



Universidade Federal
de São João del-Rei

RAYSSA SIMÃO MACHADO

**SELEÇÃO DE ESTIRPES EFICIENTES DE *Azospirillum* VISANDO
COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* NA CULTURA DA SOJA**

**Sete Lagoas
2022**

RAYSSA SIMÃO MACHADO

**SELEÇÃO DE ESTIRPES EFICIENTES DE *Azospirillum* VISANDO
COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, da Universidade Federal de São João del-Rei, *Campus Sete Lagoas*, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, na área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ivanildo Evódio Marriel
Coorientador: Dr. Evandro Chartuni Mantovani

**Sete Lagoas
2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M149s Machado, Rayssa Simão.
SELEÇÃO DE ESTIRPES EFICIENTES DE Azospirillum
VISANDO COINOCULAÇÃO COM Bradyrhizobium NA CULTURA
DA SOJA / Rayssa Simão Machado ; orientador Prof.
Dr. Ivanildo Evódio Marriel; coorientador Dr.
Evandro Chartuni Mantovani. -- Sete Lagoas, 2022.
46 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Ciências Agrárias) -- Universidade Federal de São
João del-Rei, 2022.

1. Coinoculação. 2. Azospirillum. 3.
Bradyrhizobium. 4. Soja. 5. Nitrogênio. I. Marriel,
Prof. Dr. Ivanildo Evódio , orient. II. Mantovani,
Dr. Evandro Chartuni , co-orient. III. Título.

RAYSSA SIMÃO MACHADO

**SELEÇÃO DE ESTIRPES EFICIENTES DE *Azospirillum* VISANDO
COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* NA CULTURA DA SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, da Universidade Federal de São João del-Rei, *Campus* Sete Lagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, na área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ivanildo Evódio Marriel
Coorientador: Dr. Evandro Chartuni Mantovani

Sete Lagoas, 26 de agosto de 2022.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Ubiraci Gomes de Paula Lana – EMBRAPA Milho e Sorgo

Prof^a. Dr^a. Cristiane Alcantara dos Santos - UFSJ

Prof. Dr. Ivanildo Evódio Marriel
Orientador - EMBRAPA Milho e Sorgo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 A cultura da soja	2
2.2 Fontes de nitrogênio	3
2.3 Rizóbios e a fixação biológica de nitrogênio na soja	4
2.4 <i>Azospirillum</i>	5
2.5 Coinoculação	7
3. MATERIAS E MÉTODOS	9
3.1 Localização e condução do experimento	9
3.2 Preparo dos vasos de Leonard	9
3.3 Preparo do substrato	10
3.4 Preparo da Solução de Norris	10
3.5 Semeadura	10
3.6 Inoculação	10
3.7 Desbaste	11
3.8 Características agronômicas avaliadas na cultura da soja	11
3.9 Análises Estatísticas	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4.1 Características agronômicas avaliadas na cultura da soja	12
4.1.1 Massa seca da raiz	12
4.1.2 Massa seca da parte aérea	15
4.1.3 Massa seca dos nódulos	19
4.1.4 Quantidade dos nódulos	22
4.1.5 Conteúdo de nitrogênio	25
4.1.6 Relação nitrogênio parte aérea/raiz	29
5. CONCLUSÕES	33
6. REFERÊNCIAS	34

SELEÇÃO DE ESTIRPES EFICIENTES DE *Azospirillum* VISANDO COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* NA CULTURA DA SOJA

RESUMO - A sojicultura no Brasil vem ocupando posição de destaque no agronegócio mundial, sendo um dos grãos de maior produção. Devido ao bom desempenho e à alta produtividade, cresce a procura por variedade de inoculantes que contribuem para a nodulação e para o aumento da produtividade. A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), realizada por bactérias diazotróficas, como as do gênero *Bradyrhizobium* é vista como uma das estratégias para reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados, na agricultura, para aumentar produção. Uma técnica em uso, mas que sofre limitação de cepas é a técnica de coinoculação, onde bactérias promotoras de crescimento são selecionadas e coinoculadas com *Bradyrhizobium*. Diante dos fatos, o objetivo deste trabalho é selecionar estirpes eficientes de *Azospirillum*, compatíveis com *Bradyrhizobium*, visando avaliar a coinoculação na cultura da soja. Foram utilizados 17 tratamentos, sendo: 15 estirpes de *Azospirillum*, retiradas da coleção de microrganismos multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, coinoculados com rizóbio, um com inoculação apenas de *Bradyrhizobium*, sob dois níveis de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N, 30 kg ha⁻¹ de N), além de um tratamento adicional, equivalente a 90 kg ha⁻¹ de N sem inoculação. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições. Os parâmetros avaliados foram: quantidade de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, conteúdo de N e relação de N. Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, o teste Scott Knott foi realizado, para teste de contraste e para análise conjunta a 5% de probabilidade, através do programa estatístico SISVAR. As estirpes E07, BD12, BDF145.1 e E2142, coinoculadas com *Bradyrhizobium*, resultaram maior eficiência que o tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N e que o tratamento apenas de *Bradyrhizobium*, na maioria dos parâmetros analisados. As estirpes de *Azospirillum* se mostraram eficientes em coinoculação com *Bradyrhizobium*, na cultura da soja. A fertilização nitrogenada, na cultura da soja, pode ser substituída por coinoculação, preservando o meio ambiente e gerando economia no gasto com adubação.

Palavras-chave: Inoculante. Nitrogênio. Bactérias diazotróficas.

SELECTION OF EFFICIENT *Azospirillum* STRAINS FOR COINOCULATION WITH *Bradyrhizobium* IN SOYBEAN CULTURE

ABSTRACT - Soybean farming in Brazil has been occupying a prominent position in the world of agribusiness, being one of the most productive grains. Due to good performance and high productivity, the demand for a variety of inoculants that contribute to nodulation and increase productivity is growing. Biological Nitrogen Fixation (BNF), performed by diazotrophic bacteria, such as the genus *Bradyrhizobium*, is seen as one of the strategies to reduce the use of nitrogen fertilizers in agriculture to increase production. The co-inoculation technique, which suffers from strain limitation, is where growth-promoting bacteria are selected and co-inoculated with *Bradyrhizobium*. Given the facts, this work aims to select efficient strains of *Azospirillum* compatible with *Bradyrhizobium* to evaluate the co-inoculation in soybean. Seventeen treatments were used, as follows: 15 strains of *Azospirillum*, taken from the collection of multifunctional microorganisms of Embrapa Corn and Sorghum, co-inoculated with rhizobium, one with inoculation only of *Bradyrhizobium*, under two nitrogen levels (12 kg ha⁻¹ of N, 30 kg ha⁻¹ of N), in addition to additional treatment, equivalent to 90 kg ha⁻¹ of N without inoculation. The experimental design was randomized blocks with three replications. The parameters evaluated were: the number of nodules, dry mass of nodules, root dry mass, shoot dry mass, N content, and N ratio. The results were submitted to analysis of variance, and when significant, the Scott Knott test was performed for contrast test and joint analysis at 5% probability through the SISVAR statistical program. Strains E07, BD12, BDF145.1, and E2142, co-inoculated with *Bradyrhizobium*, were more efficient than the treatment with 90 kg ha⁻¹ of N with *Bradyrhizobium* alone in most parameters analyzed. *Azospirillum* strains proved to be efficient in co-inoculation with *Bradyrhizobium* in soybean. Nitrogen fertilization in soybean can be replaced by co-inoculation, preserving the environment and generating savings in fertilizer costs.

Keywords: Inoculant. Nitrogen. Diazotrophic bacteria.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) tem origem chinesa e foi introduzida no Brasil, em 1914, onde obteve sucesso de produção, no Rio Grande do Sul, devido às condições climáticas, similares à região de origem (APROSOJA BRASIL, 2020). Atualmente, o Brasil ocupa uma posição de destaque no agronegócio mundial, sendo o maior produtor de soja (EMBRAPA, 2022).

A produtividade da sojicultura brasileira está ligada, principalmente, ao bom manejo do solo e ao uso racional de nutrientes, como o nitrogênio (N), elemento determinante para o bom desempenho agrícola da soja, juntamente com o estímulo do seu crescimento. O N é responsável pelo acréscimo da produtividade e do teor de proteína das sementes da soja (FAGAN et al., 2007). O manejo de N tem sido uma das práticas mais estudadas, no sentido de melhorar sua eficiência e seu uso, na área de fertilidade do solo, devido ao potencial de resposta das culturas e aos altos custos do nutriente (OKUMURA et al., 2011).

Perante ao bom desempenho da produção, a demanda de novas tecnologias, para aumentar a produtividade, cresce cada vez mais. Uma prática que tem sido muito aceita no mercado é a utilização de inoculantes, que contribuem para a nodulação, visando maior fixação biológica de nitrogênio (FBN), conseqüentemente, aumentando a produtividade de grãos da cultura (CHIBEBA et al., 2015; OKUMA et al., 2019).

A forma de obtenção de N, de maior custo benefício, é através da fixação biológica de N₂, que, no caso da soja, ocorre pelo estabelecimento de uma relação simbiótica (FACHINELLI, 2020). A prática de inoculação de sementes com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, visando a FBN com o objetivo de aumentar a produtividade da soja, há muito se estabelece com sucesso em todo o mundo (CHIBEBA et al., 2015). Juntamente com essa prática, estudos têm demonstrado eficiência, quando essa inoculação é realizada em conjunto com estirpes de bactérias, promotoras de crescimento em plantas (BPCPs).

A técnica alternativa de coinoculação, também denominada inoculação mista, consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, os quais produzem um efeito sinérgico, em que se superam os resultados produtivos, obtidos com os mesmos quando utilizados na forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2009).

Dentre as bactérias, do gênero *Azospirillum*, as estirpes da espécie *A. lipoferum* e *A. brasilense*, se destacam nos estudos publicados, como eficientes para coinoculação em diversas culturas, mas esse é um número limitado de estirpes disponíveis no mercado. Assim, há necessidade de ampliar esses estudos, visando seleção de novas estirpes eficientes de *Azospirillum*, que promovem um adicional de produção na soja.

Diante dos fatos, o objetivo principal deste trabalho é selecionar estirpes de *Azospirillum*, visando avaliar a eficiência da coinoculação com *Bradyrhizobium*, em relação ao crescimento inicial e à incorporação de N da planta de soja.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da soja

A soja (*Glycine max* L.), foi citada pela primeira vez, a mais de 5.000 anos, pelo imperador chinês Shen-nung, que deu início ao cultivo de grão para a produção de tofu (leite de soja coalhado), substituindo a proteína animal da carne, do leite, do queijo, do pão e do óleo, como alternativa ao abate de animais. A soja era uma espécie selvagem, que difere muito da soja cultivada atualmente. A introdução oficial do grão, no Brasil, foi em 1914, no Rio Grande do Sul, uma vez que o estado apresentava as condições climáticas similares às das regiões produtoras nos Estados Unidos. Sua produção no Brasil tem início em 1970, quando a indústria de óleo começa a ser ampliada. Um dos importantes agentes do processo de introdução da sojicultura, nos outros estados do país, foi o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, de novas cultivares produtivas, adaptadas às condições climáticas e resistentes as principais doenças e pragas das regiões produtoras, como o Centro-Oeste. Outros importantes avanços, na área da pesquisa, foram o manejo de solos e a rotação de culturas, o manejo de adubação e a calagem, a fixação biológica de nutrientes e a caracterização dos principais fatores responsáveis por perdas no processo de colheita. Esse processo de consolidação da sojicultura no Brasil foi fundamental, para o desenvolvimento de toda uma cadeia produtiva, além de permitir maior viabilidade comercial para a atividade pecuária, como matéria-prima para a produção de ração animal (APROSOJA BRASIL, 2020).

Classificado como oleaginoso, o grão de soja é geralmente associado à matéria prima para a fabricação de óleo vegetal, mas a produção possui uma ampla utilização em

diversos setores industriais como: Produção de biodiesel brasileiro; Substituição da proteína animal em diversos alimentos destinados à pessoas vegetarianas e intolerantes à lactose, inclusive lactantes e dependentes de tratamentos hormonais, como a menopausa; Veterinária; Farmacêutica; Cosméticos; Tinturas; E outros ramos da indústria alimentícia, como bebidas, chocolates, massas e congelados (APROSOJA BRASIL, 2020).

O grão da soja foi o grão de maior produção no Brasil, na safra de 2020/21, segundo dados do CONAB (2021) e o USDA (2021), publicados em EMBRAPA (2022), com 135,409 milhões de toneladas, num total de 362,947 milhões de toneladas mundial. A exportação, em toneladas, da soja em grãos, farelo e óleo, em 2019, gerou ao país U\$ 32,6 bilhões (AGROSTAT, 2020). Pode-se afirmar que, o constante crescimento da produção de soja no Brasil, é efeito dos avanços científicos em pesquisas, focadas no atendimento da demanda externa e do desenvolvimento rápido de tecnologias (EMBRAPA, 2020).

2.2 Fontes de nitrogênio

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade, pela cultura da soja, por ser um constituinte dos ácidos nucléicos e devido ao elevado teor de proteína dos grãos (HUNGRIA et al., 2007; ROBERTO et al., 2010). Atua na atividade enzimática, integrando a molécula de clorofila, de aminoácidos e de proteínas que estão ligados a processos vitais da planta, como crescimento, desenvolvimento, fotossíntese e respiração (MALAVOLTA et al., 2007). Em contrapartida, esse nutriente apresenta problemas de aplicação, como a baixa eficiência de utilização pelas plantas, por causa da sua alta perda por lixiviação, por desnitrificação e por volatilização (SMITH et al., 2007), resultando em impactos ambientais negativos relevantes (CAMILO et al., 2017).

A demanda para produção de 1000 kg de grãos é de 80 kg de N (HUNGRIA et al., 2001). A soja pode obter esse N de quatro fontes: o solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica; a fixação não-biológica; os fertilizantes nitrogenados; e o processo de FBN atmosférico (N₂). O N disponível no solo, pela decomposição de matéria orgânica é limitado, sendo esgotado rapidamente por alguns cultivos. A fixação não-biológica, disponibiliza N no solo, através de processos naturais como as descargas elétricas, a combustão e o vulcanismo, contribuindo apenas com 10% da entrada de N no solo. A aplicação de N, via fertilizantes nitrogenados, resulta em baixa eficiência de

utilização, sendo raramente superior a 50%, assim, seria necessário o dobro da aplicação para obter o nível de produção, ou seja, 160 kg de N, para produzir os mesmos 1000 kg de grãos de soja. E por fim, a FBN, realizada por microrganismos do solo (HUNGRIA et al., 2007).

O manejo de N tem sido uma das práticas mais estudadas, no sentido de melhorar sua eficiência e seu uso, na área de fertilidade do solo, devido ao potencial de resposta das culturas e aos altos custos do nutriente. (OKUMURA et al., 2011).

No caso da soja do Brasil, taxas superiores a 300 kg ha⁻¹ ano, de N, são observadas, conseguindo suprir totalmente as necessidades da planta (HUNGRIA et al., 2007). O preço médio tradicional, dos fertilizantes no mercado nacional, gira em torno de US\$ 1 por kg de N, estima-se que o gasto anual, com fertilizantes nitrogenados no Brasil, passa de US\$ 2 bilhões, tendo ainda, que ser levado em consideração, os custos de transporte dos fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA, 2011).

Diante desse contexto, torna-se relevante a busca por alternativas que contribuam para reduzir a dependência de fertilizantes importados e o custo de produção. Dentre essas alternativas destaca-se a FBN.

2.3 Rizóbios e a fixação biológica de nitrogênio na soja

Rizóbios são bactérias do solo, que possuem habilidade de induzir a formação de nódulos nas raízes e, em alguns casos, no caule, de plantas leguminosas, que convertem o N atmosférico, em formas utilizáveis pela planta hospedeira (DA SILVEIRA, 2007).

Hellriegel e Wilfarth (1888), foram pioneiros na descoberta da formação dos nódulos das raízes de plantas leguminosas, e que a sua formação, era causa da fixação de nitrogênio, por bactérias fixadoras e, em 1889, Frank as denominou, Rizóbio (DA SILVEIRA, 2007).

O processo de FBN, ocorre quando bactérias fixadoras de N se associam as raízes das plantas, via pêlos radiculares, formando um cordão de infecção e provocando o crescimento das células do córtex da planta hospedeira, dando origem a estruturas especializadas, chamadas nódulos, cuja função é alojar a bactéria e permitir que ela realize, em condições adequadas, o processo de fixação biológica do N₂. Essas bactérias fixadoras são capazes de capturar N₂ atmosférico (que constitui cerca de 78% dos gases

atmosféricos) no solo, que é reduzido por enzimas nitrogenases à amônia (NH_3^-). Nos nódulos, a amônia sintetizada é rapidamente incorporada a íons de hidrogênio (H^+), abundantes nas células das bactérias, ocorrendo a transformação em íons amônio (NH_4^+), que serão, então, distribuídos para a planta associada, e incorporados em diversas formas de N, de forma assimilável (REIS et al., 2005).

Hungria et al. (2007), afirma que a maior contribuição do processo de fixação biológica do N_2 , ocorre pela associação simbiótica de plantas da família *Leguminosae* com bactérias fixadoras de N_2 , também chamadas de rizóbios.

Segundo dados de Fagan et al. (2007) e de Hungria (2011), no Brasil, a FBN em soja é um dos exemplos de maior sucesso, possibilitando uma economia anual aproximada de US\$ 3 bilhões, em fertilizantes nitrogenados. Também devem ser considerados, os benefícios por menor poluição ambiental, que resulta da produção e da utilização de fertilizantes nitrogenados, bem como pela redução na emissão de gases de efeito estufa. Desse modo, além da economia para os agricultores, o uso de inoculantes contendo *Azospirillum* contribui para o ambiente e pode ser objeto de negociações futuras no comércio de créditos de carbono (HUNGRIA, 2011).

2.4 *Azospirillum*

Azospirillum sp é um gênero de bactérias, de vida livre, encontrado em quase todos os lugares da Terra (HUNGRIA, 2016), denominadas bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), pois além de realizar a FBN (REVOLTI et al., 2018), compreendem um grupo de microrganismos capazes de colonizar superfícies radiculares, da rizosfera e da filosfera, bem como tecidos internos das plantas, produzindo ou induzindo, a produção endógena de compostos estimuladores de crescimento da planta (RODRIGUES et al., 2012).

A inoculação, por *Azospirillum*, leva ao crescimento da planta devido à combinação de diversos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos (BASHAN; BASHAN, 2010). Nas raízes, o *Azospirillum*, provoca modificações na arquitetura radicular, que estão relacionadas ao aumento do número de raízes primárias, ao aumento do número e/ou o comprimento das raízes laterais e do alongamento dos pêlos radiculares, levando a maior exploração do solo (VACHERON et al., 2013), o que

estimula a aquisição de água e a absorção de nutrientes (DAR et al., 2018; PRASAD et al., 2019; MARQUES et al., 2020), e conseqüentemente, o crescimento das plantas (DOBBELAERE et al., 1999; CONTESTO et al., 2008; COMBES-MEYNET et al., 2011; CHAMAM et al., 2013; VACHERON et al., 2013). Ainda, há relatos de que as BPCPs atuam na defesa contra patógenos (BASHAN et al., 2014; CALVO et al., 2014; DE SOUSA et al., 2018).

Essas alterações, na planta, são possíveis devido à síntese de diversos fitohormônios, realizada pelo *Azospirillum* (BARNAWAL et al., 2019), tais como: as auxinas, que estão envolvidas na expansão celular; citocininas, que atuam no processo de divisão das células; giberelinas, substâncias responsáveis por promover germinação, alongamento do caule, floração e frutificação; além dos fitohormônios, ácidos abscísico e jasmônico, que conferem tolerância a vários tipos de estresses bióticos e abióticos, de forma indireta, atuando na otimização do crescimento vegetal (CASSÁN et al., 2014; DA CONCEIÇÃO et al., 2017). A inoculação, também pode induzir a sinalização hormonal da raiz ao caule, regulando o crescimento da folha e outros processos fisiológicos da planta (BARNAWAL et al., 2019).

Há evidências de que 80% dos microrganismos, isolados da rizosfera de diferentes culturas, têm a capacidade de produzir auxinas (AIA), usando metabólitos secundários (CHANDRA; SINGH, 2016). Este fitohormônio promove mudanças no controle do crescimento vegetativo em plantas (GUPTA et al., 2015; CHANDRA; SINGH, 2016). e pode levar ao aumento de volume, de ramificação e de comprimento da raiz, especialmente, nos estágios iniciais de desenvolvimento (CASSÁN et al., 2014), proporcionando, conseqüentemente, maior acesso aos nutrientes do solo e a água (DE SOUSA et al., 2018).

Segundo Hungria (2011), teores de P e de K são observados em maior quantidade, nos grãos de milho, em um dos ensaios de inoculação conduzidos pela Embrapa Soja. Desse modo, os benefícios da inoculação, com *Azospirillum*, vão além da fixação biológica do nitrogênio, razão pela qual, as bactérias, são classificadas como promotoras do crescimento de plantas.

Bárbaro et al. (2009), justificam a essas bactérias o acréscimo nos valores médios de massa seca e de parte aérea, na produtividade da soja. Também outros autores, como Compant et al. (2010) e Chibeba et al. (2015), descrevem uma série de processos

biológicos que são benéficos para as plantas, como principais efeitos na promoção de crescimento, incluindo: a produção de hormônios de crescimento das plantas, como auxinas, giberelinas e citocininas, que resultam em aumentos da taxa de germinação, do comprimento das raízes, do crescimento de colmos ou caules, do aumento do número de folhas e área foliar, do aumento do número de flores e do rendimento, além de indução da resistência das plantas a estresses e à doenças, biocontrole de fitopatógenos (CASSÁN et al., 2016) e solubilização de fosfatos, e fixação atmosférica de N₂.

Fonseca et al. (2014), avaliaram a influência de estirpes de *Azospirillum* sp, sobre o acúmulo de nutrientes no milho, sob quatro níveis de nitrogênio, que apresentaram resultados divergentes, quando diferentes estirpes foram trabalhadas, e assim, afirmaram que a especificidade foi elevada entre genótipos e inoculantes. Além de concluir que o uso de bactérias, do gênero *Azospirillum*, é capaz de promover maior atividade enzimática no solo, conseqüentemente, maior ciclagem de nutrientes.

Em 2012, a Embrapa Soja comprovou a eficiência, da coinoculação da soja, entre rizóbios e as estirpes de *Azospirillum* Ab-V5 e Ab-V6. Hoje, mais de 2,5 milhões de doses de inoculantes, contendo *Azospirillum brasilense*, são comercializadas anualmente no Brasil, para coinoculação da soja (HUNGRIA, 2007).

No trabalho de De Sousa et al. (2018), foi avaliado o efeito potencial de cepas de *Azospirillum*, sobre o crescimento de plântulas de milho, cultivadas em um sistema hidropônico, onde foi avaliado os seguintes tratamentos: Análises de variância mostraram que a área de superfície radicular, peso seco e teor de nutrientes de plântulas. Cepas de *Azospirillum*, em diferentes concentrações, foi utilizada para inoculação de plântulas de milho cultivadas em sistema de hidroponia. Os tratamentos foram significativos (p <0,05), para todas as características, com um coeficiente de variação de baixo a médio, indicando boa precisão experimental. Os resultados mostraram um aumento consistente, na área da superfície total radicular e no peso seco total das plântulas inoculadas.

2.5 Coinoculação

A técnica de combinações, de diferentes microrganismos, é denominada coinoculação, ou também pode ser chamada de inoculação mista. É uma técnica alternativa e sinérgica, que supera os resultados produtivos, obtidos com os mesmos

microrganismos, quando utilizados de forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al. 2009).

Okon e Vanderleyden (1997), reportam efeitos positivos para coinoculação à base de *Azospirillum* e de *Bradyrhizobium*, para diversos tipos de leguminosas. Burdmann et al. (2000), relatam que em vários trabalhos de campo, com *Azospirillum brasilense*, verificou-se produtividade das leguminosas com inoculação mista, obtendo-se valores superiores aos obtidos somente com a inoculação com *Bradyrhizobium*.

De acordo com Araújo et al. (2012), o sinergismo dessas bactérias, com a produção endógena da planta, pode aumentar a quantidade de compostos promotores de crescimento, e auxiliar o desenvolvimento e a produtividade das plantas. O estudo de Bárbaro et al. (2009), admitiu a hipótese que ocorre potencialização da formação de nódulos e do crescimento radicular, em resposta à interação positiva entre as bactérias simbióticas (*Bradyrhizobium*) e as bactérias diazotróficas, do gênero *Azospirillum*.

Chibeba et al. (2015), trouxeram como questionamento, que as leguminosas podem passar por uma fase inicial de fome de N, que pode durar até 15 a 20 dias, após a emergência das plântulas, quando cultivadas em solos, onde o N é deficiente, mesmo quando rizóbios eficazes estão presentes. E justificaram, que isso se deve à ausência de sincronismo entre a fase de esgotamento das reservas de N das sementes e o momento em que as plantas começam a se beneficiar do N, fixado pela bactéria, nos nódulos radiculares recém-formados. E ainda, indicaram que, qualquer prática que promova a nodulação precoce, pode ajudar a reduzir o período de fome de N. Diante da problemática, demonstraram como solução, a introdução de *Azospirillum*, que é uma bactéria promotora de crescimento. A formação de nódulos radiculares é iniciada nos pêlos da raiz, sendo possível que a coinoculação, com *Azospirillum* e com *Bradyrhizobium*, possa resultar na formação precoce de nódulos na soja, devido ao aumento do número de pêlos, disponíveis para serem infectados por rizóbio. Dessa forma, concluíram o estudo afirmando que a coinoculação de soja, com *Bradyrhizobium japonicum* e com *Azospirillum brasilense*, resulta em nodulação precoce de plantas de soja.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Localização e condução do experimento

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, localizada na cidade de Sete Lagoas-MG, e todas as avaliações, foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, da Embrapa Milho e Sorgo. Os experimentos foram realizados em duas épocas, 20 de agosto de 2021 a 04 de outubro de 2021 e 05 de novembro de 2021 a 20 de dezembro de 2021.

Foram utilizados 17 tratamentos, sendo: 15 estirpes de *Azospirillum*, retiradas da coleção de microrganismos multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, coinoculados com *Bradyrhizobium*, um com inoculação apenas de *Bradyrhizobium*, sob dois níveis de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), além de um tratamento adicional, equivalente a 90 kg ha⁻¹ de N, sem inoculação. Utilizou-se o delineamento experimental, de blocos casualizados, com três repetições.

3.2 Preparo dos vasos de Leonard

Os experimentos foram conduzidos em vasos de Leonard: garrafas pet, preparadas com base na metodologia descrita por Santos et al. (2009). Foram utilizadas 198 garrafas, metade foi cortada a uma altura aproximada de 15 cm, a partir da base, dando origem ao recipiente de solução nutritiva, e, a outra metade, foi cortada retirando apenas o fundo da garrafa, dando origem ao recipiente de substrato. Os recipientes, juntamente com as tampas, passaram por um processo de assepsia em tambor de 200 L, com hipoclorito de sódio (2%), por 1 h. A lavagem foi realizada com água corrente, seguida de água desmineralizada. Em cada tampa, foram feitos seis furos, e um cordão de barbante foi passado, atravessando a garrafa por completo. Os vasos foram cobertos por papel kraft, e identificados, conforme o tratamento recebido.

3.3 Preparo do substrato

O substrato, utilizado nos vasos de Leonard, foi constituído da mistura autoclavada de areia lavada e incubada, com gesso na concentração de 5 g L⁻¹, por 72 h, e vermiculita, na proporção 1:1, segundo a metodologia de Zilli et al. (2011) e Santos et al. (2009). Em cada vaso foram adicionados, aproximadamente, 1,5 kg do substrato.

3.4 Preparo da solução nutritiva de Norris

A solução nutritiva de Norris foi preparada, como a metodologia descrita por Pinheiro (2014). Em cada recipiente foram adicionados, aproximadamente, 700 mL da solução. A cada 48h., a solução era vertida na superfície e o volume ajustado. Semanalmente, o volume era completamente substituído por solução nutritiva de Norris, recém preparada. As doses de nitrogênio, de cada tratamento, foram adicionadas à solução de Norris, no momento da preparação.

3.5 Semeadura

A cultivar de soja utilizada foi a BRS Valiosa, com 91% de poder germinativo precoce. As sementes, passaram por um tratamento, com etanol 70% (v/v), por 2 min., seguido de hipoclorito de sódio 3% (v/v), por 3 min., e abundante lavagem em água corrente, como descrito na metodologia de Santos et al. (2009). Foram semeadas quatro sementes/vaso, na profundidade aproximada de cinco centímetros, para garantir uma boa germinação e emergência.

3.6 Inoculação

Os tratamentos foram nomeados de 1 a 17, correspondendo a: T1 – E05 + *Bradyrhizobium*; T2 – E07 + *Bradyrhizobium*; T3 – E11 + *Bradyrhizobium*; T4 – BD12 + *Bradyrhizobium*; T5 – E18 + *Bradyrhizobium*; T6 – BD23 + *Bradyrhizobium*; T7 – BD25 + *Bradyrhizobium*; T8 – 145.1 + *Bradyrhizobium*; T9 – E1626 + *Bradyrhizobium*; T10 – CMS11 + *Bradyrhizobium*; T11 – CMS18 + *Bradyrhizobium*; T12 – E2058 + *Bradyrhizobium*; T13 – E2131 + *Bradyrhizobium*; T14 – E2142 + *Bradyrhizobium*; T15 – CMS11/18 + *Bradyrhizobium*; T16 – *Bradyrhizobium*; T17 – Dose de 90 kg ha⁻¹ de N.

Figura 1: Representação dos inoculantes utilizados em coinoculação sob duas doses de nitrogênio (N) formando os tratamentos de T1 a T15, do tratamento apenas com inoculação de *Bradyrhizobium* e do tratamento adicional de 90 kg ha⁻¹ de N.

Tratamento	Inoculante	Dose de N	Dose de N
T1	<i>E05 + bradyrhizobium</i>	D1 12 kg ha-1	D2 30 kg ha-1
T2	<i>E07 + bradyrhizobium</i>		
T3	<i>E11 + bradyrhizobium</i>		
T4	<i>BDF12 + bradyrhizobium</i>		
T5	<i>E18 + bradyrhizobium</i>		
T6	<i>BDF23 + bradyrhizobium</i>		
T7	<i>BDF25 + bradyrhizobium</i>		
T8	<i>BDF145.1 + bradyrhizobium</i>		
T9	<i>E1626 + bradyrhizobium</i>		
T10	<i>CMS11 + bradyrhizobium</i>		
T11	<i>CMS18 + bradyrhizobium</i>		
T12	<i>E2058 + bradyrhizobium</i>		
T13	<i>E2131 + bradyrhizobium</i>		
T14	<i>E2142 + bradyrhizobium</i>		
T15	<i>CMS11/18 + bradyrhizobium</i>	D3 90 kg ha-1	
	<i>Bradyrhizobium</i> 90kg/há-1 N		

Os inoculantes foram preparados, seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2012). Cada estirpe foi crescida em caldo de soja triplicaseína, pelo período de 5 dias, na temperatura de 30°C, sob agitação a 100 rpm. Passado esse período, as culturas enriquecidas foram centrifugadas e ressuspensas, no próprio meio. O rizóbio foi adicionado às estirpes, na proporção 1:1.

A inoculação foi realizada, adicionando-se um mL de cada inoculante, em cada semente do vaso, seguindo a identificação do tratamento. Uma segunda inoculação foi realizada, aos dez dias, após o plantio, quando a soja completou o estágio de germinação.

3.7 Desbaste

Após 14 dias de emergência (DAE), efetuou-se o desbaste, deixando apenas duas plantas por vaso.

3.8 Características agrônômicas avaliadas na cultura da soja

A colheita das plantas, para avaliação dos parâmetros, foi efetuada aos 45 DAE, de acordo com o indicado por Chibeba et al. (2015).

Para avaliação, do sistema radicular e os efeitos da fixação biológica de nitrogênio, foram analisados os seguintes parâmetros: quantidade de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de raiz, massa seca de parte aérea, conteúdo de N e relação de N, de parte aérea/raiz.

3.9 Análises Estatísticas

Todas as variáveis foram submetidas às análises de variância, e quando significativas, foi realizada a comparação das médias, utilizando o teste Scott Knott e contraste, a 5% de probabilidade, através do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características agronômicas avaliadas na cultura da soja

4.2.1 Massa seca da raiz

Para a variável massa seca da raiz da soja, quando avaliados os tratamentos, independentes da dose de N, na primeira época, o tratamento T14 demonstrou eficiência de coinoculação, e apresentou média de massa seca de raiz da soja, superior, comparada a média da soja que foi inoculada, apenas com *Bradyrhizobium* (Tabela 1).

Hungria (2020), afirma que o *Azospirillum* sintetiza fitohormônios, capazes de aumentar o número de raízes primárias, o que justifica a média de massa seca da raiz, obtida na coinoculação, da cepa de *Azospirillum*, referente ao tratamento T14, com *Bradyrhizobium*, apresentando média maior que a média do tratamento, apenas com *Bradyrhizobium* (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias de massa seca (g/vaso) da raiz da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Massa seca da raiz (g/vaso)	Tratamentos	Massa seca da raiz (g/vaso)
T14	0,431667 a	90 kg ha ⁻¹ de N	1,026667 a
T3	0,365000 b	T9	0,900000 a
<i>Bradyrhizobium</i>	0,350000 b	T3	0,838333 a
T5	0,338333 b	T8	0,825000 a
T9	0,336667 b	T1	0,821667 a
T11	0,318333 b	T15	0,820000 a
T7	0,311667 b	T14	0,801667 a
T1	0,306667 b	T13	0,800000 a
T12	0,290000 b	T7	0,795000 a
T8	0,288333 b	T12	0,775000 a
T13	0,271667 c	T5	0,753333 a
T10	0,268333 c	<i>Bradyrhizobium</i>	0,736667 a
T15	0,266667 c	T4	0,666667 a
T2	0,251667 c	T2	0,623333 a
T6	0,245000 c	T11	0,618333 a
T4	0,181667 d	T10	0,580000 a
90 kg ha ⁻¹ de N	0,153333 d	T6	0,520000 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + de *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Observou-se que, para a variável massa seca da raiz da soja, quando utilizada a coinoculação, a maioria das estirpes apresentaram ganhos, estatisticamente iguais à adubação nitrogenada. Na primeira, época de experimento, pôde-se notar uma alta eficiência da coinoculação, em relação à adubação nitrogenada, onde a maioria das cepas diferiu positivamente, quando comparadas à adubação (Tabela 2).

Ainda sobre o estudo de Hungria (2020), o *Azospirillum*, ao sintetizar fitohormônios, e aumentar o número de raízes da planta da soja, aumenta a quantidade de sítios de ligação de raiz, com o *Bradyrhizobium*, no processo de fixação de nitrogênio, e, conseqüentemente, aumenta o aporte de nitrogênio, como pode-se observar na Tabela 2.

Tabela 2 – Médias de massa seca (g/vaso) da raiz da soja, utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1^a e 2^a épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	N	1 ^a época		2 ^a época	
		Médias de massa seca da raiz (g/vaso)	NS	Médias de massa seca da raiz (g/vaso)	NS
T1	1	0,30**	0	0,68*	0,14
T2	1	0,31**	0	0,96*	0,78
T3	1	0,17*	0,77	0,67*	0,13
T4	1	0,34**	0	0,58*	0,06
T5	1	0,28**	0	0,69*	0,15
T6	1	0,45**	0	0,99*	0,86
T7	1	0,27**	0,01	0,65*	0,11
T8	1	0,09*	0,2	0,68*	0,14
T9	1	0,30**	0	0,94*	0,72
T10	1	0,38**	0	0,56	0,05
T11	1	0,11*	0,36	0,52	0,03
T12	1	0,38**	0	0,52	0,03
T13	1	0,31**	0	0,62*	0,08
T14	1	0,32**	0	0,97*	0,81
T15	1	0,33**	0	0,72*	0,20
<i>Bradyrhizobium</i>	1	0,25**	0,04	0,93*	0,67
T1	2	0,36**	0	1,01*	0,94
T2	2	0,26**	0,02	0,52	0,03
T3	2	0,28**	0,01	0,64*	0,10
T4	2	0,25**	0,04	0,51	0,03
T5	2	0,39**	0	0,72*	0,20
T6	2	0,29**	0	0,85*	0,46
T7	2	0,29**	0	0,70*	0,16
T8	2	0,21*	0,2	0,73*	0,21
T9	2	0,33**	0	0,87*	0,50
T10	2	0,44**	0	0,61*	0,08
T11	2	0,42**	0	0,99*	0,88
T12	2	0,27**	0,01	0,69*	0,16
T13	2	0,27**	0,01	0,95*	0,73
T14	2	0,38**	0	0,71*	0,18
T15	2	0,32**	0	0,76*	0,26
<i>Bradyrhizobium</i>	2	0,26**	0,02	0,62*	0,08
90 kg ha ⁻¹ de N	3	0,15	-	1,03	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste, e, médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *de Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação, com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Ao realizar análise conjunta, das duas épocas de experimento, verificou-se que para a variável massa seca da raiz, não houve diferença significativa, entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias de massa seca (g/vaso) da raiz da soja, em análise conjunta, independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
T9	0,618333 a
T14	0,616667 a
T3	0,601667 a
90 kg ha ⁻¹ de N	0,590000 a
T1	0,564167 a
T8	0,556667 a
T7	0,553333 a
T5	0,545833 a
<i>Bradyrhizobium</i>	0,543333 a
T15	0,543333 a
T13	0,535833 a
T12	0,532500 a
T11	0,468333 a
T2	0,437500 a
T4	0,424167 a
T10	0,424167 a
T6	0,382500 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + de *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

4.1.2 Massa seca da parte aérea

Para a primeira época de experimento, quando avaliados os tratamentos, independentes da dose de N, todos apresentaram médias iguais ou superiores, estatisticamente, à média de massa seca da parte aérea da soja, quando inoculados com *Bradyrhizobium*. A estirpe, pertencente ao tratamento T14, que se destacou em ganho de massa seca, da raiz, também obteve eficiência de coinoculação, para o parâmetro massa

seca, de parte aérea, quando comparada à inoculação, apenas de *Bradyrhizobium*, e aos demais tratamentos (Tabela 4).

O estudo de Cassán et al. (2014), descreve fitohormônios responsáveis pelo crescimento vegetal e colabora com o estudo de Marques et al. (2020), onde relata que o estabelecimento de uma relação do *Azospirillum*, com o sistema radicular da planta, acarreta em aumento de raízes primárias, que aumenta o aporte de nutrientes, e consequentemente, aumenta o crescimento da planta, ou seja, maior desenvolvimento de parte aérea por: (1) ação de fitohormônios, responsáveis por alongamento celular do meristema apical, sintetizados pelo *Azospirillum*; (2) maior absorção de nutrientes, devido ao alongamento do meristema radicular. O que se nota ter sido o comportamento das cepas coinoculadas, em relação ao tratamento apenas com *Bradyrhizobium*, na primeira época de experimento (Tabela 4).

Tabela 4 - Médias de massa seca (g/vaso) da parte aérea da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Massa seca da parte aérea (g/vaso)	Tratamentos	Massa seca da parte aérea (g/vaso)
T14	2,011667 a	90 kg ha ⁻¹ de N	5,060000 a
T7	1,720000 b	T9	4,201667 a
T2	1,706667 b	T14	4,123333 a
T8	1,643333 b	T15	4,078333 a
T1	1,613333 b	T8	3,956667 a
T5	1,605000 b	T7	3,933333 a
90 kg ha ⁻¹ de N	1,596667 b	T13	3,765000 a
T12	1,570000 b	T1	3,751667 a
T13	1,563333 b	T3	3,720000 a
T10	1,466667 c	T12	3,666667 a
T15	1,443333 c	<i>Bradyrhizobium</i>	3,658333 a
T4	1,440000 c	T5	3,358333 b
T11	1,405000 c	T4	3,201667 b
T9	1,396667 c	T2	3,028333 b
T3	1,381667 c	T11	2,761667 b
T6	1,370000 c	T10	2,630000 b
<i>Bradyrhizobium</i>	1,243333 c	T6	2,440000 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + de *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Quando em análise de contraste de médias, os tratamentos T6, T7 e T9 se destacaram, por não apresentarem diferença significativa, ao tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, tanto na primeira época quanto na segunda época, para as duas doses de N analisadas. Na primeira época de experimento, os tratamentos T2 e T4, quando submetidos a 12 kg ha⁻¹ de N, diferiram positivamente, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N. A coinoculação das cepas, referentes aos tratamentos T2 e T4, com *Bradyrhizobium*, se mostrou eficiente, no aporte de elementos essenciais para o crescimento vegetal, como a fixação de nitrogênio e a absorção de água e nutrientes, ao ponto de apresentar médias de massa seca de parte aérea, superiores às médias obtidas, quando as plantas de soja foram submetidas a 90 kg ha⁻¹ de N (Tabela 5).

Segundo Hungria (2020), uma coinoculação eficiente atinge níveis de produção, da parte aérea da soja, substituíveis à fertilização nitrogenada. Chibeba et al. (2015), mencionam que, em leguminosas, ocorre um período de “fome de N”, em solos pobres, onde a plântula esgota a reserva de N, da semente, e passa a precisar de outra fonte. Na primeira época de experimento, a adição de 12 kg ha⁻¹ de N, pode ter contribuído para que não ocorresse deficiência de N na fase de “fome de N”, nem inibição da simbiose, por alta disponibilidade de N, e assim, as cepas com coinoculação eficiente, puderam se estabelecer e dar início ao processo de FBN (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias de massa seca (g/vaso) da parte aérea da soja, utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	Dose de N	1ª época		2ª época	
		Média de massa seca da parte aérea (g/vaso)	NS	Média de massa seca da parte aérea (g/vaso)	NS
T1	1	1,33	0,04	3,06	0,04
T2	1	1,90**	0,02	4,44*	0,53
T3	1	1,44*	0,23	3,25*	0,07
T4	1	1,97**	0,00	2,81	0,02
T5	1	1,34	0,05	3,13	0,05
T6	1	1,42*	0,18	4,31*	0,44
T7	1	1,39*	0,12	3,41*	0,09
T8	1	1,49*	0,40	2,99	0,03
T9	1	1,58*	0,91	4,12*	0,34
T10	1	1,63*	0,81	2,59	0,01
T11	1	1,27	0,01	2,56	0,01
T12	1	1,47*	0,34	2,32	0,00
T13	1	1,85*	0,06	2,88	0,02
T14	1	1,59*	0,98	4,99*	0,94
T15	1	1,51	0,05	3,59*	0,13
<i>Bradyrhizobium</i>	1	1,78*	0,17	4,32*	0,45
T1	2	1,60*	0,98	4,74*	0,74
T2	2	1,22	0,00	2,21	0,00
T3	2	1,71*	0,37	3,05	0,04
T4	2	1,20	0,00	2,55	0,01
T5	2	1,61*	0,89	2,98	0,03
T6	2	1,52*	0,54	4,07*	0,31
T7	2	1,62*	0,83	3,26*	0,07
T8	2	1,43*	0,20	3,37*	0,09
T9	2	1,70*	0,44	4,16*	0,36
T10	2	2,23	0,00	3,28*	0,07
T11	2	1,80*	0,12	4,97*	0,92
T12	2	1,44*	0,24	3,75*	0,18
T13	2	1,44*	0,24	4,41*	0,50
T14	2	1,37	0,08	3,51*	0,12
T15	2	1,12	0,00	3,80*	0,20
<i>Bradyrhizobium</i>	2	1,49*	0,40	2,92	0,03
90 kg ha ⁻¹ de N	3	1,60	-	5,06	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste, e médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação, com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Ao realizar, análise conjunta, das duas épocas de experimento, notou-se que para a variável massa seca da parte aérea, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias de massa seca (g/vaso), da parte aérea da soja, em análise conjunta, independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
90 kg ha ⁻¹ de N	3,328333 a
T14	3,067500 a
T8	2,800000 a
T9	2,799167 a
T15	2,760833 a
T1	2,682500 a
T13	2,664167 a
T12	2,618333 a
T3	2,550833 a
T5	2,481667 a
<i>Bradyrhizobium</i>	2,450833 a
T2	2,367500 a
T4	2,320833 a
T11	2,083333 a
T10	2,048333 a
T7	2,826667 a
T6	1,905000 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

4.2.3 Massa seca dos nódulos

Comparando os tratamentos de coinoculação, com o tratamento apenas de *Bradyrhizobium*, na primeira época de experimento, o tratamento T2 foi o único a demonstrar diferença significativa superior, no valor de média de massa seca dos nódulos da soja (Tabela 7).

Chibeba et al. (2015), demonstraram que a prática de coinoculação, de *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, resulta na formação precoce dos nódulos na soja, devido ao aumento do número de pêlos disponíveis, para serem infectados. De acordo com a Tabela 7, podemos inferir que ocorreu uma eficiente coinoculação da cepa, referente ao

tratamento T2, onde ocorreu maior infecção de pêlos, que apresentou média de massa seca dos nódulos, superior ao tratamento apenas com *Bradyrhizobium*.

Tabela 7 – Médias de massa seca (g/vaso) dos nódulos da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Massa seca de nódulos (g/vaso)	Tratamentos	Massa seca de nódulos (g/vaso)
T2	0,331667 a	T9	0,355000 a
T5	0,165000 b	T13	0,330000 a
T6	0,148333 b	T5	0,325000 a
T14	0,163333 b	T12	0,325000 a
T4	0,145000 b	T15	0,323333 a
T1	0,136667 b	T3	0,318333 a
T11	0,136667 b	T8	0,305000 a
T9	0,120000 b	T7	0,303333 a
T3	0,105000 b	T14	0,298333 a
<i>Bradyrhizobium</i>	0,101667 b	<i>Bradyrhizobium</i>	0,295000 a
T7	0,081667 b	T2	0,278333 a
T10	0,080000 b	90 kg ha ⁻¹ de N	0,276667 a
T8	0,076667 b	T1	0,271667 a
T12	0,075000 b	T11	0,253333 a
T15	0,075000 b	T4	0,248333 a
T13	0,075000 b	T6	0,243333 a
90 kg ha ⁻¹ de N	0,066667 b	T10	0,233333 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Analisando a Tabela 8, pode-se notar que para a variável massa seca dos nódulos da soja, quando comparado com o tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, o tratamento T4, na primeira época e na dose 1 de N, diferiu positivamente, obtendo valor de média superior. Todos os tratamentos (com exceção do tratamento T10, segunda época, dose 1 de N) não diferiram, estatisticamente, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N.

Hungria et al., (2001), relataram que uma coinoculação eficiente, gera nódulos maiores ou iguais a 2 mm de tamanho, que são nódulos com alta capacidade de fixação de N. O tratamento T4, apresentou coinoculação eficiente, o que pode ter gerado grandes nódulos, aumentando sua massa de nódulos, e conseqüentemente, o aporte de N.

Tabela 8 – Médias de massa seca (g/vaso) dos nódulos da soja, utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1^a e 2^a épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	N	1 ^a época		2 ^a época	
		Médias de massa seca de nódulos (g/vaso)	NS	Médias de massa seca de nódulos (g/vaso)	NS
T1	1	0,19*	0,15	0,17*	0,27
T2	1	0,08*	0,87	0,37*	0,32
T3	1	0,20*	0,13	0,34*	0,52
T4	1	0,46**	0	0,22*	0,54
T5	1	0,08*	0,87	0,30*	0,78
T6	1	0,13*	0,47	0,33*	0,54
T7	1	0,09*	0,79	0,30*	0,78
T8	1	0,20*	0,13	0,19*	0,37
T9	1	0,10*	0,7	0,44*	0,08
T10	1	0,23*	0,06	0,21	0,48
T11	1	0,21*	0,11	0,24*	0,72
T12	1	0,09*	0,79	0,24*	0,72
T13	1	0,09*	0,76	0,26*	0,86
T14	1	0,07*	0,96	0,35*	0,45
T15	1	0,10*	0,67	0,29*	0,86
<i>Bradyrhizobium</i>	1	0,05*	0,84	0,32*	0,67
T1	2	0,09*	0,79	0,39*	0,23
T2	2	0,09*	0,79	0,21*	0,48
T3	2	0,07*	0,96	0,26*	0,83
T4	2	0,15*	0,36	0,24*	0,69
T5	2	0,13*	0,49	0,27*	0,91
T6	2	0,07*	0,96	0,32*	0,62
T7	2	0,08*	0,87	0,33*	0,59
T8	2	0,06*	0,96	0,28*	0,94
T9	2	0,09*	0,82	0,38*	0,29
T10	2	0,15*	0,34	0,22*	0,57
T11	2	0,18*	0,21	0,37*	0,30
T12	2	0,08*	0,87	0,29*	0,86
T13	2	0,07*	0,96	0,35*	0,41
T14	2	0,12*	0,57	0,27*	0,97
T15	2	0,09*	0,82	0,32*	0,67
<i>Bradyrhizobium</i>	2	0,07*	0,96	0,24*	0,69
90 kg ha ⁻¹ de N	3	0,07	-	0,28	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste e médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação, com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Ao realizar análise conjunta, das épocas de experimento, notou-se que para a variável massa seca dos nódulos, não houve diferença significativa dos tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9 – Médias de massa seca (g/vaso) dos nódulos da soja, em análise conjunta, independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
T2	0,305000 a
T5	0,245000 a
T9	0,237500 a
T14	0,230833 a
T3	0,211667 a
T1	0,204167 a
T13	0,202500 a
T12	0,200000 a
T15	0,199167 a
<i>Bradyrhizobium</i>	0,198333 a
T4	0,196667 a
T6	0,195833 a
T11	0,195000 a
T7	0,192500 a
T8	0,190833 a
90 kg ha ⁻¹ de N	0,171667 a
T10	0,156667 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

4.2.4 Quantidade de nódulos

Os tratamentos T3 e T10, independente da dose de N, na primeira época de experimento, demonstraram valores de médias superiores ao valor de média do tratamento, com inoculação de *Bradyrhizobium*, e superiores, aos demais tratamentos. Todos os tratamentos, na primeira época de experimento, com exceção dos tratamentos T6, T8, T9 e 90 kg ha⁻¹ de N, apresentaram valores de médias superiores, ao valor de média do tratamento inoculado com *Bradyrhizobium* (Tabela 10).

Os tratamentos, da primeira época de experimento, com média superior à média do tratamento com *Bradyrhizobium*, apresentaram coinoculação eficiente e seguiram a comprovação de Hungria (2020), de que o alongamento radicular acarreta em maior quantidade de nódulos, devido ao aumento de sítios de ligação.

Tabela 10 – Médias de quantidade (nº) dos nódulos da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Médias de quantidade de nódulos (nº)	Tratamentos	Médias de quantidade de nódulos (nº)
T10	63,000000 a	T12	75,166667 a
T3	61,333333 a	T15	74,666667 a
T12	57,666667 b	T7	73,500000 a
T14	57,333333 b	T13	71,833333 a
T15	57,000000 b	T8	71,166667 a
T11	50,333333 c	T3	69,500000 a
T7	47,166667 c	T10	69,000000 a
T4	44,833333 d	T2	68,833333 a
T2	44,333333 d	T14	68,500000 a
T13	41,833333 d	<i>Bradyrhizobium</i>	65,333333 a
T5	41,333333 d	T9	64,833333 a
T1	40,333333 d	T5	56,333333 a
T8	36,833333 e	T6	53,833333 a
<i>Bradyrhizobium</i>	34,833333 e	T4	53,666667 a
T9	32,500000 e	90 kg ha ⁻¹ de N	51,000000 a
T6	30,666667 e	T1	47,333333 a
90 kg ha ⁻¹ de N	9,666667 f	T11	46,833333 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Para o contraste entre os tratamentos e o tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, notou-se que todas as estirpes de *Azospirillum* da primeira época, nas duas doses (exceto o tratamento T7, dose 2), diferiram positivamente. Para a segunda época de experimento, nas duas doses, todos os tratamentos não diferiram significativamente do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N (Tabela 11).

Todos os tratamentos (exceto o tratamento T7, dose 2) demonstraram coinoculação eficiente e apresentaram alta capacidade de fixar nitrogênio, seguindo as afirmações de Hungria (2020), de que uma eficiente coinoculação promove o alongamento radicular, numerosos nódulos, devido ao aumento de sítios de ligação, e conseqüentemente, alta taxa de fixação de nitrogênio, sendo maior e substituível, a adubação nitrogenada.

Tabela 11 – Médias de quantidade (nº) de nódulos de soja utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	N	1ª época		2ª época	
		Médias de quantidade de nódulos (nº)	NS	Médias de quantidade de nódulos (nº)	NS
T1	1	44,00**	0	33,70*	0,38
T2	1	36,70**	0	61,00*	0,61
T3	1	47,70**	0	86,70*	0,07
T4	1	41,00**	0	51,00*	1,00
T5	1	51,00**	0	68,70*	0,37
T6	1	71,70**	0	70,30*	0,33
T7	1	50,00**	0	58,00*	0,72
T8	1	39,70**	0	49,30*	0,93
T9	1	44,00**	0	71,30*	0,30
T10	1	38,70**	0	41,30*	0,62
T11	1	27,70**	0	67,30*	0,41
T12	1	33,70**	0	40,30*	0,59
T13	1	56,30**	0	63,70*	0,52
T14	1	38,00**	0	83,30*	0,10
T15	1	42,00**	0	64,00*	0,51
<i>Bradyrhizobium</i>	1	31,70**	0	78,30*	0,17
T1	2	44,00**	0	70,00*	0,33
T2	2	61,00**	0	58,00*	0,72
T3	2	65,00**	0	80,00*	0,14
T4	2	41,70**	0	43,30*	0,70
T5	2	59,00**	0	50,30*	0,97
T6	2	65,70**	0	61,00*	0,61
T7	2	1,00	0	89,30*	0,05
T8	2	49,70**	0	53,70*	0,89
T9	2	51,70**	0	90,00*	0,05
T10	2	66,00**	0	49,70*	0,95
T11	2	48,70**	0	87,30*	0,07
T12	2	57,00**	0	70,30*	0,33
T13	2	57,00**	0	79,00*	0,16
T14	2	39,70**	0	53,00*	0,92
T15	2	30,70**	0	77,70*	0,18
<i>Bradyrhizobium</i>	2	9,60*	1	66,70*	0,42
90 kg ha ⁻¹ de N	3	9,60	-	51,00	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste e médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Ao realizar análise conjunta, das duas épocas de experimento, verificou-se que, para a variável quantidade dos nódulos, os tratamentos T2, T3, T7, T8, T10, T12, T13, T14 e T15 apresentaram ganho de quantidade dos nódulos da soja, na coinoculação, quando comparado com os tratamentos com inoculação, apenas de rizóbio, e o tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N (Tabela 12).

Tabela 12 – Médias de quantidade de nódulos de soja, em análise conjunta independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
T12	66,416667 a
T10	66,000000 a
T15	65,833333 a
T3	65,416667 a
T14	62,916667 a
T7	60,333333 a
T13	56,833333 a
T2	56,583333 a
T8	54,000000 a
<i>Bradyrhizobium</i>	50,083333 b
T4	49,250000 b
T5	48,833333 b
T9	48,666667 b
T11	48,583333 b
T1	43,833333 b
T6	42,250000 b
90 kg ha ⁻¹ de N	30,333333 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

4.2.5 Conteúdo de nitrogênio

Para a variável conteúdo de N, na primeira época de experimento, independente da dose de N, todos os tratamentos apresentaram médias superiores ou iguais, ao valor de média do tratamento inoculado com *Bradyrhizobium*. O tratamento T14, se destacou em quantidade de mg/vaso de N. Na segunda época de experimento, os tratamentos T2, T4, T6, T10 e T11, apresentaram diferença significativa do tratamento inoculado com *Bradyrhizobium* (Tabela 13).

As cepas de *Azospirillum* coinoculadas com *Bradyrhizobium*, nos tratamentos que apresentaram média de conteúdo de N maior que a média do tratamento apenas com *Bradyrhizobium*, apresentaram coinoculação eficiente, uma vez que a planta da soja, na presença do *Azospirillum* coinoculado, demonstrou maior conteúdo de N.

Tabela 13 – Médias de conteúdo de N (mg/vaso) da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Médias (g/vaso)	Tratamentos	Médias (g/vaso)
T14	67,805517 a	90 kg ha ⁻¹ de N	159,107333 a
T8	50,863750 b	T9	142,128167 a
90 kg ha ⁻¹ de N	50,749600 b	T15	134,477333 a
T7	50,598183 b	T8	132,552833 a
T5	50,535100 b	T14	131,251833 a
T12	50,366217 b	T7	130,971833 a
T13	49,955900 b	T1	125,493333 a
T2	48,324183 b	<i>Bradyrhizobium</i>	123,414500 a
T1	47,232483 b	T3	120,533667 a
T10	46,304350 c	T13	120,476833 a
T3	43,919650 c	T12	120,197667 a
T9	43,889600 c	T5	109,136000 a
T11	43,732000 c	T4	99,180333 b
T4	43,558700 c	T2	90,256000 b
<i>Bradyrhizobium</i>	43,078250 c	T10	88,940500 b
T6	41,149200 c	T11	84,917667 b
T15	38,569167 c	T6	76,614833 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Para a primeira época de experimento, os tratamentos (exceto o tratamento T11, dose 1 de N, e os tratamentos T4, T12 e T15, dose 2 de N) não diferiram significativamente, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N e os tratamentos T10 e T11, na dose 2 de N, diferiram positivamente, em relação ao tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N. Para a segunda época de experimento, a maioria dos tratamentos (exceto os tratamentos T4, T8, T10, T11 e T12, dose 1 de N, e os tratamentos T2 e T4, dose 2 de N) não diferiram significativamente, do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N (Tabela 14).

Os tratamentos que apresentaram média de conteúdo de N, superior ou igual à média do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, obtiveram coinoculação eficiente. Segundo estudos relatados anteriormente, uma coinoculação eficiente gera maior conteúdo de N na planta, e pode substituir, completamente, a adubação nitrogenada.

Tabela 14 – Médias de conteúdo de N (mg/vaso) da soja, utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1^a e 2^a épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	N	1 ^a época		2 ^a época	
		Médias de conteúdo de N (mg/vaso)	NS	Médias de conteúdo de N (mg/vaso)	NS
T1	1	39,89*	0,07	100,87*	0,09
T2	1	54,57*	0,51	150,12*	0,79
T3	1	41,65*	0,12	99,35*	0,08
T4	1	54,99*	0,47	81,16	0,02
T5	1	39,86*	0,07	106,41*	0,12
T6	1	47,97*	0,64	134,65*	0,47
T7	1	42,62*	0,17	108,79*	0,14
T8	1	44,50*	0,29	89,57	0,04
T9	1	51,00*	0,97	141,41*	0,60
T10	1	50,07*	0,91	76,86	0,01
T11	1	37,51	0,02	79,84	0,02
T12	1	44,79*	0,31	73,39	0,01
T13	1	56,81*	0,30	94,71*	0,06
T14	1	44,38*	0,28	167,23*	0,81
T15	1	49,59*	0,84	108,57*	0,14
<i>Bradyrhizobium</i>	1	52,14*	0,81	156,54*	0,94
T1	2	50,78*	1,00	153,88*	0,88
T2	2	40,03*	0,07	76,10	0,01
T3	2	52,58*	0,75	101,78*	0,09
T4	2	34,67	0,00	76,26	0,01
T5	2	52,79*	0,73	93,57*	0,06
T6	2	48,70*	0,73	143,23*	0,64
T7	2	52,03*	0,83	97,17*	0,07
T8	2	47,61*	0,59	117,66*	0,22
T9	2	52,30*	0,79	123,30*	0,29
T10	2	70,38**	0,00	105,48*	0,12
T11	2	65,23**	0,01	157,03*	0,95
T12	2	37,07	0,02	125,19*	0,32
T13	2	40,07*	0,07	143,77*	0,65
T14	2	48,04*	0,64	114,76*	0,19
T15	2	38,11	0,03	132,07*	0,43
<i>Bradyrhizobium</i>	2	42,85*	0,18	93,84*	0,06
90 kg ha ⁻¹ de N	3	50,75	-	159,11	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste e médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação, com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Ao fazer a análise conjunta, das duas épocas de experimento, percebeu-se que para a variável conteúdo de N, não houve diferença significativa dos tratamentos (Tabela 15).

Tabela 15 – Médias de conteúdo de N (mg/vaso) da soja, em análise conjunta, independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
90 kg ha ⁻¹ de N	104,928467 a
T14	99,528675 a
T9	93,008883 a
T8	91,708292 a
T7	90,785008 a
T15	86,523250 a
T1	86,362908 a
T12	85,281942 a
T13	85,216367 a
<i>Bradyrhizobium</i>	83,246375 a
T3	82,226658 a
T5	79,835550 a
T4	71,369517 a
T2	69,290092 a
T10	67,622425 a
T11	64,324833 a
T6	58,882017 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

4.2.6 Relação nitrogênio parte aérea/raiz

Quando analisada, a relação de nitrogênio na parte aérea por nitrogênio na raiz, na primeira época, apenas o tratamento com adubação nitrogenada, se diferenciou dos demais tratamentos. Todos os outros tratamentos, não se diferenciaram, estatisticamente, do tratamento com *Bradyrhizobium*. Na segunda época de experimento, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 16).

Tabela 16 – Médias de relação parte aérea/raiz (g/vaso) da soja, independente da dose de nitrogênio, de dois experimentos (1ª e 2ª épocas), conduzidos em casa de vegetação.

1º época		2º época	
Tratamentos	Médias (g/vaso)	Tratamentos	Médias (g/vaso)
90 kg ha ⁻¹ de N	38,628367 a	T2	5,431300 a
T4	14,277367 b	T14	5,338767 a
T6	9,301933 b	T7	5,182133 a
T2	8,688950 b	T15	5,156883 a
T8	6,054217 b	<i>Bradyrhizobium</i>	4,999483 a
T13	6,027167 b	90 kg ha ⁻¹ de N	4,997567 a
T7	5,615717 b	T6	4,960667 a
T10	5,500183 b	T4	4,951250 a
T15	5,485967 b	T9	4,791617 a
T12	5,356417 b	T8	4,759900 a
T1	5,254683 b	T12	4,756417 a
T5	4,935167 b	T13	4,737450 a
T14	4,729383 b	T3	4,722783 a
T11	4,608783 b	T10	4,644167 a
T9	4,230200 b	T5	4,568250 a
T3	4,065883 b	T1	4,558183 a
<i>Bradyrhizobium</i>	3,669000 b	T11	4,449033 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

Na primeira época de experimento, dose 1 de N, o tratamento T8 não diferiu do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N. Na segunda época de experimento, todos os tratamentos não diferiram do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, independente da dose de N (Tabela 17).

Os resultados que apresentaram média superior à adubação nitrogenada, obtiveram coinoculação eficiente por apresentar uma alta relação parte aérea/raiz, onde a coinoculação levou ao aumento do crescimento, tanto na parte aérea quanto na raiz da planta da soja.

Tabela 17 – Médias de relação parte aérea/raiz (g/vaso) da soja, utilizando duas doses de nitrogênio (12 kg ha⁻¹ de N e 30 kg ha⁻¹ de N), de dois experimentos (1^a e 2^a épocas), comparadas ao tratamento apenas com 90 kg ha⁻¹ de N, conduzidos em casa de vegetação.

Tratamentos	N	1 ^a época		2 ^a época	
		Médias de conteúdo de N (mg/vaso)	NS	Médias de conteúdo de N (mg/vaso)	NS
T1	1	4,47	0	4,44*	0,40
T2	1	6,04	0	4,67*	0,63
T3	1	11,50	0	4,76*	0,72
T4	1	5,88	0	6,10*	0,10
T5	1	4,88	0	4,63*	0,58
T6	1	3,25	0	4,81*	0,78
T7	1	5,12	0	5,55*	0,40
T8	1	23,44*	0,05	4,35*	0,33
T9	1	5,29	0	4,44*	0,40
T10	1	4,58	0	4,70*	0,65
T11	1	14,64	0	4,96*	0,96
T12	1	3,96	0	4,96*	0,95
T13	1	6,20	0	4,87*	0,85
T14	1	5,03	0	5,49*	0,45
T15	1	4,81	0	4,89*	0,88
<i>Bradyrhizobium</i>	1	7,30	0	4,63*	0,57
T1	2	4,56	0	4,84*	0,81
T2	2	4,75	0	4,23*	0,25
T3	2	6,25	0	5,06*	0,92
T4	2	5,00	0	4,69*	0,64
T5	2	4,21	0	4,21*	0,24
T6	2	5,20	0	4,80*	0,77
T7	2	5,52	0	4,71*	0,67
T8	2	6,96	0	4,73*	0,68
T9	2	5,10	0	4,75*	0,71
T10	2	5,12	0	5,51*	0,44
T11	2	4,34	0	5,17*	0,80
T12	2	5,49	0	5,35*	0,60
T13	2	5,49	0	4,97*	0,96
T14	2	3,71	0	5,02*	0,97
T15	2	3,63	0	4,98*	0,98
<i>Bradyrhizobium</i>	2	5,76	0	4,92*	0,90
90 kg ha ⁻¹ de N	3	38,63	-	5,00	-
NMS		0,05			

Médias seguidas de *, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem do tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Contraste e médias seguidas de **, diferem positivamente. T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. Tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento sem inoculação com dose recomendada de nitrogênio. N = dose de nitrogênio. 1 = dose 12 kg ha⁻¹ de N. 2 = dose de 30 kg ha⁻¹. NS = Níveis de significância. NMS = nível mínimo de significância.

Feita a análise conjunta, das duas épocas de experimento, foi possível notar que para a variável relação parte aérea/raiz da soja, o tratamento com 90 kg ha⁻¹ de N, diferiu dos demais, apresentando maior acúmulo de N, por vaso (Tabela 18).

Tabela 18 – Médias de relação parte aérea/raiz (g/vaso) da soja, em análise conjunta, independente da época de experimento.

Tratamentos	Médias (g/vaso)
90 kg ha ⁻¹ de N	21,812967 a
T4	9,614308 b
T6	7,131300 b
T2	7,060125 b
T8	5,407058 b
T7	5,398925 b
T13	5,382308 b
T15	5,321425 b
T10	5,072175 b
T12	5,056417 b
T14	5,034075 b
T1	4,906433 b
T5	4,751708 b
T11	4,528908 b
T9	4,510908 b
T3	4,394333 b
<i>Bradyrhizobium</i>	4,334242 b

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, indicam que os tratamentos não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott Knott; T1 a T15 = coinoculação de estirpes de *Azospirillum* + *Bradyrhizobium*. *Bradyrhizobium* = inoculação apenas de *Bradyrhizobium*. 90 kg ha⁻¹ de N = tratamento adicional sem inoculação, com dose elevada de nitrogênio.

5 CONCLUSÕES

As estirpes de *Azospirillum* E07, BD12, BDF145.1 e E2142, coinoculadas com *Bradyrhizobium*, apresentaram eficiência de coinoculação, nos parâmetros de crescimento inicial e de incorporação de N, na planta de soja.

A coinoculação das estirpes, E11 e E2142, de *Azospirillum* com *Bradyrhizobium*, apresentaram resultados superiores, quando comparados com inoculação apenas de *Bradyrhizobium*, em todos os parâmetros avaliados, na cultura da soja.

A coinoculação de *Azospirillum* e de *Bradyrhizobium*, na cultura da soja, equivale à fertilização nitrogenada (90 kg ha^{-1} de N) sem inoculação, preservando o meio ambiente e reduzindo os custos de produção.

REFERÊNCIAS

AGROSTAT. Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro. **Indicadores Gerais Agrostat.** Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em: 06 de dezembro de 2020.

APROSOJA BRASIL. Associação brasileira dos produtores de soja. **A soja.** Disponível em: <https://aprosojabrasil.com.br/a-soja/>. Acesso em: 06 de dezembro de 2020.

ARAÚJO, F. F; GUABERTO, L. M; SILVA, I. F. **Bioprospeção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 41, n. 3, p. 521-527, 2012.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO, L. S. J; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, E J. A. A. **Produtividade da soja em resposta a inoculação padrão e coinoculação.** Colloquium Agrariae, v.5, p.1-7, 2009.

BARNAWAL, D.; SINGH, R.; SINGH, R. P. **Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Drought Tolerance: Regulating Growth Hormones and Osmolytes.** In: PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. Woodhead Publishing, p. 107-128, 2019.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J.- P. **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, 2014.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. **How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth-a critical assessment.** Advances in Agronomy, v. 108, p. 77-136, 2010.

BURDMANN, S.; HAMAOU, B.; OKON, Y. **Improvement of legume crop yields by coinoculation with *Azospirillum* and *Rhizobium*.** The Otto Warburg Center for Agricultural Biotechnology. Israel: The Hebrew University of Jerusalem, 2000.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. **Agricultural uses of plant biostimulants.** Plant and Soil, v. 383, n. 1/2, p. 3-41, 2014.

CAMILO, B. G; DE OLIVEIRA, C. A; MARRIEL, I. E. **Resposta da cultura do milho à inoculação com *Azospirillum brasiliense* sob três níveis de nitrogênio e tratamento químico da semente.** In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC/CNPq, 12., 2017, Sete Lagoas. [Trabalhos apresentados]. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2017., 2017.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. ***Azospirillum* ssp. in current agriculture: From the laboratory to the field.** Soil Biology and Biochemistry, v. 103, p. 117-130, 2016. DOI: 10.1016/j. soilbio.2016.08.020.

CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. **Physiological and agronomical aspects of phytormone production by model plant-growthpromoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*.** Journal of Plant Growth Regulation, v. 33, n. 2, p. 440-459, 2014.

CHAMAM, A.; SANGUIN, H.; BELLVERT, F.; MEIFFREN, G.; COMTE, G.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; BERTRAND, C.; PRIGENT-COMBARET, C. **Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the *Azospirillum*-*Oryza sativa* association.** Phytochemistry, v. 87, p. 65-77, 2013.

CHANDRA, P.; SINGH, E. **Applications and mechanisms of plant growth stimulating rhizobacteria.** In: CHOUDHARY, D.; VARMA, A.; TUTEJA, N. (Ed.). Plant-microbe interaction: an approach to sustainable agriculture. Switzerland: Springer, 2016. p. 37-62.

CHIBEBA, A. M.; GUIMARÃES, M. de F.; BRITO, O. R.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Coinoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation.** American Journal of Plant Sciences, Irvine, v. 6, n.10, p. 1641-1649, 2015.

COMBES-MEYNET, E.; POTHIER, J. F.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; PRIGENT-COMBARET, C. **The *Pseudomonas* secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol is a signal inducing rhizoplane expression of *Azospirillum* genes involved in plant-growth promotion.** Molecular Plant-Microbe Interactions, v. 24, n. 2, p. 271-284, 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** Brasília: CONAB, 2021. 47 p.

COMPANT, S; CLÉMENT, C; SESSITSCH, A. **Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization.** Soil Biology and Biochemistry, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CONTESTO, C.; DESBROSSES, G.; LEFOULON, C.; BÉNA, G.; BOREL, F.; GALLAND, M.; GAMET, L.; VAROQUAUX, F.; TOURAINE, B. **Effects of rhizobacterial ACC deaminase activity on *Arabidopsis* indicate that ethylene mediates local root responses to plant growth-promoting rhizobacteria.** Plant Science, v. 175, n. 1/2, p. 178-189, 2008.

DA CONCEIÇÃO, C. L. et al., **Avaliação de promotores de crescimento microbianos em plântulas de milho crescidas em solução nutritiva.** In: Embrapa Milho e Sorgo-

Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC/BIC JÚNIOR, 12., 2017, Sete Lagoas. [Trabalhos apresentados]. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2017.

DA SILVEIRA, A. P. D; FREITAS, S. DS. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Instituto Agronômico, 2007.

DAR, Z. M.; MASOOD, A.; MUGHAL, A. H.; ASIF, M.; MALIK, M. A. **Review on Drought Tolerance in Plants Induced by Plant Growth Promoting Rhizobacteria**. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. v. 7, n. 3, p. 2802-2804, 2018. DOI: 10.20546/ijcmas.2018.705.053.

DE SOUSA, S. M. et al., **Cepas de Bacillus e Azospirillum aumentam o crescimento e a absorção de nutrientes em milho em condições hidropônicas**. Embrapa Milho e Sorgo-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2018.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. **Phytostimulatory effect of Azospirillum brasilense wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat**. Plant and Soil, v. 212, n. 2, p. 153-162, 1999.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. **Dados econômicos - Soja em números**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 03 de agosto de 2022.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A; CASAROLI, D.; SIMON, J.; NETO, D. D.; LIER, Q. J.; SANTOS, O. S.; MÜLLER, L. 2007. **Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja-revisão**. Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia 2014: 89-106.

FACHINELLI, R; CECCON, G. **Coinoculação com Bradyrhizobium e Azospirillum na soja em sucessão ao milho safrinha em solo arenoso e argiloso**. Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2020.

FERLINI, H. A. **Coinoculación en Soja (Glycine max) con Bradyrhizobium japonicum y Azospirillum brasilense**. Artículos Técnicos – Agricultura. 2006. Disponível em: http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glicyne_s_articulos_800_AGR.htm. Acesso: 10 abr. 2020.

FERREIRA, D.F. SISVAR - **Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. DEX.Lavras-MG: UFLA, 2011.

FONSECA, L. M. F. **Inoculação com estirpes de Azospirillum e adubação nitrogenada no acúmulo de nutrientes e produtividade de milho**.

GUPTA, S.; RADHAKRISHNAN, A.; RAHARJA-LIU, P.; LIN, G.; STEINMETZ, L. M.; GAGNEUR, J.; SINHA, H. **Temporal expression profiling identifies pathways mediating effect of causal variant on phenotype.** PLoS Genetics, v. 11, n. 6, p. e1005195, 2015.

HUNGRIA, M. *Azospirillum: um velho novo aliado.* <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/150694/1/Mariangela-Hungria-Azospirillum-Fertbio.pdf>. Publicado em FERTBIO, 2016. “Rumo aos novos desafios”. Acesso em: 06 de dezembro de 2020.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina. Embrapa-CNPSO, 2011. 36 p. (Embrapa-CNPSO, Boletim técnico, 325).

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-Documentos (INFOTECA-E), 2007.

KAUSHAL, M. **Portraying Rhizobacterial Mechanisms in Drought Tolerance: A Way Forward Toward Sustainable Agriculture.** In: PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. Woodhead Publishing, p. 195-216, 2019.

MARQUES, D. M., MAGALHAES, P. C., MARRIEL, I. E., CC, G. J., SILVA, A., MELO, I. G., & de SOUZA, T. C. (2020). ***Azospirillum brasilense* favors morphophysiological characteristics and nutrient accumulation in maize cultivated under two water regimes.** Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE).

MALAVOLTA, E.; MORAES, M.F. **Fundamentos do nitrogênio e do enxofre na nutrição mineral das plantas cultivadas.** In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S.; VITTI, G. C. (Ed.). Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira. Piracicaba: Internacional Plant Nutrition Institute, 2007. 722 p.

OKON, Y; VANDERLEYDEN, J. **Root associated *Azospirillum* species can stimulate plants.** ASM News, v. 63, n. 7, p. 364-370, 1997.

OKUMA, I. G, et al., **Avaliação da produtividade de variedades de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* em sistema de plantio direto sob palha de *Urochloa ruziziensis*.** International Journal of Development Research , v. 9, n. 08, p. 29197-29200, 2019.

OKUMURA, R. S; MARIANO, D. DC; ZACCHEO, P. V. C. **Uso de fertilizante nitrogenado no milho.** Applied Research & Agrotechnology , v. 4, n. 2, pág. 226-244, 2011.

OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; MATTOS, B. B.; TEXEIRA, J. M. A.; CRISTELLI, E. A.; DIAS F. E. S.; BARACHO, A. O.; MARRIEL, I. E.; **Utilização de bioinoculantes para o cultivo do milho (*Pennisetum glaucum*) com fontes naturais de fosfatos**. Em: FertBio. Maceió, 2012.

PINHEIRO, M. D. S. (2014). **Interação entre genótipos e estirpes de rizóbio em feijão-caupi**.

PRASAD, M.; SRINIVASAN, R.; CHAUDHARY, M.; CHOUDHARY, M.; JAT, L. K. **Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for Sustainable Agriculture: Perspectives and Challenges**. In: PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture, p. 129-157, 2019.

REIS, V. M; TEIXEIRA, KR dos S. **Fixação biológica de nitrogênio-estado da arte. Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 28, p. 350-68, 2005.

REVOLTI, L. T. M.; CAPRIO, C. H.; MINGOTTE, F. L. C.; MÔRO, G. V. ***Azospirillum* spp. potential for maize growth and yield**. African Journal of Biotechnology, v. 17, n. 18, p. 574-585, 2018. DOI: 10.5897/AJB2017.16333.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. **Resposta da cultura do milho a aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. Potencialidades, desafios e sustentabilidade: resumos expandidos... Goiânia: ABMS, 2010. 1 CD-ROM.

RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V. V.; BARROS, B. G. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. **Resposta da coinoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi**. Bioscience. Jornal, v. 28, p.196-202, 2012.

SAIKIA, S. P.; DUTTA, S. P.; GOSWAMI, A.; BHAUS, B. S.; KANJILAL, P. B. **Role of *Azospirillum* in the Improvement of Legumes**. In: KHAN, M. S., ZAIDI, A., MUSARRAT, J. Microbes for Legume Improvement. Wien: Springer-Verlag, 2010. p. 389-408.

SANTOS, C. D. R., Bezerra, R. D. V., de FREITAS, A. D. S., Seido, S. L., MARTINS, L. V., Rumjanek, N. G., & Xavier, G. R. (2009). **Modificação de vasos de Leonard com garrafas descartáveis tipo Pet**. Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

SILVA, A. F.; CARVALHO, M. A. C.; SCHONINGER, E. L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; SANTOS, P. A. **Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo.** Bioscience Journal, Uberlândia, v. 27, n. 3, p.404-412, 2011.

SMITH, P.; MARTINHO, D.; CAI, Z.; GWARY, D.; JANZEN, H.; KUMAR, P.; MCCARL, B.; OGLE, S.; O'MARA, F.; RICE, C.; SCHOLLES, B.; SIROTKENKO, O. Agriculture. In: METZ, B.; DAVIDSON, O. R.; BOSCH, P. R.; DAVE, R.; MEYER, L. A. (Ed.). **Climate change 2007: mitigation.** Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; et al., **Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning.** Frontiers in Plant Science, v. 4, p. 356, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00356.

ZILLI, J., VILLAS BOAS, D. C., ALVES, B., STRALIOTTO, R., BODDEY, R., & URQUIAGA, S. (2011). **Análise da qualidade do substrato composto por areia e vermiculita para cultivo de leguminosas em vasos de Leonard, nas condições da Embrapa Agrobiologia.** Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E).