

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

ANA JÚLIA DE JESUS FRANCO

**EFEITO DO USO DE *Methylobacterium symbioticum* SB23 COMO
FIXADOR FOLIAR DE NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA**

**Uberlândia – MG
Setembro – 2025**

ANA JÚLIA DE JESUS FRANCO

**EFEITO DO USO DE *Methylobacterium symbioticum* SB23 COMO
FIXADOR FOLIAR DE NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de
Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheira
Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Césio
Humberto de Brito.

**Uberlândia – MG
Setembro – 2025**

ANA JÚLIA DE JESUS FRANCO

**EFEITO DO USO DE *Methylobacterium symbioticum* SB23 COMO
FIXADOR FOLIAR DE NITROGÊNIO NA CULTURA DA SOJA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de
Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheira
Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Césio
Humberto de Brito.

Aprovado pela Banca Examinadora em 10 de setembro de 2025.

Prof. Dr. Césio Humberto de Brito
Orientador

Eng. Agr. Paulo Afonso Della Matta Silva
Membro da Banca

Eng. Agr. Roger Rodrigues Alves
Membro da Banca

**Uberlândia – MG
Setembro – 2025**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me capacitado e sustentado a cada passo desta jornada.

Aos meus pais, Helder e Kelen, por todo amor, apoio e por nunca terem duvidado da minha capacidade. Essa conquista é nossa!

Ao meu irmão, João Victor, por ser meu maior exemplo.

Aos meus avós e bisavós. É a vocês que devo a inspiração que me trouxe até aqui.

Aos meus familiares, principalmente meus primos Caio, Carolina e Michelle, por terem me mostrado o caminho da Agronomia.

Aos amigos que me apoiaram nesta etapa, em especial a Carol, Laura e Luiz, que, mesmo distantes, estiveram sempre presentes.

Aos colegas que fiz durante a graduação, pela parceria e companheirismo. Foi um prazer crescer e aprender com vocês.

Ao Prof. Dr. Césio Humberto de Brito, pela confiança, pelos ensinamentos e pelo privilégio de aprender com o senhor.

Aos membros e ex-membros do Grupo Técnico de Milho e Soja (GTMS), pelos quais tenho profunda admiração e gratidão, por me inspirarem e ensinarem diariamente.

Ao Núcleo de Pesquisa em Genética e Melhoramento de Soja, pela oportunidade e por, já no segundo período, ter me mostrado que eu estava no caminho certo.

De todo meu coração, muito obrigada!

RESUMO

A soja é uma cultura de grande importância econômica, destacando-se por seu alto teor de óleo e proteína. Devido à elevada exigência de nitrogênio para atingir altas produtividades, em função da quantidade de proteína encontrada na composição, a inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio é essencial. As espécies *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* são comumente utilizadas no tratamento de sementes (TS) ou sulco de semeadura, enquanto *Methylobacterium symbioticum* vem sendo estudada como promissora para a fixação via foliar. Dessa forma, este trabalho tem como objetivos avaliar os efeitos da inoculação de *M. symbioticum* SB23 sobre a produtividade, verificar o impacto da aplicação foliar desse microrganismo em diferentes estádios fenológicos da cultura da soja e analisar o efeito quando associado a outras espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio inoculadas no TS. O experimento foi realizado em Uberlândia-MG na safra 2024/25, utilizando a cultivar Olimpo IPRO, em quatro ensaios com delineamento em blocos casualizados e oito repetições, sendo os ensaios E1, E2 e E3 compostos por dois tratamentos cada, enquanto o E4 contou com quatro. Os resultados demonstraram que todos os tratamentos com *M. symbioticum* SB23 aumentaram significativamente a produtividade em relação à testemunha. Foram observadas nos tratamentos com associação das três espécies, *B. japonicum* (TS), *A. brasilense* (TS) e *M. symbioticum* SB23, maiores médias do que os demais. Com relação ao estágio de aplicação, V₈ apresentou os melhores resultados.

Palavras-chave: Fixação biológica; *Glycine max* (L.) Merrill; Microbiologia.

ABSTRACT

Soybean is a crop of great economic importance, standing out for its high oil and protein content. Due to the high nitrogen demand required to achieve high yields, as a result of the protein content in its composition, inoculation with nitrogen-fixing bacteria is essential. The species *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* are commonly used in seed or in-furrow inoculation, while *Methylobacterium symbioticum* has been studied as a promising specie for foliar fixation. This study aimed to evaluate the effects of *M. symbioticum* SB23 inoculation on soybean yield, the impact of foliar application at different phenological stages, and analyze its effect when associated with other nitrogen-fixing bacteria inoculated in seed. The experiment was carried out in Uberlândia-MG, during the 2024/25 growing season, using the Olimpo IPRO cultivar, in four trials arranged in a randomized block design with eight replications. Trials E1, E2, and E3 consisted of two treatments each, while E4 included four treatments. The results showed that all treatments with *M. symbioticum* SB23 significantly increased yield compared with the control. In treatments with the association of the three species a – *B. japonicum*, *A. brasilense*, and *M. symbioticum* SB23 – higher yields were observed compared with the others. Regarding the application stage, the V₈ stage presented the best results.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation; *Glycine max* (L.) Merrill; Microbiology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Importância econômica da soja	9
2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio	9
2.3. <i>Bradyrhizobium</i> spp.	10
2.4. <i>Azospirillum brasilense</i>	11
2.5. <i>Methylobacterium symbioticum</i>	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1. Produtividade de Grãos	17
4.1.1. Ensaio 1 (E1) – <i>M. symbioticum</i> SB23	17
4.1.2. Ensaio 2 (E2) – <i>B. japonicum</i> e <i>M. symbioticum</i> SB23	17
4.1.3. Ensaio 3 (E3) – <i>B. japonicum</i> , <i>A. brasilense</i> e <i>M. symbioticum</i> SB23	18
4.1.4. Ensaio 4 (E4) – Épocas de Aplicação	18
5. CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

A soja cultivada (*Glycine max* [L.] Merrill) é uma planta da família Fabaceae, de cultivo anual, originária do noroeste da China, na região da Manchúria. Foi registrada pela primeira vez no Brasil em 1882, na Bahia, mas o início do cultivo para a produção comercial ocorreu em 1935, no Rio Grande do Sul (Bezerra *et al.*, 2022). Atualmente, é uma das culturas mais influentes no país, com aproximadamente 47,6 milhões de hectares cultivados e produção estimada em 169 milhões de toneladas na safra 2024/25 (Conab, 2025).

Contudo, para que os atuais e elevados níveis de produtividade sejam alcançados, é de extrema importância que as plantas estejam bem nutridas, já que, conforme enunciado por Liebig (1840) na Lei do Mínimo, o quanto a planta produz é limitado pelo elemento disponível em menor quantidade. Isso se dá visto que os nutrientes, tanto macro, exigidos em maiores quantidades, quanto micronutrientes, requeridos em menores proporções, apresentam funções essenciais aos vegetais, pois podem participar da formação estrutural, serem constituintes de enzimas ou ativadores enzimáticos (Malavolta, 2006).

Para a cultura da soja, o nutriente demandado em maior quantidade é o nitrogênio, pois de 30 a 53% dos constituintes dos grãos dessa leguminosa são as proteínas, formadas, majoritariamente, por aminoácidos, que necessitam de N para sua síntese. Assim, é estimada a exigência 80 kg de N para a produção de 1 tonelada de grãos o que, apesar de poder ser suprido por meio da adubação mineral com fertilizantes nitrogenados, torna-se inviável financeiramente devido aos altos custos desses insumos (Hungria *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2022).

Por isso, a utilização de bactérias fixadoras de nitrogênio é uma prática fundamental no cultivo da soja, pois permite reduzir os custos de produção e, ao mesmo tempo, manter elevados níveis de produtividade (Prando *et al.*, 2022). A principal espécie usada para Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) nessa cultura é a *Bradyrhizobium japonicum*, que apresenta resultados potencializados quando coinoculada com a *Azospirillum brasilense*, que podem ser empregadas tanto no tratamento de sementes (TS), quanto no sulco de semeadura. Além disso, nos últimos anos, a *Methylobacterium symbioticum*, mais especificamente a cepa SB23, vem sendo estudada como uma bactéria promissora para a fixação de nitrogênio via foliar, através dos estômatos (Prando *et al.*, 2022; Corteva, 2023).

Dessa forma, este trabalho tem como objetivos avaliar os efeitos da inoculação de *M. symbioticum* SB23 sobre a produtividade, verificar o impacto da aplicação foliar desse microrganismo em diferentes estádios fenológicos da cultura da soja e analisar o efeito quando associado a outras espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio inoculadas no TS.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância econômica da soja

Devido aos elevados teores de proteína e óleo que representam, em média, 40 e 20%, respectivamente, da composição do grão de soja, essa aleuro-oleaginosa é considerada uma das culturas mais importantes do mundo, sendo usada principalmente como fonte de óleo para alimentação humana, como farelo para consumo animal e na produção de biodiesel (Bezerra *et al.*, 2022).

Considerando a safra 2024/25, a produção global estimada de soja foi de 423,9 milhões de toneladas, sendo o Brasil destacado como o maior produtor, contribuindo com 40% desse total, seguido pelos Estados Unidos e pela Argentina, que colaboram com 28 e 12%, em sequência (USDA, 2025). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2019), a soja também responde por cerca de 51% do valor de produção agrícola do país, representando uma das principais fontes de renda rural.

No entanto, um fator que contribui significativamente para que os produtores alcancem altos valores de produtividade e um retorno econômico considerável nas lavouras de soja, é o uso de bactérias fixadoras de nitrogênio que fazem relação com a cultura. Isso se justifica porque a demanda necessária desse nutriente para a leguminosa é tão alta que seria inviável economicamente o suprimento dessa exigência com fertilizantes químicos nitrogenados (Prando *et al.*, 2022).

2.2. Fixação Biológica de Nitrogênio

A inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio, especialmente em leguminosas, permite que quantidades significativas de nitrogênio atmosférico (N₂) sejam fixadas por elas que, posteriormente, transformam esse elemento em formas assimiláveis pelos vegetais, o que contribui para a diminuição do uso de adubos nitrogenados. Esse processo é conhecido como Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (Hungria *et al.*, 2001; Mahmud *et al.*, 2020; Serafin-Andrzejewska *et al.*, 2025).

A FBN pode ser realizada por diversas espécies de bactérias e a interação delas com as plantas pode ser classificada em relações associativas, endofíticas ou simbióticas. No primeiro caso, os microrganismos colonizam preferencialmente a rizosfera das plantas, enquanto as endofíticas entram nos tecidos e as simbióticas ocupam células das raízes, o que leva a formação de estruturas especializadas onde ocorre a fixação de nitrogênio (Marks, 2013).

Estimativas indicam que a FBN contribui anualmente para a produção de cerca de 200 milhões de toneladas de nitrogênio ao redor do mundo, além de ser responsável por aproximadamente 50% do total de N nos campos agrícolas, o que evidencia a importância desses microrganismos na agricultura (Peoples *et al.*, 2009; Mahmud *et al.*, 2020).

No Brasil, a FBN é considerada um importante pilar para a sustentabilidade do sistema de produção de soja, cultura com a qual as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* são amplamente utilizadas, em especial a espécie *B. japonicum*, e também coinoculadas com *Azospirillum brasilense*, o que contribui para a otimização do processo de fixação na leguminosa (Prando *et al.*, 2022). Porém, nos últimos anos, a bactéria *Methylobacterium symbioticum* começou a ser estudada como espécie fixadora biológica de nitrogênio via foliar, apresentando resultados significativos no aumento de produtividade de culturas como arroz, milho e uva, tendo começado a ser comercializada no Brasil em 2023 (Pascual *et al.*, 2020; Corteva, 2023).

2.3. *Bradyrhizobium* spp.

Algumas bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, como as espécies *B. liaoningense*, *B. elkanii* e *B. japonicum*, são capazes de realizar relações simbióticas com a cultura da soja que levam à formação dos nódulos, estruturas especializadas formadas nas raízes dessas plantas onde ocorre a FBN. Dentre essas, *B. japonicum*, que normalmente é inoculada na semente ou no sulco de semeadura, é a que apresenta maior importância agrônômica e começou a ser produzida no Brasil para a fabricação de inoculantes em 1992 (Hungria *et al.*, 2001; Marks, 2013).

A formação dos nódulos de fixação é o resultado de um processo complexo que se inicia quando as plantas estão em condições de disponibilidade limitada de nitrogênio, o que faz com que as raízes liberem exsudatos ricos em flavonoides para a rizosfera. Essas substâncias atraem as bactérias para a superfície da raiz e ativam as proteínas NodD, que estimulam a expressão dos genes nod, levando à síntese do fator Nod, um lipo-quito-oligossacarídeo essencial para a iniciação do desenvolvimento simbiótico.

A estrutura dos fatores Nod é exclusiva para cada tipo de rizóbio, o que faz com que a ocorrência da relação seja extremamente dependente da espécie da bactéria e da planta hospedeira. Esses fatores são reconhecidos por receptores específicos presentes no vegetal, dando início à infecção, o que resulta em uma série de respostas fisiológicas e, para que o processo seja bem-sucedido, a planta não pode reconhecer a bactéria como um patógeno. Para isso, são expressos, pelos vegetais, receptores que reconhecem substâncias presentes na parede celular bacteriana, os exopolissacarídeos (EPS). Ao mesmo tempo, a bactéria secreta proteínas

diretamente na célula vegetal por um sistema de secreção chamado Tipo III, e isso faz com que a resposta imune da planta seja suprimida e a colonização seja favorecida.

Após a infecção, os microrganismos migram para o córtex da raiz, onde são diferenciados, promovendo a formação dos nódulos. Dentro dessas estruturas de FBN, as bactérias formam os bacterioides, que são organelas fixadoras de N, e a planta produz leghemoglobina, que é uma hemoproteína responsável por transportar oxigênio em quantidades adequadas até os bacterioides, possibilitando que eles respirem e produzam energia para a fixação de N₂. Além disso, essa hemoproteína é responsável por caracterizar a coloração rósea no interior dos nódulos ativos (Hungria *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2018; Costa, 2023; Ong; O'Brian, 2024).

Dentro do nódulo, a FBN é mediada pela nitrogenase, uma enzima composta por Fe-proteína e MoFe-proteína. Para que o N₂ seja transformado em formas assimiláveis de nitrogênio para a planta, a ferredoxina, enzima transportadora de elétrons (e⁻), doa oito e⁻ para a Fe-proteína e, com a energia oriunda da hidrólise de 16 ATPs, transfere os e⁻ para a MoFe-proteína, que reduz o N₂ e o H⁺ em amônia (NH₃) e H₂. Depois disso, o NH₃, que é tóxico para as células vegetais, será incorporado a H⁺, formando amônio (NH₄⁺), que é convertido em formas orgânicas, como ureídeos, que são transportadas pelo xilema até a parte aérea da planta (Hungria *et al.*, 2001; Costa, 2023).

No entanto, apesar das espécies de *Bradyrhizobium* serem capazes de fornecer grandes quantidades de nitrogênio para a soja, cerca de 70-85% do acumulado pela leguminosa, a atividade dos nódulos diminui conforme a planta se aproxima do estágio fenológico de enchimento de grãos, o R₅ (Fehr; Caviness, 1977; Hungria *et al.*, 2001; Casarin, 2019).

2.4. *Azospirillum brasilense*

As bactérias da espécie *Azospirillum brasilense*, normalmente encontradas na rizosfera, são Gram-negativas e fazem relação do tipo associativa com os vegetais, sendo consideradas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), trazendo diversos benefícios para as culturas, por serem, inclusive, capazes de realizar FBN. Inicialmente, esse microrganismo era conhecido por se associar a gramíneas, como milho e trigo, mas, em 2013, a Embrapa começou a recomendar o uso dessa espécie em coinoculação com *Bradyrhizobium* spp. na cultura da soja no Brasil (Marks, 2013; Prando *et al.*, 2022).

Apesar de ser considerada uma bactéria fixadora biológica de nitrogênio, *A. brasilense* apresenta capacidade moderada de fixação do elemento quando comparada às espécies formadoras de nódulos (Prando *et al.*, 2022). Assim, seus principais benefícios na coinoculação

são decorrentes da possibilidade desse microrganismo produzir reguladores de crescimento e hormônios vegetais, como auxinas, giberelinas e citocininas, que contribuem para o desenvolvimento radicular e, conseqüentemente, para a absorção de água e nutrientes, além de que, com mais raízes, as chances de formação de nódulos são maiores. Dessa forma, a coinoculação possibilita com que haja maior nodulação, que ocorre de forma mais precoce do que quando não há associação com *Bradyrhizobium* (Hungria, 2011; Barbosa *et al.*, 2021).

Além disso, *A. brasilense* pode trazer benefícios indiretos para as plantas, como supressão de patógenos, por competir com outras espécies de microrganismos, capacidade de produção de substâncias antimicrobianas, aumento da biomassa da parte aérea e maior resistência a condições de estresse biótico e abiótico (Fukami *et al.*, 2018; Prando *et al.*, 2022).

2.5. *Methylobacterium symbioticum*

As bactérias do gênero *Methylobacterium*, pertencentes à classe *Alphaproteobacteria*, são caracterizadas por serem Gram-negativas, produzirem carotenoides, o que faz com que elas possuam coloração rósea, apresentam forma de bastonete, são aeróbicas e usam compostos de um carbono para seu desenvolvimento. Esses microrganismos apresentam capacidade de promover o crescimento de várias plantas, pois existem espécies que conseguem, por exemplo, mobilizar o fósforo, produzir compostos antimicrobianos e induzir resistência sistêmica (Pascual *et al.*, 2020).

No entanto, algumas espécies, como a *M. symbioticum* cepa SB0023/3^T, ou *M. symbioticum* SB23, são capazes de fixar nitrogênio via foliar, fazendo com que haja ganhos significativos de produtividade em determinadas culturas (Vera *et al.*, 2023; Serafin-Andrzejewska *et al.*, 2025). Os microrganismos dessa cepa foram isolados de esporos do fungo micorrízico arbuscular *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*, crescem em temperatura de 10 a 30°C e pH entre 5,5 e 8,0, podem reduzir nitrato, mas não nitrito, e fazem relação endofítica com as plantas (Pascual *et al.*, 2020; Santos; Bundt, 2025).

Essa bactéria, diferentemente de *B. japonicum* e de *A. brasilense*, coloniza a filosfera, ou seja, a superfície das folhas das espécies vegetais. Isso acontece porque grande parte dos representantes do gênero *Methylobacterium* utiliza o metanal, também conhecido como formaldeído, ou o metanol, substância de um carbono emitida pelos estômatos e considerada subproduto do metabolismo da pectina durante a formação da parede celular, como fonte de carbono e energia (Abanda-Nkpwatt *et al.*, 2006).

Assim, o processo de fixação de nitrogênio se inicia quando as bactérias entram nas folhas através dos estômatos, penetram nas células fotossintéticas das plantas, estabelecendo-

se no citoplasma, onde há ferro e molibdênio, e capturam o nitrogênio atmosférico (N_2), que será reduzido a amônio (NH_4^+) por meio da enzima nitrogenase. Depois disso, através da glutamina sintetase, o NH_4^+ é transformado em glutamina, um aminoácido que age como precursor e doador de nitrogênio para outros compostos nitrogenados presentes dentro das células (Vera *et al.*, 2023; Corteva, 2024; Svetlova *et al.*, 2024).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi composto por quatro ensaios conduzidos na primeira safra do ano agrícola de 2024/25 no município de Uberlândia/MG, na fazenda Novo Horizonte (18°55'08" S, 48°03'45" O, a 850 m de altitude), cuja classificação do solo é Latossolo Vermelho (Santos *et al.*, 2018). Segundo Alvares *et al.* (2014), utilizando a classificação de Köppen-Geiger (1928) para o Brasil, o clima da região da área experimental é do tipo Aw, apresentando temperatura média de 21,5 °C e precipitação anual de 1.479 mm.

A cultivar de soja utilizada nos ensaios foi a Olimpo IPRO. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados (DBC), sendo os ensaios E1, E2 e E3 compostos por dois tratamentos cada, enquanto o E4 apresentou quatro, todos com 8 repetições por tratamento.

Os tratamentos se diferiram a cada ensaio, sendo compostos pela presença ou ausência da bactéria fixadora foliar de nitrogênio *Methylobacterium symbioticum* SB23, com ou sem a associação, no tratamento de sementes (TS), de outras bactérias fixadoras de nitrogênio, como *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, e diferentes épocas de aplicação, que variaram de acordo com o estágio fenológico da cultivar.

No Ensaio 1 (E1), não foi feita a inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio no TS, demonstrando o efeito isolado de *M. symbioticum* SB23 (Tabela 1).

Tabela 1. Composição dos tratamentos e épocas de aplicação do Ensaio 1. Uberlândia – MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos	Composição	Dose do Produto Comercial	Épocas de Aplicação ³
T1	Testemunha	-	-
T2	<i>M. symbioticum</i> SB23 ¹	(0,333 kg.ha ⁻¹) ²	V ₆

¹Bactéria fixadora de nitrogênio foliar; ²kg.ha⁻¹: quilogramas por hectare; ³Épocas de aplicação: V₆: estágio vegetativo com cinco trifólios completamente desenvolvidos.

Já no Ensaio 2 (E2), a bactéria *B. japonicum* foi inoculada no TS, tendo um tratamento acrescido com *M. symbioticum* SB23 aplicado via foliar (Tabela 2).

Tabela 2. Composição dos tratamentos e épocas de aplicação do Ensaio 2. Uberlândia – MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos	Composição	Dose do Produto Comercial	Épocas de Aplicação ⁴
T1	<i>B. japonicum</i> ¹	(10 doses) ³	TS
T2	<i>B. japonicum</i> <i>M. symbioticum</i> SB23 ²	(10 doses) (0,333 kg.ha ⁻¹) ⁴	TS V ₆

¹Bactéria fixadora de nitrogênio; ²Bactéria fixadora de nitrogênio foliar; ³1 dose = 50 mL para 50 kg de sementes; ⁴kg.ha⁻¹: quilogramas por hectare; ⁴Épocas de aplicação: TS: Tratamento de Sementes; V₆: estágio vegetativo com cinco trifólios completamente desenvolvidos.

Com relação ao Ensaio 3 (E3), foram inoculadas, no TS, *B. japonicum* e *A. brasilense*, sendo, em um tratamento, incrementado *M. symbioticum* SB23 via foliar (Tabela 3).

Tabela 3. Composição dos tratamentos e épocas de aplicação do Ensaio 3. Uberlândia – MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos	Composição	Dose do Produto Comercial	Épocas de Aplicação ⁴
T1	<i>B. japonicum</i> ¹	(10 doses) ³	TS
	<i>A. brasilense</i> ¹	(2 doses)	TS
T2	<i>B. japonicum</i>	(10 doses)	TS
	<i>A. brasilense</i>	(2 doses)	TS
	<i>M. symbioticum</i> SB23 ²	(0,333 kg.ha ⁻¹) ⁴	V ₆

¹Bactéria fixadora de nitrogênio; ²Bactéria fixadora de nitrogênio foliar; ³1 dose = 50 mL para 50 kg de sementes; ⁴kg.ha⁻¹: quilogramas por hectare; ⁴Épocas de aplicação: TS: Tratamento de Sementes; V₆: estágio vegetativo com cinco trifólios completamente desenvolvidos.

No Ensaio 4 (E4), todos os tratamentos tiveram a inoculação de *B. japonicum* e *A. brasilense* no TS, com acréscimo de *M. symbioticum* SB23 nos tratamentos T2, T3 e T4, que diferiram entre si com relação ao estágio de aplicação (Tabela 4).

Tabela 4. Composição dos tratamentos e épocas de aplicação do Ensaio 4. Uberlândia – MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos	Composição	Dose do Produto Comercial	Épocas de Aplicação ⁴
T1	<i>B. japonicum</i> ¹	(10 doses) ³	TS
	<i>A. brasilense</i> ¹	(2 doses)	TS
T2	<i>B. japonicum</i>	(10 doses)	TS
	<i>A. brasilense</i>	(2 doses)	TS
	<i>M. symbioticum</i> SB23 ²	(0,333 kg.ha ⁻¹) ⁴	V ₄
T3	<i>B. japonicum</i>	(10 doses)	TS
	<i>A. brasilense</i>	(2 doses)	TS
	<i>M. symbioticum</i> SB23	(0,333 kg.ha ⁻¹)	V ₆
T4	<i>B. japonicum</i>	(10 doses)	TS
	<i>A. brasilense</i>	(2 doses)	TS
	<i>M. symbioticum</i> SB23	(0,333 kg.ha ⁻¹)	V ₈

¹Bactéria fixadora de nitrogênio; ²Bactéria fixadora de nitrogênio foliar; ³1 dose = 50 mL para 50 kg de sementes; ⁴kg.ha⁻¹: quilogramas por hectare; ⁴Épocas de aplicação: TS: Tratamento de Sementes; V₄: estágio vegetativo com três trifólios completamente desenvolvidos; V₆: estágio vegetativo com cinco trifólios completamente desenvolvidos; V₈: estágio vegetativo com sete trifólios completamente desenvolvidos.

As parcelas do experimento foram constituídas por quatro linhas de 5,2 metros de comprimento, espaçadas entre si por 0,5 m, totalizando uma área útil de 10,4 m². A população almejada foi de 200.000 plantas.ha⁻¹.

As pulverizações foram feitas utilizando um pulverizador costal à combustão, regulado para aplicar a 130 L.ha⁻¹.

A semeadura foi realizada de forma mecanizada, no dia 11 de novembro de 2024 e, na mesma operação, foi feita a adubação em sulco na dose de 400 kg.ha⁻¹ do fertilizante NPK, na formulação 08-28-16. Os demais tratos culturais foram realizados de forma a expressar o potencial produtivo da cultivar utilizada.

Como forma de avaliar o efeito dos tratamentos, foi realizada a avaliação de produtividade de grãos. Para isso, no dia 17 de março de 2025, utilizou-se uma colhedora de parcelas que permitiu a obtenção do peso dos grãos de cada tratamento. Posteriormente, estes valores foram transformados para kg.ha⁻¹, corrigindo-se ainda a umidade para 13%.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 0,05 de significância, com auxílio do programa de análises estatísticas SISVAR (Ferreira, 2019).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Produtividade de Grãos

4.1.1. Ensaio 1 (E1) – *M. symbioticum* SB23

Em termos de produtividade de grãos do E1 (Tabela 5), o tratamento T1, com 4.100,0 kg.ha⁻¹, conferiu a menor média, diferindo estatisticamente do tratamento T2 (*M. symbioticum* SB23 – V₆), que obteve 4.510,5 kg.ha⁻¹, 6,8 sacas.ha⁻¹ a mais do que o T1.

Tabela 5. Ensaio 1: Produtividade, em quilogramas por hectare, da cultivar Olimpo IPRO, submetida a diferentes inoculações com bactérias fixadoras de nitrogênio. Uberlândia - MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos ¹	Produtividade (kg.ha ⁻¹)	Diferença em sacas.ha ⁻¹ em relação à testemunha
T1	4.100,0 b ²	-
T2	4.510,5 a	+ 6,8
C.V. (%)	4,48	-

¹T1: Testemunha; T2: *M. symbioticum* SB23 (V₆). ²Médias seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

4.1.2. Ensaio 2 (E2) – *B. japonicum* e *M. symbioticum* SB23

No E2 (Tabela 6), o tratamento T1 (*B. japonicum* – TS), com 4.647,9 kg.ha⁻¹, diferiu estatisticamente e apresentou menor média do que o tratamento T2 (*B. japonicum* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₆), que obteve 4.951,1 kg.ha⁻¹, ou seja, 5,0 sacas.ha⁻¹ de acréscimo.

Tabela 6. Ensaio 2: Produtividade, em quilogramas por hectare, da cultivar Olimpo IPRO, submetida a diferentes inoculações com bactérias fixadoras de nitrogênio. Uberlândia - MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos ¹	Produtividade (kg.ha ⁻¹)	Diferença em sacas.ha ⁻¹ em relação à testemunha
T1	4.647,9 b ²	-
T2	4.951,1 a	+ 5,0
C.V. (%)	4,01	-

¹T1: *B. japonicum* (TS); T2: *B. japonicum* (TS) / *M. symbioticum* SB23 (V₆). ²Médias seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

4.1.3. Ensaio 3 (E3) – *B. japonicum*, *A. brasilense* e *M. symbioticum* SB23

No E3 (Tabela 7), o tratamento T1 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS) apresentou produtividade de 4.837,6 kg.ha⁻¹, enquanto o tratamento T2 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₆) obteve 5.189,8 kg.ha⁻¹, que resultou em um incremento de 5,9 sacas.ha⁻¹, diferindo-se estatisticamente do anterior.

Tabela 7. Ensaio 3: Produtividade, em quilogramas por hectare, da cultivar Olimpo IPRO, submetida a diferentes inoculações com bactérias fixadoras de nitrogênio. Uberlândia - MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos ¹	Produtividade (kg.ha ⁻¹)	Diferença em sacas.ha ⁻¹ em relação à testemunha
T1	4.837,6 b ²	-
T2	5.189,8 a	+ 5,9
C.V. (%)	3,46	-

¹T1: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS); T2: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS) / *M. symbioticum* SB23 (V₆). ²Médias seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

4.1.4. Ensaio 4 (E4) – Épocas de Aplicação

No E4 (Tabela 8), o tratamento T1 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS), com produtividade de 5.113,7 kg.ha⁻¹, apresentou a menor média e diferença estatística com relação aos demais tratamentos.

O tratamento T2 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₄) obteve a segunda pior média, com 5.251,3 kg.ha⁻¹, 2,3 sacas.ha⁻¹ a mais do que T1, não diferindo estatisticamente desse tratamento.

Já o T3 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₆) apresentou produtividade de 5.484,0 kg.ha⁻¹, incremento de 6,2 sacas.ha⁻¹ em relação ao T1 e diferindo estatisticamente dele, mas não do tratamento T2.

Além disso, o T4 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₈) foi o tratamento que obteve a maior produtividade, com 5.557,6 kg.ha⁻¹, não apresentando diferença estatística com relação ao T3, mas diferindo de T1 e T2. O aumento de produtividade em relação ao tratamento sem *M. symbioticum* SB23 foi de 7,4 sacas.ha⁻¹.

Tabela 8. *Ensaio 4:* Produtividade, em quilogramas por hectare, da cultivar Olimpo IPRO, submetida a diferentes inoculações com bactérias fixadoras de nitrogênio. Uberlândia - MG, primeira safra 2024/25.

Tratamentos ¹	Produtividade (kg.ha ⁻¹)	Diferença em sacas.ha ⁻¹ em relação à testemunha
T1	5.113,7 c ²	-
T2	5.251,3 bc	+ 2,3
T3	5.484,0 ab	+ 6,2
T4	5.557,6 a	+ 7,4
C.V. (%)	3,14	-

¹T1: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS); T2: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS) / *M. symbioticum* SB23 (V₄); T3: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS) / *M. symbioticum* SB23 (V₆); T4: *B. japonicum* (TS) / *A. brasilense* (TS) / *M. symbioticum* SB23 (V₈). ²Médias seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância.

Similarmente aos resultados deste experimento, em que a inoculação com *Methylobacterium symbioticum* SB23 via foliar promoveu incrementos significativos de produtividade quando comparados com os tratamentos sem a bactéria, Serafin-Andrzejewska *et al.* (2025) observaram aumentos de produtividade nas plantas de fava (*Vicia faba* L.), que, assim como a soja, é uma leguminosa, quando tratadas com *M. symbioticum*. Além disso, esses autores verificaram que os incrementos produtivos foram ainda maiores com a associação entre *M. symbioticum* SB23 e *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, uma bactéria fixadora de nitrogênio que mantém relação simbiótica com a fava (Serafin-Andrzejewska *et al.*, 2025).

Ademais, Santos e Bundt (2025) observaram que na cultura do milho (*Zea mays* L.) a aplicação via foliar de *M. symbioticum* SB23 também aumentou a produtividade das plantas, além de ter contribuído para o aumento de biomassa fresca e acumulação de nitrogênio foliar, mesmo quando a adubação com fertilizantes nitrogenados foi reduzida em 25-50%.

5. CONCLUSÕES

Todos os tratamentos com aplicação de *M. symbioticum* SB23 apresentaram aumento significativo de produtividade quando comparados aos demais tratamentos em todos os ensaios.

Os tratamentos com a associação de *B. japonicum* (TS), *A. brasilense* (TS) e *M. symbioticum* SB23, obtiveram maiores médias de produtividade de grãos do que os tratamentos sem a combinação das três espécies.

Com relação à época de aplicação, no Ensaio 4, o tratamento T4 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₈) apresentou a maior média de produtividade quando comparado com os demais tratamentos, mas não diferiu estatisticamente do tratamento T3 (*B. japonicum* – TS / *A. brasilense* – TS / *M. symbioticum* SB23 – V₆).

REFERÊNCIAS

- ABANDA-NKPWATT, Daniel *et al.* Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. **Journal Of Experimental Botany**, [S.L.], v. 57, n. 15, p. 4025-4032, 6 nov. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erl173>.
- ALVARES, Clayton Alcarde *et al.* **Köppen's climate classification map for Brazil**. Meteorologische Zeitschrift 22, 711-728, 2014.
- BARBOSA, Julierme Zimmer *et al.* Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [S.L.], v. 163, p. 103913, jul. 2021.
- BEZERRA, André Ricardo Gomes *et al.* Importância Econômica. In: SILVA, Felipe *et al.* (org.). **Soja do Plantio à Colheita**. 2. ed. Viçosa: Oficina de Textos, 2022. Cap. 1. p. 9-20.
- CASARIN, Nicolas Braga. **Contribuição de diferentes fontes de nitrogênio para a FBN e o metabolismo de N da soja**. 2019. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Portal de informações agropecuárias: soja**. 2025. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/safra-estimativa-de-evolucao-graos.html>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- CORTEVA. **Ficha de informação de segurança de produto químico**. 2023. Disponível em: https://www.corteva.com.br/content/dam/dpagco/corteva/la/br/pt/products/files/Doc_FISPQ_UtrishaN_Corteva_la_br.pdf. Acesso em: 21 ago. 2025.
- CORTEVA. **Utrisha™ N**. 2024. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/672931385/Utrisha-N>. Acesso em: 24 ago. 2025.
- COSTA, Magna Maria Macedo Nunes. **Fixação biológica de nitrogênio: uma revisão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2023. 34 f. (Documentos / Embrapa Algodão, e-ISSN 2966-0343; 293).
- FEHR, Walter.; CAVINESS, Charles. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special report, 80).
- FERREIRA, Daniel Furtado. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, [S. L.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- FUKAMI, Josiane *et al.* *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **Amb Express**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-12, 4 maio 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>.

HUNGRIA, Mariângela. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.325).

HUNGRIA, Mariângela *et al.* **Fixação Biológica do Nitrogênio na Cultura da Soja**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2001. (Circular Técnica).

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal (PAM)**. 2019.

KÖPPEN, Wladimir; GEIGER, Rudolf. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LIEBIG, Justus. **Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie**. Brunsvique: Friedrich Vieweg And Son, 1840.

MALAVOLTA, Euripedes. **Manual de Nutrição Mineral de Plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 2006.

MAHMUD, Kishan *et al.* Current Progress in Nitrogen Fixing Plants and Microbiome Research. **Plants**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 97, 13 jan. 2020. MDPI AG.
<http://dx.doi.org/10.3390/plants9010097>.

MARKS, Bettina Berquó. **Ação de metabólitos secundários e de inoculantes microbianos na promoção do crescimento de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e milho (*Zea mays* L.)**. 2013. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ONG, Alasteir; O'BRIAN, Mark R.. *Bradyrhizobium japonicum* (diazoefficiens). **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 32, n. 6, p. 614-615, jun. 2024. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2024.03.010>.

PASCUAL, Jose Antonio *et al.* *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. **Current Microbiology**, [S.L.], v. 77, n. 9, p. 2031-2041, 27 jun. 2020. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00284-020-02101-4>.

PEOPLES, Mark. *et al.* The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. **Symbiosis**, [S.L.], n. 48, p. 1-17, 2009.

PRANDO, André Mateus *et al.* **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2021/2022 no Paraná**. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2022. (Circular Técnica).

SANTOS, Adailson Feitoza de Jesus; BUNDT, Angela da Cas. Foliar inoculation with *Methylobacterium symbioticum* SB23 enhances nitrogen fixation and maize productivity under different edaphoclimatic conditions. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal Of Agricultural Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 1-10, 11 jun. 2025. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v20i2a4182>.

SANTOS, Humberto Gonçalves *et al.* **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018.

SILVA, Felipe *et al* (org.). **Soja do Plantio à Colheita**. 2. ed. Viçosa: Oficina de Textos, 2022.

SERAFIN-ANDRZEJEWSKA, Magdalena *et al*. Yield and Seed Quality of Faba Bean (*Vicia faba* L. var. minor) as a Result of Symbiosis with Nitrogen-Fixing Bacteria. **Agriculture**, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 960, 28 abr. 2025. Disponível em: https://mdpi-res.com/d_attachment/agriculture/agriculture-15-00960/article_deploy/agriculture-15-00960-v2.pdf?version=1745926072#page11. Acesso em: 21 jul. 2025.

SVIETLOVA, Nataliia *et al*. Glutamine as sole nitrogen source prevents induction of nitrate transporter gene NRT2.4 and affects amino acid metabolism in Arabidopsis. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 15, p. 1-10, 25 mar. 2024. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2024.1369543>.

USDA – U.S. Department of Agriculture. **Production - Soybeans**. 2025. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/production/commodity/2222000>. Acesso em: 21 ago. 2025.

VERA, Rocío Torres *et al*. Application and effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* as a biological inoculant in maize and strawberry crops. **Folia Microbiologica**, [S.L.], v. 69, n. 1, p. 121-131, 1 ago. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12223-023-01078-4>.

WANG, Qi *et al*. Genetic and Molecular Mechanisms Underlying Symbiotic Specificity in Legume-Rhizobium Interactions. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 9, p. 1-8, 9 mar. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.00313>.