; Albino; Hungria, 2000). É considerado benéfico pelo fato de não estar envolvido diretamente na estrutura ou no metabolismo vital da planta (Taiz *et al.*, 2017), no entanto, o Co é parte da cobalamina, componente de enzimas em microrganismos fixadores de N. A

cobalamina é precursora da leg-hemoglobina, uma das proteínas mais abundantes nos nódulos formados por rizóbios, a qual lhes confere coloração avermelhada (Pedrosa *et al.*, 1970). A leg-hemoglobina é responsável por armazenar o oxigênio (O₂) e transportá-lo para a manutenção da respiração das bactérias nos nódulos, evitando que ocorra uma alta concentração de O₂ na estrutura, de modo a desviar elétrons e a inativar permanentemente o complexo nitrogenase (Kerbaudy, 2008).

2.3 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL

Existem vários microrganismos do solo que podem causar diversos efeitos nas plantas, os quais vêm sendo muito explorados em pesquisas. Os micróbios podem ser classificados de acordo com o seu tipo de interação com as plantas, como a interação endofítica, simbiótica ou associativa (Chatterjee *et al.*, 2019). Cada tipo de associação depende do nível de proximidade e coevolução dos microrganismos junto às plantas, sendo que essas interações podem ser tanto benéficas quanto maléficas, e, portanto, no caso de bactérias benéficas, estas podem ser chamadas de BPCV (Lanna *et al.*, 2021).

Os microrganismos denominados de endofíticos são capazes de penetrar e viver dentro dos tecidos das plantas, como nas raízes, folhas, caule ou frutos, dentro do apoplasto (espaços intercelulares e vasos de xilema) (Mercado-Blanco, 2014). Os simbióticos podem viver ainda em maior associação ao hospedeiro, como por exemplo as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, as quais são responsáveis pela formação de estruturas especializadas em plantas de soja, os nódulos, onde ocorre a FBN (Lanna *et al.*, 2021). Os microrganismos associativos podem viver livremente no ambiente ou associados à superfície das raízes, geralmente onde realizam a interação com a planta, podendo controlar patógenos ou fixar N₂ e liberar fitohormônios (Lanna *et al.*, 2021), como no caso de bactérias do gênero *Azospirillum*, em que em sua maior parte são associativas, sendo muito utilizadas na inoculação de milho e trigo (Fukami *et al.*, 2016) e na co-inoculação de plantas de soja (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013).

2.3.1 Gênero *Bradyrhizobium*

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* fazem parte da família Nitrobacteriaceae, ordem Hyphomicrobiales, classe Alphaproteobacteria e filo Pseudomonadota. Pertencem também a um grupo de bactérias comumente chamadas de rizóbios (James, 2000), as quais são capazes de realizar simbiose com plantas da família Fabaceae. Elas são reconhecidas

especialmente pela formação de nódulos nas raízes das plantas, sendo importantes para a cultura da soja em função da FBN. O Brasil utiliza linhagens de elite na inoculação de *Bradyrhizobium* para FBN na soja, capazes de suprir a demanda de N da planta, sendo principalmente estirpes das espécies de *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium diazoefficiens* (Hungria *et al.*, 2005; Rodrigues *et al.*, 2020).

Os nódulos são órgãos modificados e especializados, os quais são criados pela planta hospedeira de forma induzida pelas bactérias fixadoras de N_2 , para envolvê-las no seu interior (Taiz *et al.*, 2017). No nódulo, ocorre a regulação dos gases que adentram o órgão, mantendo-se, principalmente, uma concentração praticamente anaeróbia, pelo fato do O_2 ser capaz de inativar completamente o sistema simbiótico por ser um grande aceptor de elétrons, podendo interferir diretamente na FBN (Kerbaudy, 2008).

Uma concentração mínima de O_2 no nódulo é essencial à respiração das bactérias fixadoras, as quais mantêm altas taxas de respiração pela grande demanda energética necessária à FBN. Portanto, a proteína férrica leg-hemoglobina funciona como uma carreadora de O_2 para os rizóbios. Essa proteína está presente no citoplasma das células infectadas dos nódulos e apresenta elevada afinidade pelo O_2 , sendo inferior apenas à afinidade do citocromo *c* oxidase das bactérias, proteína essencial para a respiração celular e a produção de energia. Assim é possível manter concentrações extremamente baixas de O_2 nos nódulos, mantendo o funcionamento da FBN (Kerbaudy, 2008; Taiz *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2023).

Nos microrganismos diazotróficos (fixadores de N_2), a reação de fixação do N_2 somente é possível pela catalização realizada pelo complexo da enzima nitrogenase, a qual, com um gasto de 16 ATP (adenosina trifosfato), 8 elétrons e 8 H^+ (prótons), consegue reduzir uma molécula de N_2 a duas moléculas de NH_3 (Kerbaudy, 2008), ou seja, ocorre um enorme gasto energético para a fixação de N_2 . A produção do NH_3 é uma reação exergônica, no entanto possui uma altíssima energia de ativação pela grande estabilidade da ligação tripla do N_2 , o que limita a velocidade da reação (Taiz *et al.*, 2017).

A simbiose planta-bactéria ocorre em vários passos. A planta percebe que o solo possui quantidades limitantes de N, e, portanto, inicia uma elaborada sinalização, em busca de recrutar diazotrofos para realizar a FBN. A exsudação de compostos orgânicos pelas raízes das plantas, principalmente flavonoides, tende a estimular a migração dos rizóbios para a rizosfera (Kerbaudy, 2008). Além disso, os flavonoides induzem a expressão dos genes *nod* no rizóbio, os quais codificam enzimas envolvidas na síntese dos fatores Nod, moléculas sinalizadoras essenciais para o estabelecimento da simbiose.

Cada espécie da família Fabaceae responde a um fator Nod em específico (vindo de um rizóbio específico), sendo que os seus receptores estão localizados nos pelos radiculares (Taiz *et al.*, 2017). Uma vez ativados pelos fatores Nod, os receptores causam uma cascata de sinalizações, resultando na expressão de genes responsivos ao fator Nod, os quais resultam no “enrolamento” da célula do pelo radicular, abrigando os rizóbios por meio da degradação da parede celular, fazendo com que as membranas plasmáticas das células vegetais entrem em contato com os microrganismos (Kerbaudy, 2008).

Após esse englobamento, forma-se o chamado canal de infecção, o qual é ocupado pelos rizóbios e alonga-se até o córtex da raiz, onde é formado o primórdio nodular (Kerbaudy, 2008). Os rizóbios são liberados no citoplasma das células corticais, permanecendo circundados pela membrana plasmática da célula vegetal, passando, então, a serem chamados de simbiossomos (Taiz *et al.*, 2017). Essas bactérias no simbiossomo podem continuar a se dividir, desde o início da infecção, até a emissão de um sinal enviado pela planta hospedeira, quando estas param de se multiplicar, e passam a ser reconhecidas como bacteroides, apresentando modificações morfofisiológicas, principalmente ligadas à formação dos complexos para fixação de N_2 (Kerbaudy, 2008).

O complexo sistema nitrogenase, pode ser dividido em duas estruturas, sendo uma Fe-proteína (composta por duas subunidades idênticas) e uma MoFe-proteína (composta por quatro subunidades). A Fe-proteína possui grupos ferro-enxofre. Já a MoFe-proteína possui grupos molibdênio-ferro-enxofre. Essas duas proteínas podem ser irreversivelmente inativadas por O_2 livre. As duas participam das reações de oxirredução da FBN (Taiz *et al.*, 2017).

No complexo da enzima nitrogenase, a ferredoxina é a doadora inicial de elétrons para a redução do N_2 , transferindo-o para a Fe-proteína, que é responsável por hidrolisar ATP e reduzir a MoFe-proteína, que reage com N_2 e H^+ , para a formação de NH_3 . Essa reação é lenta, demorando cerca de 5 segundos por molécula de N_2 reduzida, logo, o bacteroide sintetiza uma alta quantidade de nitrogenase para a obtenção de maiores quantidades de NH_3 (Kerbaudy, 2008; Taiz *et al.*, 2017). O NH_3 fixado deve ser rapidamente incorporado para evitar toxidez, sendo adicionado à compostos de carbono, como ureídeos, amidas e aminoácidos, os quais podem ser translocados para as outras partes da planta (Taiz *et al.*, 2017).

2.3.2 Gênero *Azospirillum*

Primeiramente classificado como *Spirillum* (Beijerinck, 1925), e depois reclassificado como *Azospirillum* após a descoberta da capacidade de fixação de N_2 (Tarrand; Krieg;

Döbereiner, 1978), esse gênero de bactérias vem sendo diversamente estudado em pesquisas no mundo. Está inserido dentro da família Azospirillaceae, ordem Rhodospirillales, classe Alphaproteobacteria e filo Pseudomonadota (Oren; Garrity, 2021).

Várias espécies de *Azospirillum* já foram encontradas e descritas, sendo as primeiras o *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum lipoferum* (Tarrand; Krieg; Döbereiner, 1978), e entre as últimas catalogadas o *Azospirillum argentinense* (Ferreira *et al.*, 2022) e o *Azospirillum isscasi* (Wang *et al.*, 2024). Esse gênero aparece comumente no mundo todo, sendo encontrado principalmente no solo, próximos às raízes ou nos próprios órgãos das plantas (Baldani *et al.*, 1986).

O *Azospirillum* é conhecido por promover o crescimento vegetal de várias formas, as quais grande parte ainda não possui seus mecanismos totalmente elucidados. Sabe-se que esse gênero pode realizar a FBN, solubilizar fosfato, atuar no controle de patógenos, proteger a planta contra estresses pela estimulação de fitohormônios, como auxinas (principalmente AIA), citocinas, giberelinas (GA), atuar na redução do etileno, entre outros (Cassán; Diaz-Zorita, 2016; Fukami; Cerezini; Hungria, 2018).

Hoje no Brasil, a maioria dos inoculantes utilizados na agricultura são elaborados a partir de estirpes de *A. brasilense* AbV5/AbV6, as quais apresentam versatilidade e estabilidade quando testadas entre diferentes regiões, possuindo desempenho consistente. Já, levando-se em consideração a América Latina, a maioria dos inoculantes são a base da estirpe de *A. argentinense* Az39, que anteriormente era classificada como *A. brasilense*, antes da realização de análises fenotípicas e genômicas mais completas sobre essa estirpe. Além disso, a estirpe Az39 é conhecida por apresentar caráter endofítico (Cassán *et al.*, 2020; Maroniche *et al.*, 2024).

Uma outra estirpe de *A. brasilense* que está sendo introduzida no mercado brasileiro é a HM053, desenvolvida pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), um mutante espontâneo da linhagem FP2. Essa estirpe possui uma mutação na enzima GS (glutamina sintetase), fazendo com que a planta hospedeira não consiga regular a FBN da bactéria, resultando na excreção de NH_4^+ constitutivamente, deixando uma maior quantidade de N disponível na raiz da planta (Machado *et al.*, 1991).

O *A. brasilense* vem sendo muito utilizado nas culturas de trigo e milho (Hungria, 2011; Fukami *et al.*, 2016; Takahashi *et al.*, 2024). No entanto, também tem sido utilizado na co-inoculação com *Bradyrhizobium* na cultura da soja, podendo causar vários benefícios (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013; Chibeba *et al.*, 2015; Araujo *et al.*, 2025).

2.4 CO-INOCULAÇÃO

No Brasil, antes de 2013, era recomendada apenas a inoculação anual de *Bradyrhizobium* nas lavouras de soja. A partir da safra 2013/2014 (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013), a Embrapa começou a indicar o uso da chamada co-inoculação, a qual consiste na inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense* em soja, sendo que as estirpes AbV5/6 já eram utilizadas desde 2009 em milho, trigo e arroz (Hungria, 2011).

Como a FBN realizada pelo *Azospirillum* pode ser considerada de baixa eficiência quanto comparada à realizada por *Bradyrhizobium* (Prando *et al.*, 2022), essas bactérias contam com outros benefícios também importantes para as plantas, principalmente a biossíntese de fitohormônios, os quais podem induzir maior crescimento radicular e resistência a doenças e a estresses (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013). Há relatos que a co-inoculação resulta na maior nodulação das plantas leguminosas, sendo descrito tanto em soja (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013), quanto em feijão (Burdman; Kigel; Okon, 1997), grão-de-bico (Hamaoui *et al.*, 2001) e lentilhas (Kumar; Chandra, 2008). Além disso, essa maior nodulação também pode resultar em um maior teor de N na parte aérea (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013), maior produtividade ou melhor qualidade de grãos (Askary *et al.*, 2009).

A estimulação de maior crescimento radicular, além de favorecer a maior criação de nódulos, pode aumentar o volume de solo explorado pelas raízes, melhorando a absorção de água e nutrientes (Rondina *et al.*, 2020). Por esses motivos, o *Azospirillum* tende a promover o crescimento vegetal por diversos mecanismos.

Quando as plantas são co-inoculadas com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, elas tendem a apresentar maior nodulação e de forma mais precoce (Chibeba *et al.*, 2015), o que pode resultar em melhor arquitetura das plantas, benefícios econômicos, ambientais e ganho na produtividade quando comparada à de plantas não inoculadas ou inoculadas apenas com *Bradyrhizobium* (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013). Desse modo, segundo dados da Embrapa de 2024, neste ano, a co-inoculação proporcionou um acréscimo médio de 258 kg ha⁻¹ na produtividade de grãos, retirando-se o custo do inoculante (R\$ 25,65 ha⁻¹) e considerando o valor médio da saca de 60 kg no Paraná para o período (R\$ 105,72), o retorno obtido com a co-inoculação pode ser em torno de R\$ 400 ha⁻¹ (Prando *et al.*, 2024).

2.5 MÉTODOS DE CO-INOCULAÇÃO NA SOJA

Existem vários tipos e formas de realizar a co-inoculação de BPCV nas plantas de soja, o que pode resultar em diferentes resultados em pesquisas com uso de inoculantes (Barbosa *et al.*, 2021; Brignoli *et al.*, 2023). Pode-se ainda variar a dose e até mesmo a época de aplicação (Takahashi *et al.*, 2024).

A inoculação, portanto, deve ser feita buscando a melhor proximidade que favoreça o reconhecimento da BPCV pela planta em questão, aumentando a eficiência do inoculante (Lopes; Dias-Filho; Gurgel, 2021). Uma primeira forma de inoculação, e muito comum, pode ser a via semente, seja aplicando uma dose conhecida do inóculo diretamente a elas, na forma de turfa ou líquida, ou ainda, imergindo as sementes no inoculante por um determinado tempo (Li *et al.*, 2019). Esse método apresenta um contato mais direto do inoculante com a planta hospedeira e infecção precoce, porém, o uso de fungicidas e inseticidas em tratamentos de sementes pode reduzir a viabilidade bacteriana, interferindo diretamente na população que deve conseguir realizar a simbiose ou associação (Takahashi *et al.*, 2022).

Um segundo método de inoculação pode ser descrito como a inoculação via solo, a campo realizada sobre o sulco de semeadura ou por pulverização sobre o solo, cujo objetivo é reduzir o contato das BPCV com produtos utilizados no tratamento de sementes. No entanto, esse método requer o uso de implementos específicos para a aplicação, maior cuidado com a limpeza dos maquinários e, geralmente, a utilização de doses mais elevadas de inoculante (Hungria; Nogueira; Araujo, 2013; Fukami *et al.*, 2016).

Uma terceira forma de inoculação é a aplicação de microrganismos via foliar, mais comumente empregada no controle biológico de pragas e doenças de parte aérea (Garrido-Jurado *et al.*, 2017). Essa inoculação foliar pode ser favorecida por bactérias que tenham comportamento endofítico ou que possam ser translocadas pelo interior da planta (Puente *et al.*, 2019; Takahashi *et al.*, 2024). No entanto, as BPCV fixadoras de N₂ como *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* não são comumente aplicadas via foliar em lavouras no Brasil.

Em soja, a co-inoculação pode ser realizada em diferentes arranjos, como por exemplo, a inoculação de *Bradyrhizobium* via semente e a co-inoculação com *Azospirillum* via solo ou foliar, ou ainda, a co-inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* conjuntamente via semente. Todavia, a real eficácia de cada tipo de co-inoculação, associada principalmente a diferentes estirpes de *Azospirillum*, ainda não foi totalmente elucidada.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a promoção de crescimento da soja proporcionada por estirpes de *Azospirillum* co-inoculadas via semente, foliar e solo sob ambiente protegido.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar o desempenho entre estirpes de *Azospirillum* e forma de co-inoculação em soja;

Avaliar se há efeito sinérgico ou competitivo entre *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* e sua influência na nodulação;

Avaliar parâmetros biométricos da soja em diferentes momentos ao longo do ciclo da cultura, incluindo altura de plantas, comprimento radicular, número de nódulos e massa fresca e seca da parte aérea e das raízes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM) e em casa de vegetação do Centro de Pesquisas Avançadas para Tecnologias do Agronegócio (CT-Agro) na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

4.1 PREPARO DOS INOCULANTES

As culturas contendo *Bradyrhizobium diazoefficiens* (CPAC 7 = SEMIA 5080) e as estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) foram cultivadas em laboratório em meio YM (Yeast-Mannitol) (Vincent, 1970), e NFb-lactato (Machado, 1991), respectivamente.

Com objetivo de aplicar quantidades equivalentes de cada bactéria, as concentrações das culturas foram corrigidas no momento da inoculação. Essa correção foi baseada nas curvas de crescimento bacteriano de cada estirpe, relacionadas com a densidade óptica (DO_{600}) avaliada em espectrofotômetro UV-VIS (Tecnal[®]) antes da inoculação. Cada cultura bacteriana inoculada teve sua concentração verificada posteriormente pelos métodos de diluição seriada e microgota (Miles; Misra; Irwin, 1938), em meio de cultura YMA (Yeast-Mannitol-Agar) para *Bradyrhizobium* e RC para *Azospirillum* (Rodríguez Cáceres, 1982).

Todos os tratamentos contendo *Bradyrhizobium* receberam aplicação via semente a uma concentração final de 10^6 UFC semente⁻¹ (Hungria; Nogueira; Araujo, 2015). Para co-inoculação dos tratamentos com *Azospirillum* via semente, solo e foliar foram aplicadas, respectivamente, populações de 10^5 UFC semente⁻¹ (Garcia; Nogueira; Hungria, 2021), 10^5 UFC g⁻¹ de raiz junto à água de irrigação, e 10^5 UFC g⁻¹ de parte aérea (Takahashi *et al.*, 2024) utilizando sprays manuais.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental estabelecido foi em blocos casualizados (DBC), com três repetições. Os tratamentos foram estruturados em esquema fatorial 3×3 , composto por três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) e três formas de co-inoculação (semente, solo e foliar), totalizando nove combinações fatoriais. Adicionalmente, foram incluídos dois tratamentos adicionais, sendo a inoculação isolada de *Bradyrhizobium* (SEMIA 5080) via semente, e o controle não inoculado. Para os tratamentos com co-inoculação via semente foram realizadas cinco amostragens, enquanto para os tratamentos via solo e foliar, foram realizadas

três amostragens. As estirpes de *Azospirillum* utilizadas foram: AbV5, HM053 e Az39, e as formas de co-inoculação das bactérias foram: via semente, solo e foliar.

4.3 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO

O solo utilizado no experimento foi coletado da camada de 0-10 cm de um Cambissolo no município de Palmeira-PR, na Colônia Francesa, passando posteriormente por processos de secagem e peneiramento. O solo foi misturado em 50% com areia lavada ($v\ v^{-1}$) e acondicionado em vasos de 5 L para a condução do experimento. Amostras do solo foram encaminhadas para análise química em laboratório, antes e após a mistura com areia (substrato). Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1. A granulometria do substrato também foi aferida, resultando em 15% de argila, 5% de silte e 80% de areia.

Tabela 1 – Resultados das análises químicas do solo utilizado no experimento, antes e após a mistura com areia

Amostra	pH	H+Al	Al	Ca	Mg	K	SB	CTC	P (Mehlich)	C	MO	V
		mmol _e /dm ³							mg/dm ³	g/dm ³		%
Solo	5,9	25,4	0	46,4	25,1	6,3	77,8	103,2	87,3	18,9	32,5	75
Solo + Areia	5,6	22,8	0	28,6	12,2	3,2	44,0	66,8	53,6	14,2	24,5	66

Legenda: Capacidade de troca de cátions (CTC), saturação de bases (V), carbono (C), matéria orgânica (MO).

Fonte: O autor.

Os vasos foram montados com 5,4 kg do substrato, tendo seus fundos cobertos com recortes de papel Germitest, para evitar a perda de substrato através dos furos dos vasos. Testes para estimar a capacidade de vaso e determinar a quantidade de água que deveria ser irrigada, ao longo do experimento, foram realizados previamente. Três vasos aleatórios foram selecionados, pesados e saturados com água. Estes vasos foram recobertos superiormente com plásticos, para evitar perda de água por evaporação, e tiveram livre drenagem durante três dias. Após este período, a massa dos vasos foi aferida, determinando, então, a umidade gravimétrica (Ug) na capacidade de vaso, conforme a equação 1.

$$Ug = \frac{(Mu - Ms)}{Ms} \quad (1)$$

Sendo, Mu a massa do substrato úmido e Ms a massa do substrato seco.

De modo a repor uma quantidade padrão de água ao longo do experimento, os vasos foram irrigados com 60 a 70% da capacidade de vaso. Considerou-se a umidade gravimétrica obtida na capacidade de vaso de 0,22 g de água g^{-1} de substrato.

As sementes de soja utilizadas foram da cultivar Vênus (57K58RSF CE - Brasmax), de hábito de crescimento indeterminado e grupo de maturação 5.7. Dois dias antes da semeadura, foi realizada a adubação do solo, utilizando-se uma dose equivalente a 400 kg ha⁻¹ da fórmula 0-20-20 (N-P₂O₅-K₂O), resultando na aplicação de 2 g do fertilizante por vaso.

Um dia antes da semeadura, o substrato foi irrigado até 70% da capacidade de vaso, passando por um turno de rega de dois a três dias, ao longo de todo o experimento. No dia 20/01/2025, em torno de uma hora antes da semeadura, foram aplicados Co e Mo nas sementes (Campo; Albino; Hungria, 2000), a uma dose de 2 mL kg⁻¹ de sementes (Grap Field Pro, Agrocete). Cinco sementes foram semeadas por vaso, a uma profundidade de 2 cm.

A co-inoculação via semente foi procedida pipetando o inóculos diretamente nas sementes. Foram aplicados 10 µL do *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 a uma concentração de 2,13 x 10⁸ UFC mL⁻¹ (2,13 x 10⁶ UFC semente⁻¹), e 10 µL das estirpes de *Azospirillum*, AbV5, HM053 e Az39 a uma concentração de 2,67 x 10⁷ UFC mL⁻¹, 1,10 x 10⁷ UFC mL⁻¹ e 1,47 x 10⁷ UFC mL⁻¹ (~10⁵ UFC semente⁻¹) respectivamente, de acordo com o delineamento experimental estabelecido.

No momento em que as plantas encontravam-se entre os estádios V3/V4 (21 dias após a emergência - DAE) (Puente *et al.*, 2019) foram realizadas as co-inoculações via solo e foliar. Para o cálculo da concentração bacteriana para inoculação, coletaram-se cinco plantas inoculadas apenas com *Bradyrhizobium* e utilizou-se a média da massa fresca de raiz (8,276 g) para inoculação via solo e a média da massa fresca de parte aérea (7,036 g) para a inoculação via foliar. Para inoculação via solo, as bactérias foram aplicadas diluídas em 100 mL de água de irrigação, nas concentrações de 4,80 x 10⁴ UFC mL⁻¹, 3,70 x 10⁴ UFC mL⁻¹ e 5,33 x 10⁴ UFC mL⁻¹ para AbV5, HM053 e Az39, o que correspondeu a ~10⁵ UFC g⁻¹ de massa fresca de raiz.

Para inoculação via foliar, 2,5 mL dos inóculos foram pulverizados na parte aérea das plantas, com auxílio de sprays manuais. O solo foi recoberto com camadas plásticas e papel kraft para evitar a contaminação do solo com os inoculantes. As inoculações foram realizadas ao final da tarde e os ventiladores da casa de vegetação foram desligados antes das aplicações, até o dia posterior pela manhã. Para esta forma de inoculação, as concentrações das bactérias foram de 4,80 x 10⁵ UFC mL⁻¹, 3,70 x 10⁵ UFC mL⁻¹ e 5,33 x 10⁵ UFC mL⁻¹ para AbV5, HM053 e Az39, respectivamente, resultando na aplicação de populações em ~10⁵ UFC g⁻¹ de massa fresca de parte aérea.

Dois DAE, com o objetivo de não interferir no sistema radicular da plântula selecionada, foi realizado o desbaste das plântulas, deixando apenas uma por vaso. O

experimento foi conduzido até 63 DAE, quando se realizou a última amostragem das plantas. O cronograma de execução do experimento foi organizado, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Cronograma das atividades realizadas durante a execução do experimento

Descrição das atividades	Janeiro/25				Fevereiro/25				Março/25			
	Semana											
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Coleta do solo	X											
Montagem dos vasos		X										
Determinação da capacidade de vaso		X										
Cultivo das bactérias		X	X		X	X						
Adubação			X									
Inoculação via semente			X									
Semeadura			X									
Desbaste das plântulas				X								
Inoculação via solo e foliar						X						
1ª Amostragem				X								
2ª Amostragem					X							
3ª Amostragem							X					
4ª Amostragem									X			
5ª Amostragem											X	
Análises estatísticas												X

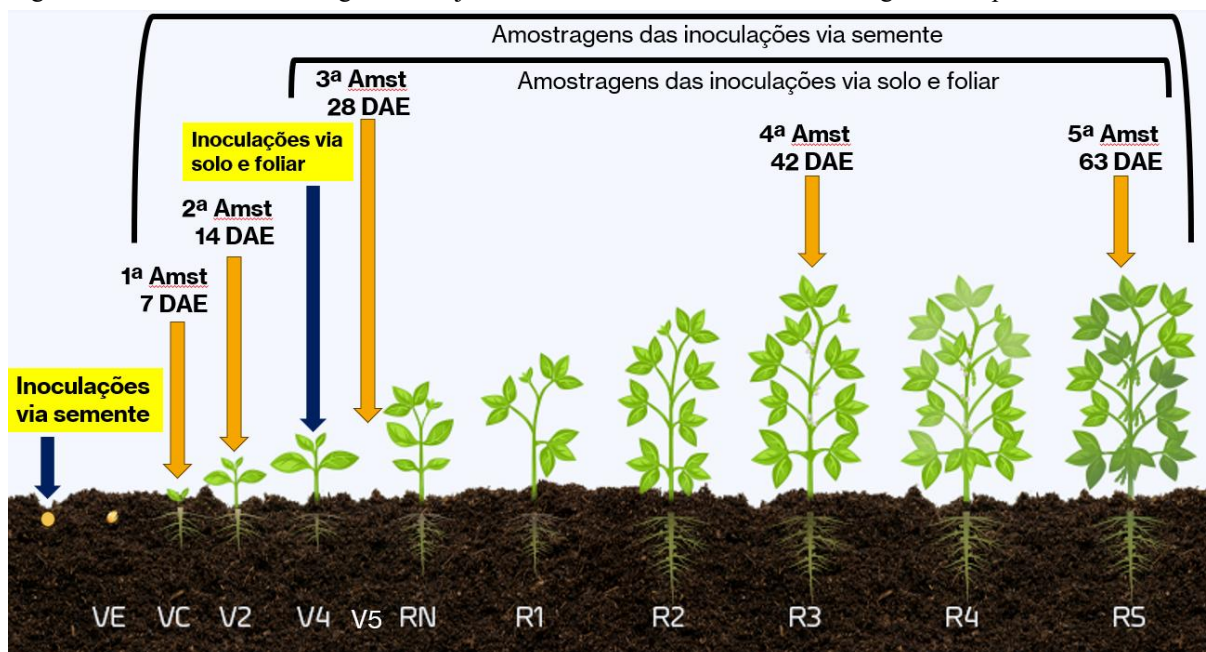
Fonte: O autor.

4.4 AVALIAÇÕES E ANÁLISES BIOMÉTRICAS

Os tempos de amostragem das plantas foram: 7 DAE, 14 DAE, 28 DAE, 42 DAE e 63 DAE, nos estádios VC, V2, V5, R3 e R5 da cultura, respectivamente, como demonstrado na Figura 1. No primeiro e segundo eventos de amostragem, foram avaliados o comprimento de parte aérea (CPA) e radicular (CPR), a massa fresca de parte aérea (MFPA) e radicular (MFR), e a massa seca de parte aérea (MSPA) e radicular (MSR). A partir do terceiro tempo de amostragem, além dessas variáveis, foram avaliados também o número de nódulos, a massa fresca de nódulos e a massa fresca por nódulo (NN, MFN e MF/N, respectivamente). Por fim, no último momento de amostragem, foram avaliados, adicionalmente, o número de vagens e as massas fresca e seca de vagens (NDV, MFV e MSV, respectivamente).

O CPA foi determinado com base na altura do último nó das plantas. Para a determinação do CPR, as raízes foram cuidadosamente retiradas dos vasos, lavadas e separadas, mensurando-se o comprimento da raiz principal. As massas frescas foram determinadas imediatamente após a coleta. As massas secas foram obtidas após três dias de secagem dos tecidos em estufa a 60 °C. Todas as massas foram mensuradas em balança analítica.

Figura 1 – Estádios fenológicos da soja associados aos momentos de amostragem do experimento



Legenda: Amst – Amostragem. DAE – Dias após emergência.

Fonte: Adaptado de Disner; Aires, 2025.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Após a coleta dos dados biométricos, estes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e testes de comparação de médias por Tukey, para comparação entre os tratamentos (Estirpe × Métodos de Inoculação), e Dunnett, para comparação dos tratamentos com os controles. Em ambos os testes adotou-se o nível de 5% de significância, com auxílio do software estatístico RStudio (versão Windows 4.3.2) e pacote ExpDes.pt (Ferreira; Cavalcanti; Nogueira, 2018). Quando o teste F indicou interação significativa entre os tratamentos, procedeu-se ao desdobramento da interação. No caso da ausência de interação significativa, foram avaliados os efeitos simples de cada fator.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IMPACTO DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum* NA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

O experimento conduzido em casa de vegetação foi avaliado em cinco diferentes estádios fenológicos da cultura da soja. As duas primeiras amostragens foram realizadas apenas com as plantas que tiveram co-inoculação com *Azospirillum* via semente (e os controles sem inoculação e com apenas *Bradyrhizobium*). A partir da terceira amostragem, com as co-inoculações com *Azospirillum* via solo e foliar já realizadas, as plantas dos tratamentos com estes modos de inoculação também passaram a ser amostradas.

5.1.1 1ª Amostragem (7 DAE – Estádio VC)

A primeira amostragem das plantas de soja realizada aos 7 DAE (estádio VC) não apresentou dados com diferença estatística significativa (Tabela 3). Sabe-se que as BPCV dependem de uma soma de vários mecanismos que devem atuar em conjunto para produzir um efeito significativo nas plantas (Bashan; Levanony, 1990; Bashan; Dubrovsky, 1996). No caso do *Azospirillum*, alguns exemplos desses múltiplos mecanismos são: a produção de fitohormônios (AIA, GA, citocinas), FBN, produção de óxido nítrico (NO) que pode participar de vias metabólicas e sinalização e alterar a arquitetura radicular, solubilização de fosfato, mitigação de estresses ambientais (déficit hídrico, salinidade, toxicidade por metais), controle biológico, resistência induzida a patógenos, entre outros (Bashan; De-Bashan, 2010). Deste modo, o efeito causado nas plantas pela inoculação de *Azospirillum* não deve ocorrer de forma imediata, mas vagarosamente e de maneira cumulativa.

No início do desenvolvimento da cultura, as plantas contam com uma alta concentração de reservas nos cotilédones, fornecendo muita energia para o crescimento inicial. Além disso, para que os mecanismos de promoção de crescimento sejam desenvolvidos, as bactérias precisam passar pelas fases de recrutamento pela planta, estabelecimento e colonização da rizosfera, o que pode ocorrer gradualmente e refletir em estádios fenológicos mais avançados da cultura (Bashan; De-Bashan, 2010; Hungria *et al.*, 2010). Assim, o efeito da co-inoculação com *Azospirillum* via semente não foi evidenciado nos primeiros 7 DAE, resultando em parâmetros biométricos equivalentes entre os tratamentos.

Tabela 3 – Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CPR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca radicular (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca radicular (MSR) de soja sob efeito da co-inoculação via semente de três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) aos 7 dias após emergência (DAE)

Estirpe	Inoculação	CPA	CPR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
		cm		g		mg	
AbV5	Semente	11,87 $\pm$ 1,63	19,97 $\pm$ 18,66	1,91 $\pm$ 0,24	0,86 $\pm$ 0,46	160,21 $\pm$ 23,81	37,68 $\pm$ 18,77
HM053	Semente	10,70 $\pm$ 0,85	16,53 $\pm$ 8,85	1,69 $\pm$ 0,06	0,81 $\pm$ 0,31	142,17 $\pm$ 7,01	31,66 $\pm$ 14,03
Az39	Semente	10,47 $\pm$ 0,32	31,60 $\pm$ 7,05	1,65 $\pm$ 0,08	1,42 $\pm$ 0,10	153,29 $\pm$ 3,44	59,13 $\pm$ 3,20
<i>Bradyrhizobium</i>		10,63 $\pm$ 1,95	10,90 $\pm$ 1,81	1,57 $\pm$ 0,27	0,69 $\pm$ 0,07	125,95 $\pm$ 11,72	21,74 $\pm$ 5,13
Sem inoculação		11,47 $\pm$ 0,87	11,50 $\pm$ 1,74	1,62 $\pm$ 0,08	0,76 $\pm$ 0,17	131,59 $\pm$ 11,34	27,92 $\pm$ 11,55

Fonte: O autor.

5.1.2 2ª Amostragem (14 DAE – Estádio V2)

A partir da segunda amostragem (estádio V2), os impactos causados pela inoculação de *Azospirillum* nas plantas de soja passaram a ser identificados. Nessa amostragem, a MFPA de plantas inoculadas via semente com as estirpes AbV5 e HM053 foi superior em 18% e 22%, respectivamente, em relação à estirpe Az39. Além disso, pode-se verificar que a estirpe Az39 reduziu a MFPA em 21,2% em relação ao controle sem inoculação (Tabela 4).

A estirpe Az39 é reconhecida por ter caráter endofítico, podendo colonizar os tecidos internos da planta e se deslocar entre eles, movendo-se da raiz para a parte aérea ou vice-versa (Takahashi *et al.*, 2024). Microrganismos com essas características podem estar mais ligados à fisiologia interna das plantas e às reações bioquímicas que ocorrem nas células (Dobbelaere *et al.*, 2001; Puente *et al.*, 2021; Nievas *et al.*, 2023; Cassán *et al.*, 2026).

Ao adentrar a endosfera (radicular, foliar ou caulinar), as bactérias podem induzir principalmente desequilíbrios hormonais, alterando o metabolismo vegetal. Isso pode ativar respostas de estresse e defesa na planta, como a produção de EROs (espécies reativas de oxigênio), como forma de eliminar os microrganismos invasores no apoplasto (Torres; Jones; Dangl, 2006). Deste modo, as bactérias endofíticas devem ser capazes de detoxificar as EROs pela expressão de genes codificadores de enzimas como peroxidases, superóxido dismutases e catalases (Hardoim *et al.*, 2015). Além disso, microrganismos endofíticos também podem modular a abertura estomática e interferir no turgor celular (Dobbelaere *et al.*, 2001; Rho *et al.*, 2018; Puente *et al.*, 2021; Nievas *et al.*, 2023).

Puente *et al.* (2021), por meio de uma variante de Az39 capaz de expressar uma proteína vermelha fluorescente (Az39DsRed), puderam verificar esta cepa por microscopia confocal de varredura a laser (Confocal Laser-Scanning Microscopy – CLSM) em folhas de soja. As bactérias mantinham-se em locais preferenciais do tecido foliar, como em torno das nervuras, nos espaços intercelulares e ao redor dos estômatos, frequentemente formando microcolônias. Com esse contato mais íntimo, é provável uma interferência mais direta das bactérias no mecanismo celular das plantas. Assim, a estirpe Az39 pode ter resultado em uma resposta negativa temporária, apresentando menor MFPA, porém sem causar mais prejuízos biométricos significativos na planta, como demonstrado no CPA, CPR e MFR.

Tabela 4 – Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CPR), massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca radicular (MFR) de soja sob efeito da co-inoculação via semente de três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) aos 14 dias após emergência (DAE)

Estirpe	Inoculação	CPA	CPR	MFPA	MFR
		cm		g	
AbV5	Semente	22,97 $\pm$ 1,27 A	62,83 $\pm$ 5,48 A	3,25 $\pm$ 0,10 A	2,76 $\pm$ 0,17 A
HM053	Semente	23,07 $\pm$ 1,02 A	58,77 $\pm$ 13,74 A	3,36 $\pm$ 0,24 A	2,91 $\pm$ 0,39 A
Az39	Semente	21,33 $\pm$ 2,10 A	60,20 $\pm$ 8,97 A	2,75 $\pm$ 0,31 B*	2,20 $\pm$ 0,46 A
<i>Bradyrhizobium</i>		22,67 $\pm$ 1,42	58,67 $\pm$ 9,75	2,84 $\pm$ 0,25	2,87 $\pm$ 0,35
Sem inoculação		24,00 $\pm$ 1,30	48,13 $\pm$ 16,53	3,49 $\pm$ 0,37	2,25 $\pm$ 0,30

Legenda: Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). # indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle com inoculação apenas de *Bradyrhizobium* pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). * indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle sem inoculação (controle negativo) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Fonte: O autor.

5.1.3 3ª Amostragem (28 DAE – Estádio V5)

No terceiro momento de amostragem, aos 28 DAE (estádio V5), as plantas encontravam-se no estágio fenológico V5, sendo que aos 21 DAE (estádio V3/V4) foram realizadas as co-inoculações com *Azospirillum* via solo e foliar. A partir desta amostragem, a nodulação passou a ser mais evidente, possibilitando contagem e aferição da massa dos nódulos de cada planta. Observou-se a presença de nódulos nos tratamentos controle sem inoculação, o que pode ser atribuído à presença de rizóbios nativos do solo.

Não foram encontrados efeitos significativos na interação dos fatores (Estirpes $\times$ Métodos de Inoculação), deste modo, os efeitos simples de cada fator foram estudados. Para

CPA, os efeitos dos métodos de inoculação resultaram em diferenças estatísticas, com a aplicação do *Azospirillum* via semente apresentando um desempenho superior quando comparado com a inoculação via solo e foliar, com diferenças de 7,5% e 10,9%, respectivamente (Tabela 5-A). É importante destacar que, apesar da interação entre os tratamentos não apresentar diferença estatística, a co-inoculação de Az39 via foliar mostrou-se inferior em CPA em relação ao controle não inoculado, reduzindo-o em 13,4%.

Analisando o CPR, os métodos de inoculação também apresentaram diferenças significativas (Tabela 5-B). Nesse caso, as aplicações do *Azospirillum* via semente e via foliar mostraram maiores comprimentos radiculares quando comparados com a aplicação via solo, sendo superiores em 23% e 18%, respectivamente. Portanto, aos 28 DAE, a inoculação via semente mostrou-se preferível em relação aos outros métodos, com melhores respostas biométricas em CPA e CPR.

O fato das plantas inoculadas via solo e foliar serem amostradas apenas 7 dias pós-inoculação pode ter resultado em CPA e/ou CPR inferiores para estes tratamentos, uma vez que o tempo de interação entre os microrganismos e as plantas foi menor em cerca de 3 semanas (21 dias) quando comparados com a inoculação via semente. A aplicação de bactérias nas sementes favorece o contato mais próximo dos microrganismos com as raízes, permitindo uma colonização antecipada, aumentando as chances de estabelecimento e interação efetiva entre a planta e as bactérias (Dobbelaere *et al.*, 2001; Deaker; Roughley; Kennedy, 2004), apesar dos efeitos negativos causados pelos pesticidas utilizados nos tratamentos de sementes (Fukami *et al.*, 2016; Takahashi *et al.*, 2022).

Conforme relatado na primeira amostragem, as interações bioquímicas entre as bactérias e as plantas dependem de diversos mecanismos de reconhecimento molecular e cascatas de sinalização, os quais demandam tempo para serem plenamente estabelecidos (Oldroyd, 2013; Taiz *et al.*, 2017). A própria nodulação na cultura da soja é iniciada alguns dias após a emergência, geralmente em torno de 10 a 14 dias, após o reconhecimento da planta sobre condições limitantes de N no solo e o recrutamento das bactérias simbióticas presentes na rizosfera, especialmente *Bradyrhizobium* spp., por meio da exsudação de compostos orgânicos (Oldroyd *et al.*, 2011; Taiz *et al.*, 2017). Somente a partir desse processo a planta passa a reconhecer os microrganismos benéficos e formar as estruturas especializadas para a fixação de N, os nódulos radiculares.

Tabela 5 – Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento de parte aérea (CPA) e (B) comprimento radicular (CPR) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) aos 28 dias após emergência (DAE)

(A) CPA (cm)					(B) CPR (cm)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	39,43	36,00	35,87	37,10 A	AbV5	86,83	67,90	81,93	78,89 A
HM053	38,87	37,17	36,73	37,59 A	HM053	75,90	68,23	70,30	71,48 A
Az39	40,10	37,03	34,17*	37,10 A	Az39	83,63	64,40	84,37	77,47 A
Média	39,47 a	36,73 b	35,59 b		Média	82,12 a	66,84 b	78,87 a	
<i>Bradyrhizobium</i>	37,70				<i>Bradyrhizobium</i>	80,33			
Sem inoculação	39,47				Sem inoculação	80,83			

Legenda: Letras minúsculas fazem a comparação entre as médias das formas de co-inoculação, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas fazem a comparação entre as médias das estirpes de *Azospirillum*, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). * indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle sem inoculação (controle negativo) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Fonte: O autor.

5.1.4 4ª Amostragem (42 DAE – Estádio R3)

No período em que as plantas se encontravam no estágio fenológico R3, caracterizado pela presença de vagens nos nós superiores, foi realizada a penúltima amostragem em casa de vegetação. Nesse momento, em função da formação das vagens e posterior enchimento dos grãos, a demanda por N da cultura encontra-se em fase exponencial (Hungria *et al.*, 2006; Salvagiotti *et al.*, 2008) e a FBN tem seu pico máximo entre os estádios R3 e R5 (Zapata *et al.*, 1987; Salvagiotti *et al.*, 2008), evidenciada pela nodulação muito presente nas raízes das plantas de soja. Os efeitos das co-inoculações com *Azospirillum* passaram a ser cada vez mais pronunciadas a partir desta fase.

Não foi observado efeito da interação dos fatores, sendo constatado apenas efeito isolado das fontes de variação. Analisando o CPR (Tabela 6-A), as médias das estirpes de *Azospirillum* diferiram estatisticamente. A média das inoculações de Az39 apresentou-se superior à média de AbV5, com aumento de 20% no comprimento das raízes. Pelo teste de Dunnett, a inoculação de Az39 via solo foi estatisticamente superior ao controle não inoculado, incrementando em média 35 cm na raiz (44% de aumento).

Para MFPA (Tabela 6-B), as aplicações via semente e solo apresentaram um melhor desempenho em comparação à aplicação via foliar, sendo superiores em 14,3 e 14,7%, respectivamente. Para a variável NN (Tabela 6-C), a inoculação via solo proporcionou 31,5% a mais em nódulos do que a inoculação via foliar. Além disso, quando Az39 foi inoculada via

solo, esta apresentou uma quantidade de nódulos estatisticamente superior aos controles, incrementando 47,6% em relação à aplicação isolada de *Bradyrhizobium* e 63,2% em relação a plantas não inoculadas.

O fato de plantas inoculadas com Az39 via solo apresentarem maior NN pode estar ligado ao maior crescimento radicular. O *Azospirillum* é reconhecido, especialmente, pela sua capacidade de sintetizar AIA, o qual estimula o desenvolvimento do sistema radicular (Araujo *et al.*, 2025). Com maior CPR, a área superficial disponível para infecção por bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, responsáveis pela formação de nódulos, é consequentemente ampliada. Torres *et al.* (2022) encontraram resultados que corroboram os obtidos neste estudo, em plantas com 21 dias de idade, cultivadas em casa de vegetação. Neste trabalho, a co-inoculação da estirpe de *Bradyrhizobium japonicum* E109 com o *Azospirillum argentinense* Az39 apresentou acréscimo de 11% no número de nódulos e 22% na massa seca de raízes, em comparação à aplicação isolada de *B. japonicum* E109. Além disso, o AIA produzido por *Azospirillum* pode ser degradado por *Bradyrhizobium* e causar alterações fisiológicas nas bactérias, resultando em maior biomassa e produção de exopolissacarídeos (EPS) (Torres *et al.*, 2018; Torres *et al.*, 2021; Torres *et al.*, 2022). Isso pode aumentar a sobrevivência dos rizóbios nas sementes ou na rizosfera e melhorar o desempenho da simbiose com as plantas (Torres *et al.*, 2018; Torres *et al.*, 2021; Torres *et al.*, 2022).

Estes resultados representam a ocorrência de uma nodulação mais precoce nas plantas co-inoculadas com Az39 via solo, o que pode favorecer um acúmulo antecipado de N, desempenhando papel fundamental no suprimento deste nutriente para as plantas, podendo refletir positivamente na produtividade da cultura (Caetano-Anollés; Gresshoff, 1990; Hungria *et al.*, 2006; Salvagiotti *et al.*, 2008). Ademais, o aumento demonstrado no comprimento radicular, além de favorecer a nodulação, pode conferir maior resiliência das plantas a estresses abióticos, especialmente o hídrico, pelo maior perfil de solo explorado pelas raízes (Arzanesh *et al.*, 2011; Taiz *et al.*, 2017).

Quando se analisou a MFN (Tabela 6-D), as inoculações via semente e solo foram melhores que a inoculação via foliar, sendo superiores em cerca de 12,4%. No entanto, quando se avaliou a razão entre a MFN e a quantidade de nódulos, obtendo a MF/N (Tabela 6-E), a inoculação via semente apresentou-se superior à inoculação via solo, com incremento de 20%. Portanto, em praticamente todos os dados encontrados na quarta amostragem, a aplicação via foliar demonstrou resultados inferiores, sendo sobressaída pelas inoculações via semente ou solo, consideradas mais promissoras. Portanto, até o momento, os dados sugerem que seria preferível inocular qualquer estirpe via semente ou solo, do que aplicá-las via foliar.

Esse comportamento pode ser explicado pelo fato das estirpes AbV5 e HM053 não possuírem caráter endofítico, ao contrário da estirpe Az39 (Puente *et al.*, 2021; Takahashi *et al.*, 2024). Dessa forma, inoculações via semente ou solo favorecem o contato mais próximo das bactérias com a raiz, o principal sítio de interação das estirpes AbV5 e HM053, o que pode resultar em baixos efeitos quando aplicadas na parte aérea (Compant *et al.*, 2005; Bashan *et al.*, 2014; Takahashi *et al.*, 2024). No entanto, como discutido nos dados da segunda amostragem, estudos mostram que podem ocorrer modificações no metabolismo das plantas quando ocorre a inoculação de microrganismos e a aplicação via foliar pode favorecer essas alterações (Dobbelaere *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 2011; Rouphael; Colla, 2020).

Fukami *et al.* (2017) realizaram a inoculação via foliar da estirpe AbV5 em milho no estágio fenológico V2.5, posteriormente avaliando a permanência das bactérias nas folhas por CLSM e por contagem de UFC cm⁻² de folha. Dois dias após a inoculação, as bactérias não puderam ser mais detectadas por CLSM, apresentando uma população extremamente baixa na recuperação das folhas, com 5×10^2 UFC cm⁻², o que evidencia o comportamento rizosférico/radicular da estirpe. No entanto, resultados positivos foram encontrados pela inoculação de AbV5 via foliar em plantas de milho com aproximadamente 30 dias, com aumento no teor de clorofila e na massa seca de parte aérea em relação ao controle não inoculado. Porém, os autores sugeriram que estes resultados poderiam ser atribuídos aos metabólitos contidos nos inoculantes, e não propriamente às bactérias vivas, sendo esses compostos, principalmente AIA, indol-3-etanol (TOL), ácido indol-3-lático (AIL) e ácido salicílico (AS) (Fukami *et al.*, 2017).

Como a aplicação recomendada para *Azospirillum* via foliar na cultura da soja se dá entre os estádios V3-V4 (Puente *et al.*, 2019; Rondina *et al.*, 2020), as plantas de soja apresentam um tamanho e massa superiores às plantas de milho em estágio V2.5. Isso pode ter atenuado os efeitos do *Azospirillum* ou seus metabólitos na soja, resultando em dados inferiores em plantas inoculadas via foliar.

Tabela 6 – Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento radicular (CPR), (B) massa fresca de parte aérea (MFPA), (C) número de nódulos (NN), (D) massa fresca de nódulos (MFN) e (E) massa fresca por nódulo (MF/N) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) aos 42 dias após emergência (DAE)

(A) CPR (cm)					(B) MFPA (g)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	87,97	88,07	83,17	86,40 B	AbV5	37,13	37,07	27,93#*	34,04 A
HM053	90,53	103,37	111,77	101,89 AB	HM053	35,12	34,01	32,83	33,98 A
Az39	100,87	119,17*	90,30	103,44 A	Az39	34,54	36,09	32,67	34,43 A
Média	93,12 a	103,53 a	95,08 a		Média	35,59 a	35,72 a	31,14 b	
<i>Bradyrhizobium</i>	94,07				<i>Bradyrhizobium</i>	37,28			
Sem inoculação	82,60				Sem inoculação	35,01			

(C) NN (unid)					(D) MFN (g)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	218,00	228,67	165,33	204,00 A	AbV5	4,73	4,71	3,86	4,43 A
HM053	224,00	281,00	234,33	246,44 A	HM053	4,60	4,60	4,64	4,61 A
Az39	231,67	303,00#*	218,33	251,00 A	Az39	5,11*	5,10*	4,34	4,84 A
Média	224,55 ab	270,89 a	206,00 b		Média	4,81 a	4,8 a	4,28 b	
<i>Bradyrhizobium</i>	205,33				<i>Bradyrhizobium</i>	4,33			
Sem inoculação	185,67				Sem inoculação	3,90			

(E) MF/N (mg)				
Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	21,76	20,63	23,47	21,95 A
HM053	21,55	16,55	19,81	19,30 A
Az39	22,25	17,33	19,92	19,82 A
Média	21,85 a	18,17 b	21,06 ab	
<i>Bradyrhizobium</i>	21,28			
Sem inoculação	21,26			

Legenda: Letras minúsculas fazem a comparação entre as médias das formas de co-inoculação, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas fazem a comparação entre as médias das estirpes de *Azospirillum*, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). # indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle com inoculação apenas de *Bradyrhizobium* pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). * indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle sem inoculação (controle negativo) pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Fonte: O autor.

5.1.5 5ª Amostragem (63 DAE – Estádio R5)

A quinta e última amostragem as plantas de soja foi realizada no estágio fenológico R5, caracterizado pelo início do enchimento de grãos. Nesse período, a cultura apresenta a maior demanda por água e nutrientes ao longo de todo o ciclo, tornando-se mais sensível a estresses bióticos e abióticos, como o ataque de pragas e o déficit hídrico, os quais podem refletir na produtividade (Zapata *et al.*, 1987; Salvagiotti *et al.*, 2008; Taiz *et al.*, 2017). Além disso, a soja atinge o máximo acúmulo de matéria seca em R5, assim, a FBN também chega ao seu auge nesse período (Zapata *et al.*, 1987).

A interação entre as estirpes e métodos de inoculação foi observada em alguns parâmetros desta amostragem, porém, em CPA, avaliou-se apenas os efeitos simples dos métodos de co-inoculação. No CPA (Tabela 7-A), as aplicações via semente e solo apresentaram melhor desempenho que a via foliar, sendo superiores em 7,8 e 4,6%, respectivamente.

Para MFR (Tabela 7-B), a interação entre os fatores apresentou diferença significativa. Nesse caso, utilizando a estirpe AbV5, seria mais vantajoso inoculá-la via solo, enquanto para a estirpe Az39, a inoculação via foliar seria preferível. AbV5 inoculada no solo resultou em 49% a mais em massa fresca radicular quando comparada com Az39 inoculada no mesmo método. Porém, quando Az39 foi aplicada via foliar, esta resultou em aumento de 55% em relação à AbV5 inoculada também nas folhas. Ademais, analisando isoladamente as formas de inoculação da estirpe AbV5, quando esta foi inoculada via solo, o seu desempenho foi superior à sua aplicação foliar em 67%, reforçando as características rizosféricas da estirpe, como discutido anteriormente na quarta amostragem.

Quanto a MSR (Tabela 7-C), os dados apresentaram-se semelhantes aos de MFR. Para AbV5, as inoculações via semente e via solo seriam preferíveis ao invés da inoculação via foliar, sendo superiores em 48% e 62%, respectivamente. O mesmo caso ocorre para HM053 em que as suas aplicações via semente e solo foram superiores à aplicação foliar em 59% e 35%, respectivamente. A estirpe Az39 apresentou resultados semelhantes quanto às suas diferentes formas de co-inoculação. No entanto, analisando as três estirpes inoculadas via foliar, Az39 foi superior à AbV5 e HM053 em 47% e 44%, respectivamente. Assim como na MFR, AbV5 aplicada via solo resultou em maior MSR que Az39 também via solo, com 31%. Além disso, HM053 inoculada via semente e AbV5 via solo diferiram estatisticamente da inoculação convencional apenas com *Bradyrhizobium*, com aproximadamente 44% de incremento.

Estudando a MF/N (Tabela 7-D), a estirpe HM053 mostrou-se superior aplicando-a via semente do que via foliar (24% a mais em massa fresca), enquanto AbV5 apresentou

melhores resultados tanto na inoculação via semente quanto via solo, em relação à inoculação foliar (29% e 49% superiores, respectivamente). Além disso, AbV5 foi superior à HM053 quando as duas foram inoculadas via solo, com 26% de diferença. Adicionalmente, as aplicações de HM053 via semente e AbV5 via solo foram diferentes estatisticamente ao controle sem inoculação, com 29% e 36% de incremento, respectivamente.

Apesar da variável NDV não ter apresentado diferença estatística entre os tratamentos, quando se analisaram a MFV e MSV houve diferença estatística com interação dos fatores. Para MFV (Tabela 7-E), a estirpe com melhor desempenho na aplicação foliar foi novamente a Az39, sendo superior às estirpes AbV5 e HM053 em 27,5% e 22,6%. Além disso, quando HM053 foi inoculada via semente, houve incremento de 26% na MFV em comparação com o controle sem inoculação.

Por fim, para MSV (Tabela 7-F), os dados obtidos foram semelhantes aos de MFV, no entanto, percebe-se que as estirpes AbV5 e HM053 apresentaram melhores resultados quando aplicadas via semente, seguidas da inoculação via solo e posteriormente da via foliar. Enquanto isso, a estirpe Az39 demonstrou resultados estáveis em todos os métodos de inoculação, o que em muitos casos não significa melhores, porém, foi superior às outras estirpes quando inoculada via foliar, com aumento de 21,8% e 24,6% em relação à AbV5 e HM053, respectivamente. Adicionalmente, as aplicações via semente com AbV5 e HM053 induziram maior MSV, sendo superiores à aplicação convencional com apenas *Bradyrhizobium* (21,6% e 27,8%, respectivamente) e ao controle sem inoculação (29,6% e 36,2%, respectivamente).

Considerando os efeitos promovidos pela co-inoculação com *Azospirillum*, melhores desempenhos observados para CPA, MFR e MSR indicam que a maior área fotossintética disponível e o maior desenvolvimento do sistema radicular favorecem a exploração da energia do ambiente e a absorção de nutrientes presentes no solo (Fageria; Baligar; Li, 2014; Taiz *et al.*, 2017). Por consequência, tende-se a observar valores superiores em MF/N, uma vez que o maior aporte de fotoassimilados possibilita maior massa de células metabolicamente ativas em cada nódulo, intensificando os processos de FBN (Hungria *et al.*, 2006; Salvagioti *et al.*, 2008). Dessa forma, o aumento da FBN favorece o direcionamento dos fotoassimilados e nutrientes para a formação de estruturas de reserva e reprodutivas, como as vagens, o que pode refletir no desempenho da cultura (Sinclair; De Wit, 1975; Hungria *et al.*, 2006; Taiz *et al.*, 2017; Torres *et al.*, 2022).

Tabela 7 – Valores de parâmetros biométricos de (A) comprimento de parte aérea (CPA), (B) massa fresca radicular (MFR), (C) massa seca radicular (MSR), (D) massa fresca por nódulo (MF/N), (E) massa fresca de vagens (MFV) e (F) massa seca de vagens (MSV) de soja sob efeito de diferentes formas de co-inoculação (semente, solo e foliar) de três estirpes de *Azospirillum* (AbV5, HM053 e Az39) aos 63 dias após emergência (DAE)

(A) CPA (cm)					(B) MFR (g)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	48,93	44,53	43,77	45,74 A	AbV5	22,45 A ab	27,33 A a	16,37 B b	-
HM053	46,30	47,70	44,10	46,03 A	HM053	25,20 A a	23,85 AB a	17,72 AB a	-
Az39	46,73	45,40	43,80	45,31 A	Az39	23,34 A a	18,31 B a	25,44 A a	-
Média	47,32 a	45,88 a	43,88 b		Média	-	-	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	47,10				<i>Bradyrhizobium</i>	24,59			
Sem inoculação	46,50				Sem inoculação	23,99			
(C) MSR (g)					(D) MF/N (mg)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	6,27 A a	6,88 A a#	4,24 B b	-	AbV5	21,43 A a	24,30 A a*	16,55 A b	-
HM053	6,89 A a#	5,84 AB a	4,34 B b	-	HM053	23,03 A a*	19,30 B ab	18,61 A b	-
Az39	5,52 A a	5,26 B a	6,23 A a	-	Az39	19,61 A a	20,67 AB a	17,78 A a	-
Média	-	-	-		Média	-	-	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	4,77				<i>Bradyrhizobium</i>	19,96			
Sem inoculação	5,04				Sem inoculação	17,86			
(E) MFV (g)					(F) MSV (g)				
Inoculação					Inoculação				
Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média	Bactéria	Semente	Solo	Foliar	Média
AbV5	24,17 A a	22,94 AB a	17,67 B b#	-	AbV5	5,34 AB a#*	4,49 A b	3,62 B c	-
HM053	26,25 A a*	24,14 A a	18,38 B b#	-	HM053	5,61 A a#*	4,87 A b	3,54 B c	-
Az39	23,31 A a	19,89 B a	22,53 A a	-	Az39	4,83 B a	4,55 A a	4,41 A a	-
Média	-	-	-		Média	-	-	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	23,76				<i>Bradyrhizobium</i>	4,39			
Sem inoculação	20,85				Sem inoculação	4,12			

Legenda: Letras minúsculas fazem a comparação entre as formas de co-inoculação dentro de cada estirpe *Azospirillum*, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Letras maiúsculas fazem a comparação entre as estirpes de *Azospirillum* dentro de cada forma de co-inoculação, sendo que médias seguidas por letras iguais entre as linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). # indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle com inoculação apenas de *Bradyrhizobium* pelo teste de Dunnett ($p<0,05$). * indica diferença estatística entre os tratamentos inoculados e o controle sem inoculação (controle negativo) pelo teste de Dunnett ($p<0,05$).

Fonte: O autor.

6 CONCLUSÕES

As estirpes de *Azospirillum* foram eficazes em promover o crescimento vegetal, principalmente durante a fase reprodutiva (estádios R3 e R5).

As estirpes de *A. brasilense* AbV5 e HM053 apresentaram melhor desempenho em parâmetros biométricos quando co-inoculadas via semente e/ou solo, dependendo da variável analisada. A estirpe de *A. argentinense* Az39 proporcionou resultados similares entre os métodos de co-inoculação, mas obteve superioridade à AbV5 e HM053 quando todas as bactérias foram inoculadas nas folhas.

Houve efeito positivo entre as estirpes de *Azospirillum* e o *Bradyrhizobium* co-inoculados, como demonstrado em massa seca de vagens, melhores resultados da co-inoculação em comparação com a aplicação apenas de *Bradyrhizobium* e o controle não inoculado.

Como recomendação prática, a forma de co-inoculação depende da estirpe utilizada, priorizando a inoculação via semente para HM053, a inoculação via semente ou solo para AbV5 e qualquer método de inoculação entre semente, solo e foliar para a estirpe Az39.

Estudos futuros podem ser realizados para validar os dados aqui apresentados, avaliando a produção de AIA pelas diferentes estirpes, verificando a colonização bacteriana por técnicas moleculares, como qPCR, realizando experimentos em condições de campo, obtendo, principalmente, resultados em produtividade de grãos, entre outros.

7 REFERÊNCIAS

- ALVES, Bruno J. R.; BODDEY, Robert M.; URQUIAGA, Segundo. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 1–9, maio 2003. DOI:10.1023/A:1024191913296. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1024191913296>. Acesso em: 19 nov. 2025.
- ARAUJO, S. C. *et al.* Enhancing soybean yield through co-inoculation of *Bradyrhizobium* spp. and ammonium-excreting *Azospirillum brasilense* HM053. **Plant and Soil**, v. 513, n. 2, p. 2489–2499, 28 ago. 2025. DOI: 10.1007/s11104-025-07330-9. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-025-07330-9>. Acesso em: 20 dez. 2025.
- ARZANESH, M. H. *et al.* Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 197–205, 16 fev. 2011. DOI: 10.1007/s11274-010-0444-1. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-010-0444-1>. Acesso em: 23 mar. 2026.
- BALDANI, V. L. D. *et al.* Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. **Plant and Soil**, v. 90, n. 1–3, p. 35–46, fev. 1986. DOI: 10.1007/BF02277385. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02277385>. Acesso em: 23 mar. 2026.
- BARBOSA, J. Z. *et al.* Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 163, p. 103913, jul. 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.103913. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139321000342>. Acesso em: 23 mar. 2026.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. In: [S.l.: S.n.]. p. 77–136. DOI: 10.1016/S0065-2113(10)08002-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/bookseries/abs/pii/S0065211310080028>. Acesso em: 21 abr. 2026.
- BASHAN, Y.; DUBROVSKY, J. G. *Azospirillum* spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, n. 4, p. 435–440, nov. 1996. DOI: 10.1007/BF00335919. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00335919>. Acesso em: 12 mar. 2026.
- BASHAN, Y. *et al.* Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, v. 378, n. 1–2, p. 1–33, 19 maio 2014. DOI: 10.1007/s11104-013-1956-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-013-1956-x>. Acesso em: 12 mar. 2026.
- BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 591–608, 1 set. 1990. DOI: 10.1139/m90-105. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.1139/m90-105>. Acesso em: 18 out. 2025.

BENKE, K.; TOMKINS, B. Future food-production systems: vertical farming and controlled-environment agriculture. **Sustainability: Science, Practice and Policy**, v. 13, n. 1, p. 13–26, 20 jan. 2017. DOI: 10.1080/15487733.2017.1394054. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15487733.2017.1394054>. Acesso em: 21 abr. 2026.

BURDMAN, S.; KIGEL, J.; OKON, Y. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5–6, p. 923–929, maio 1997. DOI: 10.1016/S0038-0717(96)00222-2. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071796002222>. Acesso em: 17 ago. 2025.

BURRIS, R. H. Biological Nitrogen Fixation, 1924-1974. **Plant Physiology**, v. 54, n. 4, p. 443–449, 1 out. 1974. DOI: 10.1104/pp.54.4.443. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC367432/>. Acesso em: 17 ago. 2025.

CÁCERES, E. A. R. Improved Medium for Isolation of *Azospirillum* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 990–991, out. 1982. DOI: 10.1128/aem.44.4.990-991.1982. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC242127/>. Acesso em: 17 ago. 2025.

CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P. M. Early induction of feedback regulatory responses governing nodulation in soybean. **Plant Science**, v. 71, n. 1, p. 69–81, jan. 1990. DOI: 10.1016/0168-9452(90)90069-Z. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016894529090069Z>. Acesso em: 17 ago. 2025.

CAIRES, E. F. *et al.* Surface Application of Lime for Crop Grain Production Under a No-Till System. **Agronomy Journal**, v. 97, n. 3, p. 791–798, maio 2005. DOI: 10.2134/agronj2004.0207. Disponível em: <https://acsess.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/agronj2004.0207>. Acesso em: 17 ago. 2025.

CAMPBELL, M. M.; SEDEROFF, R. R. Variation in Lignin Content and Composition (Mechanisms of Control and Implications for the Genetic Improvement of Plants). **Plant Physiology**, v. 110, n. 1, p. 3–13, 1 jan. 1996. DOI: 10.1104/pp.110.1.3. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC157688/>. Acesso em: 04 ago. 2025.

CAMPO, R. J.; ALBINO, U. B.; HUNGRIA, M. Importance of Molybdenum and Cobalt to the Biological Nitrogen Fixation. In: **Nitrogen Fixation: From Molecules to Crop Productivity**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, [S.d.]. p. 597–598. DOI: 10.1007/0-306-47615-0_338. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/0-306-47615-0_338. Acesso em: 29 abr. 2025.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117–130, dez. 2016. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.08.020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071716302000>. Acesso em: 23 abr. 2025.

CASSÁN, F. *et al.* Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461–479, 8 maio 2020. DOI: 10.1007/s00374-020-01463-y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-020-01463-y>. Acesso em: 29 abr. 2025.

CASSÁN, F. *et al.* (ORGS.). **The Definitive Handbook of *Azospirillum***. Cham: Springer Nature Switzerland, 2025. DOI: 10.1007/978-3-032-09222-9. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-032-09222-9>. Acesso em: 21 abr. 2026.

CHATTERJEE, A. *et al.* Beneficial Microorganisms and Abiotic Stress Tolerance in Plants. In: **Approaches for Enhancing Abiotic Stress Tolerance in Plants**. Boca Raton, FL : CRC Press, Taylor & Francis Group, 2019.: CRC Press, 2019. p. 473–502. DOI: 10.1201/9781351104722-27. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351104722-27/beneficial-microorganisms-abiotic-stress-tolerance-plants-antra-chatterjee-alka-shankar-shilpi-singh-vigya-kesari-ruchi-rai-amit-kumar-patel-rai>. Acesso em: 23 abr. 2025.

CHIBEBA, A. M. *et al.* Co-inoculation of soybean with Bradyrhizobium and Azospirillum promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 06, n. 10, p. 1641–1649, 2015. DOI: 10.4236/ajps.2015.610164. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=57586>. Acesso em: 21 abr. 2026.

COMPANT, S. *et al.* Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 4951–4959, set. 2005. DOI: 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.71.9.4951-4959.2005>. Acesso em: 17 ago. 2025.

COSTA, M. M. M. N. **Fixação biológica de nitrogênio: uma revisão**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Algodão. Ministério da Agricultura e Pecuária. nov. 2023. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1162060/1/FIXACAO-BIOLOGICA-REVISAO.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2026.

DEAKER, R. Legume seed inoculation technology - a review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1275–1288, ago. 2004. DOI: 10.1016/j.soilbio.2004.04.009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0038071704001269>. Acesso em: 17 ago. 2025.

DISNER, E.; AIRES, R. **Fenologia da soja: como ela influencia na produtividade?** 2025. Disponível em: <https://www.myfarm.com.br/fenologia-da-soja/>. Acesso em: 21 abr. 2026.

DOBBELAERE, S. *et al.* Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, n. 9, p. 871–879, 26 set. 2001. DOI: 10.1071/PP01074. Disponível em: <https://connectsci.au/fp/article-abstract/28/9/871/14759/Responses-of-agronomically-important-crops-to?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 20 jun. 2025.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; LI, Y. C. Nutrient uptake and use efficiency by tropical legume cover crops at varying pH of an oxisol. **Journal of Plant Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 294–311, 28 jan. 2014. DOI: 10.1080/01904167.2013.851695. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01904167.2013.851695>. Acesso em: 20 jun. 2025.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 73, 4 dez. 2018. DOI: 10.1186/s13568-018-0608-1. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-018-0608-1>. Acesso em: 20 mar. 2026.

FUKAMI, J. *et al.* Assessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 3, 13 dez. 2016. DOI: 10.1186/s13568-015-0171-y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-015-0171-y>. Acesso em: 20 mar. 2026.

FUKAMI, J. *et al.* Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 153, 17 dez. 2017. DOI: 10.1186/s13568-017-0453-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-017-0453-7>. Acesso em: 20 mar. 2026.

GARCIA, M. V. C.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* for the soybean crop. **AMB Express**, v. 11, n. 1, p. 71, 22 dez. 2021. DOI: 10.1186/s13568-021-01230-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13568-021-01230-8>. Acesso em: 21 mar. 2026.

GARRIDO-JURADO, I. *et al.* Transient endophytic colonization of melon plants by entomopathogenic fungi after foliar application for the control of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 319–330, 29 fev. 2017. DOI: 10.1007/s10340-016-0767-2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-016-0767-2>. Acesso em: 17 jun. 2025.

HAMAOU, B. *et al.* Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. **Agronomie**, v. 21, n. 6–7, p. 553–560, set. 2001. DOI: 10.1051/agro:2001144. Disponível em: <https://www.agronomy-journal.org/articles/agro/abs/2001/06/a1601/a1601.html>. Acesso em: 14 jul. 2025.

HARDOIM, P. R. *et al.* The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 79, n. 3, p. 293–320, set. 2015. DOI: 10.1128/MMBR.00050-14. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/membr.00050-14>. Acesso em: 14 jul. 2025.

HUNGRIA, M. *et al.* **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja.** [S.d.]. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/459673/1/circTec35.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2025.

HUNGRIA, M. *et al.* Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1–2, p. 413–425, 13 jun. 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-0262-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-009-0262-0>. Acesso em: 26 jun. 2025.

HUNGRIA, M. *et al.* Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927–939, 10 out. 2006. DOI: 10.4141/P05-098. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.4141/P05-098>. Acesso em: 25 jun. 2025.

HUNGRIA, M. *et al.* The Importance of Nitrogen Fixation to Soybean Cropping in South America. In: **Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment**. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, [S.d.]. p. 25–42. DOI: 10.1007/1-4020-3544-6_3. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-3544-6_3. Acesso em: 25 jun. 2025.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Embrapa Soja, jan. 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29676/1/Inoculacao-com-azospirillum.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2026.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis? In: **Biological Nitrogen Fixation**. [S.l.]: Wiley, 2015. p. 1009–1024. DOI: 10.1002/9781119053095.ch99. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119053095.ch99>. Acesso em: 21 abr. 2026.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791–801, 12 out. 2013. DOI: 10.1007/s00374-012-0771-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-012-0771-5>. Acesso em: 18 mai. 2025.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 06, n. 06, p. 811–817, 2015. DOI: 10.4236/ajps.2015.66087. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=55340>. Acesso em: 18 mai. 2025.

JAMES, E. K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Research**, v. 65, n. 2–3, p. 197–209, mar. 2000. DOI: 10.1016/S0378-4290(99)00087-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378429099000878>. Acesso em: 18 mai. 2025.

JOSHI, A. K. Genetic Factors Affecting Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. In: **Agricultural and Food Sciences, Environmental Science, Biology**. p. 795–826, 1999. DOI: 10.1201/9780824746728.pt7. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Genetic-Factors-Affecting-Abiotic-Stress-Tolerance-Joshi/f713c801628518d489fcd444f6372063bece86f8>. Acesso em: 18 mai. 2025.

LIN, F. *et al.* Breeding for disease resistance in soybean: a global perspective. **Theoretical and Applied Genetics** 2022 **135:11**, v. 135, n. 11, p. 3773–3872, 5 jul. 2022. DOI: 10.1007/s00122-022-04101-3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35790543/>. Acesso em: 18 mai. 2025.

LI, Z. *et al.* Impacts of *Bt* maize inoculated with rhizobacteria on development and food utilization of *Mythimna separata*. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 10, p. 1105–1114, 26 dez. 2019. DOI: 10.1111/jen.12687. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jen.12687>. Acesso em: 18 mai. 2025.

LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful Plant Growth-Promoting Microbes: Inoculation Methods and Abiotic Factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 25 fev. 2021. DOI: 10.3389/fsufs.2021.606454. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/sustainable-food-systems/articles/10.3389/fsufs.2021.606454/full>. Acesso em: 14 mar. 2025.

MACHADO, H. B. *et al.* Excretion of ammonium by *Azospirillum brasilense* mutants resistant to ethylenediamine. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 7, p. 549–553, 1 jul. 1991. DOI: 10.1139/m91-092. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/m91-092>. Acesso em: 04 abr. 2025.

MARCOS BRIGNOLI, F. *et al.* Effect of different methods of inoculation and co-inoculation of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* on soybean agronomic performance in fields with a history of inoculation. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 69, n. 14, p. 2925–2937, 6 dez. 2023. DOI: 10.1080/03650340.2023.2184807. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03650340.2023.2184807>. Acesso em: 15 fev. 2026.

MARONICHE, G. A. *et al.* Phenogenetic profile and agronomic contribution of *Azospirillum argentinense* Az39T, a reference strain for the South American inoculant industry. **Microbiological Research**, v. 283, p. 127650, 1 jun. 2024. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127650. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450132400051X>. Acesso em: 21 abr. 2026.

MEHRY, A.; AKBAR, M.; GITI, E. Colonization and Nitrogenase Activity of *Triticum aestivum* (cv. Baccross and Mahdavi) to the Dual Inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 12, p. 1541–1550, 1 jun. 2008. DOI: 10.3923/pjbs.2008.1541.1550. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2008.1541.1550>. Acesso em: 05 mar. 2025.

MERCADO-BLANCO, J. Life of Microbes Inside the Plant. In: **Principles of Plant-Microbe Interactions**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 25–32. DOI: 10.1007/978-3-319-08575-3_5. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-08575-3_5. Acesso em: 05 mar. 2025.

MILES, A. A.; MISRA, S. S.; IRWIN, J. O. The estimation of the bactericidal power of the blood. **Epidemiology and Infection**, v. 38, n. 6, p. 732–749, 15 nov. 1938. DOI: 10.1017/s002217240001158x. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/estimation-of-the-bactericidal-power-of-the-blood/D0A0300D759AD6220846B4AA687436C2>. Acesso em: 20 fev. 2025.

NIEVAS, S. *et al.* Unraveling *Azospirillum*'s colonization ability through microbiological and molecular evidence. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 4, 3 abr. 2023. DOI: 10.1093/jambio/lxad071. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/article/134/4/lxad071/7110407>. Acesso em: 14 fev. 2026.

OLDROYD, G. E. D. *et al.* The Rules of Engagement in the Legume-Rhizobial Symbiosis. **Annual Review of Genetics**, v. 45, n. 1, p. 119–144, 15 dez. 2011. DOI: 10.1146/annurev-genet-110410-132549. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-genet-110410-132549>. Acesso em: 14 fev. 2026.

OLDROYD, G. E. D. Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 4, p. 252–263, 15 abr. 2013. DOI: 10.1038/nrmicro2990. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2990>. Acesso em: 21 abr. 2026.

OLIVEIRA, F. A.; CARMELLO, Q. A. C.; MASCARENHAS, H. A. A. Disponibilidade de potássio e suas relações com cálcio e magnésio em soja cultivada em casa-de-vegetação. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 329–335, jun. 2001. DOI: 10.1590/S0103-90162001000200016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/sgwBRqxwhhZTtTJmvMzxhRm/?lang=pt>. Acesso em: 27 abr. 2025.

OREN, A.; GARRITY, G. M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 71, n. 10, 20 out. 2021. DOI: 10.1099/ijsem.0.005056. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.005056>. Acesso em: 27 abr. 2025.

PUENTE, M. L. *et al.* Improvement of soybean grain nutritional quality under foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Az39. **Symbiosis**, v. 77, n. 1, p. 41–47, 4 jan. 2019. DOI: 10.1007/s13199-018-0568-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13199-018-0568-x>. Acesso em: 21 mar. 2026.

PUENTE, M. L. *et al.* Localization and survival of *Azospirillum brasilense* Az39 in soybean leaves. **Letters in Applied Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 626–633, 19 maio 2021. DOI: 10.1111/lam.13444. Disponível em: <https://academic.oup.com/lambio/article-abstract/72/5/626/6698418?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 21 mar. 2026.

RODRIGUES, T. F. *et al.* Impact of pesticides in properties of *Bradyrhizobium* spp. and in the symbiotic performance with soybean. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 11, p. 172, 17 nov. 2020. DOI: 10.1007/s11274-020-02949-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-020-02949-5>. Acesso em: 14 mai. 2025.

RONDINA, A. B. L. *et al.* Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 537–549, 26 maio 2020. DOI: 10.1007/s00374-020-01453-0. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-020-01453-0>. Acesso em: 12 abr. 2025.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 4 fev. 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.00040. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2020.00040/full>. Acesso em: 06 mai. 2025.

SAATH, K. C. O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195–212, jun. 2018. DOI: 10.1590/1234-56781806-94790560201. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/resr/a/DdPXZbMzxby89xBDg3XCTgr/?lang=pt>. Acesso em: 03 mar. 2025.

SALVAGIOTTI, F. *et al.* Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. **Field Crops Research**, v. 108, n. 1, p. 1–13, jul. 2008. DOI: 10.1016/j.fcr.2008.03.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378429008000555?via%3Dihub>. Acesso em: 02 mar. 2025.

SFREDO, G. J. **Enxofre: nutriente necessário para maiores rendimentos da soja**. Embrapa Soja, set. 2007. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/470730/1/2007CircularTecnica.n.53.Enxofre21x28OK.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2025.

SINCLAIR, T. R.; DE WIT, C. T. Photosynthate and Nitrogen Requirements for Seed Production by Various Crops. **Science**, v. 189, n. 4202, p. 565–567, 15 ago. 1975. DOI: 10.1126/science.189.4202.565. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.189.4202.565>. Acesso em: 21 abr. 2026.

TAKAHASHI, W. Y. *et al.* Impact of seed-applied fungicide and insecticide on *Azospirillum brasilense* survival and wheat growth-promoting ability. **Letters in Applied Microbiology**, v. 74, n. 4, p. 604–612, 1 abr. 2022. DOI: 10.1111/lam.13645. Disponível em: <https://academic.oup.com/lambio/article-abstract/74/4/604/6989178?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 28 mai. 2025.

TAKAHASHI, W. Y. *et al.* Tracking maize colonization and growth promotion by *Azospirillum* reveals strain-specific behavior and the influence of inoculation method. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 215, p. 108979, out. 2024. DOI: 10.1016/j.plaphy.2024.108979. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0981942824006478>. Acesso em: 28 mai. 2025.

TARRAND, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 8, p. 967–980, 1 ago. 1978. DOI: 10.1139/m78-160. Disponível em: <https://cdnsiencepub.com/doi/10.1139/m78-160>. Acesso em: 14 mar. 2025.

TELLES, T. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Economic value of biological nitrogen fixation in soybean crops in Brazil. **Environmental Technology & Innovation**, v. 31, p. 103158, ago. 2023. DOI: 10.1016/j.eti.2023.103158. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186423001542>. Acesso em: 14 mar. 2025.

TORRES, D. *et al.* Molecular and physiological analysis of indole-3-acetic acid degradation in *Bradyrhizobium japonicum* E109. **Research in Microbiology**, v. 172, n. 3, p. 103814, abr. 2021. DOI: 10.1016/j.resmic.2021.103814. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250821000279>. Acesso em: 20 abr. 2025.

TORRES, D. *et al.* New insights into auxin metabolism in *Bradyrhizobium japonicum*. **Research in Microbiology**, v. 169, n. 6, p. 313–323, jul. 2018. DOI: 10.1016/j.resmic.2018.04.002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250818300585>. Acesso em: 14 mar. 2025.

TORRES, D. *et al.* Previous Incubation of *Bradyrhizobium japonicum* E109 and *Azospirillum argentinense* Az39 (formerly *A. brasilense* Az39) Improves the *Bradyrhizobium*-Soybean Symbiosis. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 22, n. 4, p. 4669–4682, 29 dez. 2022. DOI: 10.1007/s42729-022-00948-z. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42729-022-00948-z>. Acesso em: 20 abr. 2025.

TORRES, M. A.; JONES, J. D. G.; DANGL, J. L. Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 373–378, 1 jun. 2006. DOI: 10.1104/pp.106.079467. Disponível em: <https://academic.oup.com/plphys/article-abstract/141/2/373/6115139?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 29 mai. 2025.

WALKER, V. *et al.* Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. **New Phytologist**, v. 189, n. 2, p. 494–506, 13 jan. 2011. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03484.x. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2010.03484.x>. Acesso em: 29 mai. 2025.

WANG, H. *et al.* *Azospirillum isscasi* sp. nov., a bacterium isolated from rhizosphere soil of rice. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 74, n. 1, 12 jan. 2024. DOI: 10.1099/ijsem.0.006218. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.006218>. Acesso em: 28 abr. 2025.

WANG, L.; PETERSON, R. B.; BRUTNELL, T. P. Regulatory mechanisms underlying C₄ photosynthesis. **New Phytologist**, v. 190, n. 1, p. 9–20, 8 abr. 2011. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03649.x. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2011.03649.x>. Acesso em: 28 abr. 2025.

UN World Population Prospects. **World Population Prospects**, 2024. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/>. Acesso em: 19 abr. 2026.

ZAPATA, F. *et al.* Time Course of Nitrogen Fixation in Field-Grown Soybean Using Nitrogen-15 Methodology ¹. **Agronomy Journal**, v. 79, n. 1, p. 172–176, jan. 1987. DOI: 10.2134/agronj1987.00021962007900010035x. Disponível em: <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2764757>. Acesso em: 28 abr. 2025.

ANEXO A – COMPROVANTES DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO EM EVENTO
TÉCNICO-CIENTÍFICO



Certificado

Certificamos que o trabalho “CO-ENCAPSULAMENTO DE BACTÉRIAS AZOSPIRILLUM BRASILENSE E BRADYRHIZOBIUM SPP. EM HIDROGEL DE ALGINATO: BIOTECNOLOGIA PARA AUMENTAR A PRODUTIVIDADE DA SOJA ” foi apresentado no XIV EAITI – ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO, realizado nos dias 28 e 29 de novembro de 2024, proposto pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, PROPESP, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO.

Autor: ANGELO AUGUSTO LEVANDOSKI FERRANDO, CPF 09*.792.*69.**.

Coautores: RAFAEL MAZER ETTO, orientador, CPF 27*.042.*68.**; EDUARDA GUERLINGUER, CPF 13*.454.*69.**; VICTOR HUGO DOMINGUES, CPF 11*.435.*99.**; CAROLINA WEIGERT GALVÃO, CPF 00*.345.*89.**; MICHELE KAROLINE LIMA TENÓRIO, CPF 06*.463.*59.**; ERNANDES TAVEIRA TENÓRIO NETO, CPF 95*.607.*01.**.

208345

poder ser validado em <https://evento.unicentro.br/certificados/localizar/DCA3A860>

Angelo

Rafael

Lucia de Souza



XXXIV Encontro Anual
de Iniciação Científica
XI Encontro Anual de
Iniciação Científica Júnior

CERTIFICADO

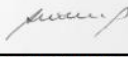
Certificamos que o trabalho EFEITO DE DIFERENTES ESTIRPES DE AZOSPIRILLUM NA INOCULAÇÃO DO TRIGO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE HÍDRICO, foi apresentado por ANGELO AUGUSTO LEVANDOSKI FERRANDO, sob a orientação do(a) Prof(ª). RAFAEL MAZER ETTO, no XXXIV Encontro Anual de Iniciação Científica e XI Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior, realizado nos dias 04, 05 e 06 de novembro de 2025, na Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Coautores: CAROLINA WEIGERT GALVÃO, EDUARDO AUGUSTO AGNELLOS BARBOSA, ROSANA MACHADO DA MOTA, EDUARDA GUERLINGUER e PEDRO MONTEIRO DE ALMEIDA.

Ponta Grossa, novembro de 2025.



Profª Drª Barbara Celânia Fiorin
Coordenadora do XXXIV EAIC e XI EAIC
JR



Prof. Dr. Renê Francisco Hellman
Pró-reitor de Pesquisa e Pós-graduação

REALIZAÇÃO:



APOIO:



Pode ser visualizado em https://sisve.apps.uepg.br/pt_BR/certificados/0d77406a929f91e25c1f9eb730bd5ce - Gerado em 29/11/2025 13:24