



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

DAISY PARENTE DOURADO

TEORES DE PROTEÍNA E ÓLEO EM GRÃOS DE SOJA COM INOCULAÇÃO  
MISTA *Azospirillum* E *Bradyrhizobium* EM REGIÃO DE BAIXA LATITUDE

PALMAS  
TOCANTINS - BRASIL  
2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

DAISY PARENTE DOURADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroenergia da Universidade Federal do Tocantins, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia.

Área de concentração: Cultivos Bioenergéticos.

Orientador: Prof. Dr. Joenes Mucci Peluzio

PALMAS  
TOCANTINS - BRASIL  
2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFT, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Dourado, Daisy Parente.

TEORES DE PROTEÍNA E ÓLEO EM GRÃOS DE SOJA COM INOCULAÇÃO  
MISTA *Azospirillum* E *Bradyrhizobium* EM REGIÃO DE BAIXA  
LATITUDE/Daisy Parente Dourado. – Palmas : UFT, 2017.

50 p.

Orientador: Joenes Mucci Peluzio

Dissertação de Mestrado Universidade Federal do Tocantins.

Coordenação de Pós-Graduação em Agroenergia.

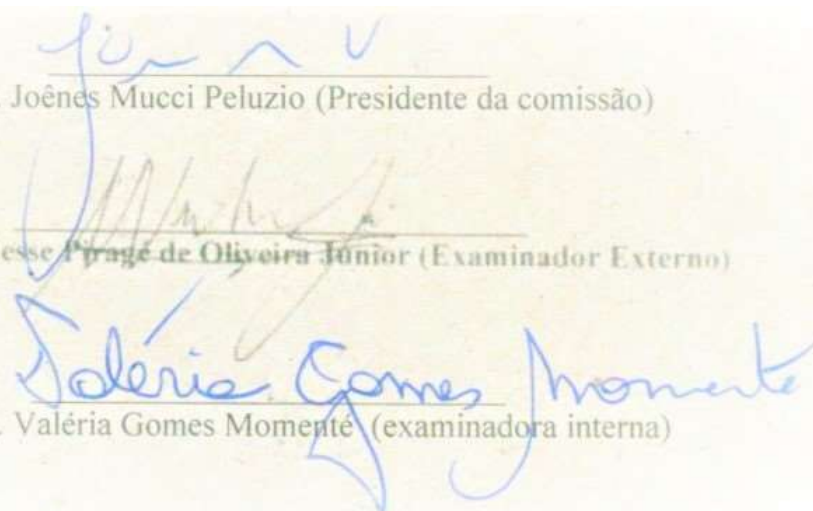
1. A. *Brasilense*. 2. Biodiesel. 3. *Glycine Max*. 4. fonte de proteína.
- Universidade Federal do Tocantins. Coordenação de Pós- graduação em Agroenergia.

DAISY PARENTE DOURADO

TEORES DE PROTEÍNA E ÓLEO EM GRÃOS DE SOJA COM INOCULAÇÃO  
MISTA *Azospirillum* E *Bradyrhizobium* EM REGIÃO DE BAIXA LATITUDE

**Dissertação de Mestrado**

**COMISSÃO EXAMINADORA**



Prof. Dr. Joênes Mucci Peluzio (Presidente da comissão)

Prof. Dr. Waldesse Prage de Oliveira Júnior (Examinador Externo)

Profª. Drª. Valéria Gomes Momenté (examinadora interna)

Data da Defesa: 30 /06/2017.

*“As mais altas árvores são oriundas de minúsculas sementes.”*

Francisco de Paula Cândido Xavier

Ao meu filho Davi,

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde e pela fé.

À Fundação Sucupira, pelo apoio através da concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Tocantins (UFT) pela formação propiciada através do curso de Pós-Graduação em Agroenergia. Em especial, aos professores pelos ensinamentos nas disciplinas.

Ao meu marido Cid, pelo amor, carinho e companheirismo. Pela paciência nas horas mais difíceis e por me encorajar a vencer sempre.

Aos meus pais Nilton e Helena e ao meu irmão Samuel, por dedicarem a me ajudar, me incentivar, e estarem sempre preocupados e disponíveis, afim de que eu conseguisse conciliar a realização deste trabalho aos cuidados com o Davi.

Ao meu filho Davi, tão “pequenino”, mas tão grande, ao me fazer enxergar a vida com leveza e alegria. Sua chegada nesta etapa tão crucial foi extremamente desafiador, mas determinante para que eu conseguisse seguir em frente, com o amor acima de tudo.

Aos meus sogros Shiromo e Amélia, a minha cunhada Lúcia, pelo apoio fundamental durante as etapas deste projeto.

Ao meu orientador Prof. Joenes Mucci Peluzio, pela confiança e orientação, e pela paciência e compreensão, além do exemplo de dedicação à pesquisa, de competência e integridade.

Ao Professor Evandro e ao colega Kayo pelo auxílio na condução dos experimentos a campo.

Ao colega Rômulo, pela ajuda nas análises laboratoriais.

Às colegas Deny e Laisy pelo companheirismo, amizade e auxílio nos estudos durante a condução do mestrado.

À todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para o êxito deste trabalho, meu eterno agradecimento.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	12
2. OBJETIVOS .....	14
2.1 Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1 Importância econômica da soja.....	15
3.2 Teor de proteína no grão em soja.....	16
3.3 Teor e composição do óleo em soja.....	17
3.4 <i>Azospirillum brasilense</i> .....	19
3.5 Inoculação mista com rizóbio e <i>Azospirillum</i> .....	21
3.6 Importância da qualidade dos teores de óleo e proteína .....	23
3.7 Influência dos fatores ambientais nos teores de óleo e proteína do grão.....	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
4.1 Local e condições climáticas .....	26
4.2 Delineamento experimental .....	27
4.3 Condução do experimento .....	27
4.4 Avaliação laboratorial: caracterização química do óleo e proteína .....	28
4.5 Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	30
5.1 Análise de Variância .....	30
5.2 Teor de Proteína .....	31
5.3 Teor Óleo .....	36
5.4 Correlação entre teor de proteína e óleo .....	39
6. CONCLUSÕES .....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resultados da análise química do solo na camada 0-20 cm para o solo Latossolo Amarelo Distroférico, antes da implantação da cultura .....	26
<b>Tabela 2.</b> Resumo da análise de variância conjunta, das características teor de proteína, teor de óleo, rendimento de proteína e rendimento de óleo ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ), em duas cultivares de soja, doses <i>Azospirillum brasilense</i> , em três épocas de semeaduras, em Palmas-TO. ....	30
<b>Tabela 3.</b> Teor médio de proteína nos grãos de soja (duas cultivares), em função de diferentes épocas de semeadura e doses de <i>A. brasilense</i> .....	31
<b>Tabela 4.</b> Teor médio de óleo nos grãos de soja (duas cultivares), em função de diferentes épocas de semeadura e doses de <i>A. brasilense</i> .....	37
<b>Tabela 5.</b> Correlação fenotípica entre teor de proteína e teor de óleo em cultivares de soja cultivadas em três épocas de semeadura no ano agrícola 2015/2016.....	40



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Dados climáticos da precipitação pluvial, temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante o período experimental de novembro de 2015 a março de 2016 em Palmas, TO.....	27
<b>Figura 2.</b> Teor de proteína da cultivar TMG 1288RR nas épocas, em função das doses de <i>A. brasilense</i> (mL ha <sup>-1</sup> ), em Palmas-TO, Safra 2015/16 .....	33
<b>Figura 3.</b> Teor de proteína da cultivar M 9144RR nas épocas, em função das doses de <i>A. brasilense</i> (mL ha <sup>-1</sup> ), em Palmas-TO, Safra 2015/16.....	34
<b>Figura 4.</b> Teor de óleo da cultivar TMG 1288RR nas épocas, em função das doses de <i>A. brasilense</i> (mL ha <sup>-1</sup> ), em Palmas-TO, Safra 2015/16.....	38
<b>Figura 5.</b> Teor de óleo da cultivar M 9144RR nas épocas, em função das doses de <i>A. brasilense</i> (mL ha <sup>-1</sup> ), em Palmas-TO, Safra 2015/16. ....	39

## RESUMO

Daisy Parente Dourado. TEORES DE PROTEÍNA E ÓLEO EM GRÃOS DE SOJA COM INOCULAÇÃO MISTA *Azospirillum* E *Bradyrhizobium* EM REGIÃO DE BAIXA LATITUDE

A cultura da soja é considerada uma das maiores fontes de matéria-prima para a produção de biodiesel no Brasil, além de ser uma das principais fontes nutricionais de fornecimento de proteína seja para alimentação animal ou humana. Neste sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar a influência da inoculação via foliar do *Azospirillum*, em associação com *Bradyrhizobium*, nos teores de óleo, visando a produção do biodiesel, e nos teores de proteína, visando agregar valor aos produtos alimentícios, em grãos de soja cultivada em região de baixa latitude. Foram realizados três experimentos em Palmas - TO, sendo as semeaduras efetuadas em 18/11/2015, 02/12/2015 e 17/12/2015. Os experimentos foram conduzidos no delineamento em blocos casualizados com três repetições, cujos tratamentos foram alocados em um esquema de parcelas subdivididas, onde foram utilizadas nas parcelas as cultivares TMG 1288RR e M 9144, e nas sub-parcelas cinco doses de aplicações foliares do produto comercial fonte da bactéria *A. brasilense* (0, 100, 200, 300 e 400 mL ha<sup>-1</sup> do produto comercial por hectare). Os caracteres avaliadores consistiram no teor de proteína (Kjeldahl) e óleo (Soxhlet) nos grãos, e rendimento de proteína e óleo. Após a obtenção dos dados, realizou-se análise conjunta dos experimentos realizados. Os resultados obtidos mostram que ocorreram aumentos nos teores de proteína dos grãos e redução nos teores de óleo com o uso misto do *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, em todas as épocas de plantio e em todas as cultivares. As temperaturas altas e baixas precipitações contribuíram para o aumento e redução, respectivamente dos teores de óleo e proteína dos grãos. Para a produção do biodiesel, não se recomenda o uso do *Azospirillum* concomitante ao uso do *Bradyrhizobium*. Doses crescentes de *Azospirillum* promoveram aumento no teor de proteína e redução no teor de óleo. O teor de óleo é inversamente relacionado ao de proteína, independente da época de plantio.

**Palavras-chave:** *A. Brasilense*, Biodiesel, *Glycine Max*, fonte de proteína

## ABSTRACT

Daisy Parente Dourado. PROTEIN AND OIL CONTENT IN SOYBEAN GRAIN WITH MIXED INOCULATION *Azospirillum* E *Bradyrhizobium* IN LOW LATITUDE REGION

A soybean crop is one of the major sources of raw material for a biodiesel production, without Brazil, besides being one of the main sources of nutrients for the supply of proteins for animal or human feeding. In this sense, the objective of this work was to evaluate the influence of the *Azospirillum* foliar inoculation, in association with *Bradyrhizobium*, in the oil contents, aiming at the biodiesel production and in the protein contents, aiming to add value to food products, in grains of soybeans grown in a low latitude region. Three experiments were carried out in Palmas - TO, being sowing performed on 11/18/2015, 12/02/2015 and 12/17/2015. The experiments were performed without a randomized block design with three replicates. The cultivars TMG 1288RR and M 9144 were used, and in the subplots five doses of commercial applications of *A. brasilense* commercial product (0, 100, 200, 300 and 400 mL ha<sup>-1</sup> of the commercial product per hectare). The nominal characters consisted of the protein content (Kjeldahl) and the oil (Soxhlet) in the grains and yield of protein and oil. After obtaining the data, perform a joint analysis of the experiments performed. The results show that they occur in grain nutrients and reduce our effects of use with mixed use of *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* at all planting seasons and in all cultivars. As high and low temperatures precipitate contributions to increase and decrease, respectively, the oil and protein products of the beans. For the production of biodiesel, the use of *Azospirillum* concomitant with the use of *Bradyrhizobium* is not recommended. Increasing doses of *Azospirillum* promoted increased protein content and reduced oil content. The oil content and inversion related to the owner, regardless of the planting season.

**Keywords:** *A. Brasilense*, Biodiesel, *Glycine Max*, protein source.

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de oleaginosas como fonte de matéria-prima é uma alternativa promissora no setor agroenergético, com destaque para a cultura da soja que possui em sua composição características essenciais para o incremento nutricional, tais como proteína, óleo, carboidratos, lecitinas, fibras entre outros. Atualmente, o complexo soja formado pelo grão, óleo e farelo, constitui-se em uma das mais importantes *commodities* nacionais, sendo responsável nas últimas safras pela captação de divisas no mercado internacional na ordem de 10 bilhões de reais.

No cenário produtivo, o Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. De acordo com dados da CONAB (2016), nas safras de 2015/2016, a produção de soja do Brasil e dos Estados Unidos foi de 96,5 e 106,96 milhões de toneladas, respectivamente (FREIRIA, 2016).

Dentre as regiões produtoras da leguminosa, o Estado de Tocantins tem ganhado destaques nacional e internacional devido à expansão de sua fronteira agrícola (CAMPOS *et al.*, 2016), além de apresentar condições climáticas favoráveis e localização geográfica privilegiada. No Estado, a produção de soja apresentou elevação de 231% em 10 anos, passando de 742 mil toneladas em 2005/2006 para 2.464,4 mil toneladas em 2014/2015 (CONAB, 2006; CONAB, 2016).

Com o aumento nas áreas de plantio devido a demanda de produção, haverá um aumento substancial no uso de fertilizantes no Brasil, afim de atender a intensificação da agricultura (GALINDO *et al.*, 2016). Neste sentido, é fundamental encontrar alternativas para o uso mais eficiente dos fertilizantes e, nesse contexto, alguns microrganismos, como as bactérias fixadoras de N atmosférico e as bactérias promotoras do crescimento de plantas, podem desempenhar um papel relevante e estratégico para garantir altas produtividades a baixo custo e com menor dependência da importação de adubos (HUNGRIA, 2011).

Com isso, faz-se necessário diversificar os sistemas de manejo produtivo da cultura, por meio de tecnologias que substituam os insumos minerais por organismos biológicos, afim de suprir as necessidades nutricionais de forma sustentável.

O uso de bactérias *Azospirillum brasilense* pode aumentar o desempenho da cultura da soja (HUNGRIA, CAMPO e MENDES, 2007). Essas bactérias podem influenciar no desenvolvimento da planta e na qualidade do grão, devido a capacidade de produzir fitohormônios, incluindo auxinas, giberelinas, citocininas, que sob

condições "in vitro" (MASCIARELLI *et al.*, 2013), além de reduzir a necessidade de aplicação de insumos químicos, reduzir o estresse biótico e abiótico e aumentar o rendimento das culturas (HUNGRIA, 2011).

Relatos mostram que a utilização da bactéria apresentam incrementos na absorção de água e minerais com o uso de *Azospirillum*, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (DOBBELAERE *et al.*, 2001; BASHAN *et al.*, 2004). Barassi *et al.* (2008) relataram melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa, maior altura de plantas.

A inoculação com *Azospirillum* costuma ser realizada via sementes na forma sólida ou na forma líquida (HUNGRIA *et al.*, 2010). Por ser uma alternativa nova na cultura da soja, pesquisas com a inoculação de *Azospirillum brasilense* via foliar são recentes, evidenciando a necessidade de informações afim de obter benefícios desta inoculação, e consequentemente refletir em melhor nutrição e qualidade de grãos de soja.

Assim, métodos alternativos de inoculação, como a aplicação de bactérias pulverizadas em culturas em estádios avançados, podem proporcionar resultados interessantes (ZUFFO *et al.*, 2016a). Segundo Chueiri *et al.* (2005), diferentes doses de inoculantes podem ser uma estratégia viável para determinar a quantidade a ser utilizada em novas áreas, uma vez que em áreas sem histórico de inoculação a recomendação é de aplicação em dose dupla de bactérias fixadoras de nitrogênio.

Diante o exposto, sabendo-se que em outras espécies de leguminosas e gramíneas o uso desta bactéria traz benefícios econômicos e ambientais, uma tecnologia nova e adaptada as condições regionais para a soja seria de suma importância para o aumento da qualidade de grãos.

## 2. OBJETIVOS

Verificar a influência da inoculação via foliar do *Azospirillum*, em associação com *Bradyrhizobium*, nos teores de óleo, visando a produção do biodiesel, e nos teores de proteína, visando agregar valor aos produtos alimentícios, em grãos de soja cultivada em região de baixa latitude.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito das doses aplicadas do *Azospirillum*, em associação com *Bradyrhizobium*, nos teores de proteína e óleo em grãos de soja;
- Estudar o efeito das épocas de semeadura, nos teores de proteína e óleo em grãos de soja, com o uso do *Azospirillum*;
- Estudar o efeito dos cultivares, nos teores de proteína e óleo em grãos de soja, com o uso do *Azospirillum*;
- Correlacionar o acúmulo de proteína e óleo nos grãos das variedades de soja, nas diferentes épocas de semeadura.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Importância econômica da soja**

Considerada a principal oleaginosa consumida e produzida em todo o mundo, a soja é apontada no cenário agrícola como um dos produtos mais importantes para o consumo humano (FAO, 2017).

A soja chegou ao Brasil vinda dos Estados Unidos da América (EUA) em 1882 onde até meados dos anos 1960, não tinha valor comercial entre as demais culturas. Com a evolução das pesquisas junto ao melhoramento genético, observou-se um desempenho produtivo significativo, que a fez expandir seus cultivos em todo território nacional, se tornando o principal produto de exportação do agronegócio brasileiro.

Nas últimas décadas, a grande expansão econômica no setor produtivo da leguminosa, foi atribuída à construção de um mercado internacional crescente, dependente dos produtos oriundos direta e indiretamente da soja (HIRAKURI, 2011).

Essa demanda tem aumentado em virtude do alto teor de proteína dos grãos, aliado a um baixo custo de produção, quando comparada a outras culturas. Além disso, seu óleo proveniente dos grãos é um dos principais e mais importantes subprodutos da soja, principalmente na destinação para produção de biodiesel.

Em função da sua importância, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2017) contabilizou a produção mundial de grãos da cultura na safra 2015/2016 em 313,05 milhões de toneladas, em uma área estimada de 120,3 milhões de hectares. No Brasil, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017), a produção nesta mesma safra foi de 95.434,6 milhões de toneladas em 33.251,9 milhões de hectare cultivados, onde a produtividade média foi de 2.870 kg ha<sup>-1</sup>. Com estes números o Brasil ocupa o posto de segundo maior produtor mundial de soja, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Para a safra 2016/2017 a CONAB (2017) projeta um aumento de produção de 18,4%.

Em termos econômicos a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil – CNA (CNA, 2016) e Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC) (MDIC, 2017), divulgaram que em 2016 a venda dos produtos que compõem o complexo soja (soja em grão, óleo e farelo) somaram US\$ 4,044 bilhões, representando 16,6% da receita total de exportação do Brasil.

A soja como principal commodity agrícola brasileira, tem grande expressão também no mercado internacional, deixando o país em segundo colocado no ranque mundial, com uma produção estimada em 232,02 milhões de toneladas de grãos para a safra 2016/17, sendo superado apenas pelos Estados Unidos (FAO, 2017; CONAB, 2017).

Considerada a última fronteira agrícola do mundo, o Matopiba composto pelos Estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia, contribui com cerca de 10% da produção de grãos do Brasil (MIRANDA, 2015). Este potencial tende a crescer devido as características favoráveis da região cerrana – topografia plana e clima estável com regime equilibrado de chuvas – que favorecem o potencial produtivo da região. Além disso, ela já possui infraestrutura mínima de estradas que ligam os centros produtores às principais capitais e portos do País (FILHO *et al.*, 2016).

O Tocantins tem despontado no cenário nacional como um grande produtor de grãos (BORGHI *et al.* 2014). Dentre os Estados da região Matopiba, o Estado ocupa a segunda colocação na produção de soja, com produção de aproximadamente 2.786,1 milhões de toneladas de soja (safra 2016/17), ficando atrás apenas da Bahia (CONAB, 2017).

### **3.2 Teor de proteína no grão em soja**

O complexo soja formado pelo grão, farelo e óleo é responsável atualmente pelas maiores taxas de exportações do agronegócio brasileiro. Dentre os produtos que compõe esse complexo, um dos mais importantes é sua utilização como fonte de proteína vegetal, frente ao crescente setor de produção de produtos de origem animal e humana.

As proteínas da soja constituem o maior componente das dietas para a produção animal, por apresentar todos os aminoácidos essenciais requeridos para alimentação humana ou animal: isoleucina, leucina, lisina, metionina e cisteína, fenilalanina e tirosina, treonina, triptofano, valina e histidina (VIEIRA, 2016).

Do ponto de vista biológico das plantas, as proteínas dos grãos podem ser classificadas em dois tipos: metabólicas e de armazenamento. As proteínas metabólicas incluem as proteínas estruturais e enzimáticas, que estão normalmente envolvidas nas atividades da célula, como por exemplo, a síntese de proteínas de reserva que junto com as reservas de óleo, são produzidas durante o desenvolvimento do grão. As



proteínas de armazenamento respondem pela maior parcela, durante a germinação, elas funcionam como fonte de nitrogênio e esqueleto de carbono para as plântulas em desenvolvimento (PÍPOLO *et al.*, 2015).

Nas leguminosas, as principais proteínas existentes nas sementes são classificadas em dois tipos: albuminas e globulinas. Esta distinção é baseada em padrões de solubilidade, onde as albuminas são solúveis em água, enquanto as globulinas são solúveis em solução salina. Nas sementes de soja, a maioria das proteínas de reserva são as globulinas, sendo encontrados dois tipos de globulinas na soja: glicinina e conglucina (CLARKE; WISEMAN, 2000).

A biossíntese de proteínas na célula vegetal ocorre em três locais diferentes, no citosol, no estroma dos cloroplastos e na matriz mitocondrial. Para que ocorra a síntese proteica, inicialmente é necessário a liberação de produtos da fotossíntese e dos substratos da respiração (glicólise) (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007).

### **3.3 Teor e composição do óleo em soja**

No complexo soja, outro produto importantíssimo é o óleo, considerado a principal fonte de matéria prima para produção de biodiesel, com percentual de 77,61% (BRASIL, 2016). Este elevado percentual de produção é consequência de uma cadeia produtiva estruturada, tecnologias de produção bem definidas, rápido retorno do investimento e principalmente, o biodiesel derivado do óleo de soja não apresenta restrição para consumo em climas quentes ou frios (SANTOS, 2013).

O percentual de óleo corresponde em média a 20% da matéria seca dos grãos de soja, onde grande parte das calorias da soja são provenientes deste óleo. Os lipídeos são biomoléculas insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, como o álcool, benzina, éter e clorofórmio. A família de compostos designados por lipídeos é muito vasta. Cada grama de lipídio armazena nove calorias de energia cinética, enquanto cada grama de glicídio ou proteína armazena somente quatro calorias. Os lipídios possuem funções essenciais para o metabolismo celular, sendo a principal forma de armazenamento e geração de energia metabólica através da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos.

A maior parte do óleo de soja é composto por gordura insaturada. Os componentes de ácidos graxos poliinsaturados (ácido linolênico e linoléico), monoinsaturados (ácido oléico) e saturados (ácido palmítico e esteárico)

correspondem, em média, a 61%, 25% e 15%, respectivamente. O ácido linolênico (componente da fração poliinsaturada do óleo), que corresponde, em média, a 7% da composição do óleo, é um ácido graxo ômega-3.

O biodiesel tornou-se recentemente uma alternativa atraente para a produção de combustíveis verdes, como sucedâneo do diesel, devido às suas características físico-químicas que permitem sua produção a partir de recursos renováveis, tais como óleos vegetais, gorduras animais e óleos e gorduras residuais, além de contribuir para a diminuição da emissão de gases do efeito estufa (SANTOS *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2016).

Foi introduzido na matriz energética brasileira em 2005 através do marco regulatório, que garantiu sua produção e uso, instituindo os percentuais mínimos da mistura diesel/biodiesel a ser comercializada, bem como os aumentos previstos para os anos posteriores, estimulando o crescimento do setor, aumentando a produtividade de acordo com a demanda do mercado (SANTOS *et al.*, 2015).

A utilização do biodiesel traz uma série de benefícios ambientais, econômicos e sociais, e podem, ainda, gerar vantagens econômicas. No Brasil, por se tratar de um país tropical, com dimensões continentais, cabe o aproveitamento das potencialidades regionais. Além disso, tal combustível poderia, por um lado, reduzir a dependência de alguns países quanto ao petróleo e seus derivados e, por outro lado, beneficiar/incentivar a produção agrícola e a melhoria das condições de vida no campo (SOUZA *et al.*, 2016).

Entre os anos de 2014 e 2015 a adoção do B7 considerado o percentual da mistura obrigatória, levou a um crescimento de 15% na produção de biodiesel, gerando uma expectativa de produção para 2019 de 7 bilhões de litros (ANP, 2016).

Em setembro de 2015, foram produzidos 344.038 m<sup>3</sup> de biodiesel, sendo que a Região Centro-Oeste teve a maior contribuição para esse número, totalizando 160.360 m<sup>3</sup>; as regiões Sul, Nordeste, Sudeste e Norte produziram 130.894 m<sup>3</sup>, 32.022 m<sup>3</sup>, 17.618 m<sup>3</sup> e 3.144 m<sup>3</sup>, respectivamente.

Conforme dados da Secretaria de Agricultura do Estado do Tocantins (SEAGRO, 2016) o Estado do Tocantins é, atualmente, responsável por 70% de todo o biodiesel produzido na região Norte do País. Com a expansão da nova fronteira agrícola do MATOPIBA, nos limites dos Estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia, esse percentual tende a aumentar ainda mais.

### 3.4 *Azospirillum brasilense*

Devido o aumento dos custos de fertilizantes e o foco cada vez mais crescente na sustentabilidade, a tendência do uso de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas tem aumentado significativamente nos últimos anos. As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) são caracterizadas como bactérias de vida livre no solo, que, sob condições específicas se tornam benéficas às plantas. Dentre as bactérias BPCP não simbióticas, as mais conhecidas são do gênero *Azospirillum*.

O *Azospirillum* inicialmente foi considerado como bactéria exclusivamente tropical, mas apesar de terem preferência pelas áreas quentes, também foram encontradas em clima temperado, sendo atualmente denominadas de cosmopolitas (DROZDOWICZ, 1997).

Considerado um colonizador geral de raízes, não é uma bactéria específica, já que não apresenta preferência por plantas cultivadas, plantas daninhas, anuais ou perenes (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

Bactérias desse gênero estimulam a densidade e comprimento dos pêlos radiculares, a taxa de aparecimento das raízes laterais e área de superfície das raízes, sendo que a intensidade desses efeitos sobre a morfologia radicular é dependente das espécies de plantas e cultivar e, mais importante, sobre a concentração do inóculo. Em muitos casos, a ótima concentração é de cerca de  $1 \times 10^7$  unidades formadoras de colônias (ufc) semente<sup>-1</sup> ou plântula<sup>-1</sup> (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994).

O modo de ação dessas bactérias ainda não é totalmente conhecido. Há relatos de que essas bactérias possuem diferentes mecanismos de proteção, como formação de cistos e produção de melanina, que podem ajudar na sobrevivência em condições que não são favoráveis (DEL GALLO; FENDIRIK, 1994). Existem diversos trabalhos publicados que afirmam que bactérias do gênero *Azospirillum* produzem fitohormônios (citocinina, auxina, giberelina) estimulando a ramificação da raiz e aumentando a biomassa da parte aérea e da raiz (HUNGRIA, 2011). Um melhor desenvolvimento do sistema radicular pode resultar em melhoria na absorção de água e nutrientes, maior tolerância a estresses, tais como salinidade e seca, o que vem a melhorar o vigor e produção da planta (BASHAN *et al.*, 2004), e maior tolerância a fitopatógenos (CORREA *et al.*, 2008).

Pesquisas mostram que houveram respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, como melhoria nos aspectos fotossintéticos das folhas, tais como teor de clorofila e condutância estomática, maior teor de prolina na parte aérea e raízes, melhoria no potencial hídrico, aumento no teor de água do apoplasto, melhor elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa e altura de plantas (BARASSI *et al.*, 2008). Segundo Verma, Ladha e Tripathi (2001), além de fixar o N atmosférico quando estão associadas com gramíneas, essas bactérias podem atuar na solubilização do fosfato inorgânico.

Embora a cultura da soja seja dependente da disponibilidade de nitrogênio (N), sua exigência em relação a este elemento é suprida em parte pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), realizada por bactérias conhecidas como rizóbios (KASCHUK, ALBERTON e HUNGRIA, 2010), por meio do uso de inoculantes ou fertilizantes nitrogenados para atender as exigências da cultura.

O crescimento das leguminosas promovido após a inoculação com *Azospirillum* está relacionado ao aumento na nodulação das plantas. Isso ocorre em função do *Azospirillum* ter uma forte atração microaerofílica ao nicho rizosférico das raízes das leguminosas e mobilidade mais rápida do que *Rhizobium*, levando a conclusão de que as raízes das leguminosas podem ser ocupadas primeiramente por *Azospirillum*, permitindo pré-condicionamento das raízes antes da colonização de *Rhizobium* (OKON; ITZIGSOHN, 1995).

Madhaiyan *et al.* (2010) revelaram que *A. brasilense* produziu ácido indol acético (AIA) em meio de cultura, além da inoculação de sementes com *A. brasilense* promover aumentos no comprimento de raiz, confirmando que *A. brasilense* apresenta capacidade de promoção de crescimento da planta. Os mesmos autores ao avaliar o efeito de *A. brasilense* em três tipos de plantas em casa de vegetação, verificaram que essa bactéria promoveu aumento da parte aérea de tomate e pimentão vermelho e da raiz de arroz, além de aumentar a porcentagem de nitrogênio nas plantas de tomate. Por outro lado Zuffo *et al.* (2016b) em aplicação foliar de *Azospirillum* em soja, concluíram que a bactéria não afetou em variáveis agrônomicas e rendimentos da cultura.

Neste contexto, tornam-se indispensáveis a realização de mais trabalhos relacionados a promoção do crescimento vegetal com os microrganismos já descobertos, assim como a busca por novas alternativas que venham a reduzir o uso da fertilização nitrogenada.

### 3.5 Inoculação mista com rizóbio e *Azospirillum*

A técnica de inoculação mista ou co-inoculação tem sido alvo de vários estudos em leguminosas, seja por bactérias simbióticas ou não. Essa técnica consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, que produzem efeito sinérgico, em que superam os resultados produtivos obtidos do que quando utilizados na forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO *et al.*, 2008).

Hungria, Campo e Mendes (2007) afirmam que esses microrganismos são diazotróficos ou fixadores de nitrogênio, além de realizar diversas formas de associações com as plantas, são classificadas como bactérias associativas endofíticas ou simbióticas, e por conta disso não conseguem suprir toda a necessidade nutricional das plantas, pois excretam parcialmente o N fixado.

Neste sentido, a co-inoculação é baseada na mistura de inoculantes, ou seja, combinações de microrganismos que interagem sinergicamente, ou quando *Azospirillum* está funcionando como um “ajudante” bacteriano para melhorar o desempenho de outros microrganismos benéficos. Estudos indicam que algumas misturas permitem as bactérias interagir sinergicamente, por fornecer nutrientes, remover alguns produtos de inibição, ou estimular um ao outro através de mecanismos físicos ou bioquímicos (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

Na maioria dos casos em que se tem utilizado *Azospirillum brasilense* em leguminosas, o efeito benéfico da associação com rizóbio se deve na maior parte, a capacidade que a bactéria tem de produzir fitormônio que resulta em maior desenvolvimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo (BÁRBARO *et al.*, 2008).

Entretanto, a inoculação combinada de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* em soja também incrementa os rendimentos das leguminosas, principalmente sobre condições limitadas de água e de nitrogênio (FERLINI, 2006).

Estudo realizado por Molla *et al.* (2001) avaliando o potencial de melhoria de crescimento das raízes e nodulação em soja co-inoculada com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, observaram que *Azospirillum* tem potencial para estimular significativamente o crescimento radicular até mesmo em plantas com raízes cortadas, o que implica em influência positiva sobre o crescimento e desenvolvimento radicular. Ainda, esses mesmos autores concluíram que *Azospirillum* não apenas influencia o

crescimento radicular, mas também pode melhorar a iniciação e o desenvolvimento de nódulos em plantas de soja por co-inoculação com *Bradyrhizobium*.

As pesquisas mostram que as inoculações mistas têm uma maior taxa de eficiência nas plantas, possivelmente em função de uma melhor nutrição e adsorção de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes minerais, contribuindo para o aumento de rendimentos agrônômicos da planta. A inoculação mista aumenta a estimulação e a função dos nódulos, número total e peso dos nódulos, diferenciação das células epidérmicas nos pêlos radiculares, produtividade de grãos e área da superfície radicular (BASHAN; BASHAN, 2005).

Vários estudos tem relatado a eficácia do *Azospirillum* nos caracteres agrônômicos da soja, principalmente na elevação das taxas de rendimentos de grãos. No entanto, sabe-se que os teores de proteína são inversamente correlacionados com os rendimentos de grãos.

Hungria, Nogueira e Araújo (2015) em seus relatos confirmam os benefícios oriundos da aplicação da bactéria via semente e sulco em leguminosas. Em experimento de coinoculação com *B. japonicum* e *A. brasilense* em soja e feijão conduzido por Hungria *et al.* (2013), os autores encontraram diferenças significativas no teor de N foliar para os tratamentos que continham ambos microrganismos para as duas leguminosas.

No entanto, Zuffo (2016) não observou influência do *Azospirillum* nos caracteres agrônômicos da cultura. Essas diferenças podem ser apontadas em função do ambiente e região a que são submetidas, uma vez que a planta já estabelece simbiose com o rizóbio.

Assim, a co-inoculação de *Azospirillum* junto aos outros microrganismos é um dos maiores alcances da tecnologia *Azospirillum* e talvez seja a principal área a ser estudada visando aplicações futuras. Esta nova tendência no campo dos inoculantes é promissora, e representa um grande potencial do *Azospirillum* nos últimos anos (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

A escassez de pesquisas com uso da bactéria nos caracteres químicos dos grãos decorre pelo fato desta ser uma tecnologia nova na cultura da soja, onde o foco comercial tem sido para as gramíneas

Cassan *et al.* (2001) ressaltam que *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* quando associados são capazes de excretar ácido indol-3-acético (IAA), ácido giberélico e

zeatina em concentrações suficientes para causar alterações morfológicas e fisiológicas nos tecidos jovens.

Além de influenciar o crescimento das sementes, os hormônios vegetais excretados pela bactéria podem ter induzido a síntese protéica, conforme verificado por Van Huizen *et al.* (1996). Esses autores observaram que a síntese de proteínas em sementes de ervilha foi detectada dentro de seis horas após a aplicação de auxinas e giberelinas.

Os efeitos dos hormônios vegetais na síntese proteica via expressão genética, depende das concentrações no tecido, que segundo Nascimento e Mosquin (2004), onde seu mecanismo de ação dependerá dos níveis endógenos e exógenos.

### **3.6 Importância da qualidade dos teores de óleo e proteína**

A quantificação dos teores de proteína e óleo em função da qualidade tem sido requisitada pelas indústrias de países como Brasil, Argentina e Estados Unidos (EUA). Segundo Pípolo e Mandarino (2016), devido a dificuldade em se produzir farelos com elevado teores de proteína, os fabricantes acabam retirando o tegumento da soja, que contém baixo teor de proteína, resultando em aumento de custos para a indústria. Os autores enfatizam que essa dificuldade está relacionada em decorrência da variação destes caracteres ser determinada por fatores genéticos e ambientais, principalmente àqueles ocorridos no período de enchimento de grãos. Embora as empresas de melhoramento genético têm trabalhado com a melhoria dessas características, pouco tem sido feito comercialmente para enfrentar essa tendência. Isso ocorre pelo fato da preocupação em se aumentar o rendimento de grãos e resistência a doenças em detrimento do incremento na composição química dos grãos.

Neste sentido, a indústria esmagadora de soja tem manifestado preocupação com a diminuição no teor de proteína da soja, uma vez que os estudos têm comprovado a correlação negativa entre as concentrações de proteína/óleo e os fatores de produtividade (PÍPOLO *et al.*, 2015).

Um estudo concluído por Santos *et al.* (2013) evidencia que o melhoramento de soja para acúmulo de proteínas nos grãos deve enfatizar o melhoramento da FBN (Fixação Biológica de Nitrogênio). Os autores verificaram que alguns marcadores moleculares associados com regiões cromossômicas que controlam a FBN também estão associados com regiões que controlam o acúmulo de proteínas nos grãos.

Adicionalmente, o acúmulo de N nas folhas associado à estimulação da fotossíntese pela alta demanda energética da FBN tem fortes efeitos sobre a senescência das folhas e o período de enchimento dos grãos (KASCHUK, ALBERTON e HUNGRIA, 2010), possivelmente trazendo efeitos positivos para o acúmulo de proteína e óleo nos grãos.

Assim, vários pesquisadores têm enfatizado a importância de conhecer melhor as potencialidades destes materiais genéticos, assim como o emprego de alternativas que visam o incremento das características químicas do grão de soja. A forte correlação negativa entre teor de óleo e proteína colabora com o objetivo do melhoramento genético e das práticas culturais, visando melhoria na qualidade do óleo e proteína da soja.

### **3.7 Influência dos fatores ambientais nos teores de óleo e proteína do grão**

Os constituintes dos grãos de soja não são controlados apenas por fatores genéticos, mas também por fatores abióticos e bióticos, como a data de plantio, temperatura, condições de água, condições de solo, práticas agronômicas, entre outros.

Horan (1974) afirma que os teores de proteína e de óleo da soja podem variar pelas condições climáticas, localização geográfica, cultivares, tipo de solo e práticas agronômicas.

Entre as diferentes restrições ambientais, a seca é o fator abiótico mais limitante na produtividade das culturas. Grande parte das oscilações da produção brasileira de soja é atribuída à ocorrência de secas prolongadas, sendo estimada em escala mundial, uma média de redução do rendimento na produtividade das culturas em mais de 50% (WANG, VINO CUR e ALTMAN, 2003).

Helms *et al.* (1990) constataram que a composição de sementes das mesmas variedades variou ao longo dos anos ou em diferentes ambientes no mesmo ano. As variações foram consideradas como susceptíveis de serem afetadas por mudanças anuais ou geográficas nas condições climáticas, tipos de solo e outras diferenças ambientais.

Dardanelli *et al.* (2006) verificaram que o meio ambiente, inicialmente definido pela data e local de plantio, era a fonte mais importante de variação para o teor de proteína e óleo de soja.



Condições climáticas (ano e local de semeadura) afetam o teor de óleo das sementes de soja (BENASSI *et al.*, 2006). Kumar *et al.* (2006) afirmaram que as temperaturas médias diárias durante o desenvolvimento do feijão, estavam positivamente correlacionadas com o teor de proteína e negativamente correlacionadas com o óleo.

Grieshop e Fahey (2001) e Karr-Lilienthal *et al.* (2005) relataram que os teores de proteína eram menores nas zonas do norte dos Estados Unidos, que são mais frias do que as zonas central e sul. Wolf *et al.* (1982) descobriram que uma maior deposição de proteínas ocorreu com temperaturas mais altas.

Apesar disso, a relação entre estresse hídrico e composição de grãos de soja, são controversas. Dornbos e Mullen (1992), Kumar *et al.* (2006) e Rotundo e Westgate (2010), mostraram que o conteúdo proteico aumentou com o déficit hídrico do solo, enquanto que Specht *et al.* (2001), Boydak *et al.* (2002) e Carrera *et al.* (2009) descobriram que o conteúdo proteico diminuiu com o déficit de umidade do solo. Alguns estudos indicaram que o teor de óleo foi reduzido com o estresse pela seca, enquanto outros relataram um maior teor de óleo com déficit hídrico. Essa variabilidade está associada à respostas fisiológicas e bioquímicas da planta no momento em que foi submetida ao estresse hídrico.

Barbosa *et al.* (2011) avaliando o comportamento de cultivares de soja, em diferentes épocas de semeaduras, na região de Palmas-TO, revelaram que os plantios realizados em 30/11 foram os mais propícios para o desenvolvimento dos cultivares. Os autores concluíram que temperaturas mais altas e menores médias de precipitações pluviométricas durante a fase de enchimento de grãos favoreceram o acúmulo de óleo nas sementes.

Lopes, Peluzio e Martins (2016) em estudo realizado na mesma região, também verificaram influência das épocas de plantio na expressão dos teores de óleo e proteína em cultivares de soja. Os autores atribuíram as diferenças em função dos fatores ambientais, onde as semeaduras tardias (17/12) propiciaram maior teor de óleo.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local e condições climáticas

No ano agrícola 2015/16 foram realizados três experimentos na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT) no município de Palmas - TO, localizado na latitude 10°45' S, longitude 47°14' W a 220 m de altitude, com sementeiras realizadas em 18/11/2015, 02/12/2015 e 17/12/2015.

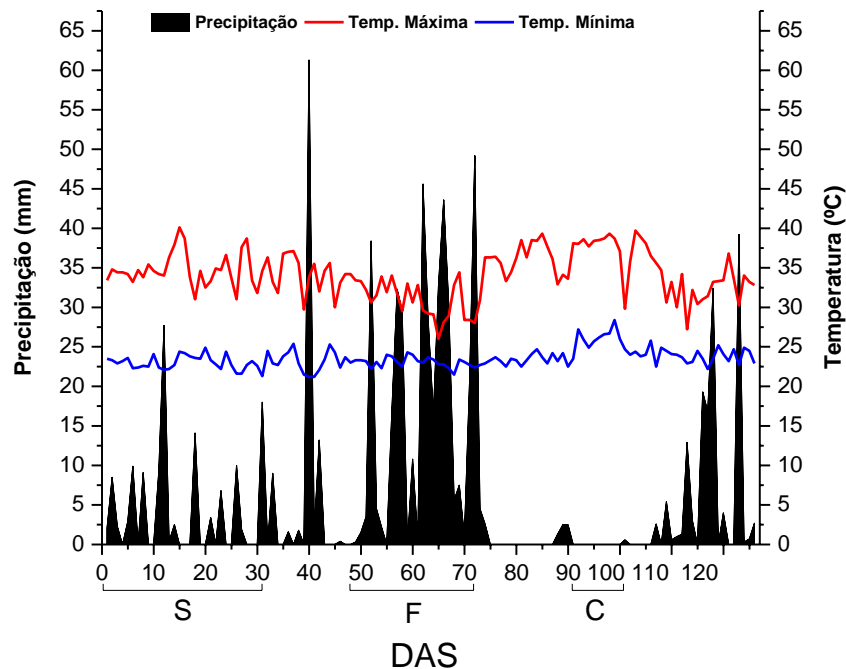
O solo da área experimental é classificado como Latossolo Amarelo Distroférico, e textura média argilosa (EMBRAPA, 2013). Os resultados da análise química de material de solo encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados da análise química do solo na camada 0-20 cm para o solo Latossolo Amarelo Distroférico, antes da implantação da cultura.

pH <sup>1</sup>	M.O.	P <sup>2</sup>	K	Ca <sup>3</sup>	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V
H <sub>2</sub> O	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	.....cmolc dm <sup>-3</sup> .....							%
5,65	10,49	17,28	0,25	1,50	0,76	0,00	1,50	2,51	4,01	62,59
Argila (g Kg <sup>-1</sup> )			Silte (g Kg <sup>-1</sup> )			Areia (g Kg <sup>-1</sup> )				
199			393			408				

(1): CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>; (2): Extrator Mehlich; (3) KCl 1 mol L<sup>-1</sup>

Segundo a classificação internacional de Köppen, o clima da região é do tipo C2wa 'a' - Clima úmido subúmido. Os dados climáticos coletados durante o período de condução dos ensaios experimentais, mostram que no ano agrícola 2015/2016 o volume de precipitação foi relativamente baixo quando comparado ao volume médio da região para o mesmo período nas safras anteriores (Figura 1). Para as condições de cultivo da soja, segundo a CONAB (2016), durante o ciclo da oleaginosa as condições climáticas foram consideradas as mais severas dos últimos anos, caracterizada por irregularidades e escassez das chuvas, com temperaturas acima da média para o período.



**Figura 1.** Dados climáticos da precipitação pluvial, temperaturas máximas e mínimas ocorridas durante o período experimental de novembro de 2015 a março de 2016 em Palmas, TO. Fonte: Dados do INMET (2016). S: semeadura; F: florescimento; C: colheita; DAS: dias após a semeadura.

## 4.2 Delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos no delineamento em blocos casualizados com três repetições, cujos tratamentos foram alocados em um esquema de parcelas subdivididas, onde foram utilizadas nas parcelas as cultivares TMG 1288RR e M9144, e nas sub-parcelas cinco doses de aplicações foliares do produto comercial fonte da bactéria *Azospirillum brasilense* (0, 100, 200, 300 e 400 mL ha<sup>-1</sup> do produto comercial por hectare).

A parcela experimental foi constituída por quatro linhas de plantas com 5,0 m de comprimento, espaçadas em 0,5 m. As avaliações foram realizadas nas duas linhas centrais, excluindo 0,5 m das extremidades de cada linha, totalizando 4,0 m<sup>2</sup> de área útil.

## 4.3 Condução do experimento

Com relação ao manejo de pré-semeadura, noventa dias antes da instalação do primeiro experimento realizou-se a calagem do solo, com a aplicação de 1,0 t ha<sup>-1</sup> de

calcário calcítico (PRNT 85), incorporado ao solo, visando a elevação da saturação por bases acima de 60% (EMBRAPA, 2013).

Para a semeadura, foram realizadas as operações de aração, gradagem e sulcamento da área de forma mecânica. A semeadura e a adubação no sulco foram realizadas manualmente para garantir a precisão das quantidades aplicadas de adubo. De acordo com a análise de solo, foram utilizados 80 Kg ha<sup>-1</sup> de fósforo na forma de superfosfato triplo e 100 Kg ha<sup>-1</sup> de potássio na forma de cloreto de potássio, sendo o fósforo aplicado no plantio e o potássio nos estádios V<sub>2</sub> e V<sub>4</sub>.

No momento da semeadura, foi realizada a inoculação das sementes com inoculante líquido com *Bradyrhizobium japonicum* estirpe SEMIA 5079 e 5080 na proporção a dose recomendada para o tratamento via sementes (60g/50Kg de semente). A densidade de semeadura foi de 15 sementes por metro linear.

A inoculação com *Azospirillum brasilense* foi realizada nas dosagens de 0, 100, 200, 300 e 400 mL ha<sup>-1</sup> do produto comercial GRAP NO, estirpes AbV5 e AbV6, foram divididas em duas aplicações, sendo metade aplicada no estágio V2 (primeira folha trifoliolada) e metade no estágio R1 (início da floração). Optou-se pela aplicação via foliar afim de evitar o contato do *Azospirillum* com agrotóxico aplicado via semente, uma vez que segundo Fukami *et al.* (2016), o uso destes produtos podem causar toxicidade para as bactérias inoculadas.

O controle de plantas daninhas em pós-emergência foi realizado utilizando-se glifosato na dosagem de 2 L ha<sup>-1</sup>. Utilizou-se para aplicação pulverizador costal, com bicos do tipo leque adotando volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>.

A colheita foi realizada uma semana após terem apresentado 95% das vagens maduras, nas três épocas de semeadura, ou seja, no estágio R8 da escala de Fehr *et al.*, (1971), onde realizou-se o dessecamento com Paraquat, na dosagem de 1,5 L.ha<sup>-1</sup>. Posteriormente, foram colhidas manualmente todas as plantas das duas fileiras centrais de cada parcela e identificadas.

#### **4.4 Avaliação laboratorial: caracterização química do óleo e proteína**

Os grãos de soja foram trilhados, submetidos a pesagem, acondicionados em sacos de papel e transportados para o Laboratório do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins - Campus de Palmas.

Realizou-se moagem dos grãos, onde foi retirada uma amostra e pesada em balança de precisão para ser determinado o teor de óleo dos grãos (%), utilizando o método de Soxhlet, segundo IAL (2005).

Para o teor de proteína foi utilizada a metodologia proposta por Kjeldahl (AOAC, 1995), onde foram pesadas amostras de 0,5 gramas do material seco e moído. Posteriormente, encontrou-se o valor do nitrogênio total da amostra que foi convertido para proteína bruta por meio do fator 6,25 (VILLEGAS *et al.*, 1985).

#### **4.5 Análise estatística**

Após a obtenção dos dados, foi realizada a análise de variância individual e análise conjunta dos ensaios, em que o menor quadrado médio residual não diferiu em mais de sete vezes do maior (CRUZ e REGAZZI, 2012).

Os dados de teor de proteína e óleo, de cada experimento, foram submetidos ao teste de normalidade, sendo as análises estatísticas realizadas utilizando o programa estatístico SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011).

As médias dos tratamentos (épocas de semeadura e das cultivares), foram comparadas pelo critério de Scott Knott, ao nível de 5% de probabilidade. Para as doses de *Azospirillum*, em cada cultivar, foram realizadas análises de regressão, através do uso de polinômios ortogonais, e uma vez estabelecida a relação funcional entre as doses e o genótipo foi determinada a equação de regressão, por meio do programa Origin 8.0®.

Foi realizada, ainda, para cada época de semeadura, a correlação de Pearson afim de avaliar o grau de associação entre os teores de proteína e óleo nos grãos, através do programa Bioestat 5.0®. Ribeiro e Cardoso (2009) afirmam que essa técnica tem o objetivo de medir a intensidade e a direção da relação linear entre duas variáveis quantitativas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Análise de Variância

Na análise de variância conjunta, realizada após detectar homogeneidades entre as variâncias dos erros experimentais para teor de proteína e teor de óleo (%), revelou efeito significativo para a maioria dos fatores, com exceção de bloco e cultivares (Tabela 2). A significância da interação tripla época x doses x cultivares, mostra que os efeitos isolados dos fatores não explicam toda a variação encontrada, sendo realizados os desdobramentos.

O efeito significativo da interação tripla indica, ainda, que as cultivares apresentaram comportamento diferenciado, em decorrência das condições climáticas a que foram expostas pelas diferentes épocas, além da resposta das variações das dosagens de *Azospirillum* aplicadas.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância conjunta, das características teor de proteína, teor de óleo, rendimento de proteína e rendimento de óleo ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ), em duas cultivares de soja, doses *Azospirillum brasilense*, em três épocas de semeaduras, em Palmas-TO.

FV <sup>1</sup>	GL <sup>2</sup>	Quadrado Médio	
		Proteína (%)	Óleo (%)
Época (a)	2	79,214*	15,094*
Bloco	2	0,0994 <sup>ns</sup>	0,3310 <sup>ns</sup>
Resíduo (a)	4	0,4595	0,22632
Cultivares (b)	1	0,1166 <sup>ns</sup>	0,0100 <sup>ns</sup>
Cultivares x Época	2	22,649*	30,451*
Resíduo (b)	6	1,4081	0,3208
Doses (c)	4	217,296*	31,066*
Época x Doses	8	6,2941*	3,6950*
Cultivar x Doses	4	25,1948*	8,7450*
Época x Doses x Cultivar	8	16,4001*	1,6457*
Resíduo (c)	48	0,7772	0,298
MÉDIA		40,3397	21,95
CV <sup>3</sup> %(a)		1,68	2,17
CV %(b)		2,94	2,58
CV %(c)		2,19	2,49

(<sup>1</sup>): Fontes de variação; (<sup>2</sup>): Graus de liberdade; (\*): significativo pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade; (<sup>ns</sup>): não-significativo; (<sup>3</sup>): coeficiente de variação.

Os coeficientes de variação foram baixos, variando de 1,68 a 2,94%, indicando boa precisão na condução do experimento, e abaixo dos observados por Pinheiro *et al.* (2013), que obtiveram coeficientes de variação relativos aos teores de proteína entre

2,2 e 3,0% e os de óleo, entre 3,5 e 3,6%, e afirmam que valores fenotípicos do teor de proteína e óleo são estimados, em geral, com alta precisão experimental.

## 5.2 Teor de Proteína

Os resultados apresentados na Tabela 3, mostram que a segunda e terceira época de semeadura (02/12 e 17/12) propiciaram maiores teores de proteína independentemente das doses de *Azospirillum* empregadas, com valores médios entre 41,66 e 40,43% respectivamente. Nestas épocas, a M 9144RR apresentou maior teor proteico nas menores doses, em 02/12, e a TMG 1288RR na maior dose, em 02/12, e em praticamente todas as doses, em 17/12.

**Tabela 3.** Teor médio de proteína nos grãos de soja (duas cultivares), em função de diferentes épocas de semeadura e doses de *A. brasilense*.

Doses (mL ha <sup>-1</sup> )	18/11		02/12		17/12	
	TMG 1288RR	M 9144RR	TMG 1288RR	M 9144RR	TMG 1288RR	M 9144RR
	%					
0	35,90 bA	35,60 bA	37,97 aB	45,30 aA	35,30 aA	33,20 cB <sup>1</sup>
100	36,65 bA	36,54 bA	39,86 aB	41,82 aA	40,14 aA	34,13 cB <sup>2</sup>
200	43,15 aA	42,39 aA	42,60 aA	43,63 aA	42,99 aA	34,40 bB
300	36,53 bB	40,38 cA	41,36 aA	42,44 bA	42,24 aB	50,10 aA
400	39,62 cA	39,00 bA	42,02 bA	39,67 bB	46,86 aA	45,00 aB
Média	38,37	38,78	40,76	42,57	41,50	39,36

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, entre as épocas de semeadura dentro de cada dose e dentro de cada cultivar, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. <sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, entre as cultivares, dentro de cada época e dentro de cada dose, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Os resultados de precipitação e temperatura (Figura 1), mostram que os plantios realizados na segunda e terceira época sofreram maiores restrições hídricas no período reprodutivo das cultivares, aliada às altas temperaturas na fase de enchimento de grãos em relação à primeira época de plantio, que sofreu picos de veranicos apenas durante o estágio vegetativo

Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos por Bewley e Black (1985); Marcos Filho (2005); Albrecht *et al.* (2008); Lopes, Peluzio e Martins (2016).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar as alterações na composição química das sementes quando submetidas a condições de déficit hídrico. Albrecht (2008) afirma que a variação das condições climáticas pode acarretar em distúrbios

bioquímicos na biossíntese de proteínas e que, possivelmente, deve afetar outras macromoléculas, estendendo-se, provavelmente, a influência na síntese de vários outros compostos, ou primários ou secundários.

Em cada época de semeadura as cultivares apresentaram comportamento diferenciado (Tabela 3), com uma variação expressa nos teores de proteína, que está associada à genética de cada um. Segundo Cavatte *et al.* (2011), a genética de cada material pode promover resposta adaptativa quando as mesmas são submetidas às condições de seca, tornando-as sensíveis ou não à estas condições.

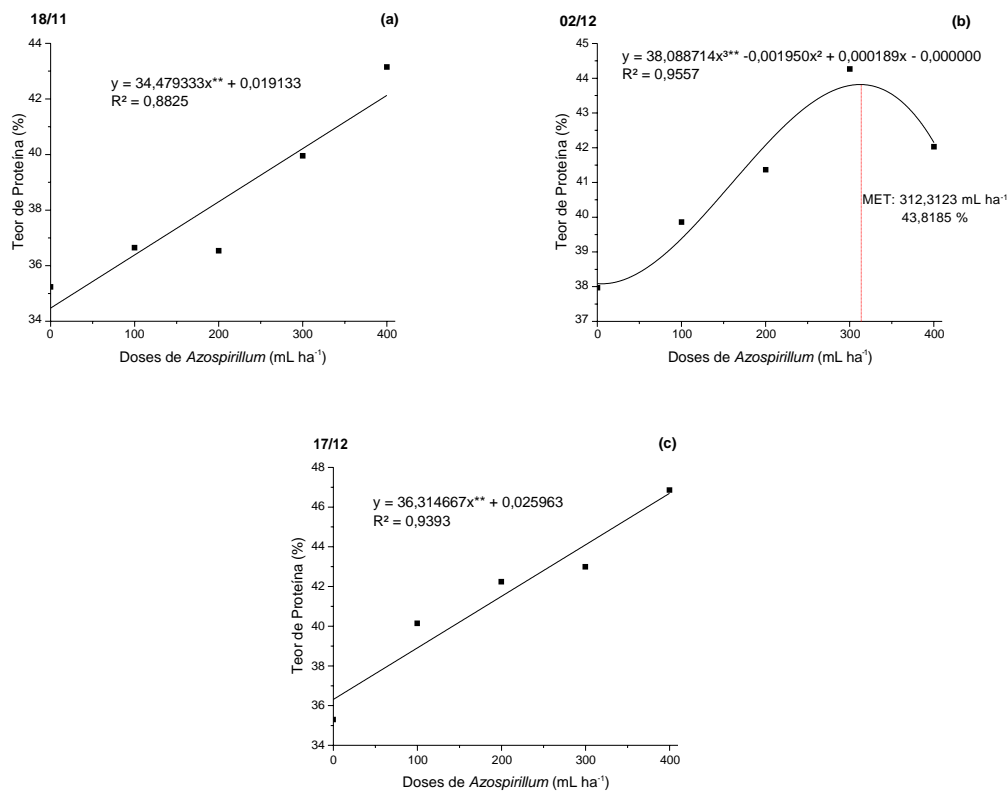
Os resultados obtidos superam os encontrados por Lopes, Peluzio e Martins (2016), que em experimento realizado na mesma região, em condições normais de cultivo, obtiveram 30% de proteína com a TMG 1288RR e 37,5% com a M 9144RR na semeadura em 01/12. Em semeaduras realizadas em 17/12, os autores encontraram 35,1% na TMG 1288RR e 36,5% na M 9144RR. Esse aumento não está associado somente as condições ambientais e fatores genéticos, mas também aos fatores nutricionais que são metabolizados pela planta e assimilados na forma de reservas no grão, indicando influência do *Azospirillum* aplicado via foliar.

Como houve relação funcional entre as doses de *Azospirillum* aplicadas, foram ajustados modelos de regressão para as duas cultivares, em cada época de semeadura.

Para a TMG 1288RR, foram ajustadas regressões lineares para a primeira (18/11) (figura 2a) e terceira época (17/12) (figura 2c), indicando incremento no teor de proteína dos grãos com aumento das doses de *Azospirillum*. Na segunda época (02/12) (figura 2b) foi ajustado modelo quadrático, onde os conteúdos de proteína atingiram sua máxima eficiência técnica (MET) de 312,31 mL ha<sup>-1</sup>, correspondente a um teor de 43,81 %, com decréscimo da curva a partir de dosagens superiores (Figura 2).

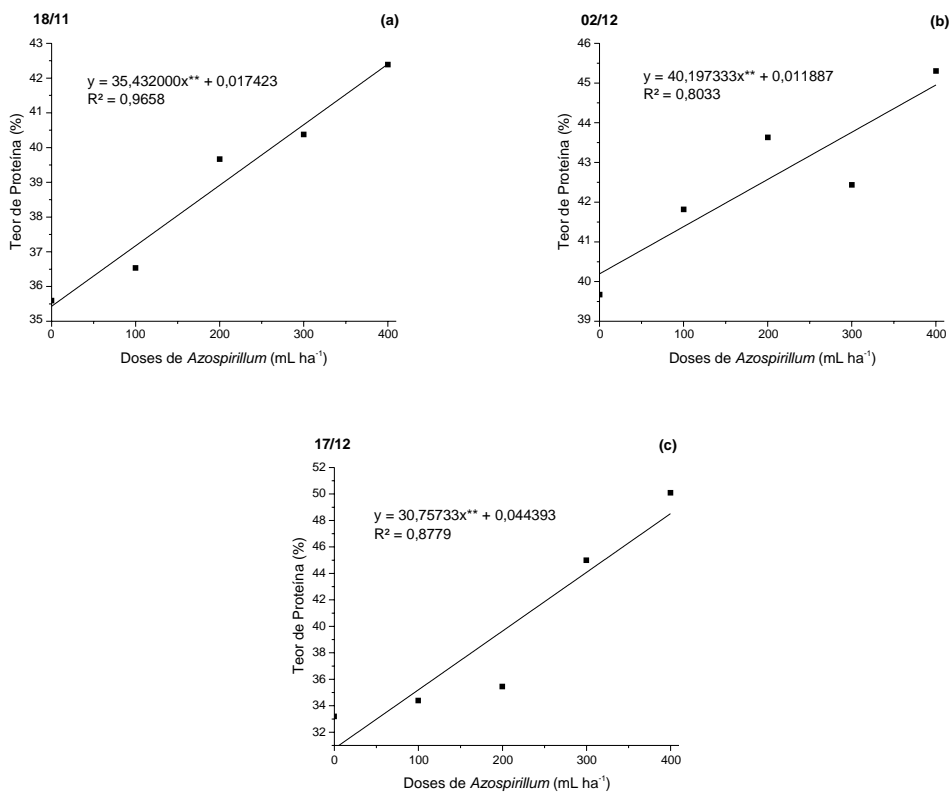
Assim, para os modelos lineares, as doses utilizadas no presente estudo não foram suficientes para que as cultivares alcançassem o máximo teor de proteína nos grãos.





**Figura 2.** Teor de proteína da cultivar TMG 1288RR nas épocas, em função das doses de *A. brasilense* (mL ha<sup>-1</sup>), em Palmas-TO, Safra 2015/16. \*\* significativo a 5% pelo teste “t”. <sup>1</sup>MET: máxima eficiência técnica

Na figura 3, nota-se que a cultivar M 9144RR apresentou, nas três épocas de semeadura, resposta crescente do teor de proteína nos grãos com o aumento nas doses de *Azospirillum*. Os resultados revelam que os teores de proteína foram fortemente influenciados pela pulverização foliar de *Azospirillum* em consonância com o *Bradyrizobium* aplicado via semente, com valores crescentes quando comparado ao tratamento controle (ausência do *Azospirillum*). Além disso, os incrementos foram maiores em semeaduras mais tardias, onde as condições climáticas foram as mais severas (Figura 1).



**Figura 3.** Teor de proteína da cultivar M 9144RR nas épocas, em função das doses de *A. brasilense* (mL ha<sup>-1</sup>), em Palmas-TO, Safra 2015/16. \*\* significativo a 5% pelo teste “t”. (a): Semeadura em 18/11; (b): Semeadura em 02/12; (c): Semeadura em 17/12.

O incremento do teor de proteína com o aumento das doses de *Azospirillum*, em grãos previamente inoculados com *Rhizobium*, pode estar associada ao maior acúmulo de N na fase de maior demanda pela cultura deste elemento (fase reprodutiva) (Cerezini *et al.* 2016), da maior absorção de N pelas raízes das plantas (Mascarello e Saubidet *et al.* 2002) ou de uma série de mecanismos favoráveis, tais como a produção de fitormônios (HUNGRIA, NOGUEIRA e ARAÚJO, 2015).

Durante o crescimento e desenvolvimento de culturas de soja, há alguns períodos críticos relacionados com o N proveniente da FBN pelo *Bradyrhizobium*. Entre estes estão os estágios reprodutivos R3 (formação inicial de vagens) e R5 (enchimento precoce de grãos), que requerem altos níveis de fotossíntese e podem resultar em senescência nodular (FEHR *et al.*, 1971). Como as aplicações foliares possui uma assimilação com menor custo metabólico, possivelmente sua ação foi potencializada a partir dos sinais de estresses da planta, seja por deficiência hídrica ou diminuição dos nódulos.

Em condições de deficiência hídrica, a FBN pode ser comprometida, principalmente quando ocorridas nas etapas-chave de nodulação durante o desenvolvimento da cultura no campo. Como as aplicações de *Azospirillum* no presente estudo ocorreram em V2 e R1 e logo em seguida houveram picos de nodulação, o fornecimento de N via inoculação com *Azospirillum* pode ter aumentado a eficiência da nodulação, refletindo em maior translocação de assimilados para os grãos.

Considerando que as aplicações de *Azospirillum* foram realizadas via foliar, e a maioria dos trabalhos chamam atenção para o desenvolvimento do sistema radicular e FBN, possivelmente o incremento dos teores proteicos pode ter sido oriunda da produção de hormônios reguladores ou do fornecimento de nutrientes para a planta.

De acordo com Van Huizen *et al.* (1996), o ácido cloroindol-3-acético, auxina endógena em frutos de ervilha, induz a síntese de proteínas. Galindo *et al.* (2016) avaliando a aplicação de *Azospirillum* via sementes no milho concluíram que o uso de 200 mL ha<sup>-1</sup> promoveram aumento no índice de clorofila e na concentração de P nas folhas.

Portugal *et al.* (2016) em aplicação via foliar de *Azospirillum* no estágio V6 da soja, verificaram que a inoculação causou diminuição na massa de matéria seca, devido uma maior translocação de massa para os grãos do que para a planta. Para isso, a atuação do *Azospirillum* influenciou no processo de formação das sementes, exercendo mecanismos de tolerância a seca, possivelmente por meio de hormônios específicos, além de promover o acúmulo de material de reserva no grão.

Em trabalho *in vitro* realizado por Nascimento e Mosquin (2004), verificaram que as sementes de soja pode

conter citocininas que estimulam o transporte de assimilados às sementes, além de causar expansão celular na extensibilidade da parede celular (TAIZ; ZEIGER, 2002). Os autores relatam que a citocinina é um fitohormônio que influencia a produção de proteínas em frutos de soja.

Outra hipótese que pode ser levantada, está na atuação do ABA (ácido abscísico) devido a ocorrência de um déficit hídrico, é provável que o uso da bactéria potencializou sua atividade, fazendo com que a planta conviva com os fatores de estresses e promovendo recuperação mais eficiente após a perturbação. Embora as informações que relatem a identificação de ABA em cultivos com *Azospirillum* sejam escassas, sabe-se que os níveis de ABA da planta aumentam em resposta ao déficit

hídrico, além de desempenhar um papel chave no fechamento estomático e na indução de vários genes induzidos pelo déficit hídrico (DODD *et al.*, 2010).

Segundo Cohen *et al.* (2008) o *Azospirillum brasilense* promove aumento significativos do nível de ABA. Contudo, não se pode afirmar, com certeza, se o ABA produzido é oriundo da bactéria ou da planta.

### 5.3 Teor Óleo

Para o componente teor de óleo, as médias das cultivares em função das épocas estão apresentadas na Tabela 4.

De modo geral, foram observados os maiores teores de óleo na primeira época de semeadura (18/11), independentemente das doses e cultivares empregadas. Tal fato ocorreu, provavelmente, em função da ocorrência de temperaturas mais amenas e uma melhor distribuição de chuvas durante a fase de enchimento de grãos (Figura 1).

Song *et al.* (2016), investigando a influência das condições climáticas em parâmetros químicos da soja, afirmam que a temperatura é o principal fator climático que controla a composição de óleo em grãos de soja.

Gibson e Mullen (1996) em estudo sobre a influência relativa das temperaturas na composição química de sementes de soja, verificaram que o teor de óleo em sementes de soja aumentou com a temperatura com/ um ótimo de 25-28 ° C, acima do qual a concentração de óleo diminuiu. Piper e Boote (1999) também verificaram que a diminuição de temperaturas proporcionam maiores teores de óleo nas sementes de soja.

Pipolo, Sinclair e Camara (2004) observou o desenvolvimento das sementes em cultivo *in vitro*, a partir do estágio R5, com temperatura variando entre 21 e 29 °C, e analisou as concentrações de óleo e a taxa de acúmulo de massa seca, onde afirma que os teores de óleo dos grãos de soja são governados geneticamente; porém, fortemente influenciados pelo ambiente.

Por outro lado, Barbosa *et al.* (2011), ao estudarem o efeito de épocas de semeadura no comportamento de vinte e um cultivares de soja, no ano agrícola 2008/09 no estado do Tocantins, verificaram um maior acúmulo de óleo nas sementes sob condições de temperaturas mais altas e menores médias de precipitação durante a fase de enchimento de grãos.

De acordo com Dornbos e Mullen (1992), o conteúdo de óleo aumenta com a temperatura média diária durante a etapa R5 – R6 até um ótimo entre 25 °C e 28 °C.

Temperaturas mais altas promovem o acúmulo de proteína e temperaturas amenas favorecem o acúmulo de óleo. Entretanto, Piper e Boote (1999) verificaram que, sob temperaturas médias próximas de 20 °C, as relações se invertem, ou seja, quanto menor a temperatura, menores são os teores de óleo nas sementes de soja.

Assim como para a temperatura, a relação entre estresse hídrico e composição de sementes de soja tem apresentado resultados controversos. Enquanto alguns estudos revelam que o teor de óleo é reduzido com o estresse pela seca, outros relatam um maior teor de óleo com déficit hídrico (ROTUNGO e WESTGATE, 2010; SPECHT *et al.* 2001).

O estudo comparativo entre as cultivares, dentro de cada época e dose, revelou um maior teor de óleo de TMG1288 RR na primeira época, em todas as doses, e na segunda época nas doses mais baixas. Por outro lado, M9144 RR apresentou maior teor de óleo em 02/12, na dose mais alta (400 mL ha<sup>-1</sup>), e nas doses mais altas em 17/12 (300 e 400 mL ha<sup>-1</sup> (Tabela 4).

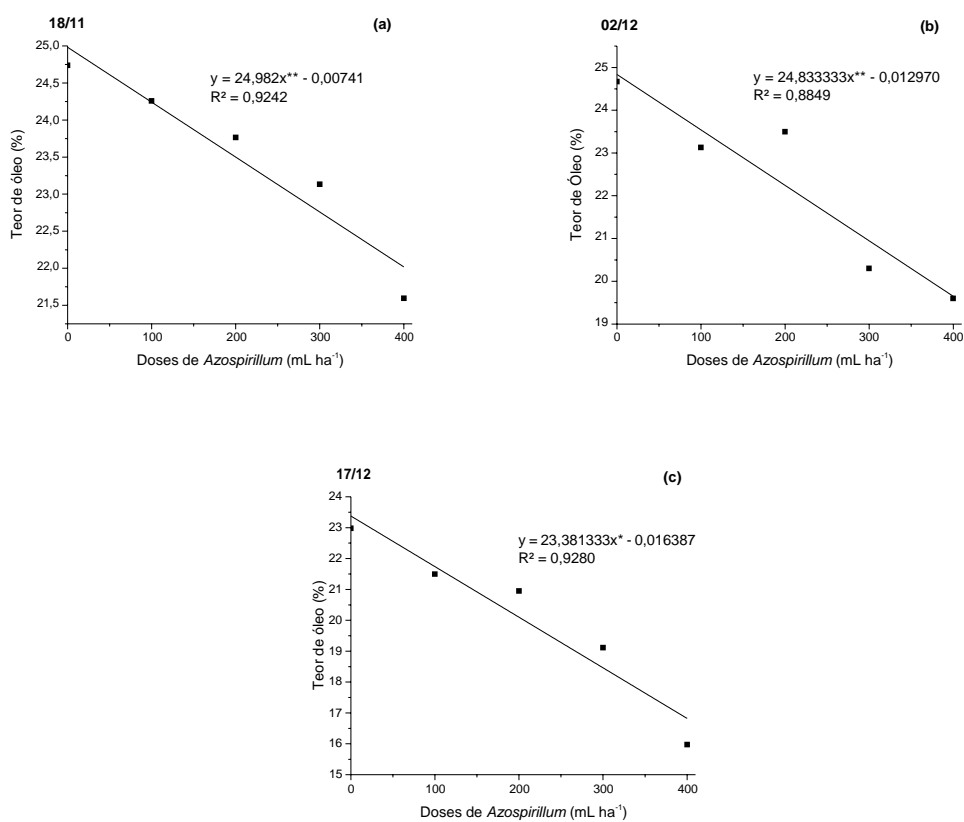
**Tabela 4.** Teor médio de óleo nos grãos de soja (duas cultivares), em função de diferentes épocas de semeadura e doses de *A. brasilense*.

Doses (mL ha <sup>-1</sup> )	18/11		02/12		17/12	
	TMG 1288RR	M 9144RR	TMG 1288RR	M 9144RR	TMG 1288RR	M 9144RR
	%					
0	24,74 aA	22,25 bB	24,67 aA	23,44 aB	22,98 bA	23,40 aA
100	24,26 aA	22,76 aB	23,13 bA	22,56 aA	21,49 cB	22,60 aA
200	23,76 bA	22,02 aB	23,49 bA	21,67 aB	20,95 aA	21,82 aA
300	23,13 aA	21,35 aB	20,30 bB	21,93 aA	19,11 cB	22,26 aA
400	21,59 aA	20,18 bB	19,60 bA	19,84 bA	15,97 cB	21,40 aA
Média	23,49	21,71	22,23	21,88	20,1	22,29

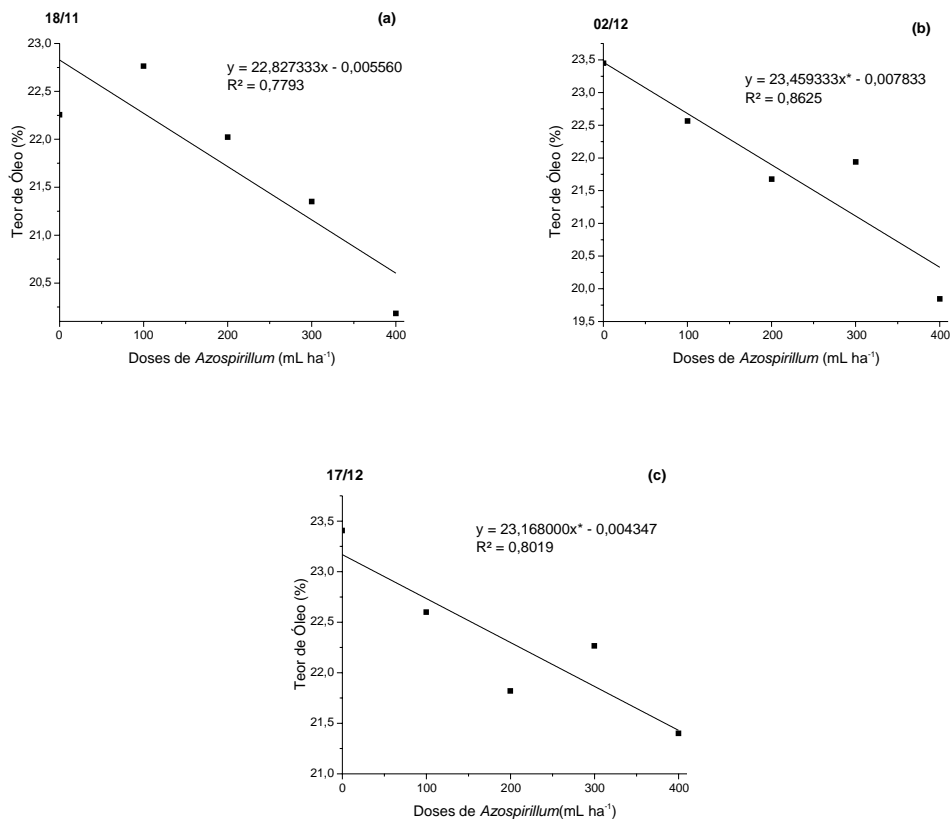
<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, entre as épocas de semeadura dentro de cada dose e dentro de cada cultivar, não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. <sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na linha, entre as cultivares, dentro de cada época e dentro de cada dose, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Em experimento realizado por Lopes, Peluzio e Martins (2016) em região de baixa latitude, concluíram que as cultivares TMG 1288RR e M 9144RR, obtiveram teor de óleo máximo entre 19,0 e 19,5%, respectivamente. Essas diferenças estão associadas as antecipações de semeadura a que este trabalho foi submetida, que segundo Albrecht (2008) propicia condições climáticas que tendem a aumentar os teores de óleo.

Para as cultivares TMG1288 RR (Figuras 4a, 4b e 4c) e M9144RR e (5a, 5b e 5c) o modelo linear foi o mais adequado para explicar a relação funcional entre o teor de óleo nos grãos e as doses de *Azospirillum*, onde foi observada uma queda progressiva no teor de óleo com o incremento nas doses de *Azospirillum*.



**Figura 4.** Teor de óleo da cultivar TMG 1288RR nas épocas, em função das doses de *A. brasilense* (mL ha<sup>-1</sup>), em Palmas-TO, Safra 2015/16. \*\* significativo a 5% pelo teste “t”. (a): Semeadura em 18/11; (b): Semeadura em 02/12; (c): Semeadura em 17/12.



**Figura 5.** Teor de óleo da cultivar M 9144RR nas épocas, em função das doses de *A. brasilense* (mL ha<sup>-1</sup>), em Palmas-TO, Safra 2015/16. \*\* significativo a 5% pelo teste “t”. (a): Semeadura em 18/11; (b): Semeadura em 02/12; (c): Semeadura em 17/12.

#### 5.4 Correlação entre teor de proteína e óleo

Conforme observado com os valores médios dos teores de proteína e óleo nas tabelas 3 e 4, nas figuras 4 e 5 e na tabela 5 (abaixo), foi observada correlação negativa entre os teores de óleo e proteína nos grãos, em todas as épocas de plantio, revelando que incrementos em óleo nos grãos é acompanhado por reduções no conteúdo proteico nos mesmos.

Feng *et al.* (2004) e Silva (2008), constataram que quando a correlação genética negativa é existente, a seleção de um caráter pode provocar mudanças indesejáveis em outros.

**Tabela 5.** Correlação fenotípica entre teor de proteína e teor de óleo em cultivares de soja cultivadas em três épocas de semeadura no ano agrícola 2015/2016.

<b>Época de semeadura</b>	<b>TMG 1288RR</b>	<b>M 9144RR</b>
E1 (18/11)	-0,7406	-0,7700
E2 (02/12)	-0,7391	-0,7822
E3 (17/12)	-0,6512	-0,6844

\*\* Indica valores diferentes de zero, segundo o teste t ( $p < 0,01$ ).

Vários autores encontraram uma correlação negativa entre proteína e o óleo em grãos de soja. Smith e Circle (1972), estimaram em -0,60; Marschalek (1995) encontrou um valor de -0,31. Marega Filho (1999) encontrou variações do teor do óleo de soja entre 12,0% e 20,4 %, e uma correlação negativa genotípica elevada entre teor de óleo e proteína (-0,65).

Segundo Pípolo (2002), quando o nitrogênio torna-se mais abundante, a preferência é sintetizar proteína ao invés de óleo. Com isso, a disponibilidade de nutrientes via foliar pode ser o fator regulador da concentração de proteína na semente.

A correlação inversa entre óleo e proteína nas sementes de soja foi estudada por Faraco *et al.* (1981), e um dos fatores que influenciaram nesta correlação foram as mudanças de temperatura nos períodos de 20 a 30 e 30 a 40 dias antes da maturação dos grãos de soja, por que exerceram maior influência no acúmulo de óleo, do que as ocorridas em outros períodos.

O uso de tecnologias e variedades com altos teores de óleo são desejáveis às indústrias de biodiesel, enquanto elevadas concentrações de proteína também agregam valor aos produtos alimentícios, tornando um desafio aos programas de melhoramento genético.



## 6. CONCLUSÕES

Houve aumento nos teores de proteína dos grãos e redução nos teores de óleo com o uso misto do *Azospirillum* e *Bradyrhizobium*, em todas as épocas de plantio, em todas as cultivares.

Temperaturas altas e baixas precipitações contribuíram para o aumento e redução, respectivamente dos teores de óleo e proteína dos grãos.

Para a produção do biodiesel, não se recomenda o uso do *Azospirillum* concomitante ao uso do *Bradyrhizobium*.

Doses crescentes de *Azospirillum* promoveram aumento no teor de proteína e redução no teor de óleo.

Teor de óleo é inversamente relacionado ao de proteína, independente da época de plantio.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; ÁVILLA, M.R.; SUZUKI, L.S.; SCAPIM, C.A.; BARBOSA, M.C. Teores de óleo, proteínas e produtividade de soja em função da antecipação da semeadura na região oeste do Paraná. *Bragantia*, v. 67, n. 4, p. 865-873, 2008.

ANP - Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Publicações ANP. Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2016. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 20 de out. 2016.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.; CASANOVAS, E.M.; PEREYRA, M.A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.49-59.

BÁRBARO, I. M.; BRANCALÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. *Técnica alternativa: co-inoculação de soja com Azospirillum e Bradyrhizobium visando incremento de produtividade*. Artigo em Hypertex to. Disponível em: [http://www.infobios.com/Artigos/2008\\_4/coinoculacao/index.htm](http://www.infobios.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm). Acesso em: 11 de abr. 2017.

BARBOSA, V.S.; PELUZIO, J.M.; AFERRI, F.S.; SIQUEIRA, G.B. Comportamento de cultivares de soja, em diferentes épocas de semeaduras, visando a produção de biocombustível. *Revista Ciência Agronômica*, v. 42, n. 3, p. 742-749, 2011.

BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. de. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) *Encyclopedia of soils in the environment*. Oxford: Elsevier, 2005. p. 103-115.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology*, v.43, n.2, p.103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G ; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, v. 50, n.8, p. 521-577, 2004.

BELTRÃO, N. E. de M.; OLIVEIRA, M. I. P. Biossíntese e degradação de lipídios, carboidratos e proteínas em oleaginosas. Embrapa Algodão, Campina Grande, 2007. 61 p. (Documentos, 178).

BENASSI, V. DE T.; CRANCIANINOV, W. S.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. *Teor de óleo e proteína em cultivares de soja da Embrapa Soja*. In: *Congreso de Soja del Mercosur*, 3., 2006, Rosário. Mercosoja 2006: mesas científico-

técnicas, resúmenes expandidos / comunicaciones. Rosário: Asociación de la Cadena de Soja Argentina, p.110-112.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of Development and germination*. New York, Plenum Press, 1985. 367p.

BORGHI, E.; CAMPOS, L.J.M.; BORTOLON, L.; BORTOLON, E.S.O.; AVANZI, J.C.; CORREA, L.V.T. In: XXXIV Reunião de Pesquisa de Soja, 2014, Londrina. Produção de Soja no Estado do Tocantins: percepções iniciais sobre o sistema produtivo. *Resumos...*2014, p.18-20.

BOYDAK, E.; ALPASLAN, M.; HAYTA, M.; GERCEK, S.; SIMSEK, M. Seed composition of soybeans grown in the Harran region of Turkey as affected by row spacing and irrigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.50, n.16, p.4718–4720, 2002.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim Mensal do Biodiesel: setembro de 2015. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?pg=77873&m=boletim%20>>. Acesso em: 05 de out. 2016.

CAMPOS, L.J.M.; COSTA, R.V.; ALMEIDA, R.E.M.; SIMON, J. Desempenho de cultivares de soja na safra 2015/2016. *Informativo Técnico: Fronteira Agrícola* nº 10. Núcleo de Sistemas Agrícolas da Embrapa Pesca e Aquicultura, 2016.

CARRERA, C.; MARTÍNEZ, M. J.; DARDANELLI, J.; BALZARINI, M. Water deficit effect on the relationship between temperature during the seed fill period and soybean seed oil and protein concentrations. *Crop Science*. v.49, n.3, p. 990–998, 2009.

CASSÁN, F.; BOTTINI, R.; SCHNEIDER, G.; PICCOLI, P. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* Hydrolyze Conjugates of GA20 and Metabolize the Resultant Aglycones to GA1 in Seedlings of Rice Dwarf Mutants. *Plant Physiology*, v. 125, n.4, p. 2053-2058, 2001.

CAVATTE, P.C.; MARTINS, S.C.V.; MORAIS, L.E.; SILVA, P.E.M.; SOUZA, L.T.; DA MATTA, F.M. A fisiologia dos estresses abióticos. In: FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. *Melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. cap.3, p.39-47.

CHUEIRI, W.A.; PAJARA, F., BOZZA, D. Importância da inoculação e nodulação na cultura da soja. Manah: Divulgação técnica, n.169, 2005.

CLARKE, E.J.; WISEMAN, J. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans I. Protein and amino acid content. *Journal of Agricultural Science*, v. 134, n. 2, p. 111-124, 2000.

COHEN, A.C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P.N. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. *Plant Growth Regulation*, v.54, n.3, p.97–103, 2008.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Monitoramento agrícola. Quarto Levantamento de Avaliação da Safra 2006/2007– Levantamento Jan/2007. Disponível

em <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4levsafra.pdf>> Acesso em: 21 de jan. 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Monitoramento agrícola. Acompanhamento da safra brasileira Grãos, v. 12 Safra 2015/16 - Décimo Segundo levantamento, Brasília, p. 1-182, setembro 2016. <Disponível em [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_09\\_09\\_15\\_18\\_32\\_boletim\\_12\\_setembro.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_09_15_18_32_boletim_12_setembro.pdf)> Acesso em: 21 de jan. 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Monitoramento agrícola. Acompanhamento da safra brasileira Grãos, v. 4 Safra 2016/17 - Oitavo levantamento, Brasília, p. 16, maio 2017. <Disponível em [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_05\\_12\\_10\\_37\\_57\\_boletim\\_gaos\\_maio\\_2017.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_12_10_37_57_boletim_gaos_maio_2017.pdf)> Acesso em: 21 de jan. 2017.

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum* brasilense-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Boletim Agronegócio Internacional. 2016.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 4. ed. V.1. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2012. 514 p.

DARDANELLI, J.L.; BALZARINI, M.; MARTINEZ, M.J.; CUNIBERTI, M.; RESNIK, S.; RAMUNDA, S.F.; HERRERO, R.; BAIGORRI, H. Soybean maturity groups, environments, and their interaction define mega-environments for seed composition in Argentina. *Crop Science*, v. 46, n.5, p. 1939-1947, 2006.

DEL GALLO, M.; FENDIRIK, I. The Rhizosphere and *Azospirillum*. In: OKON Y. (eds) *Azospirillum Plants Associations*. Boca Raton: CRC Press, 1994 p.57-75.

DOBBELAERE, S.; S, CROONENBORGH, A.; THYS, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type, and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil*, Washington, v. 212, p. 155-164, 1999.

DORNBOS, D. L., JR.; MULLEN, R. E. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. v.69, n.3, p.228–231, 1992.

DROZDOWICZ, A. Bactérias do solo. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.) *Biologia dos solos dos Cerrados*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 17-60.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 3. Ed. Brasília: Embrapa Solos: Embrapa, 2013.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/countryprofiles/index/en/?lang=es&iso3=PRY>> Acesso em: 02 de abr. 2017.

FARACO, M. H.; MORAES, R. M.; TEIXEIRA, J. P. F.; SILVA, M. T. R.; MASCARENHAS, H. A. A. Influência de anos agrícolas sobre a composição e acúmulo de óleo em grãos de soja CV Santa Rosa In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., 1981, Brasília. *Anais...* Londrina: EMBRAPA/CNPQSO, 1981. p. 544-553.

FEHR, W. R., CAVINESS, R. E., BURMOOD, D. T., PENNINGTON, J. S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* L. Merrill. *Crop Science*, v.11, n.6, p. 929-931, 1971.

FENG, L.; BURTON, J.W.; CARTER JR, T.E.; PANTALONE, V.R. Recurrent Half-Sib Selection with Testcross Evaluation for Increased Oil Content in Soybean. *Crop Science*, v.44, n.1, p.88-89, 1991.

FERLINI, H. A. Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*: artículos técnicos – agricultura, 2006.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, p.1039-1042, 2011.

FILHO, J.I.S.; TALAMINI, D.J.D.; SCHEUERMANN, G.N.; BERTOL, T.M. Potencial do Matopiba na produção de aves e suínos. *Revista de Política Agrícola*. n.90, v.2, 2016.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *AMB Express a Springer Open Journal*, v.6, n.3, 2016.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J. L. M. Corn Yield and Foliar Diagnosis Affected by Nitrogen Fertilization and Inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 40, n. 1, p. 1-18, 2016.

GIBSON, L. R.; MULLEN, R. E. Soybean seed composition under high day and night growth temperatures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.73, n.6, p.733-737, 1996.

GRIESHOP, C. M.; FAHEY, G. C. Comparison of quality characteristics of soybeans from Brazil, China, and the United States. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. v.49, n.5, p.2669-2673, 2001.

HELMS T. C., HURBURGH C. R., JR., LUSSENDEN R. L., WHITED D. A. Economic analysis of increased protein and decreased yield due to delayed planting of soybean. *Journal of Production Agriculture*, v.3, n.3, p. 367-371, 1990.

HIRAKURI, M. H. Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2011.

HORAN, F.E. Soy protein products and their production. *Journal of the American Oil Chemists Society*, New York, v.51, n.1, p.67-73, 1974.

HUNGRIA, M. *et al.* Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, v.331, n.1/2, p.413-425, 2010.

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

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. (Documentos, 283). 80 p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, v.331, p.413-425, 2010.

HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M.A. and ARAUJO, R.S. Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, v.6, p.811-817, 2015.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. Ed. São Paulo: IAL, 2005, 1018 p.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/>> Acesso em: 30 de out. 2016.

KARR-LILIENTHAL, L. K.; GRIESHOP, C. M.; SPEARS, J. K.; FAHEY, G. C. Amino acid, carbohydrate, and fat composition of soybean meals prepared at 55 commercial US soybean processing plants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.53, n.6, p.2146–2150, 2005.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 42, p. 1-13, 2010.

KUMAR, V.; RANI, A.; SOLANKI, S.; HUSSAIN, S. M. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. *Journal of Food Composition and Analysis*, v.19, n.2-3, p.188–195, 2006.

LOPES, J.A.M.; PELUZIO, J.M.; MARTINS, G.S. Teor de proteína e óleo em grãos de soja, em diferentes épocas de plantio para fins industriais. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, v.10, n.3, p.49-53, 2016.

LUDLOW, M.M.; MUCHOW, R.C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Advances in Agronomy*, v. 43, p.107-153, 1990.

MADHAIYAN M., POONGUZHALI S., KWON S. W., SA T. M. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.60, p.2490–2495, 2010.

MDIC - Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. Balança comercial Janeiro-dezembro 2016. Disponível em <<http://www.mdic.gov.br/index.php/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/balanca-comercial-brasileira-acumulado-do-ano?layout=edit&id=2205>> Acesso em: 26 de mai. 2017.

MAREGA FILHO, M. Relações entre os teores de óleo, proteína e tamanho das sementes de soja. Londrina, 1999. 82 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Londrina/ Centro Nacional de Pesquisa de Soja – EMBRAPA/ Instituto Agrônômico do Paraná.

MARSCHALEK, R. Correlações genética e fenotípicas entre produção de grãos, teor de proteína e teor de óleo em soja, em vários ambientes. 1995. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1995.

MASCIARELLI, O.; URBANI L.; REINOSO, H.; LUNA, V. - Alternative Mechanism for the Evaluation of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Production by *Azospirillum* brasilense Strains and Its Effects on the Germination and Growth of Maize Seedlings. *Journal of Microbiology*, v. 51, n. 5, p. 590-597, 2013.

MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MIRANDA, E. E. de. Matopiba: desenvolver a agricultura ou os agricultores? *Correio Brasiliense*, 30 de abr. 2015.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M., PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and I in laboratory systems. *Soil Biology & Biochemistry*, Elmsford , v. 33, n. 4, p. 457-463, 2001.

NASCIMENTO, R.; MOSQUIM, P.R. Crescimento e teor de proteínas em sementes de soja sob influência de hormônios vegetais. *Revista Brasileira de Botânica*, v.27, n.3, p.573-579, 2004.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZÁLEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years of worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 26, p. 1591–1601, 1994.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology Advances*, v.13, n.3, p.415-424, 1995.

PINHEIRO, L.C.M.; GOD, P.I.V.G.; FARIA, V.R.; OLIVEIRA, A.G.; HASUI, A.A.; PINTO, E.H.G.; ARRUDA, K.M.A.; PIOVESAN, N.D.; MOREIRA, M.A. Parentesco na seleção para produtividade e teores de óleo e proteína em soja via modelos mistos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.9, p.1246-1253, 2013.

PIPER, E. L.; BOOTE, K. J. Temperature and cultivar effects on soybean seed oil and protein concentrations. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.76, p.1233–1241, 1999.

PÍPOLO, A.E. Influência da temperatura sobre as concentrações de proteína e óleo em sementes de soja (*Glycine Max* (L.) Merrill). 2002. 128f. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1995.

PÍPOLO, A.E.; MANDARINO, J.M.G. Os teores de proteína da soja e a qualidade para a indústria. Boletim Informativo da SBCS, 2016. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/150161/1/Pages-from-vol42-n22.p.30-32.pdf>

PÍPOLO, A.E.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BALBINOT-JUNIOR, A.A.; DEBIASI, H.; MANDARINO, J.M.G. Teores de óleo e proteína em soja: fatores envolvidos e qualidade para a indústria. Comunicado Técnico, 86. Londrina, PR. 2015.

PÍPOLO, A.E.; SINCLAIR, T.R.; CAMARA, G.M.S. Effects of temperature on oil and protein concentration in soybean seeds cultured in vitro. *Annals of Applied Biology*, v. 144, p. 71-76, 2004.

PORTUGAL, J.R.; ARF, O.; PERES, A.R.; GITTI, D.C.; RODRIGUES, R.A.F. GARCIA, N.F.S.; GARÉ, L.M. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. *African Journal of Agricultural Research*. v.11, p. 1688-1698, 2016.

RIBEIRO, L.G.; CARDOSO, L.D.O. Estudos de Validação: Qual Análise Utilizar? *Rev Bras Med Esporte*, v. 15 n. 4, 2009.

ROTUNDO, J. L.; WESTGATE, M. E. Rate and duration of seed component accumulation in water-stressed soybean. *Crop Science*, v.50, p.676–684, 2010.

SANTOS, F. F. P. dos. Avaliação de antioxidantes aplicados a produção de biodiesel. 2013. 152 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2013.

SANTOS, L.K.D.; CALERA, C.G.; STRINGACI, J.C.T.; VILAÇA, M.S.; VIVIANI, V.E.; FLUMIGNAN, D.L. Estado da arte da aplicação do processo de hidroesterificação na produção de biodiesel a partir de matérias-primas de baixa qualidade. Divulgação Científica E Tecnológica Do IFPB | Nº 28 - Edição Especial. *Revista Principia*, 2015.

SEAGRO - Secretaria da Agricultura e Pecuária. Disponível em: <<http://seagro.to.gov.br/>> Acesso em: 15 de out. 2016.



SILVA, W.C.J. Escolha de descritores mínimos e estabelecimento de coleções nucleares em *Capsicum* spp. 2008. 138 f. Tese (Doutorado). Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás. 2008.

SMITH, A. K.; CIRCLE, S. J. Chemical composition of the seed. In: SMITH, A.K. & CIRCLE, S. J. *Soybeans: Chemistry and Technology*. Westport, AVI, p.339-388, 1972.

SONG, W.; YANG, R.; WU, T.; WU, C.; SUN, S.; ZHANG, S.; JIANG, B.; TIAN, S.; LIU, X.; HAN, T. Analyzing the Effects of Climate Factors on Soybean Protein, Oil Contents, and Composition by Extensive and High-Density Sampling in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.64, p.4121–4130, 2016.

SOUZA, V.H.A.; SANTOS, L.T.; CAMPOS, F.A.; CAROLINO, J. Um panorama do biodiesel no brasil e no mundo: esforços para a ampliação do setor e desafios. *Revista Augustus*, v.21, n.41, p.117-130, 2016.

SPECHT, J. E.; CHASE, K.; MACRANDER, M.; GRAEF, G. L.; CHUNG, J.; MARKWELL, J. P.; GERMANN, M.; ORF, J. H.; LARK, K. G. Soybean response to water: a QTL analysis of drought tolerance. *Crop Science*, v.41, p.493–509, 2001.

TAIZ, L. & ZEIGER, L. 2002. *Plant Physiology*. 3<sup>rd</sup> ed. Sinauer Associates, Sunderland.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Services. Commodities and products: oilseeds. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov>>. Acesso em: 15 de abr. 2017.

VAN HUIZEN, R., OZGA, J.A. & REINECKE, D.M. Influence of auxin and gibberellin on *in vivo* protein synthesis during early pea fruit growth. *Plant Physiology* v.112, p.53-59, 1996.

VERMA, S.C., LADHA, J.K & TRIPATHI AK (2001) Evaluation of plant growthpromoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, v.91, p.127-141 (2001).

VIEIRA, T.M. F. S. ESTRUTURA, FUNCIONALIDADE E APLICAÇÕES DE PROTEÍNAS DE SOJA. Anais do XII Congresso Latinoamericano de Óleos e Gorduras. Disponível em: <<http://www.oleosegorduras.org.br/site/assets/arquivo/0079cdf6aeacb2e36e9293113f7bb8d8.pdf>> Acesso em: 15 de out. 2016.

VILLEGAS, E.; ORTEGA, BAUER, R. *Métodos químicos usados en el CIMMYT para determinar la calidad de proteína de los cereales*. Ciudad de México: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, 1985. 34p.

WANG, W.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, v. 218, p. 1-14, 2003.

WOLF, R. B.; CAVINS, J. F.; KLEIMAN, R.; BLACK, L. T. Effect of temperature on soybean seed constituents: oil, protein, moisture, fatty acids, amino acids and sugars. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.59, p.230-232, 1982.

ZUFFO, A.M. Aplicações de *Azospirillum* brasilense na cultura da soja. 2016. 101 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2016.

ZUFFO, A.M.; BRUZI, A.T.; REZENDE, P.M.; CARVALHO, M.L.M.; ZAMBIAZZI, E.V.; SOARES, I.O.; SILVA, K.B. Foliar application of *Azospirillum* brasilense in soybean and seed physiological quality. *African Journal of Microbiology Research*, v. 10, p. 675-680, 2016a.

ZUFFO, A.M.; BRUZI, A.T.; REZENDE, P.M.; BIANCHI, M.C.; ZAMBIAZZI, E.V.; SOARES, I.O.; RIBEIRO, A.B.M.; VILELA, G.L.D. Morphoagronomic and productive traits of RR® soybean due to inoculation via *Azospirillum brasilense* groove. *African Journal of Microbiology Research*, v. 10, p. 438-444, 2016b.