



DESENVOLVIMENTO DA SOJA SUBMETIDA A DIFERENTES FORMAS DE INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium japonicum* E *Azospirillum brasilense*

*Development of soybean submitted to different forms of inoculation and coinoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense**

Carlos José de Mesquita¹
Tácio Perez da Silva²

Resumo: A inoculação e coinoculação são processos que utilizam as bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, melhorando o desenvolvimento das plantas. A eficiência desses processos relaciona-se às formas de aplicação dos inoculantes e da utilização de produtos químicos e forma conjunta com essas bactérias. O objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento vegetativo da cultura *Glycine max*, relacionada as diferentes formas de inoculação e coinoculação das bactérias *B. japonicum* e *A. brasilense*. As formas de inoculação e coinoculação dessas bactérias foram aplicação na semente pré-plantio, via sulco de semeadura e por pulverização no estágio vegetativo da planta (V2). O trabalho foi desenvolvido com 11 tratamentos e 4 repetições, totalizando 44 parcelas, e como Testemunhas os tratamentos com semente pura (sem nenhuma forma de inoculação), semente inoculada com *B. japonicum* e semente inoculada com *A. brasilense*. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com parcelas de 4m x 2m e área útil para avaliação de 2m x 1m. Os inoculantes utilizados foram RIZOKOP (KOPPERT, Piracicaba, SP., Brasil) para *B. japonicum* e, AZOKOP (KOPPERT, Piracicaba, SP., Brasil) para *A. brasilense*. As variáveis analisadas foram altura de planta (cm), número de nódulos, massa fresca dos nódulos (g), comprimento da raiz principal (cm), massa fresca das raízes (g) e massa fresca da parte aérea (g). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, onde se verifica a influência significativa dos tratamentos para algumas das variáveis consideradas. Conclui-se que o tratamento 11, com as três formas de inoculação associadas, apresentou melhor resultado para número de nódulos, massa fresca da parte aérea e massa fresca dos nódulos. Para massa fresca da raiz, os tratamentos 2 (inoculação com *B. japonicum*) e 6 (*B. japonicum* + *A. brasilense*)

¹ Bacharel Engenharia Agrônoma. Centro Universitário do Sul de Minas.

² Doutor Fitotecnia. Centro Universitário do Sul de Minas. tacio.silva@professor.unis.edu.br

obtiveram melhores resultados. As demais variáveis analisadas não foram influenciadas por nenhum dos tratamentos.

Palavras-chave: *Glycine Max.* Inoculante. Nitrogênio. Fixação biológica.

Abstract: Inoculation and coinoculation are processes that use the bacteria Bradyrhizobium japonicum and Azospirillum brasilense, improving plant development. The efficiency of these processes is related to the forms of application of inoculants and the use of chemical products and jointly with these bacteria. The objective of this work was to evaluate the vegetative development of the Glycine max culture, related to the different forms of inoculation and coinoculation of the bacteria B. japonicum and A. brasilense. The forms of inoculation and coinoculation of these bacteria were application in the seed before planting, via sowing furrow and spraying in the vegetative stage of the plant (V2). The work was carried out with 11 treatments and 4 repetitions, totaling 44 plots, and as Controls the treatments with pure seed (without any form of inoculation), seed inoculated with B. japonicum and seed inoculated with A. brasilense. The design used was in randomized blocks, with plots of 4m x 2m and useful area for evaluation of 2m x 1m. The inoculants used were RIZOKOP (KOPPERT, Piracicaba, SP., Brazil) for B. japonicum and AZOKOP (KOPPERT, Piracicaba, SP., Brazil) for A. brasilense. The variables analyzed were plant height (cm), number of nodules, nodule fresh mass (g), taproot length (cm), root fresh mass (g) and shoot fresh mass (g). Data were subjected to analysis of variance and Scott-Knott test at 5% probability, where the significant influence of treatments for some of the variables considered was verified. It was concluded that treatment 11, with the three forms of associated inoculation, presented the best result for the number of nodules, fresh mass of the aerial part and fresh mass of the nodules. For fresh root mass, treatments 2 (inoculation with B. japonicum) and 6 (B. japonicum + A. brasilense) obtained better results. The other analyzed variables were not influenced by any of the treatments.

Keywords: *Glycine Max.* Inoculant. Nitrogen. Biological fixation..

1 INTRODUÇÃO

Na cultura da soja a fixação biológica de nitrogênio (FBN) representa um dos principais fatores que contribuem para competitividade da cultura no mercado. A utilização dessa tecnologia que é difundida de forma ampla e utilizada pelos produtores, traz uma grande economia com fertilizantes nitrogenados.

A inoculação e coinoculação são processos que, através da utilização das bactérias *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, melhoram o desenvolvimento das plantas. A eficiência desses processos está diretamente ligada às formas como são aplicados os inoculantes e também com utilização de outros produtos de forma conjunta com essas bactérias.

As bactérias pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* são responsáveis por intensificar a produção na cultura da soja. Esses microrganismos infectam as raízes da planta formando nódulos e criando uma relação simbiótica com a mesma. Depois de infectadas, dentro das raízes ocorre a quebra da tripla ligação do dióxido de nitrogênio atmosférico (N₂), transformando esse N em uma forma assimilável pelas plantas. A fixação biológica do nitrogênio (FBN) supre toda necessidade de N da planta, não sendo necessária adubação mineral.

As bactérias associativas são microrganismos benéficos responsáveis por promover o crescimento das plantas através da produção de fitormônios. Destacam-se nesse grupo as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, já utilizadas no mundo como inoculantes para gramíneas.

Dadas as principais e potenciais limitações da FBN nas lavouras de soja, e a contribuição benéfica da inoculação com *A. brasilense* para diversas culturas, entende-se que a coinoculação com esses dois organismos de maneira simultânea melhora o desempenho das culturas, abordando preocupações como a busca da sustentabilidade agrícola, econômica, social e do meio ambiente. Embora os estudos em outros países já reportem os benefícios da coinoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, torna-se necessária à condução de ensaios em condições brasileiras.

Visando diminuir os problemas da inoculação via sementes, têm sido testadas novas formas de aplicar os inoculantes. Dentre elas a aplicação no sulco de plantio e via barra de pulverização são técnicas que vem mostrando resultados significativos. Embora não seja muito utilizada, se torna interessante o uso pelo fato de não se ter morte das bactérias causada por fungicidas e com o inoculante podendo ser aplicado em diferentes estádios fenológicos da soja.

Considerando a importância da fixação biológica do nitrogênio para cultura da soja, justifica-se então o estudo da melhor forma de aplicação dos inoculantes, visando garantir um maior número de bactérias viáveis no solo e melhorando a associação entre planta e bactéria.

Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento vegetativo da soja (*Glycine max*) submetida a diferentes formas de inoculação e coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Bactérias simbióticas na soja

As bactérias responsáveis por formar os nódulos nas raízes da soja, foram classificadas por alguns anos na espécie *Rhizobium japonicum*. Com base nos avanços dos estudos taxonômicos das bactérias, foram detectadas diferenças genéticas entre as estirpes dessa bactéria (equivalentes a cultivares ou raças de patógenos), levando a uma reclassificação em duas novas espécies, *B. japonicum* e *B. elkanii* (HUNGRIA, CAMPO & MENDES, 2007; GRISA, 2020).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) se tornou um dos pilares de sustentabilidade na produção de soja no Brasil, trazendo vários benefícios não só para o produtor como também ao meio ambiente, pois elimina o uso dos fertilizantes nitrogenados nessa cultura, gerando um aumento na competitividade do produto junto ao mercado externo, trazendo um menor impacto ao meio ambiente. Esse processo ocorre por simbiose entre as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* juntamente com as raízes das plantas de soja, na qual formam nódulos servindo de abrigo e proteção para as bactérias. Nessa relação simbiótica a planta hospedeira fornece nutriente e fontes de energia para as bactérias sobreviverem e em troca elas capturam o nitrogênio atmosférico (N₂) onde, através da enzima nitrogenase que é sintetizada pela bactéria, ocorre à redução da amônia, transformando-a em compostos nitrogenados que serão exportados para a planta (PRANDO et al. 2020).

De acordo com Hungria e Nogueira (2020) seria inviável o cultivo da soja no Brasil se todo N necessário para suprir as demandas da planta fosse advindo de fertilizantes industrializados. No entanto, as bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, criam uma associação simbiótica juntamente com o sistema radicular da soja, na qual fornece todo nitrogênio necessário para a cultura se desenvolver.

Em áreas no primeiro ano de cultivo ou onde não se cultiva a soja há muito tempo, a inoculação se torna essencial, devido à ausência ou a baixa população das bactérias fixadoras de nitrogênio. Já em áreas com cultivo frequente, onde a aplicação do inoculante é realizada com frequência e a população de bactérias já esta estabelecida, recomenda-se a aplicação do inoculante como forma de manter o nível desejável de bactérias no solo. De acordo com pesquisas, o ganho com a inoculação anual de *Bradyrhizobium* nas áreas de cultivo tradicional

da soja é de 8%, o que representa um retorno significativo levando em conta o baixo custo do inoculante (MERCANTE et al., 2011; HUNGRIA & MENDES, 2015; HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

2.2 Bactérias Diazotróficas

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) fazem parte de um grupo de microrganismos capazes de beneficiar às plantas, colonizando a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e também tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOEPPER et al., 1989; GRISA, 2020).

O gênero *Azospirillum* é um grupo de bactérias associativas na qual, através do complexo da enzima dinitrogenase transforma o N₂ atmosférico em amônia, porém, não ocorre a simbiose entre a bactéria e a planta. Do nitrogênio transformado apenas parte é fixado para a planta, que já pode ser considerado o suficiente, proporcionando benefícios. O nitrogênio restante será mineralizado com a morte das células bacterianas e liberado no solo, ficando disponível para a planta (HUNGRIA, 2011; COPETTI, 2021).

Observa-se que entre os benefícios da interação entre bactérias do gênero *Azospirillum* com as plantas está a biossíntese de hormônios como auxinas, citocininas e giberelinas (COHEN et al, 2009; COPETTI, 2021).

2.3 Formas de Inoculação e coinoculação

Atualmente são comercializados no Brasil dois tipos de inoculantes, o turfoso e os líquidos. As formulações que são comercializadas devem ter sua eficiência agrônômica comprovada, de acordo com as normas da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE), e aprovadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Na prática, o indicado é que a inoculação seja feita a sombra e a semeadura efetuada no mesmo dia, principalmente quando a semente for tratada com fungicida e micronutriente, mantendo

protegida do sol e de temperaturas excessivas. Em caso de não efetuar a semeadura em um período de até 24h após a inoculação, o procedimento deve ser repetido. Os inoculantes que possuem ou que vierem acompanhados de protetores celulares específicos registrados no MAPA para essa finalidade e que garantam a viabilidade da bactéria na semente devem seguir as orientações de acordo com fabricante (HUNGRIA & MENDES, 2015; HUNGRIA & NOGUEIRA 2020).

Além da inoculação com *Bradyrhizobium* utilizada há décadas, a Embrapa passou a indicar o uso em conjunto de outra bactéria na soja, através de um processo denominado coinoculação (HUNGRIA, NOGUEIRA & ARAUJO, 2013; PRANDO et al., 2020). A bactéria *A. brasiliense* utilizada em coinoculação na soja, já vem sendo utilizada nas culturas de milho, trigo e arroz desde 2009 (HUNGRIA, 2011; HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020; PRANDO et al., 2020). Essa bactéria possui baixa capacidade de FBN quando comparada a *Bradyrhizobium*, no entanto sua principal atividade é atuar no processo microbiano da síntese de fitormônios responsáveis por promover o crescimento vegetal, e principalmente o sistema radicular, ampliando o sistema de raízes, aumentando a área de solo explorado e favorecendo quando em associação com a *Bradyrhizobium* à nodulação e a FBN (PRANDO et al., 2020).

2.3.1 Inoculação via sementes

Para aplicação do inoculante turfoso, as sementes devem ser umedecidas utilizando solução açucarada a 10% (100 g de açúcar e completar para um litro de água) aplicando 300 ml/50 kg de sementes. Após umedecer as sementes o inoculante é adicionado, realizando a homogeneização para garantir o contato com todas as sementes. Após realizar a mistura recomenda-se deixar secar a sombra. A mistura da solução açucarada/adesiva e do inoculante nas sementes, deve ser feita utilizando equipamento próprio, como tambor giratório ou betoneira (HUNGRIA, CAMPO & MENDES, 2007; GRISA, 2020).

De acordo com Hungria e Nogueira (2020), para inoculante líquido a aplicação deve ser feita diretamente na semente homogeneizando e deixando secar a sombra para secar. Não é recomendada a mistura de inoculantes com os produtos químicos, os quais são utilizados no tratamento de sementes (o “sopão”). Em caso de uso desses produtos, é recomendado primeiro realizar o tratamento das sementes com os químicos deixando secar e, em uma segunda operação, fazer a inoculação das sementes.

A distribuição do inoculante seja ele turfoso ou líquido, deve ser uniforme em todas as sementes, garantindo assim o benefício da FBN para todas as plantas. A aplicação do inoculante

não deve ser feita diretamente na caixa da semeadora, devido ao processo não permitir uma boa homogeneização das bactérias com as sementes da soja. A utilização do inoculante de forma tradicional tem se mostrado ineficiente, devido à inoculação em conjunto com fungicidas, inseticidas e micronutrientes. Essa mistura causa toxidez às bactérias e pode causar danos a sementes (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

2.3.2 Inoculação via sulco de plantio

Devido ineficiência das bactérias causada pela toxidez na mistura com produtos deletérios utilizados no tratamento de sementes, tem sido difundida uma pratica na qual a aplicação do rizóbio é feita via sulco de semeadura, juntamente com a distribuição das sementes na instalação da lavoura. Essa pratica pode ser indicada devido à facilidade que o rizóbio tem de se estabelecer e sobreviver em solos com substratos orgânicos disponíveis, visando também diminuir os efeitos ocasionados por condições adversas no momento de implantação da lavoura, como solos com temperaturas elevadas e secos, e que também evita as bactérias terem contato com produtos que possam causar sua morte, diminuindo o número de células viáveis na semente (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

Para Hungria e Nogueira (2020), na aplicação no sulco de plantio, a dose de inoculante deve ser equivalente no mínimo a 2,5 milhões de células para cada semente. Nas áreas novas ou em solos arenosos, onde a pratica da inoculação não é realizada há vários anos, recomenda-se utilizar, no mínimo, o dobro da dose indicada pelo fabricante. Na aplicação via sulco de plantio o volume de calda a ser utilizado, de forma geral, não deve ser inferior a 50 L/ha, o que melhora a distribuição das bactérias no solo, salvo em casos onde o equipamento garanta uma distribuição homogênea utilizando menor volume. Esse método se mostra vantajoso, pois, reduz os efeitos tóxicos sobre as bactérias, causados por produtos químicos que são utilizados no tratamento de sementes.

2.3.3 Inoculação via foliar

Quando a falha na nodulação é constatada na lavoura, é necessário que o produtor adote estratégias no intuito de contornar o problema. Dentre as saídas utilizadas pelos produtores na maioria das vezes é utilizar a adubação nitrogenada mineral, elevando assim os custos de produção. Uma das alternativas utilizada pelos produtores é a aplicação do inoculante diluído em água em cobertura na lavoura após a emergência, o que empiricamente tem obtido respostas positivas. Resultados obtidos através de trabalho conduzido na Tailândia, através da inoculação

em pós-emergência, realizada na linha de plantio da soja, até 15 dias após o plantio, utilizando inoculante na proporção de 10^6 células bacterianas por plântula, obteve-se massa de matéria seca das plantas, nodulação e rendimento de grãos iguais aos dados obtidos através da inoculação realizada no plantio (ZILLI et al., 2008; GRISA, 2020).

A inoculação através da pulverização sobre o solo após a semeadura tem sido feita por alguns produtores, evitando o contato das bactérias com produtos deletérios. No entanto, em pesquisas com inoculação via pulverização, os resultados obtidos foram muito menos eficazes, quando comparado com a inoculação via sementes e também no sulco de plantio. Além disso, a eficácia da pulverização pode ser ainda menor caso realizada em condições adversas, como umidade do solo e do ar baixa e alta radiação solar, devido à sensibilidade das bactérias a dessecação e também a incidência de raios ultravioleta. Caso haja a necessidade desse tipo de aplicação, a fim de corrigir erros ocasionados no momento da semeadura, o recomendado é realizar a aplicação no final de tarde, solo úmido e utilizando volume grande de calda (200 L/ha) direcionado ao solo, e se possível, efetuar a irrigação da área inoculada após a aplicação, a fim de garantir que as bactérias cheguem aos novos segmentos das raízes suscetíveis a formação dos nódulos (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

2.3.4 Coinoculação

Outros microrganismos capazes de resultar ganhos de rendimento na soja têm sido estudados. O primeiro registro concedido foi para uso de *A. brasilense*, bactéria responsável por promover o crescimento de plantas, sendo inoculada em associação com *B. japonicum*. Foram obtidos ganhos 16% em média no rendimento de grãos da soja, através da coinoculação *Bradyrhizobium* com *Azospirillum* (HUNGRIA, NOGUEIRA & ARAUJO, 2013; NOGUEIRA et al., 2018).

Foi observada também uma precocidade de nodulação resultante da coinoculação. É importante que o agricultor use somente inoculantes a base de *Azospirillum* registrados no MAPA para uso na cultura da soja, devido à concentração de células para essa finalidade ter eficiência agrônômica comprovada (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

Segundo Prando et al. (2020), na nodulação da soja coinoculada utilizando *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* se mostrou mais abundante e precoce, chegando a obter um ganho médio de 16% quando comparado com a inoculação somente com *Bradyrhizobium*. Além disso, foram obtidos com a coinoculação vários incrementos impactantes no desenvolvimento das raízes de soja, como número maior de ramificações, densidade e

comprimento, maior incidência e comprimento dos pelos radiculares, implicando assim em um melhor aproveitamento da água e dos nutrientes e um aumento na superfície para a nodulação e FBN.

O processo de coinoculação, ainda se encontra em franca expansão por ser uma tecnologia mais recente, já atinge aproximadamente 25% das áreas de soja cultivadas no Brasil segundo a Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes - ANPII. Outro fator que preocupa está relacionado fato de que nem todos os produtores realizam os processos de inoculação ou coinoculação executando por meio das boas praticas que são recomendadas pela pesquisa, interferindo assim no resultado positivo de ambos os processos (PRANDO, et al. 2020).

2.4 Adubação nitrogenada

Os resultados obtidos com mais de 200 ensaios de pesquisa conduzidos em todas as regiões de cultivo da soja, mostraram uma redução na nodulação quando aplicado fertilizante nitrogenado além de não incrementar a produtividade da soja. As aplicações tanto na semeadura quanto em cobertura também se mostraram ineficazes, nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta, tanto em sistema convencional como de plantio direto, nas cultivares de ciclo curto ou longo, em crescimento determinado ou indeterminado, sendo transgênica ou não. Essa conclusão é sustentada de acordo com várias doses de fertilizante nitrogenado e em aplicações feitas na semeadura, ou posteriormente, a lanço ou pulverização, no florescimento até o início do enchimento de grãos, bem como no pleno enchimento de grãos (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

Ainda de acordo com Hungria e Nogueira (2020), os fertilizantes com algum conteúdo de N têm sido comumente utilizados, como por exemplo, em formulações que contem fosfato monoamônio (MAP) como fonte de P. As formulações mais comuns de forma geral resultam em um aporte bruto de 20 kg/ha⁻¹ de N, correspondendo um aporte líquido de 10 kg. ha⁻¹ de N, com uma eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados dificilmente superiores a 50%. Diante disso, esse aporte líquido equivaleria a apenas 3,6% dos 280 kg. ha⁻¹ de N utilizados pela soja para produzir 3500 kg. ha⁻¹ de grãos. Essa quantidade de N embora insuficiente para suprir as plantas durante seu ciclo pode inibir a nodulação. Diante disso, a utilização de fontes que carreguem N deve ser utilizada somente se forem mais econômicas que fontes sem N, respeitando o aporte de 20 kg. ha⁻¹ de nitrogênio, para não trazer prejuízos à nodulação.

2.5 Micronutrientes e a fixação biológica no nódulo

A utilização dos micronutrientes Co e Mo são indispensáveis para a eficiência da FBN em grande parte dos solos onde o cultivo da soja é realizado no Brasil. Atualmente as doses indicadas para aplicação são de 2 a 3 g.ha⁻¹ de Co e 12 a 25 g.ha⁻¹ de Mo (SFREDO & OLIVEIRA, 2010; HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020). A aplicação deve ser realizada, de preferência, via pulverização entre os estádios V3-V5, evitando o contato com as bactérias na semente. As doses indicadas para aplicação foliar são as mesmas utilizadas na semente (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2020).

No processo da fixação biológica, o N₂ é transformado em NH₃ utilizando a energia da planta. O complexo, enzima nitrogenase responsável pela fixação do nitrogênio no nódulo é formado por duas unidades proteicas, a ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-ferro-proteína (Mo Fe-proteína) (TAÍZ & ZIEGER, 2004; SILVA, 2019).

O Níquel (Ni), elemento constituinte da enzima hidrogenase, exerce influência direta na (FBN). O nitrogênio (N) advindo da FBN é transportado por ureídeos, compostos do metabolismo secundário das plantas, responsáveis por catalisar no final do transporte, a molécula da ureia, que será metabolizada pela uréase posteriormente (McCLURE, 1979; KLUCAS, 1983; GRISA, 2020).

Para que ocorra a ativação da enzima nitrogenase na FBN é necessário o estabelecimento de condições anaeróbicas. Os nódulos formados possuem uma heme proteína que é chamada de leghemoglobina que se liga ao oxigênio presente em altas concentrações nos nódulos. A globina é produzida pela planta em resposta a infecção da bactéria, tendo esta proteína uma alta afinidade por O₂. Tanto a leghemoglobina como também a barreira de difusão de oxigênio é importante na regulação da tensão de oxigênio no nódulo, protegendo o complexo da enzima nitrogenase de ser inativado pelo oxigênio (FAGAN et al, 2007; SILVA, 2019).

Dos fatores ambientais importantes que vão impactar na fixação biológica do nitrogênio, a ocorrência de deficiência hídrica traz um efeito negativo nas diferentes etapas da nodulação e atividade nodular, além de afetar a sobrevivência da bactéria no solo. Outro fator que também afeta a sobrevivência do rizóbio no solo, a infecção das raízes, formação dos nódulos e a atividade de fixação são as altas temperaturas (FERREIRA, 2003; GRISA, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no ano safra 2022/2023, na região sul de Minas Gerais, no município de Campos Gerais, com as seguintes coordenadas de latitude 21°19'10" S e longitude 45°45'57" W, e altitude de 778 m (GOOGLE EARTH, 2022). Segundo a classificação de Köppen, o clima do local de execução é do tipo Cwa, a temperatura média é de 20,8°C e a pluviosidade média anual de 1460 mm (CLIMATE, 2022). O solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (LUMBRERAS, 2018).

A condução do experimento foi realizada em uma área de com histórico de plantio de milho e feijão. A análise de solo foi realizada antes da implantação, à profundidade de 0 a 20 cm, mostrou as seguintes características: pH 5,43; K, 32 mm/dm⁻³; P 2,43 mg/dm⁻³; Ca, 3,37 cmolc dm⁻³; Mg, 0,9 cmolc dm⁻³; matéria orgânica, 2,36 dag/kg⁻¹; alumínio trocável, 0 cmolc dm⁻³, T 6,80; V% 64 e B 1,1 (PROCAFE, 2022).

No preparo do solo, realizado em junho de 2022, constitui-se da aplicação de calcário 1,28 ton.ha⁻¹, e gradagem para incorporação no solo. Na adubação de plantio foram aplicados 120 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples utilizando 23,5 kg na área, e 120 kg.ha⁻¹ de K₂O na forma de Cloreto de potássio utilizando 7 kg na área do experimento. A aplicação de fosforo (P) foi realizada toda em sulco de plantio, já o potássio (K) foi aplicado 50% 15 dias antes do plantio e os outros 50% no sulco na semeadura.

O plantio ocorreu no dia 18 de setembro de 2022, utilizando a cultivar a Cordius® C2531 E, categoria C2, soja com capacidade produtiva e nível tecnológico alto. Uma cultivar de ciclo superprecoce estimado de 92 a 116 dias e com hábito de crescimento indeterminado. O produto comercial utilizado como fonte de *Bradyrhizobium japonicum* foi o inoculante RIZOKOP®, estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 (5x10⁹ UFC/mL), sendo usado na semente 2 mL/Kg de semente como dose recomendada (KOPPERT, 2022). Como fonte de *Azospirillum brasilense* foi utilizado o inoculante AZOKOP®, estirpes Abv5 e Abv6 (2x10⁸ UFC/mL), sendo usado na semente 2 mL/Kg de semente como dose recomendada (KOPPERT, 2022).

A aplicação na semente foi realizada em tambor giratório, misturando até obter uma cobertura uniforme conforme as doses descritas na tabela 1. Para aplicação via sulco de plantio foi utilizado pulverizador Costal Simétrico de Alavanca (SP 20 Litros Guarany), utilizando bico de jato dirigido da marca Guarany (modelo U81180000) regulado para uma vazão 200 L.ha⁻¹, sendo utilizados 10 ml de calda por metro linear. Para aplicação via barra, foi utilizado bico de pulverização do tipo leque da marca Magno Jet (modelo BD110 03) regulado para a vazão de 300 L.ha⁻¹, utilizando 15 ml de calda por metro linear. Para dosagem de cada tratamento foram

utilizadas 2 seringas (3 ml), separadas para cada produto. Foi realizada a tríplice lavagem da bomba e das seringas após a aplicação de cada tratamento, para evitar contaminações.

Em todos os tratamentos, com exceção do tratamento 1 (semente pura), as sementes foram tratadas com o fungicida tiofanato metílico (Cercobin 500SC®) e o inseticida imidacloprido (Gaucho FS®), na dose de 50 mL 50 kg⁻¹ para os dois produtos. Também foram utilizados os micronutrientes, Cobalto (5 g ha⁻¹) + Molibdênio (25 g ha⁻¹), aplicados em pulverização no estádio V3. Todos os tratamentos exceto o tratamento T1 (somente semente, sem tratamentos e nenhuma adubação) foram tratados com fungicida e micronutrientes. Nos tratamentos T2, T3, T4, T5 e T11 a inoculação e coinoculação com as bactérias na semente foi realizada em última etapa, após a secagem dos demais produtos aplicados.

Foram estabelecidos 11 tratamentos, seguindo o delineamento experimental de blocos ao acaso (DBC), com 4 repetições, totalizando 44 parcelas. Na semeadura foi utilizada semeadora/adubadora manual (“matraca”), regulada com duas sementes para cada acionamento. As parcelas tiveram dimensões de 4,0 m de comprimento x 2 m de largura (4 linhas espaçadas de 0,50 cm), com 16 sementes por metro linear, totalizando um estande de 320.000 plantas.ha⁻¹ (ou plantas/ha⁻¹). As avaliações foram realizadas nas duas linhas centrais de cada parcela, utilizando 10 plantas (5 plantas de cada linha), coletadas de forma aleatória em uma área útil de 2m². O experimento foi conduzido realizando-se os tratos fitossanitários necessários e recomendados para a cultura na região. Como controle foi utilizado o tratamento com semente pura sem inoculação, tratamento inoculando semente com *Bradyrhizobium Japonicum* e o tratamento inoculando a semente com *Azospirillum Brasilense*. Os demais tratamentos foram inoculação e coinoculação de *Bradyrhizobium Japonicum* e *Azospirillum Brasilense* na semente, via sulco de plantio e por pulverização no estádio V2 (Tabela1).

Tabela 1: Relação e descrição dos tratamentos testados no experimento, com aplicação dos inoculantes RIZOKOP® (*Bradyrhizobium japonicum*) e AZOKOP® (*Azospirillum brasilense*), na formulação líquida, em diferentes doses e modos de aplicação na soja.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
Tratamento 1	Testemunha (semente pura)
Tratamento 2	<i>B. japonicum</i> (dose recomendada de 0,38 mL) * SEMENTE
Tratamento 3	<i>A. brasilense</i> (dose recomendada de 0,38mL) *SEMENTE.
Tratamento 4	<i>B. japonicum</i> (dose recomendada de 0,38mL) + <i>A. brasilense</i> (dose recomendada de 0,38ml) *SEMENTE.
Tratamento 5	<i>B. japonicum</i> (3 doses de 1,14 mL) + <i>A. brasilense</i> (3 doses de 1,14 mL) *SEMENTE.

Tratamento 6	<i>B. japonicum</i> (dose recomendada de 0,96 mL) + <i>A. brasilense</i> (dose recomendada de 0,96mL) * SULCO
Tratamento 7	<i>B. japonicum</i> (3 doses de 2,88 mL) + <i>A. brasilense</i> (3 doses de 2,88mL) * SULCO.
Tratamento 8	<i>B. japonicum</i> (6 doses de 5,76 mL) + <i>A. brasilense</i> (6 doses de 5,76mL) * SULCO.
Tratamento 9	<i>B. japonicum</i> (6 doses de 5,76 mL) *PULVERIZAÇÃO em V2 + <i>A. brasilense</i> (3 doses de 1,14mL) *SEMENTE
Tratamento 10	<i>B. japonicum</i> (6 doses de 5,76 mL) + <i>A. brasilense</i> (6 doses de 5,76 mL) * PULVERIZAÇÃO em V2
Tratamento 11	<i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> (3 doses de 1,14mL cada) * SEMENTE + <i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> (3 doses de 2,88 mL cada) * SULCO + <i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> (3 doses de 2,88 mL cada) PULVERIZAÇÃO em V2.

RIZOKOP, 1 dose = 100 mL/50 kg semente ou 300 mL.ha⁻¹ via sulco. AZOKOP, 1 dose = 100 mL.ha⁻¹ ou 300mL.ha⁻¹ via sulco.

Foram avaliadas 40 plantas para cada tratamento, utilizando 5 plantas de cada linha totalizando 10 plantas em cada parcela com as mesmas plantas para todas as variáveis analisadas. As variáveis analisadas foram altura de planta (centímetros), utilizando fita métrica graduada (1,5m), medindo da base do solo até o último trifólio desenvolvido, sendo realizadas duas avaliações, uma no estágio V2 e a última no estágio V6. Avaliação da nodulação, utilizando raízes intactas para contagem. A coleta foi realizada mantendo o volume de solo pré-estabelecido com 20 cm de profundidade e 40 cm de largura, com auxílio de uma pá de corte. Os nódulos foram lavados, destacados, contados e pesados em balança de precisão (0,1g) para determinar a massa fresca dos nódulos (gramas). O comprimento da raiz principal (centímetros) determinado utilizando fita métrica, medindo da base de inserção no solo até o ápice da raiz principal. A massa fresca da raiz e da parte aérea determinadas concomitantemente à variável anterior, utilizando as 10 plantas coletadas, na qual as amostras foram armazenadas em papel “Kraft” para facilitar a pesagem.

Os dados coletados das variáveis analisadas foram submetidos a Análise de Variância (ANAVA) e ao teste de média Scott-Knott, ao nível de 5% de significância com o auxílio do software SISVAR® (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Segunda avaliação no estágio V6

Os resultados obtidos na análise de variância dos dados relativos a número de nódulos, massa fresca da parte aérea, massa fresca da raiz e massa fresca dos nódulos na segunda avaliação demonstraram diferenças estatísticas significativas para inoculação e coinoculação via sementes, via sulco de plantio e via barra de pulverização, conforme apresentado nas tabelas 4 e 5. Para as variáveis, altura de planta e comprimento de raiz, não foi encontrada diferenças significativas conforme observado nas tabelas 4.

Tabela 4: Resumo da análise de variância para altura de planta (AP), comprimento de raiz (CR), número de nódulos (NN), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) e massa fresca dos nódulos (MFN) de soja no estágio V6, sob diferentes formas de inoculação e coinoculação. Campos Gerais, MG, 2022.

F. V	GL	QUADRADOS MEDIOS					
		AP	CR	NN	MFPA	MFR	MFN
Tratamentos	10	0,90ns	0,106ns	0,00**	0,00**	0,00**	0,00**
Blocos	3	0,95ns	0,494ns	0,094ns	0,985ns	0,34ns	0,2532
CV%		9,54	11,09	12,93	10,67	14,18	12,81
Médias		24,70	14,71	2,72	8,30	1,69	0,073

*ns= não significativo, * significativo a 5% de probabilidade, ** significativo a 1% pelo teste F.

4.2.1 Altura de planta

A análise de variância dos dados relativos à altura de plantas pela segunda medição no estágio V6 não houve diferenças estatísticas significativas para as aplicações de inoculante na semente, via sulco de plantio, em barra de pulverização e na associação das 3 formas de inoculação e coinoculação conforme pode ser observado na tabela 4.

Essa falta de diferença significativa em relação à altura de planta foi encontrada também por Mauricio Filho, Silva e Souza (2018), avaliando o desempenho agrônomico e produtividade da cultura da soja com a coinoculação *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*.

4.2.2 Comprimento de raiz

Os dados relativos a comprimento de raiz, não demonstraram resultados significativos para comprimento de raiz segundo a análise de variância, para nenhuma das formas de aplicação do inoculante, seja ela feita na semente antes do plantio, na aplicação via sulco no momento do plantio, em barra de pulverização no estágio V2 ou nas três formas de aplicação de forma simultânea, conforme os dados da tabela 4.

4.2.3 Numero de nódulos

Por meio dos resultados obtidos para o número de nódulos, foi possível observar que houve diferenças significativas entre os tratamentos conforme apresentado nas tabelas 4 e 5.

O número de nódulos obtidos nos tratamentos se mostrou baixo, quando comparados com encontrado em diversos trabalhos utilizando bactérias *Bradyrhizobium japonicum*, ficando abaixo do ideal em todos os tratamentos. A baixa nodulação ocorre principalmente pelo fato de ser uma área de abertura e o solo encontrar-se com baixa população de bactérias, como pode ser observado no tratamento 1 (semente sem inoculação) onde não ocorreu a formação de nódulos. Segundo Evans (2005), o baixo incremento na nodulação fica ainda mais evidente quando se comparam áreas de primeiro ano, com áreas onde já possuem população de bactérias estabelecidas, percebendo-se claramente a dificuldade de estabelecimento em solo ainda não cultivado com soja. Os resultados obtidos neste experimento reforça necessidade de inoculação da soja em áreas de primeiro cultivo e sua reinoculação nos anos seguintes, para permitir a sobrevivência e a naturalização da população de *Bradyrhizobium* em níveis desejáveis e eficientes no solo.

O tratamento 11, com aplicações na semente, no sulco de plantio e em barra de pulverização apresentou maior nodulação em comparação aos demais tratamentos. Seguindo o tratamento 11, observa-se que os tratamentos 10, 9, 7 e 5 obtiveram medias melhores quando comparado aos demais tratamentos, ficando abaixo somente do tratamento 11.

Esses resultados corroboram com os obtidos por Zilli et al (2008) em trabalho semelhante, onde o aumento da nodulação foi constatado em plantas de soja com a inoculação sendo realizada em cobertura, o que certamente ocorreu devido a aplicação do inoculante, pois, diante da análise da população de rizóbios, constatou-se que o solo da área não apresentava bactérias nodulantes de soja o que não proporcionava nodulação efetiva das plantas. No presente trabalho é possível observar no tratamento 1 (semente pura) que não houve nodulação com bactérias já existentes no solo, comprovando que a nodulação ocorrida foi advinda dos tratamentos utilizados.

4.2.4 Massa fresca da parte aérea

Referente aos resultados obtidos para Massa fresca da parte aérea houve diferenças significativas como apresentado nas tabelas 4 e 5. O tratamento 11 (aplicação via semente, via sulco de plantio e barra de pulverização), tratamento 10 (aplicação via pulverização), tratamento 6 (aplicação via sulco de semeadura) e tratamento 4 (aplicação na semente) obtiveram melhores resultados para Massa fresca da parte aérea, quando comparado aos demais tratamentos.

De acordo com trabalho realizado por Domingues Neto et al., (2013), o uso de *A. brasilense* aplicado via foliar em milho verde ocasionou aumento de 18% na massa fresca da parte aérea e de 33% na massa fresca das raízes comparado à testemunha (sem aplicação). Esses dados corroboram com os do presente trabalho, onde se observa que o tratamento 11, onde foi utilizada a bactéria *A. brasilense* em associação com *B. japonicum* nas três formas de aplicação, apresentou a melhor média para produção de massa fresca da parte aérea.

4.2.5 Massa fresca da raiz

Para os dados de Massa fresca da raiz, foi possível observar diferenças significativas, obtendo-se maior peso no tratamento 6 (aplicação via sulco de plantio) e tratamento 2 (aplicação na semente). Para os demais tratamentos não houve diferença significativa, ficando abaixo dos tratamentos 6 e 2, como pode ser observado na tabela 5.

Em trabalho desenvolvido por Finoto et al. (2017), mostram que para massa fresca da raiz, tratamentos onde envolveram a coinoculação em doses elevadas houve destaque em comparação aos demais, obtendo maior peso de raiz.

A coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* via sulco de plantio pode garantir uma maior população de bactérias no momento da germinação, proporcionando o maior número de células, isso permite a formação de nódulos de forma mais abundante e eficiente junto à coroa da planta, o que favorece a fixação biológica de nitrogênio mais rapidamente. Consequentemente, propicia maiores rendimentos na soja. Diante disso a interação biológica entre bactérias dos gêneros *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* suprem as necessidades das plantas, não sendo necessária a utilização da adubação mineral nitrogenada na soja.

4.2.6 Massa fresca dos nódulos

Os dados avaliados referentes ao número de nódulos mostram diferenças estatísticas, como apresentado nas tabelas 4 e 5. O tratamento 11 (aplicação via semente, via sulco de plantio e barra de pulverização) obteve maior peso dos nódulos, seguido pelos tratamentos 10 (aplicação via pulverização), com as maiores médias em relação aos demais tratamentos. Os dados mostram que a aplicação dos inoculantes nas três formas de aplicação do inoculante (três vezes a dose recomendada de *B. japonicum* e *A. brasilense* na semente + três vezes a dose recomendada de *B. japonicum* e *A. brasilense* no sulco + três vezes a dose recomendada de *B. japonicum* e *A. brasilense* em pulverização), proporciona melhores resultados de nodulação e conseqüentemente maior massa fresca dos nódulos.

De acordo com Finoto et al. (2017), em trabalho semelhante, verificou-se que no tratamento onde foi realizada a coinoculação de *Azospirillum brasilense* na dose de 120 mL/60 Kg de semente e *Bradyrhizobium japonicum* na dose de 75mL/ 60 Kg de semente, obteve os melhores resultados quanto à massa fresca de nódulos totais apresentando e massa fresca da parte aérea.

Em trabalho semelhante desenvolvido por Braccini et al. (2016), com coinoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, mostrou que os tratamentos onde foram empregados inoculação padrão na semente com *B. japonicum*, e associada com diferentes doses e formas de aplicação de *A. brasilense*, observou-se aumento no número de nódulos e no peso de nódulos quando comparados com os tratamentos em que não foram aplicados os inoculantes. Esses dados corroboram com os apresentados no presente trabalho, mostrando que a associação das diferentes formas de aplicação nos inoculantes, garante maior população de bactérias no solo, proporcionando melhor nodulação e maior massa fresca dos nódulos.

Tabela 5: Resultados médios de número de nódulos-NN, massa fresca da parte aérea-MFPA, massa fresca da raiz-MFR e massa fresca dos nódulos-MFN de soja no estágio V6. Campos Gerais, MG, 2022.

TRATAMENTOS	NN (unid. pl ⁻¹)	MFPA (g. pl ⁻¹)	MFR (g. pl ⁻¹)	MFN (g. pl ⁻¹)
T1 (semente pura)	0,00f	7,67b	1,49b	0,000g
T2 (<i>B. japonicum</i> -dose recomendada na semente)	1,57d	7,56b	2,14a	0,060e
T3 (<i>A. brasilense</i> dose recomendada na semente)	0,16f	7,63b	1,60b	0,030f
T4 (<i>B. japonicum</i> dose recomendada + <i>A. brasilense</i> dose recomenda na semente)	0,95e	9,26a	1,70b	0,050e

T5 (<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>-três vezes a dose recomendada na semente)	3,57c	6,64b	1,21b	0,057e
T6 (<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>- dose recomendada no sulco)	1,60d	10,10a	2,19a	0,055e
T7 (<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>-três vezes a dose recomendada no sulco)	3,42c	8,25b	1,50b	0,085c
T8 (<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>-seis vezes a dose recomendada no sulco)	2,07d	8,19b	1,73b	0,050e
T9 (<i>B. japonicum</i>- seis vezes a dose recomendada em pulverização+ <i>A. Brasilense</i>- três vezes a dose recomendada na semente)	3,22c	8,35b	1,69b	0,070d
T10 (<i>B. japonicum</i> + <i>A. brasilense</i>-seis vezes a dose recomendada doses em pulverização)	5,67b	8,64a	1,70b	0,157b
T11 (<i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> três vezes a dose recomendada na semente+ <i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> três vezes a dose recomendada no sulco + <i>B. japonicum</i> e <i>A. brasilense</i> três vezes a dose recomendada em pulverização)	7,72a	8,99a	1,68b	0,195a
CV%	12,93	10,67	14,18	12,81
Médias	2,72	8,30	1,69	0,073

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições de execução dessa pesquisa, conclui-se que houve diferença significativa entre as formas de inoculação e coinoculação para as variáveis de número de nódulos, massa fresca da parte aérea, massa fresca das raízes e massa fresca dos nódulos.

A aplicação dos inoculantes via semente, sulco de semeadura e em barra de pulverização no mesmo tratamento, se destacou entre os demais para as variáveis número de nódulos, massa fresca da parte aérea e massa fresca dos nódulos, indicando que a aplicação do inoculante nas três formas, garante maior número de bactérias viáveis no solo mesmo em área de abertura.

A aplicação de *B. japonicum* (dose recomendada) na semente e *B. japonicum* + *A. brasilense* (dose recomendada) no sulco de semeadura, proporcionou melhor resultado para massa fresca das raízes.

A baixa nodulação obtida mostra a dificuldade do produtor em estabelecer a população adequada de bactérias no solo. Esses resultados demonstram a importância da realização dos processos de inoculação e coinoculação de forma constante nos anos seguintes, a fim de aumentar a população de bactérias no solo e obter melhores resultados na cultura.

REFERÊNCIAS

BRACCINI, A. L. et al. Coinoculação e modos de aplicação de e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, p. 27-35, 2016.

COHEN, A.C.; TRAVAGLIA, C.N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P.N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany**, Ottawa, v.87, n.5, p.455-462, 2009.

COPETTI, J. F. **Inoculação e coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*, em cultivares de soja de diferentes grupos de maturação**. 2021. (Dissertação) In: Universidade Federal da Fronteira Sul: <https://rd.uffrs.edu.br/handle/prefix/4315>. Acesso em: 30 Mar. 2022.

CLIMATE-DATA. **Clima Minas Gerais, Campos Gerais**. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/campos-gerais-765181/>. Acesso em: 28 Abr. 2022.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, v.6, p.282-286, 1988.

DOMINGUES NETO, F. J. et al. Influência de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento vegetativo, produção de forragem e acúmulo de massa seca da aveia preta. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, 2014.

EVANS, J. An evaluation of potential *Rhizobium* inoculant strains used for pulse production in acidic soils of south-east Australia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 45, n. 3, p. 257-268, 2005.

FAGAN, E. B. et al. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja-Revisão. **Revista da FZVA**, v. 14, n. 1, p. 89-106, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, MG, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, Dec. 2011.

FERREIRA, C. M.; PELOSO, M. J.; FARIA, L. C. **Solos**. Embrapa Arroz e Feijão, Sistemas de Produção, 2. ISSN 1679-8869 Versão eletrônica, Jan/2003.

FINOTO, E. L. et al. **Desenvolvimento e produção de soja coinoculada com *Azospirillum brasilense* em semeadura direta sobre palhico de cana crua.** Encontro técnico sobre as culturas da soja e do milho no noroeste paulista, v. 2, p. 9-14, 2017.

GOOGLE EARTH. [Campos Gerais]. [2021]. Disponível em: <https://earth.google.com/web/@-21.3196751,-45.76565693,778.62162064a,145.78027417d,30y,0h,0t,0r>. Acesso em: 25 maio 2022.

GRISA, N. **Diferentes formas de inoculação e coinoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja.** 2020. (Dissertação) In: Universidade Federal da Fronteira Sul: < <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/4015>>. Acesso em: 24 Mar. 2022.

HUNGRIA, M. ; NOGUEIRA, M. A. **Fixação biológica de nitrogênio.** Embrapa Soja- Capítulo em livro científico, 2020.

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

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation.** v.2. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p. 1009-1023

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo / Mariângela Hungria.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos n.395. Embrapa Soja, ISSN 1516-781X).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 33, 2013, Londrina. **Resumos expandidos...** Brasília, DF: Embrapa, 2013.

KOPPERT. **Inoculantes biológicos Rizokop- *Bradyrhizobium japonicum* cepas SEMIA 5079 e 5080 e Azokop-*Azospirillum brasilense* cepas AbV5 e AbV6.** Disponível em: <https://www.koppert.com.br/produtos-e-solucoes/>. Acesso em: 28 Ago. 2022.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology.** v.7, p.39-43, 1989.

KLUCAS, R. V.; HANUS, F. J.; RUSSEL, S. A.; EVANS, H. **Nickel:** A micronutrient element for hydrogen-dependent growth of *Rhizobium japonicum* and for expression of urease activity in soybean leaves. Dept. of Agricultural Biochemistry, Univ. of Nebraska, Lincoln, EUA. 1983.

LUMBRERAS, J. F. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** Brasília, DF: Embrapa Solos, 2018. 356 p.

MAURICIO FILHO, J.; SILVA, C. H. S.; SOUZA, J. E. B. DESEMPENHO AGRONÔMICO E PRODUTIVIDADE DA CULTURA DA SOJA COM A CO-INOCULAÇÃO DE *Bradyrhizobium* E *Azospirillum brasilense*. **Ipê Agronomic Journal**, v. 2, n. 2, p. 46-57, 2018.

MCCLOURE, P. R.; ISRAEL, D. W. **Transport of Nitrogen in the Xylem of Soybean Plants**. American Society of Plant Biologists. EUA. 1979.

MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B. **Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 4 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 169).

NOGUEIRA, M. A. et al. **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na Cultura da soja na safra 2017/18 no Estado do Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2018.

PRANDO, A. M. et al. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2019/2020 no Paraná**. 2020.

PROCAFE. FUNDAÇÃO DE APOIO A TECNOLOGIA CAFEEIRA. **Laboratório de solos e folhas**. Varginha, 2022.

SFREDO, G. J.; OLIVEIRA, M. C. N. de. **Soja: molibdênio e cobalto**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 322).

SILVA, V. H. da; et al. **Doses complementares de inoculante *Bradyrhizobium japonicum* via foliar em diferentes estádios fenológicos na cultura de soja**. Universidade Federal de Mato Grosso. Sinop, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. ARTMED 3. ed. Porto Alegre-Rs, Brasil 2004.

ZILLI, J. E.; et al. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 4, p. 541-544, 2008