# UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA

Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA?

JOÃO PAULO DE CASTRO SOUZA LUIS GUILHERME RODRIGUES MACEDO

# Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA?

# JOÃO PAULO DE CASTRO SOUZA LUIS GUILHERME RODRIGUES MACEDO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal Da Grande Dourados (UFGD).

Orientador: Prof. Dr. Cleberton Correia Santos.

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

#### M141a Macedo, Luis Guilherme Rodrigues

Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA? [recurso eletrônico] / Luis Guilherme Rodrigues Macedo, João Paulo de Castro Souza. -- 2024.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Cleberton Correia Santos.

TCC (Graduação em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio

1. Aplicação foliar. 2. Glycine max L.. 3. Nódulos. 4. Trocas gasosas. 5. Rendimentos fotoquímicos. I. Souza, João Paulo de Castro. II. Santos, Cleberton Correia. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

# Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA?

Por

# João Paulo de Castro Souza Luis Guilherme Rodrigues Macedo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de ENGENHEIRO AGRÔNOMO

Aprovado em: 03 de Julho de 2024.



Prof. Dr. Cleberton Correia Santos
Orientador – UFGD-FCA

Documento assinado digitalmente

JESSICA ALINE LINNE
Data: 11/07/2024 11:01:05-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Jéssica Aline Linné Membro da Banca – UFGD-FCA

Documento assinado digitalmente

JULIANA MILENE SILVERIO

Data: 15/07/2024 19:01:31-0300

Verifique em https://validar.iti.gov.br

Me. Juliana Milene Silverio

Membro da Banca – UFGD-FCA

#### Agradecimentos

Inicialmente quero agradecer a Deus, por ter me dado o dom da vida, a capacidade de lutar por tudo que conquistei até o momento e também por ter me dado discernimento necessário para evoluir diariamente e buscar me tornar uma pessoa melhor.

Quero agradecer imensamente a minha família, meu pai Valdeir Souza, minha mãe, Suzinei Nascimento de Castro Souza e minhas irmãs Joana Maria de Castro Souza e Jordana Maria de Castro Souza, por todo apoio tanto emocional, quanto financeiro e também por nunca terem medido esforços para me ajudar a caminhar, crescer e conquistar meus sonhos, não só no período acadêmico, como em toda minha vida.

Também gostaria de agradecer a todos os demais membros da minha família que de alguma forma influenciaram na minha caminhada de vida e formação.

À minha namorada Ana Beatriz de Oliveira Neto, que sempre esteve ao meu lado apoiando, aconselhando, incentivando e ajudando a me manter sempre feliz e persistente na caminhada durante este período.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, que desde o início sempre se mostrou disponível, paciente, atencioso e empenhado em nos ensinar e transmitir seus conhecimentos da melhor forma possível.

Ao meu grande amigo conquistado dentro da universidade Luis Guilherme Rodrigues Macedo, pela amizade, companheirismo e por sempre estar ao meu lado durante toda a caminhada acadêmica.

A todos os amigos que conquistei durante a graduação, principalmente Diego Pereira, Rian Alex Lopes Janse e Luana Barbosa Garcia, que também estiveram sempre ao meu lado tornando este período de formação mais alegre, leve e tranquilo e a todos os membros do grupo GEEP, pelo auxilio no desenvolvimento das atividades desenvolvidas na universidade.

A todos os professores que me auxiliaram durante minha formação desde o período de escola até o fim da graduação.

#### Agradecimentos

Primeiramente a Deus por me proporcionar a vida, a saúde, por estar em meu caminho todos os dias de minha vida me guiando por todos os desafios, por permitir e me dar forças para chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais George Soares Macedo e Luciana Francisca Rodrigues por todo o apoio e incentivo tanto emocional, quanto financeiro, que fizeram com que eu nunca desistisse dos meus sonhos, apesar das dificuldades sempre se mantiveram ao meu lado a cada minuto.

Ao meu padrinho José Rubens Barbosa por fornecer todo o apoio necessário durante a minha formação acadêmica.

Ao nosso orientador Prof. Dr. Cleberton Correia Santos por ter aceitado orientar o nosso trabalho de pesquisa, pelo conhecimento passado que certamente levarei para a vida, por sempre estar à disposição e muito paciente nesse processo, nos apoiando a todo momento.

Ao meu grande amigo e dupla de projeto João Paulo de Castro Souza, pela amizade, por sempre poder contar com você, pela cumplicidade, pela paciência, pelo empenho e sua boa vontade.

Aos meus amigos Rian Alex Lopes Janse, Diego Pereira e Luana Barbosa Garcia, por todo o apoio, contribuição, companheirismo durante a caminhada na universidade e contribuição com o nosso trabalho.

A todos os integrantes do Grupo de Estudos em Ecofisiologia de Plantas por contribuírem com o nosso projeto e pela disposição em nos ajudar nas atividades.

A UFGD por nos proporcionar essa experiência, pela sua estrutura fornecida, agradeço também os técnicos e os demais funcionários que mantêm a universidade em dia. A todos os professores que contribuíram para a minha formação.

Luis Guilherme Rodrigues Macedo

# Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA?

#### **RESUMO**

A coinoculação com Azospirillum brasilense e Pseudomonas fluorescens pode ser uma prática promissora para obtenção de altas produtividades de soja. Além disso, o uso de fitohormônios como a auxina pode auxiliar no metabolismo foliar e desenvolvimento das plantas. Objetivamos avaliar o efeito da coinoculação de A. brasilense e P. fluorescens e a aplicação de auxina no metabolismo fotossintético e desenvolvimento das plantas de soja. Os métodos de coinoculação foram os seguintes: CK, inoculada apenas com Bradyrhizobium spp. (sem coinoculação), enquanto que os demais métodos de coinoculação utilizaram Bradyrhizobium spp. e uma fonte comercial contendo A. brasilense e P. fluorescens, dispostos da seguinte forma: APs, coinoculação com A. brasilense e P. fluorescens via semente; APf, coinoculação via foliar no estádio V3 e APs+f, via semente + via foliar, todos associados ou não a aplicação foliar de auxina no estádio V4. Aos 36, 40 e 44 dias após semeadura (DAS) foram avaliados os aspectos fotoquímicos e das trocas gasosas, e aos 49 DAS avaliamos as características de desenvolvimento de produção de biomassa de folhas, ramos, nódulos e raízes. A aplicação de auxina pouco influenciou os rendimentos fotoquímicos, enquanto que os melhores valores das atividades fotoquímicas nos centros de reação do fotossistema II ocorreram nas plantas coinoculadas com APs+f. Em geral, os melhores resultados de fotossíntese, eficiência de carboxilação e no uso da água ocorreram com a coinoculação APf e APs+f. As respostas de desenvolvimento em função dos métodos de coinoculação variam com a aplicação de auxina. Observamos que a aplicação de auxina contribuiu positivamente na área foliar e produção de biomassa de folhas, raízes e nódulos. A coinoculação com APf e APs+f favoreceu a emissão antecipada de flores e maior número de vagens. Os efeitos dos métodos e da aplicação da auxina são variáveis com os períodos de avaliação. Concluiu-se que a coinoculação com A. brasilense e P. fluorescens via semente + foliar e a aplicação de auxina contribui positivamente no metabolismo fotossintético e desenvolvimento das plantas de soja.

**Palavras-chave**: Aplicação foliar, *Glycine max* L., nódulos, trocas gasosas, rendimentos fotoquímicos.

# Azospirillum brasilense, Pseudomonas fluorescens E AUXINA CONTRIBUEM NO METABOLISMO FOLIAR E DESENVOLVIMENTO DA SOJA?

#### **ABSTRACT**

Coinoculation with Azospirillum brasilense and Pseudomonas fluorescens may be a promising practice for obtaining high soybean yields. Furthermore, the use of phytohormones such as auxin can assist in leaf metabolism and plant development. We aimed to evaluate the effect of coinoculation of A. brasilense and P. fluorescens and the application of auxin on the photosynthetic metabolism and development of soybean plants. The coinoculation methods were as follows: CK, inoculated only with Bradyrhizobium spp. (without coinoculation), while the other coinoculation methods used Bradyrhizobium spp. and a commercial source containing A. brasilense and P. *fluorescens*, arranged as follows: APs, coinoculation with A. brasilense and P. fluorescens via seed; APf, coinoculation via foliar at stage V3 and APs+f, via seed + via foliar, all associated or not with foliar application of auxin at stage V4. At 36, 40 and 44 days after sowing (DAS) the photochemical aspects and gas exchange were evaluated, and at 49 DAS we evaluated the development characteristics of biomass production of leaves, branches, nodules and roots. The application of auxin had little influence on photochemical yields, while the best values of photochemical activities in the reaction centers of photosystem II occurred in plants co-inoculated with APs+f. In general, the best results in photosynthesis, carboxylation efficiency and water use occurred with APf and APs+f coinoculation. Developmental responses depending on coinoculation methods vary with auxin application. We observed that the application of auxin contributed positively to the leaf area and biomass production of leaves, roots and nodules. Coinoculation with APf and APs+f favored the earlier emission of flowers and a greater number of pods. The effects of the methods and application of auxin vary with the evaluation periods. It was concluded that coinoculation with A. brasilense and P. fluorescens via seed + foliar and the application of auxin contributes positively to the photosynthetic metabolism and development of soybean plants.

**Keywords:** Foliar application, *Glycine max* L., nodules, gas exchange, photochemical yieldS.

# SUMÁRIO

1.	IN	TRODUÇÃO	1
2.	REV	ISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
	2.1	A cultura da Soja (Glycine max L.)	3
	2.2	Bactérias promotoras de crescimento em plantas	4
		2.2.1 Azospirillum brasilense	4
		2.2.2 Pseudomonas fluorescens	5
	2.3	Ácido Indol Acético (AIA)	5
3.	MA	TERIAL E MÉTODOS	7
	3.1	Condições gerais	7
	3.2	Coinoculção com A. brasilense + P. fluorescens e aplicação de auxina	8
	3.3	Avaliações	10
	3.4	Análise de dados	11
4.	RES	ULTADOS	12
	4.1	Descrição fenológica	12
	4.2	Descrição do resumo da ANOVA	12
	4.3	Índice de clorofila e aspectos fotoquímicos	15
	4.4	Trocas gasosa	17
	4.5	Indicadores de desenvolvimento	19
	4.6	Aspectos visuais	21
5.	DISC	CUSSÃO	22
6.	CON	CLUSÃO	27
R	EFER	ÊNCIAS	28

# 1. INTRODUÇÃO

A soja [Glycine max (L.) Merril, Fabaceae] é uma planta leguminosa domesticada pelo homem há milhares de anos e de representação econômica no agronegócio brasileiro e mundial. O Brasil é responsável por aproximadamente 42% da produção mundial de soja, sendo atualmente o maior produtor do grão, seguido dos Estados Unidos e Argentina com 31% e 7% da produção mundial respectivamente (USDA, 2023). Segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023), a produção brasileira de soja alcançou 154.617,4 mil toneladas na safra 2022/23, representando produtividade de 3.508 kg/ha, superando em 15,9% a produtividade da safra anterior de 2021/22. No entanto, ainda existem entraves que dificultam a obtenção de altas produtividades.

A produção de soja está distribuída por grande parte do território nacional, principalmente em regiões tropicais, tais como as encontradas no Cerrado, no qual boa parte dos solos desta região são muito intemperizados, de baixa fertilidade e apresentam altos teores de óxidos de ferro e alumínio que aumentam a fixação de fósforo, deixando o indisponível para as plantas (BARBOSA et al., 2022).

Com isso, a busca por tecnologias que auxiliem na disponibilidade e uso eficiente dos nutrientes tem aumentado. Nesse sentido, o uso de microrganismos benéficos que mantém uma relação amigável com as plantas tem sido uma alternativa promissora e sustentável, pois favorecem a eficiência fisiológica e nutricional, potencializando o desempenho produtivo das plantas.

O uso de bactérias associativas simbióticas auxilia na redução de custos e no ganho produtivo das culturas. Esses microrganismos são capazes de utilizar um elevado número de substâncias como fonte de energia e nutrientes, além de possuir um metabolismo diversificado, aspectos esses que os tornam promissores à (OLEŃSKA et al., 2020).

Dentre as bactérias diazotróficas amplamente utilizadas, o *Azospirillum* brasilense atua como promotor de crescimento, sendo capaz de viver em vida livre no solo sem que haja necessidade de se associar as plantas. O gênero aumenta a capacidade de fixação de N atmosférico, além de induzir a síntese de fitohormônios, estimulando o

crescimento radicular e melhor absorção de água e nutrientes (FUKAMI et al., 2018; CASSÁN et al., 2020; FERREIRA et al., 2020).

Dentre a vasta gama de microrganismos promotores de crescimento em plantas destaca-se também a *Pseudomonas fluorescens*, comumente utilizada em estudos e formulações comerciais com capacidade de solubilizar o fósforo, convertendo o fosfato inorgânico em sua forma orgânica solúvel (YAASHIKAA et al., 2020). Outro aspecto sobre essas bactérias é que elas podem atuar na supressão e prevenção ao ataque de patógenos, tornando-se um importante agente de biocontrole como uma alternativa sustentável para a redução no uso de fungicidas químicos, principalmente tratando-se do controle de doenças do solo (DAVID et al., 2018; YAASHIKAA et al., 2020). A associação de *A. brasilense* e *P. fluorescens* pode contribuir positivamente no metabolismo foliar e crescimento das plantas da soja.

Outro manejo importante é o posicionamento fisiológico, utilizando produtos com ação hormonal. O ácido indol-3-acético (AIA) atua de várias formas no crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo a fonte de auxina predominantemente mais utilizada (SHAHZAD et al., 2022). Além disso, é um hormônio não tóxico frequentemente utilizado na promoção de crescimento em plantas e, quando usado em baixas concentrações afeta positivamente a sistematização da divisão celular, o alongamento, estruturação de raízes adventícias, indução de embriogênese e iniciação de calos (TALUKDAR et al., 2022). Entretanto, os estudos que associam essas bactérias por diferentes métodos de coinoculação com a aplicação de auxina são insuficientes e carecem de informações a respeito dos seus efeitos na fisiologia das plantas.

Hipotetizamos que a associação das bactérias do gênero *A. brasilense* e *P. fluorescens* e aplicação foliar de AIA pode ser uma estratégia de manejo promissora para a soja, contribuindo na morfofisiologia e crescimento dos nódulos. Assim, objetivamos avaliar o efeito de métodos de uso do *Azospirillum brasiliense* e *Pseudomonas fluorescens* associados, sem ou com aplicação foliar de auxina sobre o metabolismo fotossintético e crescimento da soja.

# 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# 2.1 A cultura da Soja (Glycine max L.)

A soja possui grande relevância para o mundo, encontrando-se entre as cinco culturas mais importantes para diversos setores, com destaque para sua capacidade de fornecer proteína dietética, óleo vegetal e ração para a alimentação animal (WANG ET al., 2020; XIONG et al., 2021). Com base em resultados mundiais de importação e exportação pode-se elencar a soja como a principal commodity no ramo alimentício, estando a frente do arroz, milho e trigo, ainda sem incluir seus subprodutos (XIONG et al., 2021).

O Brasil e os Estados Unidos são os principais produtores e exportadores da oleaginosa no mundo, sendo o mercado chinês o principal destino de escoamento do produto (USDA, 2023). De acordo com o relatório da safra apresentado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023), a expectativa de exportação da safra 2022/23foi de 96,95 milhões de toneladas. Isso se deve ao fato de que de janeiro a agosto de 2023 houve um aumento de 22% no teor de exportações da cultura, quando comparado ao mesmo período no ano de 2022.

As condições de exigência nutricional e exportação de nutrientes da cultura da soja são determinados principalmente por fatores genéticos que podem variar de acordo com o genótipo da cultivar utilizada (EMBRAPA, 2021). Quando em níveis ideais na planta, o fósforo resulta num melhor desenvolvimento radicular e de parte aérea, consequentemente afeta positivamente na incidência de flores e preparação de frutos (KHAN et al., 2020). Com relação ao nitrogênio, o mesmo é o nutriente mais requerido pela cultura, isto se deve ao alto teor de proteína contido nos grãos, tendo em média 6,5% de N em sua composição (CRISPINO et al., 2001).

Além disso, outros fatores podem influenciar na produtividade de grãos da cultura da soja, agindo de forma isolada ou em correlação, sendo benéficos ou maléficos à produção da cultura, como a cultivar escolhida, a época e densidade de semeadura e disponibilidade de água e nutrientes (TEJÓ, 2019).

Alguns desafios são encontrados nas áreas produtivas do país, visto que as regiões tropicais do Cerrado são em sua maioria formadas por solos classificados como latossolos (KER, 1997), portanto possuem alto grau de intemperização e concentração de óxidos de Fe e Al, o que dificultando a fixação de fósforo, os quais permanecem

indisponíveis para absorção pelas plantas, tornando-se fator limitante ao metabolismo foliar. Entretanto, quando corrigidos e manejados de forma correta, possuem alto potencial para utilização agrícola (UIDAHO, 2023).

#### 2.2 Bactérias promotoras de crescimento em plantas

### 2.2.1 Azospirillum brasilense

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), se torna uma alternativa para melhorar o aproveitamento das áreas, sendo as bactérias do gênero *Azospirillum* spp., uma das mais utilizadas e disponíveis no mercado. O *Azospirillum* é um gênero de bactéria que ao contrário dos *Bradyrhizobium*, atuam em vida livre no solo e não necessitam da formação de nódulos para realizar a fixação de N, entretanto apresentam boa capacidade em associar nitrogênio biológico às plantas (FERREIRA et al., 2020).

Os mecanismos de ação do *Azospirillum brasilense* podem ser definidos pelo aumento da atividade da membrana e estímulo de crescimento das partes vegetativas, como as raízes e pelos radiculares (BARBOSA et al., 2022). Ainda segundo esses autores, em resultados obtidos a partir da inoculação de milho (*Zea mays* L.) com *A. brasilense*, a ação melhorou a eficiência agronômica da cultura em relação à absorção de nitrogênio pelas plantas, trazendo benefícios à parte aérea e radicular, com um aumento na produtividade da cultura em torno de 7,3%.

A adoção da inoculação de *A. brasilense* em cultivos de cana-de-açúcar também auxilia gerando positivos retornos econômicos e agronômicos para a cadeia produtiva da cultura, acaretando em maior produção e reduzindo os custos empregados para tal atividade (SCUDELETTI et al., 2023). A inoculação da bactéria em trigo atuou na recuperação de fertilizantes nitrogenados, melhorou a eficiência agronômica, promovendo benefícios ao desenvolvimento de raízes e parte aérea, gerando ganho em produtividade da cultura de aproximadamente 10,3% (GALINDO et al., 2022).

Em ensaios realizados com a coinoculação de *A. brasilense* e *Bradyrhizobium* spp. em soja, foi possível observar um ganho em características como comprimento e volume de raízes, bem como o aumento das ramificações das mesmas, além de aumento dos pelos radiculares e nódulos formados para a fixação de N, onde foi possível observar a campo em condições de estresse, um aumento de cerca de 33% na produtividade de grãos da cultura (RONDINA et al., 2020).

#### 2.2.2 Pseudomonas fluorescens

O gênero de bactérias promotoras de crescimento de plantas que atuam no desenvolvimento vegetal *Pseudomonas* spp. é um importante agente natural que atua no controle de patógenos presentes no solo e também possuem a capacidade de realizar a solubilização de fósforo inorgânico, que muitas vezes se encontra retido e indisponível para as plantas (ÁLVAREZ et al., 2020).

As *P. fluorescens* têm sido utilizadas na inoculação de sementes a fim de estimular a produção das culturas, uma vez que, auxiliam na fixação de nitrogênio como as bactérias do gênero *Azospirillum* spp., mas também realizam a solubilização do P presente no solo, além de produzirem fitohormônios essenciais para o desenvolvimento vegetal, os quais auxiliam consequentemente a combater a presença de organismos prejudiciais ao desenvolvimento vegetal (MEHMOOD et al., 2023).

A inoculação de *Pseudomonas* spp. em soja se mostra uma ótima alternativa para o enfrentamento das adversidades encontradas durante seu ciclo, uma vez que, esta bactéria auxilia na redução dos efeitos causados pelo estresse salino em algumas cultivares, mantendo as plantas resistentes a essa condição (ABULFARAJ et al., 2021).

Ao inocular estirpes de *Pseudomonas fluorescens* em milho doce, observouse que houve promoção do crescimento e produtividade das plantas, além de mitigar os efeitos do estresse hídrico (ZAREI et al., 2019). Esses mesmos autores salientam que as cepas de *Pseudomonas fluorescens* contribuíram na disponibilidade de nutrientes, como fósforo e ferro, sugerindo efeito mobilizador, além de favorecer a produção de hormônios de crescimento, reduzindo a síntese do etileno e favorecendo o crescimento das plantas.

Vale ressaltar que estudos relacionados ao uso de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. em correlação com a cultura da soja são escassos, portanto, torna-se interessante a realização de pesquisas voltadas para este assunto a fim de evidenciar informações e esclarecimentos desta interação.

# 2.3 Ácido Indol Acético (AIA)

O estímulo da produção e utilização de fitohormônios é uma ferramenta importante para a manutenção da qualidade de desenvolvimento das culturas, auxiliando-as na superação de potenciais situações de estresse durante seu ciclo. Assim o ácido indol acético é o hormônio mais difundido em toda a natureza, sendo uma fonte de auxina para as plantas (LI et al., 2019).

As auxinas atuam no crescimento das plantas, estando presente em concentrações variáveis de acordo com o órgão em atuação, seja caule, raiz ou botões florais, no qual podem ser consideradas promotoras da diferenciação, ou seja, promovem o desenvolvimento das plantas e regulam a morfologia dos órgãos (ZHANG et al., 2022).

O AIA é a forma natural mais abundante da auxina presente nos vegetais e seu papel central na promoção de crescimento de plantas está diretamente relacionado com seus mecanismos de atuação em que em mínimas concentrações atuam na regulação de diferentes metabolismos (OSTIN et al., 1998; KONDHARE et al., 2021). Estudos revelam que parte da sua ação está correlacionada como ácido livre, e o controle de seus níveis endógenos ocorre *in vivo* mediado por processos como, transporte, síntese, armazenamento e inativação (OSTIN et al., 1998; CASANOVA, 2019).

O ácido indol-3-acético também pode facilitar a interação entre planta e microrganismos rizosféricos, uma vez que ao afrouxar as paredes celulares das raízes das plantas faz com que haja um aumento da exsudação das mesmas, favorecendo uma maior diversidade e atividade de microrganismos que utilizam destas substâncias (DUCA e GLICK, 2020). No entanto, ainda são insuficientes os trabalhos associando a aplicação de produtos com finalidade hormonal com rizobactérias.

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

# 3.1 Condições gerais

O experimento foi realizado em casa de vegetação, na Faculdade de Ciências Agrárias (22,19662° S, 54,93385° O) da Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD, em Dourados, Mato Grosso do Sul. Foi realizada a inoculação das sementes de soja cv. M6410 com *Bradyrhizobium elkani* e *B. Japoninicum* estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5080, respectivamente, utilizando a dose de 50 mL a cada 50 kg de semente, conforme recomendado pelo fabricante.

As sementes foram coinoculadas com *Azospirillum brasilense* Ab-V6 + *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, com 1x10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colônia (UFC mL<sup>-1</sup>), na dose de 150 mL ha<sup>-1</sup> conforme recomendação do fabricante. Posteriormente realizamos a semeadura de cinco sementes em vasos plásticos com capacidade de 8 kg (Figura1a), previamente preenchidos com Latossolo Vermelho Distroférrico, de textura argilosa com os atributos químicos apresentados na Tabela 1. 10 dias após semeadura (DAS) foi realizado o desbaste das parcelas, mantendo apenas duas plantas por vaso.



FIGURA 1. Semeadura da soja nos vasos (a), aferição da temperatura e umidade relativa (b), preparo de calda de coinoculação (c), aplicação de auxina (d), avaliações do experimento (e, f). UFGD, Dourados – MS, 2024.

TABELA 1. Análise de atributos químicos e granulometria do solo verificados no experimento. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Análise de atributos químico do solo								
pН	K	P	P Ca		Mg H+Al			
em água	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	V%	
5,8	0,46	2,68	7,1	2,4	5	0,21	66,6	
C.T.C	Mat. Org	S	Mn	Fe	Cu	Zn	В	
pH 7,0	g/dm <sup>3</sup>	mgSO <sub>4</sub> /dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	$mg/dm^3$	$mg/dm^3$	mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	
14,96	27,33	0,69	622,09	17,31	30,65	0,02	0,12	
Granulometria								
Teor de Argila			Teor de areia		Геоr de silte			
48,76%			44,5	44,56% 6,68%				

As médias semanais de temperatura e umidade relativa do ambiente de desenvolvimento do experimento foram aferidas com auxílio de um termo-higrômetro (Figura 1b). A calda para realização da coinoculação foi reparada em laboratório com a utilização de micropipeta de 1,0 e 2,5 μL (Figura 1c) e posteriormente aplicada com pulverizador costal pressurizado com CO<sub>2</sub> aos 22 DAS (Figura 1d). As avaliações não destrutivas foram realizadas aos 36, 40 e 44 DAS (Figura 1e-f), enquanto que aos 49 DAS foi realizada a coleta das plantas para a realização das análises destrutivas.

# 3.2 Coinoculção com A. brasilense + P. fluorescens e aplicação de auxina

Os tratamentos foram constituídos da seguinte maneira: 1) CK, testemunha (inoculada apenas com *Bradyrhizobium* sp.via semente), enquanto que os demais métodos de coinoculação utilizaram *Bradyrhizobium* spp. e uma fonte comercial contendo *A. brasilense* e *P. fluorescens*, dispostos da seguinte forma: 2) APs, inoculação com *Azospirillum brasilense* + *Pseudomonas fluorescens* via tratamento de sementes (150 mL ha<sup>-1</sup>, segundo recomendação do fabricante)de acordo com a dose recomendada pelo fabricante, 3) APf, inoculação com *Azospirillum brasilense* + *Pseudomonas fluorescens* via aplicação foliar no estádio V3 (0,5 L ha<sup>-1</sup>) e 4) APs+f, via tratamento de sementes + via foliar no estádio V3. A aplicação foliar de *A. brasilense* e *P. fluorescens* foi realizada no estádio V3 na dose 0,5 L ha<sup>-1</sup> conforme trabalho DE OLIVEIRA et al., (2019). Todos o métodos foram associados ou não a aplicação via foliar de biorregulador auxínico na dose de 0,5 L ha<sup>-1</sup> seguindo a recomendação do fabricante, aplicado no estádio V4, com a seguinte composição: 2-(1H-indol-3-yl) acetic acid [Indol-3-ylacetic acid ([[ácido indolacético)] 0,03 g L<sup>-1</sup> (0,003% m/v); outros ingredientes: 999,97 g L<sup>-1</sup> [99,997% m/v]). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em

esquema fatorial 4 x 2, com quatro repetições, e cada unidade experimental foi constituída de um vaso com duas plantas em cada.

A aplicação do *A. brasilense* + *P. fluorescences* e do biorregulador foi realizada no período matutino, utilizando pulverizador costal pressurizado com CO<sub>2</sub>, acoplado em barra com quatro bicos de pulverização tipo leque espaçados em 0,5 m, cuja pressão foi regulada para 41 PSI e o volume de calda foi ajustado para 200 L ha<sup>-1</sup>. Aos 36 DAS, foi realizada adubação de manutenção com cloreto de potássio na dose de 72 kg ha<sup>-1</sup>. Os dados de temperaturas e umidades relativas no ambiente foram medidos frequentemente com termo-higrômetro, demonstrados pela Figura 2.

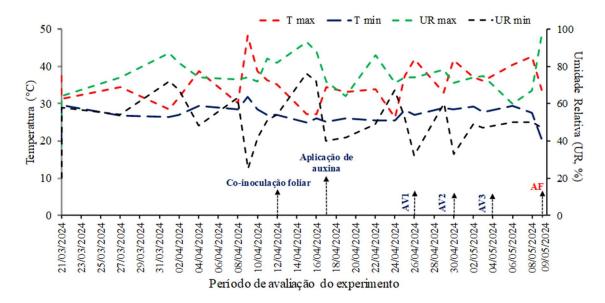


FIGURA 2. Condições médias de temperatura (°C) e umidade relativa (UR%) da casa de vegetação durante o período de condução experimental. AV1: primeira avaliação, AV2: segunda avaliação, AV3: terceira avaliação, AF: avaliação final destrutiva. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Durante o ciclo de cultivo foram necessários alguns manejos fitossanitários, como o controle de *Bemisia tabaci*, sendo necessário duas aplicações dos ingredientes ativos Bifentrina 25% e Acetamiprido 25%, no qual a primeira foi realizada aos 13 DAS e a segunda aos 20 DAS. O produto possui registro para a cultura da soja e é recomendado para um número máximo de 2 aplicações. A dose utilizada foi de 300 mL ha<sup>-1</sup> e o volume de calda ajustado para 300 L ha<sup>-1</sup>, assim como recomendado pelo fabricante. Foi realizada também uma aplicação preventiva de fungicida com um produto que possui 25% do ingrediente ativo Difenoconazol aos 33 DAS. A dose utilizada foi de 250 mL ha<sup>-1</sup> e o volume de calda ajustado para 200 L ha<sup>-1</sup>.

#### 3.3 Avaliações

As avaliações não destrutivas foram realizadas em três períodos, baseando-se nos dias após semeadura (36, 40 e 44 DAS), enquanto que as destrutivas foram realizadas aos 49 DAS. A tomada de decisão de colheita do experimento foi realizada seguindo o critério de mais de 50% das plantas estarem no estádio reprodutivo R3/R4.

As avaliações das trocas gasosas, índice de clorofila e fluorescência da clorofila *a* foram realizadas nas folhas totalmente expandidas localizadas no terço médio, entre as 8 e 11 horas da manhã.

- a) Fluorescência da clorofila *a* e índice de clorofila: O índice de clorofila foi determinado utilizando clorofilômetro portátil SPAD (*Soil Plant Analyzer Develompment*). Posteriormente, as folhas foram submetidas à condição de escuro durante 30 minutos, utilizando clipes adaptadores. Decorrido esse período, com o uso do fluorômetro portátil (OS-30p; Opti-Sciences Chlorophyll Fluorometer, Hudson, NY, USA) sob flash de luz de 1.500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> foi medida a fluorescência inicial (F<sub>0</sub>) da clorofila a e a eficiência quântica potencial fotoquímica no fotossistema II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) e calculada a eficiência de conversão de energia absorvida (F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub>). A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi calculada com base na proposta de Laisk e Loreto (1996).
- b) Trocas gasosas: foram quantificadas a taxa de assimilação de  $CO_2$  (fotossíntese) (A;  $\mu$ mol  $CO_2$  m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática ( $g_s$ ; mol  $H_2O$  m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), utilizando-se medidor portátil de análise de gás por infravermelho (IRGA, LCIPro-SDModelo ADC BioScientific Ltd.). Posteriormente, foi calculada a eficiência de uso da água (EUA;  $\mu$ mol  $CO_2$ /mmol  $H_2O$  m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco (A/Ci;  $\mu$ mol mol  $CO_2$  m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).
- c) Crescimento e indicadores de nodulação: foi realizada a medicão da altura da planta utilizando régua graduada, diâmetro de caule com paquímetro digital e aferido o peso dos nódulos presentes nas plantas, os mesmos foram retirados de forma manual e acondicionados para realização subsequente da pesagem. A área foliar foi medida utilizando integrador de área foliar modelo LICOR 3100. As folhas, ramos, raízes e nódulos frescos foram pesados em balança de precisão milesimal (0,0001 g) e foram submetidos a secagem em estufa com circulação de ar forçada a  $60 \pm 5$  °C, e pesados quanto a massa seca.

d) A descrição fenologica e aspectos visuais: A observação das plantas foi realizada a partir de análise visual, as mesmas ocorreram semanalmente durante todo o período de experimentação, do plantio até a colheita. Devido a uma variação nos estádios fenológicos das plantas ocasionado pelos métodos de coinoculação usados e a aplicação de biorregulador, optou-se por descrever a fenologia das plantas através da contagem de dias após a semeadura.

#### 3.4 Análise de dados

Os dados de cada período de avaliação em dias após a semeadura (DAS) foram analisados individualmente, ou seja, não comparando-os estitisticamente, os quais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando significativos pelo teste F ( $p \le 0.05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey para os métodos de coinoculação do *Azospirillum brasilense* + *Pseudomonas fluorescens* e pelo teste t de Bonferroni para aplicação da auxina foliar, todos a  $p \le 0.05 \pm erro$  padrão, utilizando o *software* SISVAR.

#### 4. RESULTADOS

#### 4.1 Descrição fenológica

A emergência das plântulas de soja foi observada aos 04 dias após a semeadura (DAS) (Figura 2). O par de folhas unifolioladas foi observado em todas as plantas aos 11 DAS, e as plantas apresentaram dois trifólios completamente desenvolvidos aos 20 e 26 DAS. Aos 26 DAS identificamos que a maioria das plantas apresentavam o terceiro trifólio completamente desenvolvido.

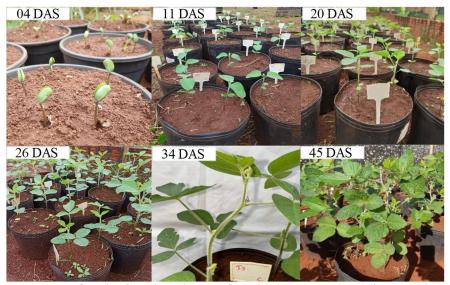


FIGURA 3. Aspecto fenológico das plantas de soja durante o período experimental. DAS: dias após a semeadura. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Identificamos diferenças entre o início do florescimento das plantas em função dos métodos de coinoculação, no qual aos 34 DAS 75% das plantas coinoculadas com APf emitiram flores (Figura 2), e após 35, 36 e 37 DAS, as plantas com APs+f, APs e CK iniciaram o processo de emissão floral, respectivamente. O pleno florescimento e início da emissão de vagens foi observado aos 45 DAS na maioria das parcelas do experimento.

#### 4.2 Descrição do resumo da ANOVA

O índice de clorofila nas plantas foi influenciado pela aplicação de auxina aos 36 DAS (Tabela 2). A taxa de transporte de elétrons (ETR), fluorescência inicial da clorofila a (F<sub>0</sub>) e a eficiência de conversão de energia absorvida (F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub>) foram influenciadas pelos métodos de coinoculação todas aos 44 DAS. A eficiência quântica

potencial fotoquímica do fotossistema II  $(F_v/F_m)$  foi influenciada pelos métodos de coinoculação aos 36 DAS e pela interação entre os fatores em estudo aos 44 DAS.

A fotossíntese (A) e a eficiência de carboxilação da Rubisco (A/C<sub>i</sub>) foram influenciadas pelos métodos de coinoculação aos 36 e 44 DAS e pela interação entre os fatores em estudo aos 40 DAS. A condutância estomática (g<sub>s</sub>) foi influenciada pelos métodos de coinoculação aos 40 DAS e pela interação aos 44 DAS. A eficiência do uso de água (EUA) foi influenciada aos 36 DAS pelos métodos de coinoculação e pela interação entre os fatores em estudo aos 44 DAS.

TABELA 2. Resultado da ANOVA (*p*-valor) dos efeitos isolados e da interação da coinoculação de rizobactérias e aplicação foliar de biorregulador com auxina, aos 36, 40 e 44 dias após a semeadura (DAS). UFGD, Dourados – MS, 2024.

Períodos de avaliações

36 DAS			40 DAS			44 DAS			
Característica	Coinoculação (C)	Auxina	(C) x Auxina	Coinoculação (C)	Auxina	(C) x Auxina	Coinoculação (C)	Auxina	(C) x Auxina
Clorofila	0,1523	0,0024	0,0939	0,8200	0,5631	0,0557	0,1377	0,3894	0,9095
$F_0$	0,8686	0,3311	0,8892	0,6332	0,4275	0,1487	0,0569	0,9571	0,4462
$F_{\nu}\!/F_{m}$	0,0375	0,9572	0,0175	0,5884	0,8020	0,8715	0,0003	0,5045	0,0516
$F_v/F_0$	0,0766	0,6333	0,1032	0,7815	0,6879	0,9732	0,0014	0,8783	0,2277
ETR	0,0607	0,4710	0,7087	0,3689	0,5348	0,8821	0,0140	0,6401	0,4415
A	0,0242	0,5498	0,9329	0,0073	0,0021	0,0079	0,0004	0,3133	0,1875
$g_{\mathrm{s}}$	0,5473	0,8235	0,5687	0,0040	0,3092	0,0608	0,2883	0,2715	0,0027
$A/C_{\rm i}$	0,0249	0,6172	0,8687	0,0691	0,0042	0,0398	0,0001	0,1242	0,1650
EUA	0,0408	0,4126	0,4492	0,6346	0,2150	0,4648	0,0000	0,3186	0,0253

 $\overline{F_0}$ : Fluorescência inicial,  $F_v/F_m$ : Eficiência quântica potencial fotoquímica no fotossistema II,  $F_v/F_o$ : Eficiência de conversão de energia absorvida, ETR: Taxa de transporte de elétrons, A: Fotossíntese,  $g_s$ : Condutância estomática,  $A/C_i$ : eficiência instantânea de carboxilação da Rubisco, EUA: Eficiência do uso de água.

O diâmetro de caule foi influenciado pela interação entre os fatores de estudo (Tabela 3). A área foliar das plantas avaliadas foram significativamente influenciadas pela aplicação foliar de auxina. O comprimento de raiz das plantas de soja foi influenciado pelos métodos de coinoculação. Os valores de massas frescas de raízes e nódulos e secas de raízes e folhas foram influenciados apenas pela aplicação de auxina. Por outro lado, a massa seca de nódulos foi influenciada pela interação entre os fatores em estudo.

TABELA 3. Resultado da ANOVA (p-valor) dos efeitos isolados e da interação da e coinoculação de rizobactérias e aplicação foliar de biorregulador com auxina sobre as caracteristicas destrutivas nas plantas de soja.

Avaliações destrutivas							
Características	Coinoculação (C)	Auxina	(C) x Auxina				
AF	0,2053	0,0429	0,6391				
D	0,0710	0,0490	0,0004				
CR	0,0052	0,1726	0,3952				
CPA	0,2781	0,9557	0,8097				
MFF	0,7936	0,1211	0,6795				
MFR	0,9798	0,0153	0,5054				
MFC	0,5413	0,8763	0,6688				
MFND	0,5088	0,0302	0,3742				
MSND	0,3548	0,2923	0,0124				
MSR	0,5669	0,0047	0,1968				
MSF	0,0924	0,0528	0,1134				
MSC	0,3709	0,4454	0,7400				

AF: Área foliar, D: Diâmetro, CR: Comprimento de raiz, CPA: Comprimento de parte aérea, MFF: Massa fresca de folha, MFR: Massa fresca de raiz, MFC: Massa fresca de caule, MFND: massa fresca de nódulos, MSND: Massa seca de nódulos, MSR: Massa seca de raiz, MSF: Massa seca de folha, MSC: Massa seca de caule.

# 4.3 Índice de clorofila e aspectos fotoquímicos

O maior valor do índice de clorofila (44,19 SPAD) ocorreu nas plantas que receberam aplicação de auxina (Figura 3a). Aos 44 DAS, os maiores valores de ETR e  $F_v/F_0$  e o menor de  $F_0$  ocorreram nas plantas coinoculadas com APs+f diferindo-se daquelas com APf (Figuras 3b-c-d). Sendo que para  $F_v/F_0$  as plantas com Aps+f apresentaram dentre todos os tratamentos os maiores valores.

Aos 36 DAS, os maiores valores de Fv/Fm ocorreram nas plantas controle, Apf e Aps+f e os menores naquelas coinoculadas com APs (Figura 3e). Aos 44 DAS, observamos que com auxina os maiores valores (0,7832) de Fv/Fm ocorreram nas plantas co-inoculadas com APs+f diferindo daquelas com APs e APf (Figura 3f), com relação às plantas sem aplicação foliar de auxina, o menor valor observado (0,6372) foi das plantas coinoculadas com APf.

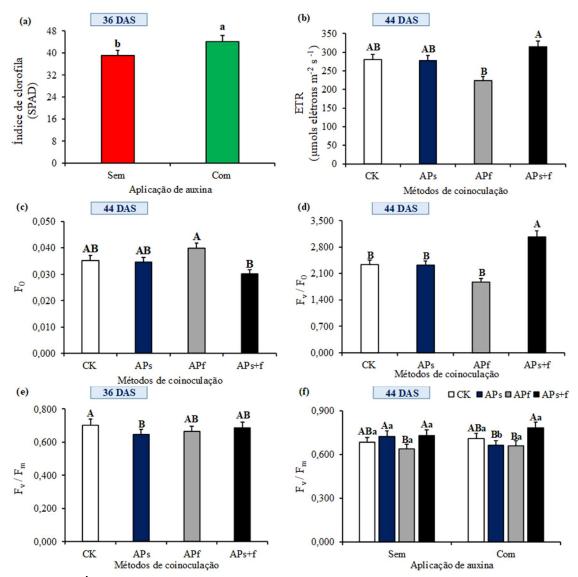


FIGURA 4. Índice de clorofila (a), taxa de transporte de elétrons – ETR (b), fluorescência inicial – F<sub>0</sub> (c), eficiência de conversão de energia absorvida - F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub> (d), eficiência quântica potencial fotoquímica no fotossistema II – F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> (e, f) de plantas de soja cultivadas em função dos métodos de coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, sem ou com aplicação foliar de auxina. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos métodos de co-inoculação pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05) e letras minúsculas comparam o efeito da aplicação foliar de auxina pelo teste t de Bonferroni (p ≤ 0,05), ambos ± erro padrão. DAS: dias após a semeadura, CK: sem coinoculação, APs: coinoculação via semente, APf: coinoculação via foliar e APs+f: coinoculação via semente + via foliar. UFGD, Dourados – MS, 2024.

#### 4.4 Trocas gasosa

Aos 36 DAS os maiores valores de *A* e *A*/C<sub>i</sub> (13,471 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 0,0444 μmol mol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente) foram observados nas plantas coinoculadas com APs+f, ambas diferindo apenas das plantas com Aps com os menores valores (Figura 4a-b). Aos 40 DAS, no qual na ausência da aplicação de auxina não houve diferença estatística entre os métodos de coinoculação, enquanto que ao aplicar auxina, os menores valores de *A* e *A*/C<sub>i</sub> (10,6725 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e 0,0326 μmol mol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente) ocorreram nas plantas coinoculadas com APs, diferindo dos demais métodos (Figuras 4c-d). Aos 44 DAS, os maiores valores de *A* e *A*/C<sub>i</sub> ocorreram ao realizar a coinoculação com *A. brasilense e P. fluorescens*, diferindo-se apenas daquelas não coinoculadas (CK).

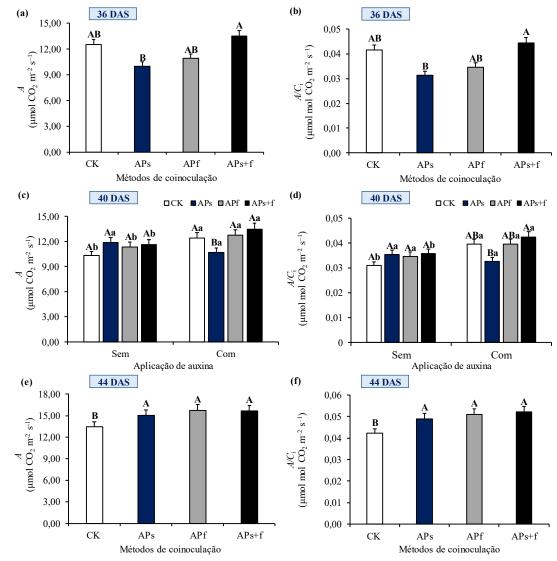


FIGURA 5. Fotossíntese - A (a, c, e), eficiência de carboxilação da Rubisco – A/C<sub>i</sub> (b, d, f) de plantas de soja cultivadas em função dos métodos de coinoculação de Azospirillum brasilense e Pseudomonas fluorescens, sem ou com aplicação foliar de auxina. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos métodos de coinoculação

pelo teste de Tukey ( $p \le 0.05$ ) e letras minúsculas comparam o efeito da aplicação foliar de auxina pelo teste t de Bonferroni ( $p \le 0.05$ ), ambos  $\pm$  erro padrão. DAS: dias após a semeadura, CK: sem coinoculação, APs: coinoculação via semente, APf: coinoculação via foliar e APs+f: coinoculação via semente + via foliar. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Observamos maiores valores de *EUA* (2,83 μmol CO<sub>2</sub>/mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) nas plantas coinoculadas com APs+f, diferindo apenas daquelas com APs, as quais apresentaram menor valor (2,31 μmol CO<sub>2</sub>/mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) aos 36 DAS (Figura 5a). Aos 44 DAS, sem aplicação de auxina, observamos melhor desempenho da *EUA* das plantas coinoculadas com APs e APf, com valores (2,54 e 2,43 μmol CO<sub>2</sub>/mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente), diferindo das plantas sem coinoculação. Com auxina, o maior valor de *EUA* (2,63 μmol CO<sub>2</sub>/mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) ocorreu nas plantas coinoculadas com APs+f, diferindo das sem coinoculação (CK) e coinoculadas com Aps (Figura 5c).

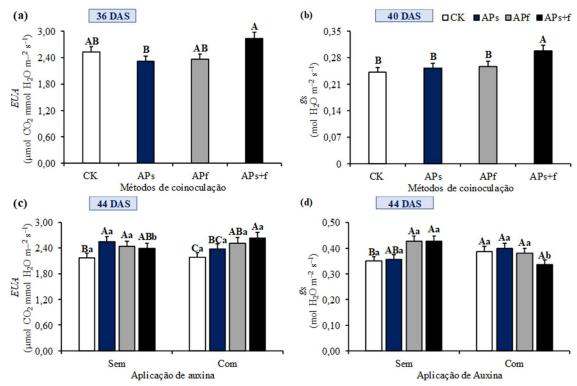


FIGURA 6. Eficiência de uso da água – EUA (a, c), Condutância estomática - gs (b, d), de plantas de soja cultivadas em função dos métodos de co-inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, sem ou com aplicação foliar de auxina. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos métodos de coinoculação pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05) e letras minúsculas comparam o efeito da aplicação foliar de auxina pelo teste t de Bonferroni (p ≤ 0,05), ambos ± erro padrão. DAS: dias após a semeadura, CK: sem coinoculação, APs: coinoculação via semente, APf: coinoculação via foliar e APs+f: coinoculação via semente + via foliar. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Para  $g_s$  o maior valor (0,29 mol  $H_2O$  m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) ocorreu nas plantas coinoculadas com APs+f, diferindo dos demais métodos aos 40 DAS (Figura 5b). Aos 44 DAS, as plantas que receberam aplicação de auxina, os métodos de coinoculação não diferiram

estatisticamente, mas sem aplicação de auxina as plantas que foram coinoculadas com APs+f e APf tiveram melhor resposta de  $g_s$ , diferindo das plantas sem coinoculação (CK) (Figura 5d).

#### 4.5 Indicadores de desenvolvimento

Os maiores valores de área foliar (486,28 cm²) foram observados nas plantas que receberam a aplicação de auxina (Figura 7a). O maior valor de comprimento de raiz (98,75 cm) foi observado nas plantas inoculadas com APs+f, diferindo das plantas sem coinoculação (CK) (Figura 7b).

Os maiores valores das massas frescas de raiz e nódulos e massas secas de folha e raiz ocorreram nas plantas que receberam aplicação de auxina (Figura 7c-d-e-f). Observamos que para MSN (Figura 7g), sem a aplicação de auxina não houve diferença estatística entre os métodos de coinoculação, enquanto que com aplicação as plantas não coinoculadas apresentaram maior valor (0,5440 g planta-1), especialmente em comparação a aquelas sem aplicação de auxina. Nas plantas que receberam a aplicação de auxina o menor valor foi observado nas coinoculadas com APf. Entretanto, o maior valor observado nas plantas sem auxina foram naquelas coinoculadas com AP

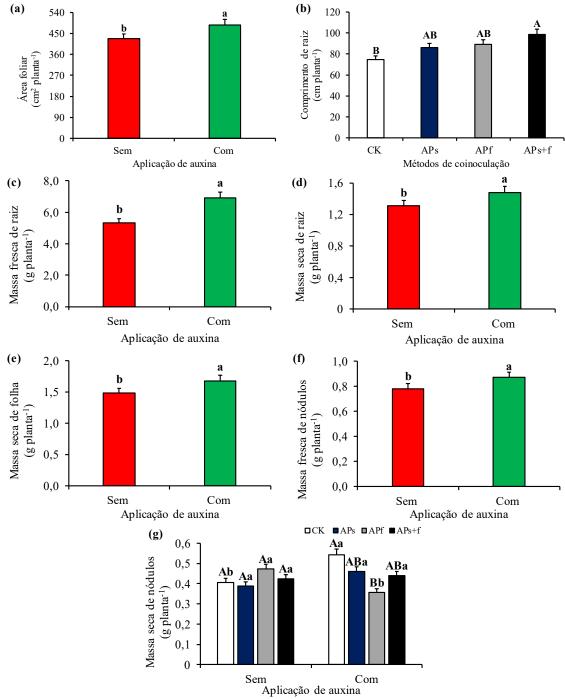


FIGURA 7. Massa fresca de raiz (a), massa seca de raiz (b), massa seca de folha (c), massa fresca de nódulos (d), massa seca de nódulos (e), comprimento de raiz (f), área foliar (g), de plantas de soja cultivadas em função dos métodos de coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, sem ou com aplicação foliar de auxina. Letras maiúsculas comparam os efeitos dos métodos de coinoculação pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05) e letras minúsculas comparam o efeito da aplicação foliar de auxina pelo teste t de Bonferroni (p ≤ 0,05), ambos ± erro padrão. DAS: dias após a semeadura, CK: sem coinoculação, APs: coinoculação via semente, APf: coinoculação via foliar e APs+f: coinoculação via semente + via foliar. UFGD, Dourados − MS, 2024.

#### 4.6 Aspectos visuais

Quando analisadas visualmente as plantas que receberam a aplicação foliar de auxina aparentavam maior desenvolvimento de parte aérea, onde em todos os métodos de coinoculação, as plantas tinham uma coloração mais escura e maior área foliar quando comparadas às demais plantas que não receberam aplicação foliar de auxina. Esta observação foi confirmada pelas avaliações realizadas (dados apresentados anteriormente em nosso trabalho) (Figura 8).

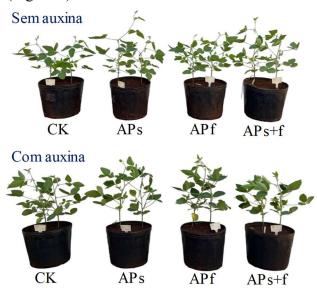


FIGURA 8. Aspecto visual do desenvolvimento de plantas de soja em função dos métodos de coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* sem ou com aplicação foliar de auxina, aos 48 dias após semeadura. CK: sem coinoculação, APs: coinoculação via semente, APf: coinoculação via foliar e APs+f: coinoculação via semente + via foliar. UFGD, Dourados – MS, 2024.

Observamos que os maiores números de vagens no experimento foram observados nas plantas coinoculadas com APf e APs+f, especialmente em comparação ou com APs, independente da aplicação da auxina. Por outro lado, verificamos que na ausência da aplicação de auxina, o número de vagens foi maior em comparação as que receberam o fitohormônio nessas mesmas condições.

TABELA 4. Número total de vagens em plantas de soja cultivadas em função de diferentes métodos de coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* sem ou com aplicação foliar de auxina, aos 48 dias após semeadura.

	Aplicação	o de auxina
Métodos de coinoculação	Sem	Com
CK	23	21
APs	24	26
APf	46	34
$\mathrm{APs+}\mathrm{f}$	50	31

# 5. DISCUSSÃO

A partir dos nossos resultados aceitamos a hipótese de que os métodos de coinoculação com *A. brasilense e P. fluorescens* e a aplicação de auxina contribuíram no metabolismo fotossintético e no desenvolvimento das plantas. Entretanto, o modo de ação do *A. brasilense e P. fluorescens* foi variável à aplicação da auxina, no qual observamos maior eficiência da coinoculação quando as plantas não receberam aplicação de auxina. Além disso, quanto aos rendimentos fotoquímicos, a aplicação da auxina pouco influenciou esses parâmetros, demonstrando pouca participação do fitohormônio nesse processo, ao contrário das trocas gasosas, as quais foram favorecidas pela aplicação da auxina.

O aumento do índice de clorofila nas plantas com auxina está associado a transcrições gênicas, embora não tenhamos determinado em nosso estudo. Isso, porque há relatos de que a auxina atua na indução de genes envolvidos na biossíntese de clorofila (YUAN et al., 2019; LIU et al., 2020). Além disso, a auxina também participa no desenvolvimento do cloroplasto, regulando expressões gênicas (Iribe e Pena, 2020), o que contribui em maior eficiência de rota de biossíntese. De maneira semelhante YUAN et al. (2018) e Feng et al. (2023), observaram aumento do conteúdo de clorofila em plantas tratadas com auxina em seus estudos com *Solanum lycopersicum* L. e *Setaria italica* L., respectivamente.

Em nosso estudo, o efeito da auxina sobre a clorofila foi observado aos 36 DAS, e sugerimos que após esse período as plantas direcionam a função metabólica da auxina para a fase reprodutiva, visto que aos 34 DAS iniciou-se a emissão das flores, atuando de maneira efetiva na fase bioquímica da fotossíntese para produção de carboidratos e manutenção dos órgãos drenos em formação. De acordo com Obeso et al. (2002), geralmente quando a planta inicia o estádio reprodutivo há maior demanda de energia metabólica para esse processo, reforçando nossa ideia proposta.

Os mecanismos de ação da coinoculação nos rendimentos fotoquímicos são pouco compreendidos e elucidados. Em geral, observamos que a coinoculação com APf gera maior gasto energético. Embora não haja descrições na literatura sobre esse modo de ação, sugerimos que essa resposta aos 44 DAS está associada com a manutenção e estabelecimento da simbiose do microrganismo com a planta, resultando em menor  $F_{\nu}/F_0$ 

e ETR, aumentando a  $F_0$ , comprometendo a eficiência fotoquímicas nos centros de reação do fotossistema II, aqui representado pelo  $F_v/F_m$ .

Além disso, associamos que essa redução dos rendimentos fotoquímicos pode ser explicada por uma necessidade da planta nessa condição com APf em acelerar o ciclo. Em nosso estudo, este gasto metabólico foi observado através da antecipação do ciclo da cultura, onde as plantas coinoculadas com APf apresentaram desenvolvimento mais acelerado em relação às demais, indicando uma ocorrência de ajuste metabólico. Por outro lado, quando a coinoculação é realizada no método APs+f, ocorre uma reação positiva com menor gasto energético, uma vez que, a planta já realizou a sua interação com o microrganismo anteriormente em função da previa coinoculação via semente, ou seja, anterior a via folha, tornando este método menos estressante para a mesma. Esta afirmação pode ser comprovada pelos maiores valores dos indicadores fotoquímicos e menor fluorescência inicial da clorofila *a*.

Assim, aos 44 DAS as plantas apresentavam estádio reprodutivo avançado, e nesta fase ocorre maior translocação de fotoassimilados para os órgãos drenos (Obeso et al., 2002). A combinação entre a translocação dos fotoassimilados, o estabelecimento da relação simbiótica APf, e de todos os fatores citados acima em conjunto, ocasionaram em uma menor eficiência dos aspectos da fluorescência da clorofila neste período. Por outro lado, esse comportamento não foi observado aos 36 DAS para Fv/Fm com a coinoculação APf no qual, neste período as plantas haviam entrado no estádio reprodutivo à apenas dois dias, indicando assim que o gasto metabólico se intensifica com o decorrer da fase reprodutiva da planta.

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) possuem ampla capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico e disponibilizá-lo às plantas. Dentre elas, podemos destacar espécies dos gêneros *Azospirillum*, *Pseudômonas* e *Bradyrhizobium* (FERRERA et al. 2020; NAGPAL et al. 2021; SAINI et al. 2023;), as mesmas utilizadas em nosso estudo. Logo, verificamos que a coinoculação contribuiu na fixação e posterior assimilação de N, o que explica os maiores valores observados especialmente das trocas gasosas.

Associamos o comportamento do N nas plantas e a fixação do mesmo pelas bactérias aos resultados de A e A/Ci obtidos em nosso estudo, uma vez que, a associação dos métodos de co-inoculação com APs+f corroborou para uma maior fixação de nitrogênio, levando a uma maior suplementação da planta, o que ocasionou em um melhor rendimento da fotossíntese e maior carboxilação da RuBisCO aos 36, 40 e 44

DASAcreditamos que o aumento de N no tecido (dados não apresentados) se deve à maior quantidade de proteínas que participam no desenvolvimento do complexo de assimilação de luz e nas reações de carboxilação (EVANS e CLARK, 2019). Em seus estudos Yamori et al. (2011) investigaram em algumas espécies de plantas como Oryza sativa L., Triticum aestivum L., Spinacia oleracea L. e Nicotiana tabacum L., que conforme o conteúdo de N aumentava na folha, ocorre acréscimo no conteúdo de clorofila, e RuBisCO.

Além disso aos 40 DAS tem-se a interação entre os métodos de coinoculação e biorregulador para A e  $A/C_i$ , onde é possível verificar uma contribuição mútua entre os fatores. A auxina atua nas transcrições e expressões gênicas da clorofila e do cloroplasto respectivamente, bem como o nitrogênio está diretamente ligado às proteínas envolvidas nas reações de carboxilação, contribuindo para um melhor rendimento fotossintético (EVANS e CLARK, 2019; LIU et al., 2020; IRIBE e PENA, 2020), como observado em nosso estudo.

A coinoculação com APs se mostra menos eficiente com relação as características de A e A/Ci avaliadas aos 36, 40 e 44 DAS. Por ser um método isolado de coinoculação ocorre uma suplementação ineficiente quanto aos nutrientes necessários para as reações bioquímicas da fotossíntese quando comparado a coinoculação com APs+f.

Apesar da coinoculação com APf apresentar maior gasto energético nos parâmetros da fluorescência da clorofila, em A e  $A/C_i$  esse aspecto não foi evidenciado, e associamos essa resposta ao fato de que o N fixado pelas bactérias esteja prontamente disponível para os processos existentes nessa parte da planta, levando a um efeito compensatório na fase bioquímica da fotossíntese.

Estudos comprovam que *EUA* é influenciada positivamente pela interação entre planta/BPCPs e a base genética da mesma. Por outro lado, a condutância estomática tende a apresentar redução causando uma menor taxa de transpiração foliar (dados não apresentados) dentro das mesmas condições, sem afetar a eficiência fotossintética da planta (FRANKS et al., 2015; KANDEL et al., 2022). Em nosso estudo, a interação dos métodos de coinoculação APs+f corroboram com tais resultados, uma vez que os valores de *EUA* se mantiveram estáveis tanto aos 40 DAS, quanto aos 44 DAS, indicando que houve uma diferença estatística entre os valores, mas que tal diferença não apresenta interferência direta nos índices fotossintéticos.

A interação da auxina junto aos métodos de coinoculação corroboram para os resultados de  $g_s$ , uma vez que, a auxina atua no alongamento celular, fundamentando a

teoria do crescimento ácido (TALUKDAR et al., 2022; ZHANG et al., 2022;), e por consequência aumenta indiretamente a atividade da  $g_s$ , o que leva a um aumento significativo na abertura estomática e assimilação de CO<sub>2</sub>.

As BPCPs atuam em sinergismo com a soja, onde ocorre um beneficiamento mútuo entre os indivíduos envolvidos (DIAS e SANTOS 2022). Em nosso estudo o comportamento do comprimento radicular obteve maior destaque quanto ao método de coinoculação APs+f, o que nos leva a crer que existe um maior aporte auxina e uma melhor absorção de nutrientes causada pela associação da aplicação das BPCP via semente e folha. Estudos comprovam que o crescimento das raízes é fortemente afetado pela ação das bactérias (LIN et al. 2020; MIR et al. 2020).

A auxina está envolvida na ampliação, relaxamento celular e endorreduplicação (uma série de replicações do DNA de uma célula contribui com que ocorra o aumento celular em algumas espécies durante a expansão das folhas) (WU et al., 2021; ISABELA et al., 2023). Atrelado a isso, temos a ação benéfica da auxina nos processos fotossintéticos, refletindo positivamente no aumento da área foliar e valores de biomassas. De maneira semelhante Mir et al. (2020) observaram ganho de AF, MFR, MSR, MFPA quando aplicado auxina via foliar em *Brassica juncea* L.

A inoculação com *Bradyrhizobium* spp. na soja é amplamente relatada na literatura e aplicada na agricultura, sendoum método eficiente para a fixação de nitrogênio com o intuito de promover o crescimento e desenvolvimento de plantas. Em nosso estudo, esse método tradicional de inoculação juntamente a aplicação de auxina se mostrou mais eficiente quanto a característica de massa seca de nódulos e isso pode ser explicado pelo fato de que a auxina está associada ao processo de organogênese da nodulação (VELANDIA et al., 2022).

Em geral, todos os métodos de coinoculação associados a aplicação de auxina resultaram em menor massa seca de nódulos (MSN), e sugerimos que essa resposta se deve possivelmente a uma concentração elevada nos teores de auxina na planta o que pode ter ocasionado uma desregulação da atividade desse e outros hormônios na nodulação, visto que as bactérias utilizadas para a coinoculação possuíam ampla capacidade de produção de fitohormônios. De acordo com Cassán et al. (2020) e Mehmood et al. (2023), as espécies dos gêneros *Azospirillum* e *Pseudomonas* possuem potencial na produção de fitohormônios, como sugerido em nosso estudo.

Os métodos de coinoculação APf e APs+f tanto na presença quanto na ausência de aplicação de auxina via folha favorecem maior número total de vagens.

Acreditamos que essa resposta esteja associada ao ao fato de que houve uma participação efetiva da auxina no desenvolvimento das plantas, bem como o papel das bactérias em auxiliarem na síntese de hormônios e nutrientes, levando a aceleração no ciclo da cultura e maior produção de vagens. Rego et al. (2018) observaram ganho no número de vagens quando realizada a coinoculação de soja com *Azospirillum brasilense*. Da mesma maneira, Sulewska et al. (2019) observaram ganho no número total de vagens quando feita a coinoculação de *Lupinus albus* L. com *Pseudomonas fluorescens*.

Assim, verificamos que tanto os métodos de coinoculação, bem como a aplicação de auxina exógena são práticas promissoras para melhoria no metabolismo fotossintético e ganho de biomassa em plantas de soja.

Em perspectivas futuras, sugerimos a realização de novos estudos a fim de elucidar os efeitos dos microrganismos quanto aos atributos químicos do solo, determinação de nutrientes na planta, bem como entender a interação entre planta e microrganismos quando coinoculados via foliar. Além disso, torna-se importante a condução de experimentos que considerem até estádio final do ciclo da cultura a fim de verificar análises de produtividade.

# 6. CONCLUSÃO

A aplicação de auxina é benéfica para a produção de biomassa, nodulação das plantas e aumento do índice de clorofila. O método de coinoculação APs+f, independente da auxina, foi eficiente nos rendimentos fotoquímicos e de trocas gasosas das plantas. Observamos que o método de coinoculção APf apresenta resultados menores em relação à fluorescência da clorofila *a*. Porém, tratando-se de aspectos bioquímicos, há uma compensação que resulta em elevação das trocas gasosas

# REFERÊNCIAS

ABULFARAJ, Aala A.; JALAL, Rewaa S. Use of plant growth-promoting bacteria to enhance salinity stress in soybean (*Glycine max* L.) plants. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 28, n. 7, p. 3823-3834, 2021.

AGNIHOTRI, R. K. et al. Gas exchange variability and water use efficiency of thirty landraces of rice still under cultivation in Kumaun region of the Indian Central Himalaya. Physiology and Molecular Biology of Plants, v. 15, p. 303-310, 2009.

BARBOSA, Julierme Zimmer et al. Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. Applied Soil Ecology, v. 170, p. 104276, 2022.

BARBOSA, Julierme Zimmer et al. National-scale spatial variations of soil phosphorus retention capacity in Brazil. Physics and Chemistry of the Earth, v. 128, n. 103271, p. 103271, 2022.

BLUM, A.; EBERCON, Adelina. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat 1. Crop Science, v. 21, n. 1, p. 43-47, 1981.

CASANOVA-SÁEZ, Rubén; VOß, Ute. Auxin metabolism controls developmental decisions in land plants. Trends in Plant Science, v. 24, n. 8, p. 741-754, 2019.

CASSÁN, Fabricio et al. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. Biology and Fertility of Soils, v. 56, p. 461-479, 2020.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de grãos, 2023. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-degraos. Acesso em: 19 de outubro de 2023.

CRISPINO, Carla Cripa et al. Adubação nitrogenada na cultura da soja. Comunicado técnico: EMBRAPA, 2001.

DASZKOWSKA-GOLEC, Agata; SZAREJKO, Iwona. Open or close the gate–stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. Frontiers in plant science, v. 4, p. 138, 2013.

DAVID, Baliah V., et al. *Pseudomonas fluorescens*: a plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with potential role in biocontrol of pests of crops. In: Crop Improvement Through Microbial Biotechnology. Elsevier, 2018. p. 221-243.

DE OLIVEIRA, Laura Britto Garcia et al. Forms and types of coinoculation in the soybean crop in Cerrado regio. 2019.

DIAS, A. S; SANTOS, C. C. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso Nova Xavantina, MT: Pantanal, 2022.

DUCA, D. R.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 104, p. 8607-8619, 2020.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Exigências Minerais e Adubação, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/producao/manejo-da-fertilidade-do-solo/exigencias-minerais-e-adubação. Acesso em: 28 de novembro de 2023.

ERS USDA, Economic Research Service, United States Department of Agriculture. International Markets U S Trade/ Countries and Regions. Disponível em: https://www.ers.usda.gov/topics/international-markets-u-s-trade/countries-regions/brazil/. Acesso em: 13 de novembro de 2023.

EVANS, J. R.; CLARKE, V. C. The nitrogen cost of photosynthesis. Journal of Experimental Botany, v. 70, n. 1, p. 7-15, 2019.

FENG, Z. et al. Effects of exogenous auxin on yield in foxtail millet (Setaria italica L.) when applied at the grain-filling stage. Frontiers in Plant Science, v. 13, p. 1019152, 2023.

FERREIRA, Luiz Leonardo et al. Espaçamento entre linhas de genótipos de soja: médias, regressões e correlações nos níveis de rendimento. Research, Society and Development, v. 9, n. 9, p. e952997793, 2020.

FRANKS, Peter J. et al. Increasing water-use efficiency directly through genetic manipulation of stomatal density. New Phytologist, v. 207, n. 1, p. 188-195, 2015.

FUKAMI, Josiane et al. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. Springer Open - Amb Express, v. 8, n. 1, p. 73, 2018.

GALINDO, Fernando Shintate et al. Improving sustainable field-grown wheat production with *Azospirillum brasilense* under tropical conditions: a potential tool for improving nitrogen management. Frontiers in Environmental Science, v. 10, p. 95, 2022.

KANDEL, Saraswoti et al. Efficacy of co-inoculation of the Rhizobium and Pseudomonas in combination with chemical fertilizer on the productivity of rice under legume-based cropping system. 2022.

KER, João Carlos. Latossolos do Brasil: uma revisão. Geonomos, v. 5, n. 1, p. 17-40, 1997.

KHAN, Bilal Ahmad et al. Effect of phosphorus on growth, yield and quality of soybean (*Glycine max* L.); A review. International Journal of Applied Research, v. 6, n. 7, p. 540-545, 2020.

KLUGE, Ricardo Alfredo et al. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. Revista Virtual de Química, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

KOŁODZIEJCZYK, Izabela; TOMCZYK, Przemysław; KAŹMIERCZAK, Andrzej. Endoreplication—Why Are We Not Using Its Full Application Potential?. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 14, p. 11859, 2023.

KONDHARE, Kirtikumar R. et al. Auxin: An emerging regulator of tuber and storage root development. Plant Science, v. 306, p. 110854, 2021.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO2 exchange and chlorophyll fluorescence. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase specificity factor, dark respiration in the light, excitation distribution between photosystems, alternative electron transport rate, and mesophyll diffusion resistance. Plant Physiol., v. 110, n. 3, p. 903-912, 1996.

LI, Haiyang et al. Disposable stainless steel-based electrochemical microsensor for in vivo determination of indole-3-acetic acid in soybean seedlings. Biosensors and Bioelectronics, v. 126, p. 193-199, 2019.

LIN, Yaru et al. Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on corn growth under drought stress. Communications in soil science and plant analysis, v. 51, n. 2, p. 250-264, 2020.

LIU, Linlin et al. From chloroplast biogenesis to chlorophyll accumulation: the interplay of light and hormones on gene expression in Camellia sinensis cv. Shuchazao leaves. Frontiers in Plant Science, v. 11, p. 256, 2020.

LOHSE, Gabi; HEDRICH, Rainer. Characterization of the plasma-membrane H+-ATPase from Vicia faba guard cells: Modulation by extracellular factors and seasonal changes. Planta, v. 188, n. 2, p. 206-214, 1992.

MALAVOLTA, Eurípedes et al. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações. Piracicaba: POTAFOS. 1997.

MEHMOOD, Najaf et al. Multifaceted impacts of plant-beneficial pseudomonas spp. in managing various plant diseases and crop yield improvement. ACS Omega, v. 8, n. 25, p. 22296-22315, 2023.

MIR, Anayat Rasool et al. Foliar spray of Auxin/IAA modulates photosynthesis, elemental composition, ROS localization and antioxidant machinery to promote growth of Brassica juncea. Physiology and Molecular Biology of Plants, v. 26, n. 12, p. 2503-2520, 2020.

NAGPAL, Sharon et al. Chickpea (Cicer arietinum L.) as model legume for decoding the co-existence of Pseudomonas fluorescens and Mesorhizobium sp. as bio-fertilizer under diverse agro-climatic zones. Microbiological Research, v. 247, p. 126720, 2021.

OLENSKA, Ewa et al. Beneficial features of plant growth-promoting rhizobacteria for improving plant growth and health in challenging conditions: A methodical review. Science of the Total Environment, v. 743, p. 140682, 2020.

OSTIN, Anders et al. Metabolism of indole-3-acetic acid in Arabidopsis. Plant Physiology, v. 118, n. 1, p. 285-296, 1998.

QUEIROZ REGO, Carlos Henrique et al. Co-inoculation with Bradyrhizobium and Azospirillum increases yield and quality of soybean seeds. Agronomy Journal, v. 110, n. 6, p. 2302-2309, 2018.

RONDINA, Artur Berbel Lirio et al. Changes in root morphological traits in soybean coinoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. Biology and Fertility of Soils, v. 56, n. 4, p. 537-549, 2020.

SAINI, Soniya et al. PGPR-mediated mitigation of biotic and abiotic stress in plants. In: Advanced Microbial Technology for Sustainable Agriculture and Environment. Academic Press, 2023. p. 199-227.

SALAZAR-IRIBE, Alexis; DE-LA-PENA, Clelia. Auxins, the hidden player in chloroplast development. Plant Cell Reports, v. 39, n. 12, p. 1595-1608, 2020.

SCUDELETTI, Daniele et al. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a strategy to enhance sugarcane biomass production and bioenergy potential. European Journal of Agronomy, v. 144, p. 126749, 2023.

SHAHZAD, Khurram et al. Exogenous application of indole-3-acetic acid to ameliorate salt induced harmful effects on four eggplants (*Solanum melongena* L.) varieties. Scientia Horticulturae, v. 292, p. 110662, 2022.

SILVA, Felipe et al. Soja: do Plantio à Colheita. Oficina de Textos, 2022.

SULEWSKA, Hanna et al. The use of microorganisms as bio-fertilizers in the cultivation of white lupine. Open Chemistry, v. 17, n. 1, p. 813-822, 2019.

TALUKDAR, Monaswita et al. Effect of IAA and BAP application in varying concentration on seed yield and oil quality of *Guizotia abyssinica* (Lf) Cass. Annals of Agricultural Sciences, v. 67, n. 1, p. 15-23, 2022.

TEJO, Débora Perdigão et al. Soja: fenologia, morfologia e fatores que interferem na produtividade. Revista Científica Eletrônica de Agronomia da FAEF, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2019. The costs of reproduction in plants - New Phytologist – Wiley

UIDAHO, University of Idaho. The Twelve Soil Orders: Oxisols. Disponível em: <a href="https://www.uidaho.edu/cals/soil-orders/oxisols">https://www.uidaho.edu/cals/soil-orders/oxisols</a>>. Acesso em: 20/11/2023.

USDA, United States Department of Agricuture. Soybean Explorer, 2023. Disponível em: https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000 &sel\_year=2022&rankby=Production. Acesso em: 19 de outubro de 2023.

VELANDIA, Karen; REID, James B.; FOO, Eloise. Hora certa, lugar certo: O papel dinâmico dos hormônios na infecção por rizóbios e na nodulação de leguminosas. Comunicações de Plantas, v. 5, 2022.

WANG, Jie et al. Generation of seed lipoxygenase-free soybean using CRISPR-Cas9. The Crop Journal, v. 8, n. 3, p. 432-439, 2020

WU, Wenqi et al. The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. Horticulture Research, v. 8, 2021.

XIONG, Rentao et al. Root system architecture, physiological and transcriptional traits of soybean (Glycine max L.) in response to water deficit: A review. Physiologia Plantarum, v. 172, n. 2, p. 405-418, 2021.

YAASHIKAA, P. R. et al. Formulation and combinatorial effect of Pseudomonas fluorescens and Bacillus coagulans as biocontrol agents. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 30, p. 101868, 2020.

YAMORI, Wataru; NAGAI, Takeshi; MAKINO, Amane. The rate-limiting step for CO2 assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C3 crop species. Plant, Cell & Environment, v. 34, n. 5, p. 764-777, 2011.

YUAN, Yujin et al. Auxin response factor 6A regulates photosynthesis, sugar accumulation, and fruit development in tomato. Horticulture Research, v. 6, 2019.

YUAN, Yujin et al. SIARF10, an auxin response factor, is involved in chlorophyll and sugar accumulation during tomato fruit development. Journal of experimental botany, v. 69, n. 22, p. 5507-5518, 2018.

ZAREI, Tayebeh et al. Improving sweet corn (*Zea mays* L. var saccharata) growth and yield using Pseudomonas fluorescens inoculation under varied watering regimes. Agricultural Water Management, v. 226, p. 105757, 2019.

ZHANG, Min et al. Melatonin and indole-3-acetic acid synergistically regulate plant growth and stress resistance. Cells, v. 11, n. 20, p. 3250, 2022.