

JÉSSICA ZANELATTO BARBOSA

MICROALGAS (*Chlorella sorokiniana*) NO TRATAMENTO DE
SEMENTES DE SOJA: INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO

CASCABEL
PARANÁ - BRASIL
MARÇO - 2024

JÉSSICA ZANELATTO BARBOSA

MICROALGAS (*Chlorella sorokiniana*) NO TRATAMENTO DE
SEMENTES DE SOJA: INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Zanão Júnior.

CASCADEL
PARANÁ - BRASIL
MARÇO - 2024

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Zanelatto Barbosa , Jéssica
Microalgas (Chlorella sorokiniana) no tratamento de
sementes de soja: inoculação e coinoculação / Jéssica
Zanelatto Barbosa ; orientador Luiz Antônio Zanão Júnior. --
Cascavel, 2024.
50 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) --
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências
Exatas e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Energia na Agricultura, 2024.

1. crescimento de plantas. 2. biomassa microalgal. 3.
Glycine max. I. Zanão Júnior, Luiz Antônio , orient. II.
Título.

JÉSSICA ZANELATTO BARBOSA

Microalgas (*Chlorella sorokiniana*) no tratamento de sementes de soja: inoculação e coinoculação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Engenharia de Energia na Agricultura, área de concentração Agroenergia, linha de pesquisa Biomassa e culturas energéticas, APROVADA pela seguinte banca examinadora:



Orientador - Luiz Antonio Zanão Júnior
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Jair Antonio Cruz Siqueira
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Jéssica Cristina Urbanski
Faculdade de Ensino Superior de Marechal Cândido Rondon (ISEPE RONDON)

Cascavel, 04 de março de 2024

*Ao meu noivo e meus pais
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por me permitir ir em busca dos meus sonhos, me conceder a vida, fé e perseverança para seguir meus caminhos.

Aos meus pais por terem me criado com amor e alegria, terem me mostrado e me guiado para o caminho correto de amor.

Ao meu noivo por todo apoio, confiança, dias trabalhados como uma equipe.

Ao meu Orientador Luiz Antônio Zanão Júnior, não só pela orientação, mas pela amizade e ensinamentos.

À Edna Aparecida de Andrade, Luiz Carlos de Oliveira e todos da Estação Experimental do IDR-Paraná em Santa Tereza do Oeste e pelos conhecimentos e gentileza no auxílio na condução dos experimentos.

À Diva de Souza Andrade, por todo conhecimento em microalgas e pelo material fornecido para a pesquisa.

A todos os professores do PPGEA, com todos seus ensinamentos.

A todos que de alguma forma fizeram parte dessa jornada, fica o meu muito obrigada.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise química do solo utilizado no experimento.	13
Tabela 2 - Emergência e produção de massa seca de plântulas de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com <i>Bradyrhizobium japonicum</i> e microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> (estirpes IPR7104 e IPR 7070) em casa de vegetação.	18
Tabela 3 - Número de nódulos, teor de clorofila total nas folhas, produção de matéria seca da parte aérea das plantas (PMSPA), produção de matéria seca de raízes (PMSR), produção de matéria seca de nódulos (PMSN) e produção de matéria seca de um nódulo de plantas (PMSUN) de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com <i>Bradyrhizobium</i> e microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> (IPR7104 e IPR 7070).	19
Tabela 4 - Produtividade de grãos de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com <i>Bradyrhizobium</i> e microalgas <i>Chlorella sorokiniana</i> (IPR7104 e IPR 7070).	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microalgas do gênero *Chlorella*, sendo: a) *Chlorella vulgaris*; b) *Chlorella volutis*; c) *Chlorella vulgaris* var. *autotrophica*; d) *Chlorella rotunda*; e) *Chlorella vulgaris* var. *viridis*; e f) *Chlorella sorokiana*. Fonte: Adaptado de Phang et al. (2015).

.....8

BARBOSA, Jéssica Zanelatto. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Março de 2024. **Microalgas (*Chlorella sorokiniana*) no tratamento de sementes de soja: inoculação e coinoculação.** Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Zanão Júnior.

RESUMO

As microalgas são potenciais fontes de bioprodutos para aplicações em diversas áreas. Na agricultura, surgem como opção promissora como bioestimulantes, proporcionando maiores produtividades. Consequentemente, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da microalga *Chlorella sorokiniana* (estipes IPR7104 e IPR70) com o *Bradyrhizobium japonicum* na inoculação e coinoculação como bioestimulante de parâmetros agrônômicos da soja. Foram conduzidos dois experimentos, um em casa de vegetação e outro em condições de campo na estação experimental do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, localizada no município de Santa Tereza do Oeste, PR. Em casa de vegetação foi realizado teste de emergência para avaliar o potencial bioestimulante da microalga *Chlorella sorokiniana* sobre as sementes e em campo, para avaliar componentes de produção e teores de clorofila. Foram avaliados seis tratamentos: controle (testemunha, sem inoculação); somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*). No campo, além desses, foi avaliado mais um tratamento, sendo sem inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e com fertilizante nitrogenado aplicado em cobertura. O delineamento empregado foi o de blocos ao acaso, com cinco repetições. Foram analisados a emergência e a produção de matéria seca de plântulas, teor de clorofila total nas folhas, contagem de nódulos, produção de matéria massa seca de nódulos, produção de matéria seca de parte aérea e produtividade de grãos. As microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana* (estipes IPR7104 e IPR 7070) não demonstraram potencial bioestimulante quando aplicadas na forma de tratamento de sementes na cultura da soja, isoladas ou em coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum*.

PALAVRAS-CHAVE: crescimento de plantas; biomassa microalgal; *Glycine max*.

BARBOSA, Jessica Zanelatto. State University of Western Paraná, March 2024.
Microalgae (*Chlorella sorokiniana*) in the treatment of soybean seeds: inoculation and coinoculation. Advisor: Prof. doctor Luiz Antônio Zanão Junior.

ABSTRACT

Microalgae are potential sources of bioproducts for applications in several areas. In agriculture, they appear as a promising option as biostimulants, providing greater yield. Consequently, the objective of this study was to evaluate the effect of the microalgae *Chlorella sorokiniana* (strains IPR7104 and IPR70) with *Bradyrhizobium japonicum* in inoculation and coinoculation as a biostimulant of soybean agronomic parameters. Two experiments were conducted, one in a greenhouse and the other under field conditions at the experimental station of the Institute of Rural Development of Paraná, located in Santa Tereza do Oeste, PR. In a greenhouse, an emergency test was carried out to evaluate the biostimulant potential of the microalgae *Chlorella sorokiniana* on the seeds and in the field, to evaluate production components and chlorophyll levels. Six treatments were evaluated: control (without inoculation); inoculant only (*Bradyrhizobium japonicum*); supernatant from microalgae cultivation (strain IPR 7070) + inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*); pellet from microalgae cultivation (strain IPR 7070) + inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*); supernatant from microalgae cultivation (strain IPR 7104) + inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*) and pellet from microalgae cultivation (strain IPR 7104) + inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*). In the field, in addition to these, another treatment was evaluated, without inoculant (*Bradyrhizobium japonicum*) and with nitrogen fertilizer applied as top dressing. The design used was randomized blocks, with five replications. The emergence and dry matter production of seedlings, total chlorophyll content in leaves, nodule count, dry mass production of nodules, dry matter production of shoots and grain productivity were analyzed. Microalgae *Chlorella sorokiniana* (strains IPR7104 and IPR 7070) did not demonstrate biostimulant potential when applied as a seed treatment in soybean crops, isolated or in coinoculation with *Bradyrhizobium japonicum*.

KEYWORDS: plant growth; microalgae biomass; *Glycine max*.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Bioestimulantes e a produção agrícola.....	3
2.2 Microalgas como bioestimulantes.....	5
2.3 <i>Bradyrhizobium</i> e a coinoculação	9
2.4 Aspectos botânicos da soja	9
2.5 Exigências climáticas da soja	10
2.6 Soja no Brasil e no mundo.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1. Localização da área	13
3.2. Solo	13
3.3. Origem e condições de cultivo das microalgas.....	13
3.4. Descrição geral dos experimentos.....	14
3.4.1 Experimento 1. Tratamento de sementes - ambiente protegido	14
3.4.2 Experimento 2. Tratamento de sementes - campo	14
3.5. Análise estatística	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	234
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	245

1. INTRODUÇÃO

A soja é um dos produtos que se destaca no cenário do agronegócio brasileiro. É considerada a oleaginosa mais importante da agricultura contemporânea. Apresenta-se como um grão versátil de excelente valor proteico podendo ser utilizada tanto na alimentação humana quanto animal. Além disso, é utilizada para produzir biocombustíveis, como biodiesel (SOUSA, 2017).

A produtividade agrícola tem aumentado nas últimas décadas. A segurança alimentar depende de mudanças que ocorrem na maneira de se fazer agricultura, ou seja, trazer mais sustentabilidade é uma alternativa. Contudo estima-se em 60 % o crescimento da produção agrícola nos próximos 30 anos, devido ao crescimento populacional. Assim, manter altas produtividades e mitigar impactos ambientais é um desafio (ALVAREZ *et al.*, 2021).

Diante desse cenário, há a necessidade de práticas agrícolas que melhorem a produtividade dos cultivos de forma sustentável. As microalgas trazem muitas características para enfrentar esse cenário agrícola, principalmente na forma de bioestimulantes e biofertilizantes de plantas e até as protegendo contra ataques de patógenos (GARCIA-GONZALEZ; SOMMERFELD, 2016; SUPRAJA; BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2020; ALVAREZ *et al.*, 2021; ANDRADE *et al.*, 2021; KAPOORE; WOOD; LLEWELLYN, 2021).

O termo “algas” não se refere a um grupo taxonômico formal e sim a um grupo de organismos autotróficos pois, realizam fotossíntese, fixando o dióxido de carbono (CO₂). Desenvolvem-se em ambientes variados, como em água doce, água do mar e águas residuárias. Produzem e liberam substâncias extracelulares bioativas ou estimulantes que podem influenciar o crescimento e desenvolvimento das plantas ou à fixação biológica do nitrogênio, sendo consideradas como reguladoras de crescimento de plantas e como condicionadores de solo pois, podem melhorar a estrutura e retenção de água (BARSANTI; GUALTIERI, 2014; ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAH; IBRAHEEM, 2012).

Os bioestimulantes vegetais são definidos como microrganismos ou substâncias que, quando aplicados às plantas, são capazes de melhorar o crescimento vegetal, disponibilizar nutrientes, tolerar os estresses abióticos, dentre outros benefícios. Esta definição envolve diversas substâncias orgânicas e inorgânicas e/ou microrganismos, incluindo extratos de algas e microla, ácidos húmicos e fúlvicos, além de fungos e

bactérias (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014; CHIAIESE *et al.*, 2018; DU JARDIN, 2015 ; ROUPHAEL; COLLA, 2018).

Muitos estudos mostraram que extratos de microalgas podem atuar como bioestimulantes para plantas, apresentando potencial para serem utilizados em culturas convencionais (KAPOORE; WOOD; LLEWELLYN, 2021; ALVAREZ *et al.*, 2021). Foi relatado que os extratos de *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda* exercem um efeito positivo sobre *Beta vulgaris* na germinação, aumentando a eficiência e regularidade deste processo crítico (PUGLISI *et al.*, 2020).

A produção de bioestimulantes produzidos de microalgas, ainda é recente, e necessita de mais pesquisas para definir questões que possam limitar seu uso, como por exemplo, tipo ideal de aplicação, doses e frequências de aplicações e se há influência de tipos de solo sobre o desenvolvimento das culturas (KAPOORE; WOOD; LLEWELLYN, 2021).

Consequentemente, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da microalga *Chlorella sorokiniana* (estipes IPR7104 e IPR70) com o *Bradyrhizobium* na inoculação e coinoculação como bioestimulante de parâmetros agronômicos da soja.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bioestimulantes e a produção agrícola

A demanda global por produtos agrícolas segundo algumas projeções, está aumentando devido à crescente população. Já existem cerca de 7,9 bilhões de pessoas no planeta, e esse número deverá aumentar para quase 10 bilhões nos próximos 50 anos. A demanda por alimentos tende aumentar juntamente com a população (DANIEL *et al.*, 2022) e são esperados aumentos de 60 % sobre a demanda de alimentos, 30 % sobre o consumo de água e 45 % sobre o consumo de energia (PASQUAL; BOLLMANN; SCOTT, 2016; BÉLANGER; PILLING, 2019).

Fertilizantes e pesticidas desempenham um papel crucial na agricultura, representando uma ferramenta para os produtores aumentarem o rendimento das culturas e garantirem produtividade contínua ao longo das estações, tanto em condições ótimas quanto em situações de estresse (ROUPHAEL; COLLA, 2020).

Nas últimas três décadas, várias inovações tecnológicas foram propostas para aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola, para que eles supram a necessidade de alimentar o mundo sem prejudicar nenhuma geração futura, por meio de uma redução significativa de fertilizantes convencionais. Uma inovação promissora para o meio ambiente é o uso de bioestimulantes provenientes de organismos vegetais (COLLA; ROUPHAEL, 2015).

Os bioestimulantes podem ser grandes aliados da agricultura. Esses produtos têm chamado atenção devido aos seus potenciais de promover o crescimento acelerado das plantas, melhorando a produtividade delas (SUPRAJA; BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2020). Acredita-se que a palavra bioestimulante tenha sido cunhada por especialistas em horticultura a fim de descrever substâncias que, com pequenas doses, estimulam processos naturais do crescimento das plantas sem serem necessariamente nutrientes, corretivos de solo ou pesticidas (HALPERN *et al.*, 2015).

A UE (União Europeia) lançou recentemente o regulamento 2019/1009 onde os bioestimulantes são definidos como: um estimulante de plantas cuja função é estimular os processos de nutrição das plantas, independentemente do teor de nutrientes que esse produto contenha, com o único objetivo de melhorar uma ou mais características da planta ou da rizosfera vegetal (HENDRIKSEN, 2022).

Antes do estabelecimento desse regulamento, foram definidos alguns grupos de bioestimulantes, sendo os principais: substâncias húmicas, produtos contendo aminoácidos e microrganismos como fungos, bactérias e microalgas (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014).

As substâncias húmicas são constituintes naturais da matéria orgânica do solo. São compostos heterogêneos, originalmente categorizados de acordo com seus pesos moleculares e solubilidade em huminas, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. As substâncias húmicas e seus complexos no solo resultam, portanto, da interação entre a matéria orgânica, os microrganismos e as raízes das plantas (JINDO *et al.*, 2012; HENDRIKSEN, 2022).

Um dos efeitos dos bioestimulantes de substâncias húmicas refere-se ao aumento na absorção de nutrientes, devido ao aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) do solo. Além disso, melhora a disponibilidade de fósforo via interferência da precipitação de fosfato de cálcio, estímulo da membrana plasmática à conversão da energia livre, liberada pela hidrólise do ATP em um eletroquímica transmembrana usado para a importação de nitrato e outros nutrientes. O bombeamento de prótons pelas ATPases da membrana plasmática também contribui para o afrouxamento da parede celular, o que aumenta o tamanho das células e, conseqüentemente, causa o crescimento de estruturas vegetais (OLIVARES *et al.*, 2015; JARDIN 2015).

Quando falamos em misturas de aminoácidos e peptídeos, esses são obtidos por hidrólise química-enzimática de proteínas oriundas de vegetais ou animais, geralmente resíduos orgânicos. Glicina betaína é um caso especial de derivado de aminoácido com propriedades antiestresse bem conhecidas (COLLA *et al.*, 2014; HALPERN *et al.*, 2015; CHEN; MURATA, 2011).

Bioestimulantes de microrganismos, como a exemplo fungos, podem se relacionar com a rizosfera das plantas, promovendo efeitos que também estimulam o seu desenvolvimento. Fungos micorrízicos são um grupo heterogêneo que estabelecem simbioses com mais de 90% das espécies vegetais do planeta. Eles promovem maior absorção de macronutrientes (especialmente o fósforo e micronutrientes); melhoram a disponibilidade hídrica, levando em consideração uma expansão das raízes da planta e protegem contra estresses bióticos e abióticos, já que culturas bem nutridas se defendem de uma melhor forma (BEHIE; BIDOCHKA, 2014; TEDERSOO; BAHRAM; ZOBEL 2020).

As bactérias podem interagir com as plantas de diferentes maneiras, mas em geral, influenciam na ciclagem biogeoquímica; no suprimento de nutrientes; no aumento da eficiência do uso de nutrientes; na indução de resistência a doenças e pragas; no aumento da tolerância ao estresse abiótico e na modulação da morfogênese por reguladores de crescimento vegetal (DU JARDIN, 2015; BUONO, 2021). Os gêneros de bactérias com aplicações de bioestimulantes em plantas incluem *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Caulobacter*, *Serratia*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Hyphomicrobium*, dentre outras (GRAY; SMITH, 2005; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013).

Outra classe de microrganismos bioestimulantes relatada na literatura são as microalgas. Além de fornecerem nutrientes como nitrogênio e fósforo, elas também podem produzir e liberar substâncias biologicamente ativas extracelulares, que afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas ou a fixação biológica de nitrogênio (ANDRADE *et al.*, 2014; CASTRO *et al.*, 2017; MARKS *et al.*, 2017; BARONE, *et al.*, 2019). Além disso, extratos de microalgas podem fornecer fitohormônios e polissacarídeos que auxiliam no desenvolvimento acelerado de vegetais (RENUKA *et al.*, 2018). Efeitos antiestresse também foram relatados e podem envolver compostos protetores em extratos de algas marinhas, como antioxidantes e moduladores de genes endógenos de resposta ao estresse (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014).

2.2 Microalgas como bioestimulantes

As algas para uso na agricultura têm sido estudadas desde a década de 1960 e foi sugerido que aumentam o conteúdo de macronutrientes por meio da atividade de micronutrientes e metabólitos (BOOTH, 1969; DMYTRYK; CHOJNACKA 2018).

As microalgas são divididas em dois grupos: as algas procariontes, também conhecidas como algas azuis, cianobactérias ou cianófitas (divisões Cyanophyta e Prochlorophyta) e as eucariontes como algas verdes ou clorófitas (divisão Chlorophyta), diatomáceas (classe Bacillariophyceae), euglenoides (classe Euglenophyceae) e dinoflagelados (ANDRADE *et al.*, 2014; BARSANTI; GUALTIERI, 2014).

Esses organismos normalmente têm uma alta taxa de crescimento e podem se desenvolver em diferentes sistemas aquáticos, como água doce, água do mar ou mesmo salobra ou residuária. Os sistemas de produção de microalgas não requerem a utilização de áreas férteis, evitando a concorrência com a produção agrícola e potencialmente reduzem gases com efeito estufa no ambiente (ANDRADE *et al.*, 2014; MAURYA *et al.*, 2016).

As microalgas são complexos ativos constituídas, em menor ou maior quantidade, a depender da espécie, por enzimas; aminoácidos livres; biomoléculas orgânicas como polissacarídeos; além de metabólitos secundários, precursores de vitaminas (DINESHKUMAR *et al.*, 2018a; PLAZA *et al.*, 2018); e nutrientes e hormônios vegetais como auxinas e citocininas, que regulam o crescimento da planta (RENUKA *et al.*, 2018). Além disso, as microalgas podem conter também traços de giberelinas (STIRK *et al.*, 2013). Devido a essa composição complexa, as microalgas podem atuar como bioestimulantes de plantas.

A utilização de biofertilizantes das microalgas *C. vulgaris* e *S. platensis* provocou aumento significativo no crescimento, produtividade, qualidade das e germinação das sementes em plantas de arroz e milho (DINESHKUMAR *et al.*, 2018b; DINESHKUMAR *et al.*, 2019). O efeito de *C. vulgaris* como biofertilizante no crescimento e produção de videiras, bananeiras e alface também foi verificado (MONIEM; ABD-ALLAH; AHMED, 2008; FAHEED; FATTAH, 2008).

Ferreira *et al.* (2021) utilizaram três microalgas (*Tetrademus obliquus*, *Chlorella protothecoides*, *Chlorella vulgaris*) como bioestimulantes de germinação de sementes de tomate, agrião, pepino, soja, trigo e cevada, igualmente como biopesticida do fungo *Fusarium oxysporum*. As concentrações do extrato de microalgas foram de 1; 2,5 e 5 g L⁻¹. Verificou-se aumento no índice de germinação (IG) das sementes tratadas com os extratos de microalgas, especialmente, com *T. obliquus* e *C. vulgaris* em sementes de pepino. Os extratos de *C. vulgaris* mostraram-se mais eficientes na supressão fúngica. As supressões de *F. oxysporum* foram de 46, 49 e 50% para as concentrações de 1; 2,5 e 5 g L⁻¹ de *C. vulgaris*, respectivamente.

Kusvuran (2021) avaliaram aplicações foliares de extrato de *Chlorella vulgaris* em brócolis sob estresse hídrico (25% da capacidade de campo) nas concentrações de 1 %, 3 % e 5 % (v/v). Constataram que foram mitigados efeitos prejudiciais que a seca causaria, levando a um melhor desempenho de crescimento (aumentos de 9 a

132 %) quando comparado com as plantas sob estresse que não receberam aplicação de extrato de microalgas. Além disso, observou-se aumento do conteúdo de pigmento fotossintético, incluindo clorofila-a (6 a 60 %), clorofila-b (19 a 55 %) e carotenoides totais (26 a 114 %). A concentração de 5 % do extrato foi a mais eficiente nesse estudo, mostrando resultados promissores.

Oliveira *et al.* (2018) avaliaram *Chlorella* sp. no recobrimento de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas em condições de refrigeração. Constatou-se que maior firmeza de polpa e menores mudanças na coloração da casca das mangas conforme as concentrações do extrato da microalga foram aumentando. Onias *et al.* (2016) também avaliaram a qualidade pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins', quando tratadas com biofilmes enriquecidos com *Spirulina platenses*. A concentração de 3 % de amido de milho e 3 % da microalga em pó proporcionou aumento nos sólidos solúveis em torno de 30 %, perda de massa fresca inferior a 4 % e maior conteúdo de vitamina C, aos 11 dias de armazenamento.

2.2.1. Microalga *Chlorella sorokiniana*

As microalgas do gênero *Chlorella* são facilmente encontradas em lagos, oceanos e outros corpos d'água principalmente água doce. Algumas das espécies enquadrantes no gênero *Chlorella* mais citadas em literatura estão representadas na Figura 1. Essas espécies são ricas em aminoácidos, proteínas, polissacarídeos, ácidos graxos insaturados, carotenoides, vitaminas e minerais (potássio, sódio, magnésio, ferro e cálcio) (XIE *et al.*, 2020).

A aplicação do extrato de microalgas do gênero *Chlorella* algas e/ou sua biomassa, aumentaram a germinação de sementes e o crescimento de plantas cultivadas (comprimento da raiz, altura da planta, ramo e aumento de folhas e flores) (KIM *et al.* 2018; UYSAL; UYSAL; EKINCI, 2015).

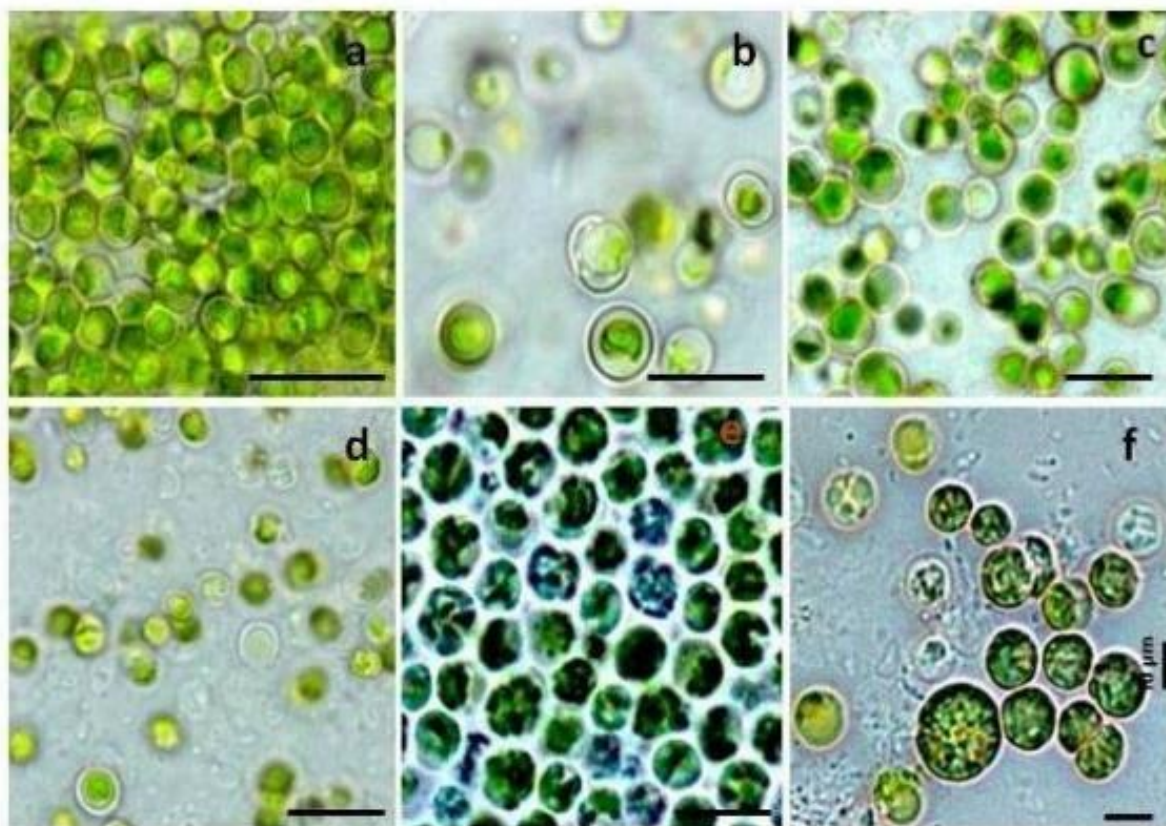


Figura 1 - Microalgas do gênero *Chlorella*, sendo: a) *Chlorella vulgaris*; b) *Chlorella volutis*; c) *Chlorella vulgaris* var. *autotrophica*; d) *Chlorella rotunda*; e) *Chlorella vulgaris* var. *viridis*; e f) *Chlorella sorokiniana*. Fonte: Adaptado de Phang et al. (2015).

Do et al. (2020), constataram que na extração dos lipídios totais de *C. sorokiniana* em metanol foram encontradas auxinas e giberelinas que exibiram um efeito estimulante na germinação inicial de sementes de arroz e tomate.

Muito além dos tratamentos bioestimuladores de plantas, as microalgas têm sido usadas para várias finalidades, inclusive para produtos farmacêuticos, cosmecêuticos, biocombustíveis, aquicultura, biorremediação de águas residuais, ração para gado e alimentação humana (CHANDA; MERGHOUB; EL ARROUSSI, 2019).

Kholssi et al. (2019) destacam o potencial de metabólitos extracelulares de microalgas *C. sorokiniana* como bioestimulante vegetal. Verificaram que a aplicação desse material provocou aumento na produção de biomassa seca total (em 22 % parte aérea e 51 % das raízes) e no comprimento das plantas de trigo (em 30 %) em comparação com a testemunha.

2.3 *Bradyrhizobium* e a coinoculação

Os rizóbios da soja são bioestimulantes que facilitam a fixação de nitrogênio (SOUMARE *et al.*, 2020).

Aproximadamente 20 a 400 kg ha ano⁻¹ de nitrogênio são fixados e transferidos para a planta através dessas bactérias, reduzindo a necessidade de uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos (ZHRAN, 1999).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma das fontes de nitrogênio mais baratas e eficientes para a soja pela associação simbiótica entre as bactérias da planta e do solo (principalmente do gênero *Bradyrhizobium*). A eficiência da FBN depende de vários fatores como espécie e cepa bacteriana, cultivar da cultura, especificidade da simbiose e ambiente predominante. As bactérias que formam uma simbiose fazendo a nodulação na soja, são *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii* e *Sinorhizobium fredii* (ZVEUSHE *et al.*, 2023).

A inoculação combinada ou coinoculação de cepas de rizóbios com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas do gênero *Azospirillum* exerce efeitos benéficos em leguminosas, principalmente a soja. Entre vários efeitos, a coinoculação promove maior ocupação de nódulos, nodulação precoce, aumento no peso seco do nódulo, peso seco da parte aérea e rendimento de grãos (CHIBEBA, 2020).

2.4 Aspectos botânicos da soja

A soja é uma leguminosa altamente cultivada comercialmente em todo o mundo por ser uma rica fonte em óleo vegetal e proteína (PRATAP *et al.*, 2012). Portanto desempenha um papel essencial na nutrição humana e na produção animal (DIXIT *et al.*, 2011). As sementes de soja incluem 35 % de proteína, 20 % de óleo comestível, 35 % de carboidratos (17 % dos quais são fibras dietéticas), cerca de 5 % de cinzas e outras vitaminas e minerais (BAKHOUM *et al.*, 2019; RAZA *et al.*, 2021).

É considerada uma planta herbácea inserida na classe Magnoliopsida (Dicotiledônea), ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Glycine*. Planta com grande variabilidade genética, tanto no ciclo vegetativo (período compreendido da emergência da plântula até a abertura das primeiras flores), como no reprodutivo (período do início da floração até o fim do ciclo da cultura), sendo muito influenciada pelo ambiente em que se situa (NASCIMENTO, 2022).

A família Fabaceae pertencente à ordem Fabales (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2016). Faz parte de um importante grupo de plantas, com mais de 2.807 espécies partilhadas em 222 gêneros disseminadas por todos os biomas brasileiros. A maior parte da diversidade florística na região Nordeste do Brasil e do domínio da caatinga pertencem a essa família e ainda tem sua importância pela fixação biológica de nitrogênio (BFG, 2015).

A soja possui raiz pivotante. Seu caule é herbáceo, ereto, revestido de pêlos e com altura média de 0,5 a 1,5 m. As folhas trifolioladas são do tipo alternadas, com grandes pecíolos de 7 a 15 cm de comprimento. As plantas são autógamas, com flores de cores variando de branca, roxa ou intermediária. Desenvolve vagens levemente arqueadas que de acordo com o amadurecimento, ocorre a mudança da cor verde para um marrom-claro, contendo de uma a cinco sementes. As sementes são lisas, elípticas ou globosas, com coloração amarelo pálido, de hilo preto, marrom ou amarelo-palha (SILVA, 2018).

As cultivares de soja tem ciclos que variam entre 75 e 210 dias podendo ser classificados em grupos de maturação como precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio, levando-se em consideração a região de cultivo (BORÉM, 2005).

2.5 Exigências climáticas da soja

A radiação solar está profundamente ligada à produtividade da soja pois é peça fundamental na fotossíntese, expansão foliar, pegamento de vagens e sementes, alongação de haste principal e ramificações e fixação biológica de nitrogênio (CÂMARA, 1997).

A luz é um fator essencial para planta, uma vez que ela capta luz e produz energia. Por isso o fotoperíodo é considerado uma variável climática, que identifica o período de luminosidade solar incidente, ou seja, o período que vai do amanhecer ao pôr do sol. A duração do dia é maior para as maiores latitudes no verão e menor no inverno (MONTEIRO *et al.*, 2015).

A soja é uma espécie sensível ao fotoperíodo e depende dele para a indução floral. A época em que a planta floresce é crucial para o rendimento de grãos, pois afeta o balanço entre o crescimento vegetativo e o reprodutivo (MUNDSTOCK; THOMAS, 2005).

Além do fotoperíodo, a temperatura também é um fator limitante para a cultura da soja, interferindo dessa maneira, no ciclo e na biometria da planta. As condições ótimas de temperatura para a cultura da soja variam entre 20 °C e 30 °C, sendo que a temperatura ideal para seu crescimento e desenvolvimento fica em torno de 30 °C (OLIVEIRA, 2019).

A disponibilidade de água é um outro fator limitante para a cultura. Durante o ciclo da soja existe uma necessidade hídrica de 450 a 800 L m⁻² para alcançar boas produtividades (OLIVEIRA, 2019). A necessidade hídrica aumenta conforme o avanço da cultura. São duas fases cruciais de disponibilidade hídrica: germinação-emergência e floração-enchimento de grãos. O período reprodutivo é o mais crítico com relação à exigência de água pela soja para garantir o alto rendimento de grãos e a ocorrência de chuvas nesse período é o fator mais determinante para esta cultura (ASSAD *et al.*, 2001).

2.6 Soja no Brasil e no mundo

Existem indícios do cultivo da soja (*Glycine max* L. Merrill) na China há cerca de cinco mil anos. É possível que o centro de origem da cultura provavelmente fique situado no Leste Asiático, considerado centro genético primário enquanto que a região Central da China é considerada como centro genético secundário (THOMAS; COSTA, 1996; TEJO; FERNANDES; BURATTO, 2019).

A soja chegou ao Brasil por volta de 1882, à Bahia, trazida dos Estados Unidos, mas seu êxito deu-se somente mais tarde na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2014). Nas décadas de 50 e 60 o cultivo de soja já apresentava sinais de consolidação, através da mudança na paisagem do planalto rio-grandense. Nessa ocasião a produção da oleaginosa foi impulsionada a crescer juntamente com o desenvolvimento da triticultura, porém, como cultura secundária (FREIRE; COSTA; STAMMEL, 2006).

Na década de 80 a produção de soja passou a ser significativa em outras Regiões como: Centro-Oeste, Norte e Nordeste e após o ano 2000 já se destacava pela rápida expansão em praticamente todas as regiões agrícolas do Brasil (COSTA; SANTANA, 2014). Este cenário tornou o Brasil um dos principais players globais no mercado da soja em grão, farelo e óleo. Cerca de 82 % da produção mundial atualmente está concentrada em três países: Estados Unidos, Brasil e Argentina. Existem outros

países relevantes na produção mundial como a China, Paraguai, Índia e Canadá, porém juntos representam apenas 12 % da produção mundial da oleaginosa (USDA, 2018).

A soja em grãos é protagonista na agricultura brasileira devido a diversas razões. Uma delas é ser a cultura que tem o maior espaço territorial dedicado à sua produção. Cerca de 55 % de toda área produzida é ocupada por ela. Além disso é uma das culturas mais importantes para a geração da renda do meio rural, colaborando com 51 % do valor de produção total da agricultura (IBGE, 2019).

O PIB da cadeia produtiva da soja e respectivamente do biodiesel dessa oleaginosa foi de R\$ 673,7 bilhões em 2022, o que representou 27 % de todo o PIB do agronegócio nacional. Há 12 anos, esta participação ficava em torno de 9 % apenas. De 2010 a 2022, o PIB dessa cadeia teve um aumento de 58 %. Comparado com o mesmo período de tempo, o agronegócio cresceu 8 % e a economia 12 %. O aumento do PIB da cadeia produtiva da soja também se deve ao aumento na produtividade média dessa cultura, conforme o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA, 2022).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização da área

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação e em condições de campo na Estação Experimental do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, no município de Santa Tereza do Oeste - PR, localizado sob as coordenadas 25° 04' 57,22" de latitude sul e 53° 35' 03,33" de longitude oeste e altitude média de 757 m.

O clima da região, segundo a classificação de Koppen, é Cfa, subtropical úmido, com temperaturas médias anuais variando entre 20 e 21 °C e precipitações totais entre 1800 e 2000 mm, bem distribuídos durante o ano e com verões quentes (NITSCHKE *et al.*, 2019).

3.2. Solo

O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico, de textura muito argilosa. Antes da implantação do experimento foram retiradas amostras de solo na área experimental, nas profundidades de 0-20 cm e os resultados se encontram na Tabela 1.

Tabela 1 – Análise química do solo utilizado no experimento.

Prof. cm	pH (CaCl ₂)	C g dm ⁻³	K -----	Ca	Mg cmol _c dm ⁻³	Al -----	H+Al	V --- % ---	m	P mg dm ⁻³
0-20	4,9	25,8	0,51	5,6	2,2	0,0	6,2	57	0	24,1

3.3. Origem e condições de cultivo das microalgas

As microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070) foram fornecidas da coleção de culturas do laboratório de microbiologia do solo do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Polo Regional de Pesquisa e Inovação de Londrina, Paraná.

As microalgas foram cultivadas em erlenmeyers de 250 mL em meio de cultura com líquido BBM (Bold's Basal Medium) (BOLD, 1949), incubada em estufa B.O.D sob a densidade de fluxo de fótons da radiação fotossinteticamente ativa (PAR–Photosynthetically Active Radiation) de $100 \pm 20 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas

fluorescentes tubulares. Com fotoperíodo de 12 h e temperatura controlada de $28,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, na fase luminosa, e $22,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, na fase escura.

3.4. Descrição geral dos experimentos

Foram conduzidos dois experimentos, sendo um em casa de vegetação e outro, em condições de campo para avaliar o tratamento das sementes da soja.

3.4.1 Experimento 1. Tratamento de sementes - ambiente protegido

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, no mês de novembro de 2023. A temperatura do ar foi mensurada diariamente durante o período experimental sendo a média diária de $28,5^{\circ}\text{C}$. O ambiente protegido possuía estrutura em arco oblongo, cobertura de polietileno leitoso de alta densidade com ativação anti-UV e tela termo-refletora, com 15 m de comprimento, 7 m de largura e pé direito de 3 m.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída de bandejas de polietileno de 25 cm de comprimento, 20 cm de largura e profundidade de 8 cm, preenchidas com 2,5 kg de areia grossa.

Foram avaliados seis tratamentos de sementes de soja: controle (testemunha); somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*).

Para cada tratamento foram tratados 3 kg de sementes em sacos plásticos de 5 L. Nos cinco em que houve inoculação, foram 25 mL do sobrenadante do cultivo da microalga ou 25 mL do preparo do pellet de cultivo de microalga da respectiva estirpe (IPR 7070 ou IPR 7104). No caso dos pellets, eles foram diluídos anteriormente em 50 mL de água destilada. O inoculante utilizado foi o *Bradyrhizobium japonicum* na dose de 2 mL kg^{-1} de sementes, concentração $10^{10} \text{ UFC mL}^{-1}$. No caso do tratamento testemunha as sementes foram tratadas com 25 mL de água destilada.

Após o tratamento das sementes elas foram colocadas à sombra para secar. Em seguida, foi realizada a semeadura, nas bandejas com areia. A semeadura foi realizada manualmente. As sementes foram cobertas com uma camada de 1 cm de areia. Em cada bandeja foram distribuídas sementes da cultivar de soja (*Glycine max*) BMX Zeus IPRO, com massa de mil grãos de 209 g. Foram semeadas 50 sementes, em triplicata, cobertas com 1 cm de areia e regadas.

A irrigação foi efetuada com água destilada, mantendo a umidade ideal, para atingir aproximadamente 10 % da massa da areia, diariamente.

A emergência foi avaliada sete dias após a semeadura, contando-se o total de plântulas emergidas por parcela e posteriormente convertendo-se em porcentagem.

Aos setes dias após a emergência as plântulas foram retiradas das bandejas e lavadas com aplicação de jatos de água. Após serem separadas da areia, foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas na estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, até massa constante. Após, foram pesadas em balança de precisão e determinada a produção de matéria seca de plântulas (raízes + parte aérea).

3.4.2. Experimento 2. Tratamento de sementes – condições de campo

Foram avaliados sete tratamentos: controle (testemunha, sem inoculação e aplicação de fertilizante nitrogenado aplicado em cobertura); sem inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e com fertilizante nitrogenado aplicado em cobertura; somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*); sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*) e pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*). O delineamento empregado foi o de blocos ao acaso, com cinco repetições. O tratamento das sementes foi semelhante ao corrido para o experimento conduzido em casa de vegetação.

As unidades experimentais apresentavam dimensões de 4 m de largura e 6 m de comprimento. A área útil de cinco linhas centrais, com espaçamento de 0,45 m, descartando-se 2,5 m das extremidades. A soja foi semeada em 20 de novembro de 2023 e colhida em 18 de março de 2024.

Na semeadura as linhas foram riscadas com semeadora, depositando-se o fertilizante (300 kg ha^{-1} do formulado NPK 04-20-20). A distribuição das sementes nos sulcos foi realizada manualmente. O controle de plantas daninhas, pragas e doenças foi realizado de acordo com as recomendações técnicas para a cultura.

A aplicação da dose da adubação nitrogenada de cobertura de um dos tratamentos foi realizada manualmente uma única vez, a lanço, utilizando-se ureia (45% N), sem incorporação, quando as plantas apresentavam o terceiro trifólio completamente desenvolvido. Foram aplicados 200 kg ha^{-1} de N.

Foram avaliados o número de nódulos, teor de clorofila total nas folhas, produção de matéria seca da parte aérea das plantas, produção de matéria seca de raízes e produção de matéria seca unitária de nódulo, além da produtividade de grãos.

No florescimento pleno da soja (estágio R2) foram coletadas plantas inteiras para avaliação de nodulação e produção de massa seca de parte aérea e raízes. Em cada parcela foram retiradas oito plantas da área útil, cavando-se aproximadamente 0,5 m em cada linha com uma pá reta e retiradas todas as raízes pelo menos 0,20 m.

Com o auxílio de uma tesoura de poda, separou-se a parte aérea das raízes. As raízes foram acondicionadas em sacos plásticos de 5 L e a parte aérea em sacos de papel de 10 kg. A parte aérea foi colocada para secar em estufa a 65°C até massa constante e posteriormente determinada a produção de massa seca. O mesmo procedimento foi realizado com as raízes, após a separação e contagem dos nódulos.

As raízes foram lavadas como auxílio de peneira de malha de abertura de 0,5 mm para evitar perdas de nódulos e congeladas para posterior separação dos nódulos das raízes para contagem. Após a contagem, os nódulos foram colocados em sacos de papel e secos em estufa a 65°C até massa constante e determinada a massa seca, assim como as raízes. A contagem dos nódulos foi realizada nos 10 cm da parte da coroa (CARDOSO *et al.*, 2009).

O conteúdo de clorofila total foi estimado através de clorofilômetro (Marca: Falker, Modelo: ClorofiLog) e expresso pelo índice de clorofila Falker (ICF). O equipamento possui uma escala de medição de 0 a 100 ICF e resolução de medição de 0,1 ICF.

As medições foram realizadas das 10 às 12 h, quando as plantas estavam em floração plena (R2). Foi avaliada a folha mais desenvolvida (os três trifólios), de cima para baixo, de dez plantas por parcela.

A colheita da soja foi realizada mecanicamente utilizando-se uma colhedora automotriz de precisão desenvolvida para unidades experimentais, da marca Wintersteiger SeedMech® (modelo Nursery Master Elite®), na área útil das parcelas.

Os grãos colhidos foram encaminhados ao laboratório para limpeza, pesagem e determinação da umidade. Posteriormente, foi calculada a produtividade (kg ha^{-1}) corrigindo a 13 % de umidade, conforme as Regras de Análises de Sementes - RAS (BRASIL, 1992).

3.5. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A emergência e a produção de massa seca de plântulas não foram influenciadas pela inoculação ou coinoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e microalgas *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070). A emergência média foi em torno de 98,0 % e a produção de massa seca de plântulas variou de 0,023 a 0,046 g plântula⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2– Emergência e produção de massa seca de plântulas de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e microalgas *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070) em casa de vegetação.

Tratamento	Emergência %	PMSPU g plântula ⁻¹
T1	99 a**	0,023 a**
T2	99 a	0,023 a
T3	97 a	0,031 a
T4	98 a	0,031 a
T5	97 a	0,036 a
T6	98 a	0,043 a
CV%	11,5	12,4
F	0,66	2,08

*T1 - controle (testemunha), T2 - somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T3 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T4- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T5 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T6- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*). **Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem a 5 % pelo teste de Tukey.

Ferreira *et al.* (2021) testaram a biomassa das microalgas *Synechocystis* sp., *Tetrademus obliquus*, *Chlorella protothecoides* e *Chlorella vulgaris* para verificar o efeito bioestimulante sobre germinação e crescimento de parte aérea de plântulas de soja, pepino, cevada, trigo, agrião e tomate. Para todas as microalgas e culturas avaliadas o efeito foi positivo na germinação e não houve efeito sobre a produção de massa seca da parte aérea. Marques *et al.* (2023) avaliaram a biomassa (5 %) de *Chlorella sorokiniana* (estirpe IPR7104) como bioestimuladora da germinação de sementes de milho e verificaram que não houve efeito nessa variável, mas houve estímulo no comprimento de raízes e da parte aérea das plântulas. Supraja *et al.* (2020) avaliaram a eficiência de extratos de microalgas (composto de *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirulina* sp. e *Synechocystis* sp.) como bioestimulantes por meio de tratamento de sementes e pulverização foliar para cultivo de tomate e verificaram

que as duas formas de aplicação apresentaram influência positiva sobre a germinação das sementes e a taxa de crescimento das plantas de tomate.

Alguns estudos mostram a maneira correta de aplicação de cada espécie de microalga, conforme Alvarez *et al.* (2021). Assim, talvez o tratamento de sementes não seria adequado para a utilização da *Chlorella sorokiniana* na cultura da soja.

O número de nódulos, teor de clorofila total nas folhas, produção de massa seca de parte aérea e raízes e produção de massa seca de um nódulo não foram alterados pelos tratamentos avaliados (Tabela 3). Assim, verificou-se que a inoculação e a coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e das microalgas *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070) não foram eficientes no aumento da nodulação e das variáveis fitotécnicas avaliadas. No entanto, Horácio *et al.* (2020) verificaram que a coinoculação de rizóbio, *azospirillum* e cianobactérias na cultura do feijão, promoveu aumento na maioria dos parâmetros avaliados, incluindo um número de nódulos maior em relação a testemunha não inoculada.

Tabela 3 – Número de nódulos, teor de clorofila total nas folhas, produção de matéria seca da parte aérea das plantas (PMSPA), produção de matéria seca de raízes (PMSR), produção de matéria seca de nódulos (PMSN) e produção de matéria seca de um nódulo de plantas (PMSUN) de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e microalgas *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070).

Tratamento	Nódulos n°	Clorofila total ICF	PMSPA g	PMSR g	PMSUN g ⁻¹ nódulo
T1*	242,5 a**	50,3 a	48,5 a	0,473 a	0,0038 a
T2	221,5 a	50,8 a	46,0 a	0,468 a	0,0035 a
T3	254,5 a	50,1 a	48,0 a	0,475 a	0,0038 a
T4	246,0 a	50,2 a	47,0 a	0,470 a	0,0036 a
T5	242,7 a	51,1 a	48,0 a	0,467 a	0,0034 a
T6	235,2 a	51,6 a	54,5 a	0,588 a	0,0046 a
T7	239,0 a	50,8 a	48,5 a	0,480 a	0,0035 a
CV%	12,5	2,67	12,7	11,5	14,2
F	0,46	0,66	0,78	2,45	0,97

*T1 - controle (testemunha), T2 - somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T3 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T4- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T5 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T6- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*). **Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem a 5 % pelo teste de Tukey.

O número médio de nódulos por planta variou de 221 a 254 (Tabela 3). Uma planta inoculada, à época de seu florescimento, deve apresentar de 15 a 30 nódulos segundo Hungria e Bohrer (2000). Assim, em todos os tratamentos, inclusive nos quais não houve inoculação, houve uma excelente nodulação da soja.

De acordo com estudos feitos por Cardoso *et al.* (2009), plantas de amendoim e de soja, apresentaram nodulação mais concentrada no sistema radicular primário, que seria o que chamamos de coroa da raiz. Esses dados podem explicar a não significância dos dados coletados neste estudo.

Kamicker e Brill (1987) também observaram que o inoculante adicionado ao sulco de semeadura produzia nódulos, principalmente na região superior da raiz da soja, indicando que o movimento dos rizóbios inoculados no solo é limitado, corroborando com os dados obtidos neste trabalho.

É importante destacar que as plantas que não foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* também desenvolveram nódulos, indicando a presença de bactérias nativas fixadoras de nitrogênio no solo. Quando bactérias do gênero *Rhizobium* são introduzidas via inoculantes, a possibilidade de espécies de bactérias nativas no solo não exclui a nodulação, a menos que a inoculação seja realizada em solo esterilizado. Uma inoculação bem-sucedida resulta em um aumento da nodulação na região da raiz da coroa, conforme Cardoso *et al.* (2009).

Um fator a ser considerado é que o estudo foi realizado com microalgas que podem servir como bioestimulantes, proporcionando inclusive o desenvolvimento de raízes (CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014). Como os nódulos das leguminosas são iniciados a partir dos pelos radiculares (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013), a estimulação da produção de pelos radiculares pela atividade das microalgas pode resultar em mais nódulos nas raízes das leguminosas e com maior massa também.

Barzotto (2015), descreveu que o processo de FBN pode ser avaliado pelo número de nódulos e pela massa seca dos nódulos e observou que os valores de número de nódulos foram diminuindo conforme o aumento da dose de N, em cobertura no estágio reprodutivo R2 da soja, diminuindo assim esta variável e a FBN. No presente estudo, não foi observada essa diminuição, utilizando-se 200 kg ha⁻¹ de N em cobertura.

A produção de matéria seca da parte aérea e de raízes das plantas também não foram estimuladas e não diferiram da testemunha e da adubação nitrogenada aplicada em cobertura. Segundo Horácio *et al.* (2020) a produção de matéria seca

está diretamente correlacionada ao crescimento da planta, maior taxa fotossintética, maior aproveitamento de nutrientes e logo, maior produtividade.

O teor de clorofila é proporcional à quantidade de N absorvida pela planta. É um parâmetro essencial no manejo nutricional, para estimar o status de nitrogênio das plantas, conforme Li *et al.* (2019). A clorofila é o pigmento que dá a cor verde às plantas e é parte crucial para a fotossíntese (Villa *et al.*, 2022). É a partir da fotossíntese que a planta obtém energia para crescer, desenvolver folhas e encher grãos. Pode-se dizer que com base nos dados representados na Tabela 3, todos os tratamentos analisados, apresentarem um bom status de N nas folhas.

Hajnal-Jafari *et al.* (2020) aplicaram células frescas da microalga *Chlorella vulgaris* S45 em folhas de acelga, causando aumento na concentração de clorofila e carotenóides, diferentemente do observado no presente estudo. De acordo com os autores, a resposta das plantas é geralmente mais rápida na aplicação via pulverização foliar, uma vez que a absorção via folhas e translocação de nutrientes é bastante rápida.

Foi relatado aumento nos teores de clorofilas e carotenóides em folhas, flores e frutos de plantas de tomate tratadas com algas, por Mutale-joan *et al.* (2020). O conteúdo de clorofila corresponde aos valores SPAD obtidos que correspondem ao status de nitrogênio das plantas, conforme Gitau *et al.* (2022).

A produtividade da soja não foi afetada estatisticamente pelos tratamentos empregados (Tabela 4). A coinoculação da microalga em pellet diluído, proporcionou um pequeno aumento na produtividade, no entanto, não significativo estatisticamente. Pereira *et al.* (2009) também, quando utilizaram uma cianobactéria como biofertilizante, relatou um pequeno aumento na produtividade do arroz, mesmo que não significativo estatisticamente. No entanto, afirmaram que pela redução do fertilizante nitrogenado, que é um dos mais caros no custo de produção do arroz, o resultado foi economicamente satisfatório. Chittapun *et al.* (2018) também relataram que o uso de meia dose (50 %) de fertilizante químico e inoculação de cianobactérias em plantas de arroz proporcionaram aumento significativo no crescimento e na produtividade das plantas de arroz. Ressalta-se que trabalhos como os Pereira *et al.* (2009) e Chittapun *et al.* (2018) utilizaram gramíneas como culturas teste, que são responsivas ao nitrogênio, o que não acontece, geralmente com a soja, por causa da FBN.

Tabela 4 – Produtividade de grãos de soja em função da inoculação e coinoculação das sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e microalgas *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070).

Tratamento	Produtividade kg ha ⁻¹
T1*	2.922,55 a**
T2	2.975,70 a
T3	2.896,88 a
T4	3.075,70 a
T5	2.896,29 a
T6	2.921,33 a
T7	2.905,18 a
CV%	4,08
F	0,84

*T1 - controle (testemunha), T2 - somente inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T3 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T4- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7070) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T5 - sobrenadante do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*), T6- pellet do cultivo da microalga (estirpe IPR 7104) + inoculante (*Bradyrhizobium japonicum*). **Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem a 5 % pelo teste de Tukey.

Palma *et al.* (2022) quando realizou experimentos verificando os efeitos da microalga (*Asterarcys quadricellulare*) no estresse salino, encontrou um aumento na produtividade da soja, mostrando que a microalga exerceu um efeito mitigador em estresses abióticos.

O potencial biofertilizante da microalga *Chlorella* sp. (KP972095) e *Scenedesmus* sp. (KR025877) foi avaliado individualmente e em consórcio, quando aplicada via solo em cultivo de tomate por Silambarasan *et al.* (2021). Houve estímulo ao desenvolvimento das plantas, verificado pelo aumento do peso fresco e seco da parte aérea e das raízes e maior produtividade de frutos em comparação com as plantas controle.

Mahmud *et al.* (2020) afirmam que a relação simbiótica entre bactérias do solo, conhecidas como rizóbios (que inclui os gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* e *Sinorhizobium*) e raízes de leguminosas geram nódulos fixadores de nitrogênio atmosférico através da ação da enzima nitrogenase. A FBN pelas plantas e suas associações bacterianas representa um importante sistema natural para capturar o N atmosférico e processá-lo em uma forma reativa de nitrogênio através da redução enzimática, principalmente a cultura da soja. Provavelmente isso explique por

que a responsividade perante a coinoculação de microalgas em soja não tenha sido significativa.

A produtividade da soja foi semelhante então entre os tratamentos (Tabela 4), diferentemente do que foi encontrado por Horácio *et al.* (2020) quando trabalhou com coinoculação de microalgas em feijoeiro. Eles constataram que quando houve a coinoculação, a produtividade de grãos foi superior.

5. CONCLUSÃO

As microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana* (estirpes IPR7104 e IPR 7070) não demonstraram potencial bioestimulante quando aplicadas na forma de tratamento de sementes na cultura da soja, isoladas ou em coinoculação com *Bradyrhizobium japonicum*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAH, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.

ALVAREZ, A. L.; WEYERS, S. L.; GOEMANN, H. M.; PEYTON, B. M.; GARDNER, R. D. Microalgae, soil and plants: a critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. **Algal Research**, v. 54, n. s/n, p. 1-24, 2021.

ANDRADE, D. S.; AMARAL, H. F.; GAVILANES, F. Z.; MORIOKA, L. R. I.; NASSAR, J. M.; MELO, J. M.; SILVA, H. R.; TELLES, T. S. Microalgae: cultivation, biotechnological, environmental, and agricultural applications. In: MADDELA, N. R.; CRUZATTY, L. C. G.; CHAKRABORTY, S. (Ed). **Advances in the domain of environmental biotechnology**. Singapura: Springer, 2021. p. 635-701.

ANDRADE, D. S.; MACHINESKI, G. S.; LOVATO, G. M.; COLOZZI FILO, A.; GOES, K. C. G. P. Inoculação de microalgas em plantas. In: ANDRADE, D. S.; COLOZZI FILHO, A. (Ed.). **Produção de biomassa e coprodutos**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2014. p. 411-438.

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. s/n, p.1-20, 2016.

ASSAD, E. D.; ALMEIDA, I. R.; EVANGELISTA, B. A.; LAZZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; EPOMUCENO, A. L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 9, n. 3, p. 415-421, 2001.

BARONE, V.; PUGLISI, I.; FRAGALÁ, F.; PIERO, A. R. L.; GIUFFRIDA, F.; BAGLIERI, A. Novel bioprocess for the cultivation of microalgae in hydroponic growing system of tomato plants. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 1, p. 465- 470, 2019.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology**. (2nd). Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 48.

BARZOTTO, F. **Nitrogênio e água como fatores de produtividade da soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

BAKHOUM, G.S., BADR, E.A.E., SADAK, M.S.; KABESH, M. O.; AMIN, G. A. Improving growth, some biochemical aspects and yield of three cultivars of soybean plant by methionine treatment under sandy soil condition. **International Journal of Environmental Research**, v.13, n. s/n, p. 35–43, 2019.

BEHIE, S. W.; BIDOCHKA, M. J. Nutrient transfer in plant-fungal symbioses. **Trends Plant Science**, v. 19, n. s/n, p. 734-740, 2014.

BÉLANGER, J.; PILLING, D. **The State of the World's Biodiversity for Food and Agriculture**. 2019. Rome: FAO, 572 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca3129en/>>. Acesso em: 08 jun. 2023.

BFG. Growing knowledge: An overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

BOLD, H. C. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, sp. nov. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 76, n. 2, p. 101-108, 1949.

BOOTH, E. The manufacture and properties of liquid seaweed extracts. *In*: **6th International Seaweed Symposium**, 1969, Madrid. Proceedings... Madrid: [s.n.], 1969. p. 655-662.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 525.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992, 365 p.

BUONO, D. D. Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. **Science of the Total Environment**, v. 751, n. 10 p. 141-763, 2021.

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

CÂMARA, G. M. S.; SEDIYAMA, T.; DOURADO-NETO, D.; BERNARDES, M. S. Influence of photoperiod and air temperature on the growth, flowering and maturation of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Scientia Agricola**, v. 54, n. s/n, p. 149-54, 1997.

CARDOSO, J.; GOMES, D. F.; GOES, K.; FONSECA JÚNIOR, N. S. Relationship between total nodulation and nodulation at the root crown of peanut, soybean and common bean plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 4, n. 8, p. 1760-1763, 2009.

CASTRO, J. S.; CALIJURI, M. L.; ASSEMAN, P. P.; CECON, P. R.; ASSIS, I. R.; RIBEIRO, V. J. Microalgae biofilm in soil: Greenhouse gas emissions, ammonia volatilization and plant growth. **Science of the Total Environment**, v. 574, n. s/n, p. 1640- 1648, 2017.

CEPEA – CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **Cadeia da soja e do biodiesel representou 27% do PIB do agronegócio e gerou 2 milhões de empregos em 2022**. Disponível em: <<https://cepea.esalq.usp.br>>. Acesso em: 14 de jun. 2023.

CHANDA, M. J.; MERGHOU, N.; EL ARROUSI, H. Microalgae polysaccharides: the new sustainable bioactive products for the development of plant bio-stimulants? **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1-10, 2019.

CHEN, T. H. H.; MURATA, N. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. **Plant Cell Environ**, v. 34, n. 1, p. 1-20, 2011.

CHIAIESE, P.; CORRADO, G.; COLLA, G.; KYRIACOU, M. C.; ROUPHAEL, Y. Renewable sources of plant biostimulation: microalgae as a sustainable means to improve crop performance. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. s/n, p. 1-6, 2018.

CHIBEBA, A. M.; KYEI-BOAHEN, S.; GUIMARÃES, M. F.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Towards sustainable yield improvement: field inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and co-inoculation with *Azospirillum* in Mozambique. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 9, p. 2579–2590, 2020.

CHITTAPUN, S.; LIMBIPICHAI, S.; AMNUAYSIN, N.; BOONKERD, R.; CHAROENSOOK, M. Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 79–85, 2018.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CANAGUIER, R.; SVECOVA, E.; CARDARELLI, M. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. s/n, p. 1-6, 2014.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. Biostimulants in horticulture. **Science Horticulturae**, v. 196, n. s/n, p. 1–2, 2015.

COSTA, N. L.; SANTANA, A. C. Estudo da concentração de mercado ao longo da cadeia produtiva da soja no Brasil. **Revista de Estudos Sociais**, v. 16, n. 32, p. 111-135, 2014.

DANIEL, A. I.; FADAKA, A. O.; GOKUL, A.; BAKARE, O. O.; AINA, O.; FISHER, S.; BURT, A. F.; MAVUMENGWANA, V.; KEYSTER, M.; KLEIN, A. Biofertilizer: the future of food security and food safety. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1220, 2022.

DMYTRYK, A.; CHOJNACKA, K. W. Algae as fertilizers, biostimulants, and regulators of plant growth. In: CHOJNACKA, K.; WIECZOREK, P. P.; SCHROEDER, G.; MICHALAK, I. (Ed.). *Algae biomass: characteristics and applications*. Singapura: Springer, 2018. p. 115-122.

DINESHKUMAR, R.; SUBRAMANIAN, J.; ARUMUGAM, A.; RASHEEQ, A. A.; SAMPATHKUMAR, P. Exploring the microalgae biofertilizer effect on onion cultivation by field experiment. **Waste Biomass Valorization**, v. 11, n. 11, p. 77-87, 2018a.

DINESHKUMAR, R., SUBRAMANIAN, J., GOPALSAMY, J.; JAYASINGAM, P. The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays* L.). **Waste Biomass Valorization**, v. 10, n. 4, p. 1101–1110, 2019.

DINESHKUMAR, R., KUMARAVEL, R., GOPALSAMY, J.; SIKDER, M. N. A. Microalgae as bio-fertilizers for rice growth and seed yield productivity. **Waste Biomass Valorization**, v. 9, n. s/n, p. 793–800, 2018b.

DIXIT, A. K.; JIX, A.; SHARMA, N.; TIWARI, R. K. Soybean constituents and their functional benefits. *In*: TIWARI, V.; KISBORE, N.; MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K.; TRIPATHI, V. (Ed). **Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry**. Kerala: Signpost, 2011. p. 367-383.

DO, T. C. V.; TRAN, D. T.; LE, T. G.; NGUYEN, Q. T. Characterization of endogenous auxins and gibberellins produced by *Chlorella sorokiniana* TH01 under phototrophic and mixotrophic cultivation modes toward applications in microalgal biorefinery and crop research. **Journal of Chemistry**, v. 2020, n. s/n, p. 1-11, 2020.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulture**, v. 196, n. s/n, p. 3–14, 2015.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja. 2014. 10 p.

FAHEED, F. A.; FATTAH, Z. A. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. **Journal of Agriculture & Social Sciences**, v. 4, n. 4, p. 165–69, 2008.

FERREIRA, A.; MELKONYAN, L.; CARAPINHA, S.; RIBEIRO, B.; FIGUEIREDO, D.; AVETISOVA, G.; GOUVEIA, L. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggy wastewater. **Environmental Advances**, v. 4, n. s/n, p. 1-9, 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FREIRE, J. R.; COSTA, J. A.; STAMMEL, J. G. Principais fatores que propiciaram a expansão da soja no Brasil. **Revista Plantio Direito**, v. 92, n. s/n, p. 1-, 2006.

GARCIA-GONZALEZ, J.; SOMMERFELD, M. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. s/n, p. 1051–1061, 2016.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, n. 3, p. 395-412, 2005.

HAJNAL-JAFARI, T.; SEMAN, V.; STAMENOV, D.; URIC, S. Effect of *Chlorella vulgaris* on Growth and Photosynthetic Pigment Content in Swiss Chard (*Beta vulgaris* L. Subsp. Cicla). **Polish Journal of Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 235–238, 2020. Polish Society of Microbiologists.

HALPERN M.; BAR-TAL A.; OFEK M.; MINZ D.; MULLER T.; YERMIYAHU, U. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. **Advances in Agronomy**, v. 129, n. 1, p. 141-174, 2015.

HENDRIKSEN, N. Microbial biostimulants – the need for clarification in EU regulation. **Trends in Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 311–313, 2022.

HORÁCIO, E. H.; ZUCARELI, C.; GAVILANES, F. Z.; YUNES, J. S.; SANZOVO, A. W. S.; ANDRADE, D. S. Co-inoculation of rhizobia, azospirilla and cyanobacteria for increasing common bean production. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 5, p. 2015-2028, 2020.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, n. 1, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 79-801, 2013.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. **Produção Agrícola Municipal (PAM)**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>>. Acesso em: 15 mai. 2023.

JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, n. 30, p. 3-14, 2015.

JINDO, K.; MARTIM, S. A.; NAVARRO, E. C.; AGUIAR, N. O.; CANELLAS, L. P. Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes, **Plant Soil**, v. 353, n. s/n, p. 209-220, 2012.

KAMICKER, B. J.; BRILL, W. J. Methods to alter the recovery and nodule location of *Bradyrhizobium japonicum* inoculant strains on field-grown soybeans. **Applied Environmental Microbiology**, v. 53, n. 8, p. 1737-1742, 1987.

KAPOORE, R. V.; WOOD, E. E.; LLEWELLYN, C. A. Algae biostimulants: a critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. **Biotechnology Advances**, v. 49, n. s/n, p. 107-754, 2021.

KHOLSSI, R.; MARKS, E. A. N.; MIÑÓN, J.; MONTERO, O.; DEBDOUBI A, R. A.D. C. Biofertilizing effect of *Chlorella sorokiniana* suspensions on wheat growth. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, n. 2, p. 644-649, 2019.

KIM, M.; SHIM, C.; KIM, Y.; KO, B.; PARK, J.; HWANG, S.; KIM, B. Effect of biostimulator *Chlorella fusca* on improving growth and qualities of Chinese Chives and Spinach in organicfarm. **Plant Pathology Journal**, v. 34, n. 6, p. 567–574, 2018.

KUSVURAN, S. Microalgae (*Chlorella vulgaris* Beijerinck) alleviates drought stress of broccoli plants by improving nutrient uptake, secondary metabolites, and antioxidative defense system. **Horticultural Plant Journal**, v. 7, n. 3, p. 221-231, 2021.

LI, R.; CHEN, J.; QIN, Y.; FAN, M. Possibility of using a SPAD chlorophyll meter to establish a normalized threshold index of nitrogen status in different potato cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. s/n, p. 834-841, 2019.

MAHMUD, K.; MAKAJU, S.; IBRAHIM, R.; MISSAOUI, A. Current Progress in Nitrogen Fixing Plants and Microbiome Research. **Plants** **2020**, Vol. **9**, Page **97**, v. 9, n. 1, p. 97, 2020. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

MARQUES, J. B. S.; TROYNER, J. S.; ARAÚJO, B.; MACHADO, W.; MURATA, M. M.; SUGUIMOTO, H. H. *Chlorella sorokiniana* as a biostimulator of maize seed germination. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 18, n. 2, p. 1-5, 2023

MARKS, E. A. N.; MIÑÓN, J.; PASCUAL, A.; MONTERO, O.; NAVAS, L. M.; RAD, C. Application of a microalgal slurry to soil stimulates heterotrophic activity and promotes bacterial growth, **Science of The Total Environment**, v. 605-606, n. s/n, p. 610- 617, 2017.

MAURYA, R.; PALIWAL, C.; CHOKSHI, K.; PANCH, I.; GHOSH, T.; SATPATI, G. G.; PAL, R.; GHOSH, A.; MISHRA, S. Hydrolysate of lipid extracted microalgal biomass residue: an algal growth promoter and enhancer. **Bioresource Technology**, v. 207, n. s/n, p. 197-204, 2016.

MONIEM, E. A. A.; ABD-ALLAH, A. S. E.; AHMED, M. A. The combined effect of some organic manures, mineral N fertilizers and algal cells extract on yield and fruit quality of Williams banana plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 4, n. 4, p. 417-426, 2008.

MONTEIRO, E. B.; DEMARTINI, W. F. B.; BOEING, E.; PALADINO, F. G. Crescimento de cultivares de soja em função de soma térmica acumulada na região de Sinop-MT. In: VII Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja, 2015, Florianópolis. **Anais eletrônicos** [...] Santa Catarina: Florianópolis, 2015. p. 1-3. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282869672_Crescimento_de_cultivares_de_soja_em_funcao_da_soma_termica_acumulada_na_regiao_de_Sinop-MT>. Acesso em: 15 maio. 2024.

MUNDSTOK, C. M.; THOMAS, A. L. **Soja**: fatores que afetam o desenvolvimento e o rendimento. Porto Alegre: Evangraf, 2005. 30 p.

MUTALE-JOAN, C.; REDOUANE, B.; NAJIB, E.; et al. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. Scientific Reports 2020 10:1, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

NASCIMENTO, J. C. S. **Componentes de produção de cultivares de soja submetidos à inoculação, no brejo paraibano**. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2022.

NITSCHKE, P. R.; CARAMORI, P. H.; RICCE, W. S.; PINTO, L. F. D. **Atlas Climático de estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2019. Disponível em: <<http://www.idrparana.pr.gov.br/Pagina/Atlas-Climatico>>. Acesso em: 14 jan. 2023.

OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; ROSA, R. C. C.; CANELLAS, L. P. Substrate

biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. **Science Horticulture**, v. 183, n. 1, p. 100-108, 2015.

OLIVEIRA, O. B. **Modelagem de distribuição potencial da soja no brasil frente às mudanças climáticas**. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário de Anápolis, Anápolis, 2019.

OLIVEIRA, Á. M. F.; ARAÚJO, R. H. C. R.; TEODOSIO, A. E. M. M.; LIMA, J. F.; FREITAS, E. F. Q.; SANTOS, J. J. F.; SANTOS, B. G. F. L.; ONIAS, E. A.; RODRIGUES, M. H. B. S.; ALVES, K. A.; OLIVEIRA, L. M. Postharvest quality of 'Prata Anã' bananas treated with microalgae coating. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 27, n. 2, p. 1-11, 2018.

ONIAS, E. A.; ROCHA, R. H. C.; LIMA, J. F.; ONIAS, E. A.; FURTUNATO, T. C. S. Organic *Tommy Atkins* mango postharvest quality when treated with biofilms enriched by *Spirulina platensis*. **Científica**, v. 44, n. 3, p. 286-293, 2016.

PALMA, M. S.; MÓGOR, Á. F.; MÓGOR, G.; AMATUSSI, J. Microalga added to *Bradyrhizobium* inoculant improve soybean tolerance to salt stress. **Journal of Applied Phycology**, v. 1, n. 1, p. 2489–2505, 2022.

PASQUAL, J. C.; BOLLMANN, H. A.; SCOTT, C. Water-Energy-Food nexus: background and perspectives for Brazil and the United States by 2050. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 108-120, 2016.

PEREIRA, I.; ORTEGA, R.; BARRIENTOS, L.; et al. Development of a biofertilizer based on filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria for rice crops in Chile. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 1, p. 135–144, 2009.

PHANG, S. M.; MUSTAFA, E. M.; AMBATI, R. R.; SULAIMAN, N. M. N.; LIM, P. E.; MAJID, N. A.; DOMMANGE, X.; SCHWOB, C.; LIEW, K. E. Checklist of microalgae collected from different habitats in peninsular Malaysia for selection of algal biofuel feedstocks. **Malaysian Journal of Science**, v. 34, n. 2, p. 141-167, 2015.

PLAZA, B. M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; JIMENEZ-BECKER, S. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on Florida × hybrida growth. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 2359-2365, 2018.

PRATAP, A.; GUPTA, S. K.; KUMAR, J.; SOLANKI, R. K. **Soybean**. New York: Springer, 2012. 293-321 p.

PUGLISI, I.; BARONE, V.; FRAGALÀ, F.; STEVANATO, P.; BAGLIERI, A.; VITALE, A. Effect of microalgal extracts from *Chlorella Vulgaris* and *Scenedesmus Quadricauda* on germination of *Beta Vulgaris* seeds. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 675, 2020.

RAZA, M. A.; GUL, H.; WANG, J.; YASIN, H. S.; QIN, R.; KHALID, M. H. B.; NAEEM, M.; FENG, L. Y.; IQBAL, N.; GITARI, H.; AHMAD, S.; BATTAGLIA, M.; ANSAR, M.; YANG, F.; YANG, W. Land productivity and water use efficiency of maize-soybean

strip intercropping systems in semi-arid areas: a case study in Punjab Province, Pakistan. **Journal of Cleaner Production**, v. 308, n. s/n, p. 127-282, 2021.

RENUKA, N.; GULDHE, A.; PRASANNA, R.; SINGH, P.; BUX, F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. **Biotechnology Advance**, v. 36, n. 4, p. 1255-1273, 2018.

ROUPHAEL, Y.; COLLA G. Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. s/n, p. 1-7, 2018.

ROUPHAEL, Y. COLLA, G. Editorial: biostimulants in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. s/n, p. 1-7, 2020.

SILAMBARASAN, S.; LOGESWARI, P.; SIVARAMAKRISHNAN, R.; et al. Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. **Chemosphere**, v. 268, p. 129323, 2021. Pergamon.

SILVA, R. A. **Impacto das mudanças climáticas sobre a produtividade e pegada hídrica da soja cultivada na região do Matopiba**. 291 f. Tese (Doutorado em Meteorologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2018.

SOUMARE, A., DIEDHIOU, A., THUITA, M., HAFIDI, M., OUHDOUCH, Y., GOPALAKRISHNAN, S.; KOUISNI, L. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. **Plants**, v. 9, n. 8, p. 10-11, 2020.

SOUSA, A. C. **Comercialização da commodity soja e o mercado futuro**. 32 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

SUPRAJA, K. V.; BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial Crops and Products**, v. 151, n. 1, p. 112-453, 2020.

STIRK, W. A; BÁLINT, P.; TARKOWSKÁ, D.; NOVÁK, O.; STRNAD, M.; ÖRDÖG, V.; VAN STADEN, J. Hormone profiles in microalgae: Gibberellins and brassinosteroids, **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, n. s/n, p. 348-353, 2013.

TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; ZOBEL, M. How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. **Science**, v. 21, n. 367, p. 64-80, 2020.

TEJO, D. P.; FERNANDES, C. H. S; BURATTO, J. S. Soja: fenologia, morfologia e fatores que interferem na produtividade. **Revista Científica Eletrônica de XIX FAEF**, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2019.

THOMAS, A. L.; COSTA, J. A. Influência do déficit hídrico sobre o tamanho das sementes e vigor das plântulas de soja. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 2, n. s/n, p. 57-61, 1996.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World agricultural supply and demand estimates.** 2018. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu>>. Acesso em: 15 mai. 2023.

UYSAL, O.; UYSAL, F. O.; EKINCI, K. Evaluation of microalgae as microbial fertilizer. **European Journal of Sustainable Development**, v. 4, n. 2, p. 77-77, 2015.

VILLA, V. V.; WENNECK, G. S.; TERASSI, D. S.; REZENDE, R.; SAATH, R. SPAD index as an indirect estimate of chlorophyll content in okra plants. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 9, n. 2, p. 1-5, 2022.

XIE, F.; ZHANG, F.; ZHOU, K.; ZHAO, Q.; SUN, H.; WANG, S.; ZHAO, Y.; FU, J. Breeding of high protein *Chlorella sorokiniana* using protoplast fusion. **Bioresource Technology**, v. 313, n. s/n, p. 123-624, 2020.

ZAHRAN, H. H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 63, n. 4, p. 968-989, 1999.

ZVEUSHE, O. K.; DIOS, V. R.; ZHANG, H.; ZENG, F.; LIU, S.; SHEN, S.; KANG, Q.; ZHANG, Y.; HUANG, M.; SARFARAZ, A.; PRAJAPATI, M.; ZHOU, L.; ZHANG, W.; HAN, Y.; DONG, F. Effects of co-inoculating *Saccharomyces* Spp. with *Bradyrhizobium japonicum* on atmospheric nitrogen fixation in soybeans (*Glycine Max* (L.)). **Plants**, v. 12, n. 3, p. 681, 2023.