

## DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS DE SOJA INOCULADAS E CO-INOCULADAS COM *Azospirillum brasilense* E *Bradyrhizobium japonicum*

Lucas Guilherme Bulegon<sup>1</sup>, Jeferson Klein<sup>1</sup>, Leandro Rampim<sup>1</sup>, Vandeir Francisco Guimarães<sup>1</sup>, Andre Gustavo Battistus<sup>1</sup> e Débora Kestring<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Centro de Ciências Agrárias, Campus de Marechal Cândido Rondon, Rua Pernambuco Nº 1777 CER:85960-000, Centro, Marechal Cândido Rondon-PR. lucas\_bulegon@yahoo.com.br, jefersonklein@yahoo.com.br, rampimleandro@hotmail.com, vandeirfg@yahoo.com.br, andre\_battistus@hotmail.com, deborakestring@yahoo.com.br

**RESUMO:** O Objetivo desse trabalho foi avaliar o desempenho de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, de forma isolada e co-inoculada na germinação e desenvolvimento inicial de diferentes cultivares de soja cultivadas na região oeste do Paraná. Para isso foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 5x4, onde o primeiro fator representou as cultivares (V-max, Spring, Apollo, Turbo e ND 4990) e o segundo fator as bactérias diazotróficas (Testemunha, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, e a co-inoculação de *A. brasilense* + *B. japonicum*). As avaliações constituíram-se de primeira e segunda contagem de sementes germinadas, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa seca de parte aérea e de raiz, essas determinadas aos oito dias após a semeadura. O uso da inoculação com *A. brasilense* apresenta germinação e emergência mais rápidas das plântulas, principalmente para a cultivar ND 4990. Para a V-max os resultados foram inferiores aos demais cultivares avaliadas, principalmente para a primeira e segunda contagem, e para a Spring e Apollo, essas apresentaram resultados consistentes e homogêneos para todas as variáveis avaliadas. Porém a Turbo, tanto quando inoculação com *A. brasilense*, assim como a co-inoculação mostrou-se ineficiente. Assim o uso de *A. brasilense* possibilita o incremento em raízes e influenciou positivamente a velocidade de germinação.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Glycine max*, bactérias promotoras de crescimento, germinação.

## INITIAL DEVELOPMENT OF SOYBEAN SEEDLING INOCULATED AND CO-INOCULATED WITH *Bradyrhizobium japonicum* AND *Azospirillum brasilense*

**ABSTRACT:** The objective of this work the performance of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* was to evaluate, in isolation and co - inoculated on germination and early development of different soybean cultivars grown in western Paraná. For this a completely randomized design was used in a 5x4 factorial scheme, where the first factor cultivars (V -max, Spring, Apollo and Turbo ND 4990), and the second factor the diazotrophs (Witness, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, and co - inoculation of *A. brasilense* + *B. japonicum*). The reviews consisted of first and second counts of germinated seeds, root length, length of shoot and dry mass of shoots and roots, those determined at eight days after sowing. The use of inoculation with *A. brasilense* shows faster germination and seedling emergence, mainly for farming ND 4990. For V -max results were lower than the other cultivars evaluated, especially for the first and second counts , and the Spring and Apollo, these showed consistent and homogeneous data for all variables. However Turbo both when inoculated with *A. brasilense*, as well as co- inoculation was inefficient. Thus the use of *A. brasilense* enables the increase in roots and positively influenced the germination rate.

**KEYWORDS:** *Glycine max*; growth promoting bacteria; germination.

## INTRODUÇÃO

A soja é uma oleaginosa amplamente cultivada no mundo, tendo grande importância econômica em muitos países. A soja é uma planta anual, herbácea, ereta, com fruto do tipo vagem, contendo de 2 a 5 sementes (Castro e Kluge, 1999). Essa planta se propaga via semente, a qual interfere no estabelecimento da cultura e desempenho em rendimento de grãos nas regiões produtoras.

Nos últimos anos, a produção de soja passou por mudanças com o surgimento de novas tecnologias, como a intensa mecanização juntamente com a agricultura de precisão, o melhoramento genético e técnicas de manejo. Outro ponto foi à adequação do zoneamento da cultura, que garantiu que outras culturas possam ser cultivadas na mesma área ano agrícola, tanto em sucessão como em rotação de culturas. Assim, é possível antecipar a semeadura, assim como redução do período entre semeadura e colheita com o uso de cultivares precoces, além do uso de dessecação da cultura para antecipar a colheita, assegurando assim, produtividade sustentável e econômica da cultura subsequente (Lacerda et al., 2001; Neto, 2011).

No Brasil, também tem-se o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio no tratamento de sementes de soja com *Bradyrhizobium japonicum*, reduzindo o uso de nitrogênio mineral e aumentou a lucratividade dos produtores brasileiros (Hungria et al., 2005; Zilli et al., 2006).

Atualmente, com os estudos das bactérias promotoras de crescimento e fixadoras de nitrogênio, sabe-se que o *Azospirillum brasilense* possui a capacidade de estimular e excretar hormônios vegetais, sendo esse ácido 3-indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988), além de outros compostos indólicos, citocininas (Cacciari et al., 1989) e giberelinas (Bottini et al., 1989), que auxiliam no desenvolvimento inicial das plantas, podendo representar ganho de dias para atingir o final do ciclo da cultura da soja.

Nesse contexto vários trabalhos relatam efeito positivo da inoculação da soja com *A. brasilense* seja na etapa de germinação ou no estabelecimento das plantas Cassán et al. (2009), tanto que o *B. japonicum* isoladamente quanto co-inoculado com o *A. brasilense* é capaz de promover a germinação, nodulação e desenvolvimento de plântulas de soja em níveis adequados. E ainda são encontrados resultados à campo, relatando que, tanto de forma isolada ou co-inoculada a soja não apresentou respostas

positivas na produtividade (Bárbaro et al., 2009). Ferlini (2006), realizaram 10 ensaio de campo, reportando que em oito desses, a germinação e a emergência de plântulas de soja foram melhorados com a co-inoculação.

Porém, esses trabalhos são iniciais, e considerando que a resposta positiva pode ocorrer devido a cultivar utilizada (Reis et al., 2000), assim como a preocupação com a co-inoculação de *B. japonicum* com o *A. brasilense*, pois Plazinski e Rolfe, (1985) e Li e Alexander (1988) relataram que o uso de dois microrganismos simultâneos pode acarretar competição entre ambos, sem alcançar a eficiência com o uso isoladamente.

Nesse sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, de forma isolada e co-inoculada, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de soja em diferentes cultivares cultivadas na região oeste do Paraná.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições laboratoriais, no Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados no esquema fatorial 5x4, com cinco repetições. O primeiro fator representou as cultivares (V-max, Spring, Apollo, Turbo e ND 4990) e o segundo fator as bactérias diazotróficas (Testemunha, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, e a co-inoculação *A. brasilense* + *B. japonicum*), totalizando 20 tratamentos, e 100 parcelas experimentais

Para as avaliações de primeira e segunda contagem, as cultivares foram avaliadas isoladamente, comparando-se apenas os tratamentos, desta forma o esquema contou com quatro tratamento e cinco repetições, totalizando-se 20 parcelas experimentais.

Durante a realização do trabalho, foram utilizadas bandejas plásticas de 30 X 20 cm (0,06 cm<sup>2</sup>), as quais foram divididas em quatro parcelas experimentais de 15 X 10 cm (0,015 cm<sup>2</sup>); para isso foi utilizado placas de EVA, para garantir que as raízes das plantas ficassem restritas a parcela experimental. As bandejas foram esterilizadas, utilizando-se álcool 70%, o qual foi aplicado e distribuído fazendo-se o uso de papel toalha, limpo e estéril.

O substrato utilizado foi areia, a qual foi autoclavada, em autoclave vertical a 105°C e 1,5 atm. por aproximadamente 30 minutos e retirada após o resfriamento da autoclave, aproximadamente 3 horas após seu desligamento.

Cada parcela experimental recebeu 1,5 Kg de areia, que foram distribuídas de forma homogênea. Após as bandejas permaneceram em repouso por período de dois dias, para garantir o total resfriamento do substrato e a eliminação dos materiais de esterilização (evitando problemas de germinação das sementes e/ou a sobrevivência das bactérias).

A inoculação das sementes ocorreu cerca de 30 minutos antes da semeadura, sendo utilizado-se 0,2 ml de inoculante para 200 sementes, conforme técnicas de assepsia em câmara de fluxo e acondicionada em pacotes plásticos vedados para não ocorrer contaminação com microrganismos presente na atmosfera. O inoculante utilizado para o *B. japonicum* foi o Simbiose Nod<sup>®</sup> ( $5 \times 10^{-9}$  ufc grama<sup>-1</sup>), e para *A. brasilense* (Abv5+Abv6) foi utilizado o produto Graminante<sup>®</sup> ( $3 \times 10^{-9}$  ufc grama<sup>-1</sup>).

A semeadura foi realizada a dois cm de profundidade, sendo acondicionadas 25 sementes por parcela. Após a semeadura foi realizada irrigação (62 mL de água por parcela), a qual se procedeu diariamente, mantendo na condição de campo a umidade das parcelas experimentais.

As avaliações realizadas constituíram-se de primeira contagem da germinação, realizada aos quatro dias após a semeadura (DAS), e a segunda contagem foi realizada aos oito dias DAS, segundo determinação da regra análise de sementes (Brasil, 2009). Também aos oito dias após a semeadura, foram realizadas as avaliações biométricas das plântulas, onde foram escolhidas aleatoriamente 10 plântulas por parcela, sendo determinado o comprimento de raiz (CR) (cm), comprimento de parte aérea (CPA) (cm), com o auxílio de régua graduada em cm. Em seguida, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e conduzidas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas, sendo determinada a massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR).

Os dados coletados foram tabulados e submetidos a análise de variância pelo programa estatístico SISVAR, e constatada significância, estes foram submetidos ao teste de média, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao analisar os dados, foi identificado efeito significativo das inoculações com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*, bem como a co-inoculação de *A. brasilense* e *B. japonicum* nas diferentes cultivares testadas, tanto para as variáveis de parte aérea, quanto para as de sistema radicular, avaliadas oito dias após a semeadura (Tabela 1 e 2).

Quando observado o desdobramento dentro de cada cultivar, os resultados não apresentaram grandes variações para a parte aérea, sendo apenas observada diferença significativa sobre comprimento de parte aérea dentro da cultivar ND 4990.

Para o comprimento de parte aérea, valores superiores foram observados no tratamento testemunha para a cultivar Apollo, Tubo e Spring, quando se utilizou a inoculação com *B. japonicum*, com destaque para o Spring e Apollo, enquanto a V-max apresentou valores inferiores (Tabela 1). Quando utilizou a inoculação com *A. brasilense*, a ND 4990 e a Apollo apresentou resultados superiores. Para a co-inoculação *B. japonicum* e *A. brasilense*, a V-max foi inferior, sendo a menor média dentro de todos os tratamentos. De forma geral, para a variável de parte aérea, foram observadas diferenças apenas para a cultivar ND 4990, onde o *A. brasilense* promoveu médias superiores, juntamente com a co-inoculação, enquanto que para as demais cultivares não foi observado efeitos dos tratamentos.

Para a massa seca de parte aérea não foram encontradas diferenças significativas para as cultivares avaliadas, e quando observada dentro das cultivares apenas ocorreu diferença para a ND 4990, onde a co-inoculação promoveu a menor média (Tabela 1).

Os valores superiores de comprimento de parte aérea e massa seca de parte aérea promovido pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, podem estar relacionadas ao estímulo hormonal (Crozier et al., 1988; Cacciari et al., 1989; Bottini et al., 1989; Lambrecht et al., 2000), e conseqüentemente maior desenvolvimento inicial das plantas (Cassán et al., 2009). Tal situação pode não representar ganho expressivo, porém maior comprimento de parte aérea e massa seca de parte aérea significa que a plântula se desenvolveu adequadamente e acumulou reservas, providas das reservas cotiledonares e do início da fotossíntese.

Ao se avaliar os dados referentes ao sistema radicular, foram observados variações, tanto entre as cultivares testadas, quanto entre tratamentos com inoculação (Tabela 2). No desdobramento dos tratamentos, a inoculação com *A. brasilense* se mostrou superior nas cultivares ND 4990, Spring e V-max, e comportamento inferior

para a cultivar Turbo, sendo 29%, 10% e 6,4% inferior às anteriores, respectivamente. Essa variação pode estar relacionada com a afinidade das bactérias do gênero com determinadas cultivares, conforme relatos de Reis et al. (2000). Outro ponto a ser considerado é a promoção da alongação radicular nas cultivares ND 4990, Spring e V-max, provavelmente relacionado ao balanço de AIA, promovido pelo *A. brasilense* (Ferlini et al. 2006). Esses mesmos autores encontraram incremento do sistema radicular ao co-inocular sementes de soja na Argentina com *B. japonicum* e *A. brasilense*, observando incrementos de até 200% nos sistemas radiculares.

Porém, ao se avaliar a inoculação com *B. japonicum*, a cultivar Turbo apresentou sistema radicular superior, não diferenciando da V-max e Spring. Tal situação pode ser favorável para a Turbo, uma vez que a maior superfície radicular facilita a colonização por parte das bactérias proporcionando incremento na nodulação e maior aporte do nitrogênio com o desenvolvimento da planta (Araujo et al., 2005). O fato das demais cultivares não responderem com o alongamento radicular, pode estar relacionado à características genotípicas, ou ainda demonstram maior afinidade dessas com as bactérias diazotróficas, não necessitando maior área de contato raiz-bactéria, sendo suficiente para proporcionar os resultados observados, independente de inocular ou co-inocular.

Para a massa seca de raiz, a cultivar Turbo apresentou valores superiores para o tratamento *A. brasilense* e a co-inoculação de *A. brasilense* e *B. japonicum*; provavelmente relacionada ao efeito de desenvolvimento radicular proporcionado pelo *A. brasilense* (Gitti et al., 2012), que além do alongamento radicular, promove o desenvolvimento de raízes laterais secundárias (Silva et al., 2004; Stets, 2013), permitindo maior associação com microrganismos benéficos e maior absorção de água e nutrientes. (Dimpka et al., 2009).

Ao avaliar a primeira e segunda contagem, os resultados seguiram os apresentados para as variáveis biométricas com variações entre cultivares (Figura 1).

No desdobramento dos tratamentos com inoculação dentro das cultivares, foram observadas diferenças significativas apenas para a primeira contagem, realizadas aos quatro dias após a semeadura ( $p \leq 0,05$ ). Na segunda contagem, aos oito dias após a semeadura, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com inoculação para nenhuma das cultivares avaliadas ( $p > 0,05$ ).

2 **Tabela 1** - Variáveis biométricas de parte aérea de plântulas de soja de diferentes cultivares submetidas à inoculação com *Azospirillum*  
 3 *brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*.

Tratamentos	Comprimento de Parte Aérea (cm)					Massa Seca de Parte Aérea (g planta <sup>-1</sup> )				
	Apollo	Turbo	V-max	ND 4990	Spring	Apollo	Turbo	V-max	ND 4990	Spring
Testemunha	20,57 aA	18,96 aAB	14,20 aC	17,73 bB	19,24 aAB	0,105 aA	0,109 aA	0,103 aA	0,074 aA	0,098 aA
<i>A. brasilense</i>	20,40 aA	17,74 aB	14,17 aC	20,21 aA	20,61 aA	0,096 aA	0,115 aA	0,109 aA	0,077 aA	0,078 aA
<i>B. japonicum</i>	20,09 aAB	18,31 aBC	14,26 aD	18,01 bC	20,93 aA	0,096 aA	0,111 aA	0,091 aA	0,073 aA	0,082 aA
A. bra+B. jap	19,83 aA	19,08 aA	12,54 aB	19,11 abA	18,25 aA	0,112 aA	0,121 aA	0,105 aA	0,043 bB	0,098 aA
C. V. (%)	5,85					3,23				
D.M.S	1,06					0,23				

4 \*\*Medias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5

6 **Tabela 2** - Variáveis biométricas de sistema radicular de plântulas de soja de diferentes cultivares submetidas à inoculação com *Azospirillum*  
 7 *brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*.

Tratamentos	Comprimento de Raiz (cm)					Massa Seca de Raiz (g planta <sup>-1</sup> )				
	Apollo	Turbo	V-max	ND 4990	Spring	Apollo	Turbo	V-max	ND 4990	Spring
Testemunha	12,11 aA	13,58 bB	9,74 bC	13,21 aB	7,20 bC	0,015 aA	0,016 aA	0,012 aA	0,026 aA	0,026 aA
<i>A. brasilense</i>	7,44 bC	10,53 cB	11,25 abB	14,83 aA	11,69 aB	0,009 bB	0,038 aA	0,010 aB	0,020 aB	0,011 aB
<i>B. japonicum</i>	9,38 bB	17,00 aA	10,79 abB	9,45 bB	9,91 abB	0,010 bB	0,019 aB	0,012 aB	0,043 aA	0,032 aA
A. bra+B. jap	7,70 bB	9,88 cB	13,54 aA	7,61 bB	9,01 abB	0,012 abB	0,035 aA	0,018 aB	0,017 aB	0,021 aB
C. V. (%)	13,39					2,23				
D.M.S	1,5					0,14				

8 \*\*Medias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores diferenciados de germinação observado entre as cultivares era esperada, uma vez que cada cultivar possui características distintas entre si, e podem apresentar maior ou menor tempo de germinação (Silva et al., 2010). Tal característica é amplamente influenciada por fatores abióticos (Garcia, 2012), porém, ambas as cultivares foram submetidas às mesmas condições. É importante destacar que as sementes utilizadas apresentavam característica de acordo com o norma brasileira de comercialização, devido essas serem sementes pertencentes à categoria S1 (Brasil, 2009).

Ao avaliar os tratamentos dentro das cultivares, a inoculação de *A. brasilense*, promoveu melhores resultados nas cultivares Apollo, ND 4990 e Spring (Figura 1A, 1D, 1E), para a cultivar V-max (Figura 1C) não se teve diferença significativa, e na Turbo (Figura 1B) esse tratamento apresentou média baixa, juntamente com a co-inoculação com *B. japonicum*.

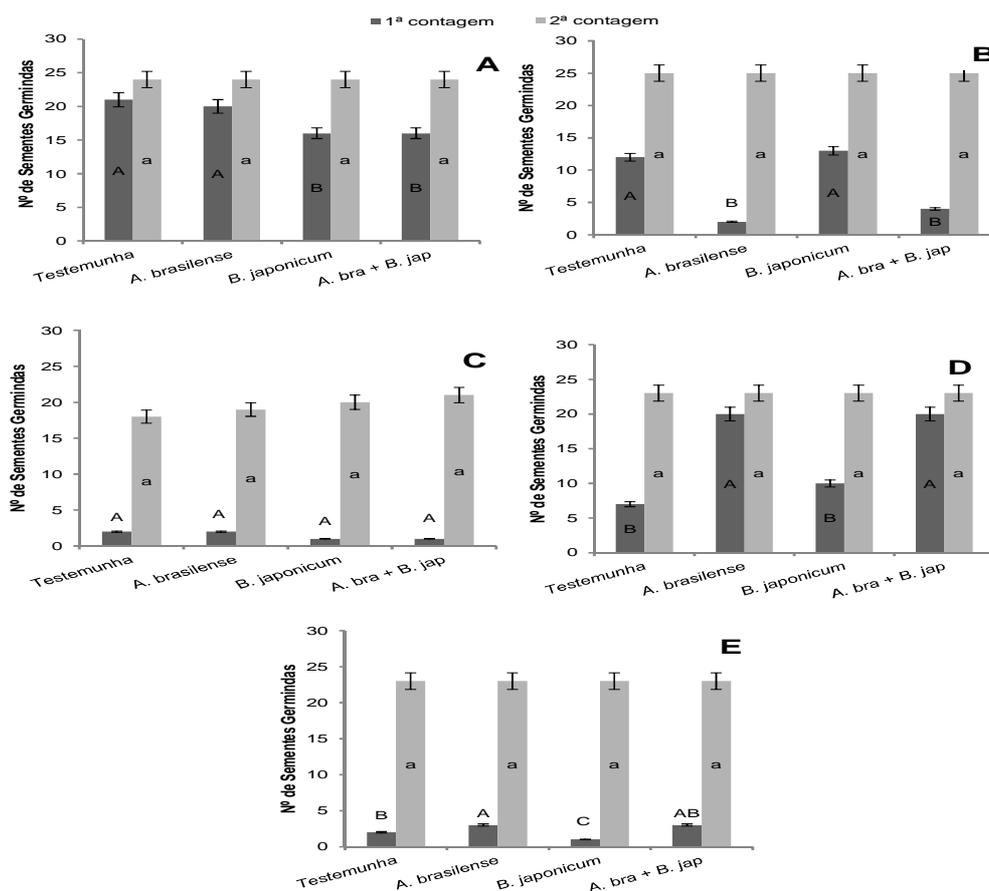
A inoculação com *B. japonicum* não interferiu na germinação das sementes durante a primeira contagem e a segunda, mostrando que essa bactéria pode ser definida como neutra para essa etapa da cultura, tendo apenas efeito a partir do desenvolvimento da planta (ZILLI et al., 2006).

Assim as médias mais baixas foram obtidas quando se utilizou a co-inoculação *A. brasilense* e *B. japonicum* nas cultivares Apollo e Turbo durante a primeira contagem, pode estar relacionado ao processo de competição entre essas bactérias, que segundo Plazinsk e Rolfe (1985), pode causar supressão e/ou morte destas, resultando em menores números de unidades formadoras de colônias, sem interferir na germinação das sementes nas cultivares Apollo e Turbo.

A ausência de efeito dos tratamentos com inoculação nas cultivares na segunda contagem, pode estar relacionado à qualidade das sementes, pertencente à categoria S1, possuindo alta qualidade, evidenciando a importância de utilizar semente de boa qualidade (Dartora et al., 2013). Ou ainda, ao processo fisiológico que ocorre durante a germinação, visto que as sementes possuem reservas hormônios e nutrientes suficientes para germinar (Taiz e Zieger, 2009). Assim a liberação natural de hormônios pode ter promovido germinação e emergência das plântulas de forma normal, não sendo observado diferenças significativas.

Já para a primeira contagem essa carga natural de hormônios pode não ter sido liberada em quantidades suficientes para promover a germinação e emergência das plântulas, sendo essa complementada ou ainda aumentada pela presença do *A. brasilense*, nas cultivares Apollo, ND 4990 e Spring possivelmente devido às características genéticas, resultando em maior afinidade com essa. Desta forma, o uso de *A. brasilense* pode ser uma tecnologia promissora na cultura da soja, pois com na agricultura atual, o ganho em um ou dois dias no

período de germinação, mesmo parecendo pouco, pode representar ganhos no rendimento final da cultura da soja e também na semeadura da próxima cultura, que pode ser contemplada com melhores condições climáticas. Porém, para o emprego dessa tecnologia deve-se selecionar cultivares responsivas para que possam ser incorporadas nos programas de melhoramento visando uso futuro. Cabe ainda ressaltar a necessidade ampliar as pesquisas quanto ao comportamento do *A. brasilense* e do *B. japonicum* quando em associação e para cada cultivar, para fornecer tecnologia mais adequada para o produtor.



**Figura 1** - Germinação na primeira e segunda contagem de germinação de diferentes cultivares de soja [Apolo (A); Turbo (B); V-max (C); ND4990 (D); Spring (E)] submetidas a inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*.

\* Letras maiúsculas semelhantes não apresentam diferença estatística entre si pelo teste de Tukey a 5%, para primeira contagem.

\*\* Letras minúsculas semelhantes não apresentam diferença estatística entre si pelo teste de Tukey a 5%, para segunda contagem.

## CONCLUSÕES

O uso de *Bradyrhizobium japonicum* na semeadura não interfere na germinação e emergência de plântulas de soja.

A inoculação de sementes de soja com *Azospirillum brasilense* apresentou resultados variáveis na germinação e emergência das plântulas, relacionados a cultivar

A cultivar ND 4990 apresenta melhores resultados quando recebe a inoculação de *Azospirillum brasilense*, seguida de Apollo e Spring.

A cultivar Turbo não apresentou bons resultados ao receber a inoculação com *Azospirillum brasilense*, não sendo recomendada para novos trabalhos com a inoculação.

A co-inoculação *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum* não se mostrou eficiente frente à inoculação isolada de ambos para as cultivares estudadas.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná, afiliada à Secretaria de Estado da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior – SETI; CAPES/PNPD e ao CNPq/INCT pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.S.F.; TEIXEIRA, G.M.; CAMPOS, A.X.; SILVA, F.C.; AMBROSANO, E.J.; TRIVELIN, P.C.O. Utilização de nitrogênio pelo trigo cultivado em solo fertilizado com adubo verde (*Crotalaria juncea*) e/ou uréia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 284-289, 2005.

BÁRBARO, I.M.; MACHADO, P.C.; BÁRBARO JUNIOR, L.S.; TICELLI, M. MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-Inoculação. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R.P. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, n. 1, p. 45-47, 1989.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 151-153, 1989.

CASSÁN, F.; PERRIGA, P.; SGROYA, V.; MASCIARELLIA, O.; PENNAB, C.; LUNAA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combinati promote seed germination and early seedling gron corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of soil biology**, Braunschweig, v. 45, n. 5, p. 28–35, 2009.

CASTRO, R.C.; KLUGE, R.A. **Ecofisiologia de Cultivos Anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca**. São Paulo: Nobel, 1999. 129p.

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indóis in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 4, p. 2833-2837, 1988.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; PINTO JÚNIOR, A.S.; CRUZ, L.M.; MENSCH, R. Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 12, n. 3, p. 175-181, 2013.

DIMKPA, C.; WEINAND, T.; ASCH, F. Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 32, n. 12, p. 1682-1694, 2009.

FERLINI, H.A. **Co-inoculación en soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. Santa Fé, Engormix, 2006. 6p.

GARCIA, A.R.L. **Germinação do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em solo proveniente de monocultura de cana-de-açúcar com inoculação de rizobactérias (RPCP)**. 2012. 50p. Dissertação (Mestrado de Microbiologia) – Centro de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal. 2012.

GITTI, D.C.; ARF, O.; KANEKO, F.H.; RODRIGUES, R.A.F.; BUZETTI, S.; PORTUGAL, J.R.; CORSINI, D.C.D. C. Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 5, n. 15, p. 36-46, 2012.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; GRAHAM, P.H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture: forestry ecology and environment**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p. 25-42.

LACERDA, A.L.S.; LAZARINI, E. SÁ, M.E.; VALÉRIO FILHO, W.V. Efeitos da dessecação de plantas de soja no potencial fisiológico e sanitário das sementes. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 447-457, 2005.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERELEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 8, n. 7, p. 298-300, 2000.

LI, D.; ALEXANDER, M. Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 108, n. 3, p.211-219, 1988.

NETO, S.P.S. **Dessecação pré-colheita da soja no cenário da safrinha**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011.

PLAZINSKI, J.; ROLFE, B. G. Influence of *Azospirillum* strains on the nodulation of clovers by *Rhizobium* strains. **Applied and environmental microbiology**, New York, v. 49, n. 4, p. 984-989. 1985.

REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.; DÖBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 19, n. 2, p. 227–247, 2000.

SILVA, A.A.O.; FELIPE, T.A.; BACH, E.R. Ação do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033). **ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2004.

SILVA, J.B. da; LAZARINI, E.; SÁ, M.E. Comportamento de sementes de cultivares de soja submetidos a diferentes períodos de envelhecimento acelerado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 5, p. 755-762, 2010.

STETS, M.I. **Monitoramento de *Azospirillum brasilense* e estudo da biodiversidade bacteriana a raízes de trigo (*Triticum aestivum*)**. 2013. 109f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4<sup>o</sup> ed., Porto Alegre: Artemed, 2009, p.819.

ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; CAMPO, R.J.; GIANLUPPI, V.; HUNGRIA, M.; SMIDERLE, O.J. **Avaliação da fixação biológica de nitrogênio na soja em áreas de primeiro cultivo no cerrado de Roraima**. Embrapa Roraima, 2006. 9p.

---

Recebido para publicação em: 31/03/2014

Aceito para publicação em: 04/06/2014