

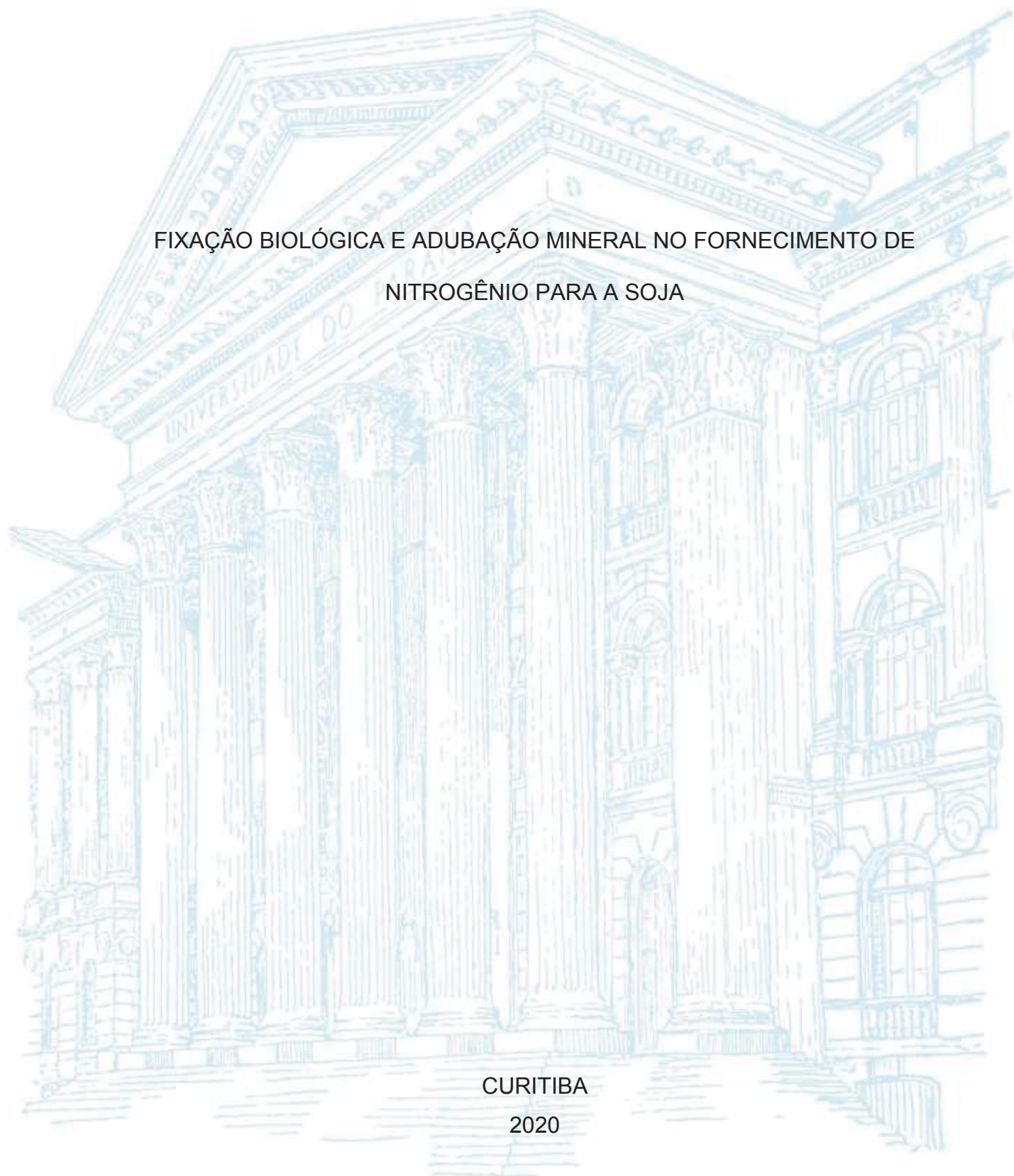
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

HENRIQUE AMARINHO NUNES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA E ADUBAÇÃO MINERAL NO FORNECIMENTO DE
NITROGÊNIO PARA A SOJA

CURITIBA

2020



HENRIQUE AMARINHO NUNES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA E ADUBAÇÃO MINERAL NO FORNECIMENTO DE
NITROGÊNIO PARA A SOJA

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Especialista no Curso de Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Wilian Carlo Demetrio

Co-orientadora: Prof.^a. Dra. Samara Alves Testoni

CURITIBA

2020

TERMO DE APROVAÇÃO

HENRIQUE AMARINHO NUNES

FIXAÇÃO BIOLÓGICA E ADUBAÇÃO MINERAL NO FORNECIMENTO DE NITROGÊNIO PARA A SOJA

Monografia aprovada como requisito parcial à obtenção do título de Especialista, Curso de Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Wilian Carlo Demetrio – Orientador
Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, UFPR

Prof. Dr. Volnei Pauletti – I Examinador
Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, UFPR

Msc Ederlan Magri – II Examinador
Departamento de Ciência do Solo, UFPR

Curitiba, 25 de Setembro de 2020.

DEDICATÓRIA

Agradeço primeiramente a Deus, pelo Dom da sabedoria e da determinação por seguir até o final.

Agradeço a minha família, que sempre, contribuíram e incentivaram a buscar a formação.

Ao meu orientador Wilian Carlo Demétrio e a minha co-orientadora Samara Testoni, os quais não mediram esforços para correção e orientação deste trabalho, com certeza, muito mais que obrigado.

Ao meu grande amigo Carlos Henrique pelo auxílio nas demais dúvidas que tinha durante certo momento, aos meus amigos Hiago Brito e Júnior Felipe que participaram de perto desta minha caminhada.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a este trabalho.

RESUMO

A soja é a leguminosa mais produzida no mundo. No Brasil, essa cultura tem grande participação no PIB (produto interno bruto) agropecuário, principalmente após a expansão das fronteiras agrícolas sobre o bioma Cerrado. A nutrição das plantas representa um dos grandes desafios da agricultura, pois é necessário fazer um balanço afim de reduzir os custos e maximizar a produtividade obtida. Nessa área, a soja possui destaque pois a sua produção no Brasil ocorre sem a aplicação de fontes nitrogenada, devido principalmente aos avanços no melhoramento genético e a seleção de estipes eficientes na fixação biológica de nitrogênio. Entretanto, além da utilização de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, outros métodos vêm sendo utilizados com o objetivo de aumentar a produtividade como a co-inoculação do *B. japonicum* com bactérias promotoras do crescimento vegetal, e a utilização de adubos nitrogenados. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão bibliográfica relacionada aos aspectos gerais do nitrogênio na cultura da soja, bem como comparar os resultados observados em diversos estudos. Foi observada grande variação nos resultados reportados em diversos estudos, sendo que no geral, a adubação nitrogenada na soja reduziu a massa de nódulos. Além disso, a co-inoculação do *B. japonicum* com bactérias promotoras do crescimento vegetal demonstrou grande potencial em aumentar a massa e o número de nódulos, bem como a produtividade da soja. Já a adubação nitrogenada, apesar de aumentar a produtividade da soja, tem eficiência inferior se comparada com a inoculação com *B. japonicum* e *B. japonicum* co-inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal, além de ser uma prática insustentável do ponto de vista ambiental e econômico, pela maior custo e utilização de fontes não renováveis de energia para a produção destes adubos.

Palavras-chave: Fixação biológica. Adubação suplementar. Co-inoculação.

ABSTRACT

Soybean is the most produced legume in the world. In Brazil, this crop has a large importance in the agricultural GDP, mainly after the expansion of agricultural frontiers over the Cerrado biome. Plant nutrition represents one of the greatest challenges of agriculture, as it is fundamental to be balanced in order to reduce costs and maximize the productivity obtained. In this area, soybean stands out because its production in Brazil occurs without the application of nitrogen sources, mainly due to the advances in genetic enhancement and the selection of efficient strains in biological nitrogen fixation. However, in addition to the use of bacteria of the genus *Bradyrhizobium*, other methods have been used in order to increase productivity, such as the co-inoculation of *B. japonicum* with plant growth promoting bacteria and the use of nitrogen fertilizers. Therefore, the aim of this work was to make a bibliographic review related to the general aspects of nitrogen in soybean culture, as well as to compare the results observed in several studies. Great variation was observed in the results reported in several studies, and in general, nitrogen fertilization in soybeans reduced the mass of nodules. In addition, the co-inoculation of *B. japonicum* with plant growth promoting bacteria demonstrated great potential in increasing the mass and the number of nodules, as well as the soybean productivity. Nitrogen fertilization, in spite of increasing soybean productivity, has lower efficiency compared to inoculation with *B. japonicum* and *B. japonicum* co-inoculated with plant growth promoting bacteria, in addition to being an unsustainable practice from the environmental point of view. and economical, due to the higher cost and use of non-renewable energy sources for the production of these fertilizers.

Keywords: Biological fixation. Supplementary fertilization. Co-inoculation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos.....	10
3. JUSTIFICATIVA.....	11
4. MATERIAL E MÉTODO.....	12
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
5.1 Soja no cerrado.....	13
5.2 O nitrogênio e a soja.....	13
5.3 Adubos nitrogenados.....	14
5.4 Fixação biológica de nitrogênio na soja.....	15
5.5 Dados nacionais sobre inoculantes e métodos de inoculação.....	17
5.6 Bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero <i>Bradyrhizobium</i>	18
5.7 Rizobactérias promotoras de crescimento em plantas e a co-inoculação.....	20
5.8 O gênero <i>Azospirillum</i>	21
6. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	23
6.1 Número de nódulos por planta.....	23
6.2 Massa da matéria seca dos nódulos.....	25
6.3 Produtividade de grãos.....	27
7. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max.* (L.) Merrill) é a leguminosa mais cultivada no mundo, isso ocorre devido ao seu elevado valor nutritivo (20% de óleos, 38% de proteína e 34% carboidratos) ao homem e aos animais. Além disso, possui alta adaptabilidade aos climas tropicais e subtropicais, ocupando uma área equivalente a 12,2% das terras cultiváveis do mundo (CONAB, 2020). No Brasil, essa cultura passou a ter grande relevância no cenário agrícola a partir dos anos 70 e consolidou-se devido à importância nos aspectos nutricionais e proteicos (EMBRAPA SOJA, 2007).

A produção de soja do Brasil iniciou na região sul e, a partir dos anos 70 com o desenvolvimento da atividade agrícola no cerrado, a participação da região centro oeste aumentou substancialmente a produção desta cultura. A expansão da área cultivada com soja no país é decorrente da inclusão das regiões do Centro Oeste e Norte, quanto o aproveitamento de áreas degradadas na região Centro sul. De acordo com a Companhia nacional de abastecimento (CONAB) (2020), na safra 2019/2020 a área plantada de soja no Brasil foi recorde, sendo estimada em 36.797,9 mil hectares com a produção de 122.225,2 mil toneladas, correspondendo a uma produtividade média de 3.322 kg ha⁻¹, indicando 3,49% a mais que a safra anterior e 11% a mais que o início da década passada (2009/2010).

No estado do Mato Grosso, segundo a Conab (2020), nos últimos 20 anos do cultivo da soja no estado a cultura teve um grande avanço, com aumento de 3,5 vezes em sua área cultivada (2,8 milhões de ha em 1999 para 9,97 milhões de ha em 2020) e aumento de 3,9 vezes na produção de grãos. Todo esse cenário é resultado, dentre outros fatores, ao uso de cultivares adaptadas à região oriundas dos programas de melhoramento genético, desenvolvimento e uso de novas tecnologias relacionadas à nutrição das plantas e ao manejo fitotécnico da soja.

Além desses fatores, também é importante citar a adoção do Sistema de Plantio Direto (SPD) e a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), ambas tecnologias que foram fundamentais para o aumento da área cultivada e incremento observado na produtividade da soja no estado do Mato Grosso. A FBN, realizada por bactérias diazotróficas pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium* é um dos casos mais bem sucedidos do uso de bactérias fixadoras de nitrogênio na agricultura, especialmente no Brasil, sendo assim um fator fundamental para sucesso do cultivo da soja em larga escala (HUNGRIA et al., 2005). Nessa relação simbiótica, as bactérias formam

estruturas especializadas (nódulos) nas raízes, onde captam o nitrogênio atmosférico (N_2), que, após a sua transformação (NH_3) é utilizado pela planta. Em troca a planta fornece à bactéria energia obtida através da fotossíntese, formando assim, uma perfeita associação, onde planta e bactéria são mutuamente favorecidas (CAMPO & HUNGRIA, 2002).

Assim como em qualquer cultivo, a correta nutrição da soja é uma das condições básicas para a obtenção de altas produtividades, fator indispensável em uma cultura tão competitiva no mercado internacional. Dentre os nutrientes essenciais para as plantas, o nitrogênio é o elemento mais importante para o incremento de fitomassa das plantas, sendo essencial na obtenção de altas produtividades (BISSANI et al., 2008; AMADO et al., 2010). Na cultura da soja, a alta demanda de nitrogênio é suprida, principalmente pela FBN (AMADO et al., 2010). Entretanto, segundo Petter et al. (2012), a quantidade total de N fornecida pela fixação biológica pode ser insuficiente para a soja, necessitando portanto de adubações nitrogenadas complementares para altas produtividades. Esta necessidade de adubação mineral extra na soja também foi relatada em diversos estudos (GAN et al., 2002; GAN et al., 2003; KLARMANN, 2004; ALVES et al., 2006).

Schefer et al. (2016), em seu trabalho aplicando fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura obteve resultados positivos quanto ao rendimento de grãos e viabilidade econômica, concluindo que é benéfica esse tipo de aplicação. Para Banry et al. (2013), apesar da redução do número de vagens por planta em tratamentos que receberam N, estes apresentaram maior número de grãos por vagens e maior massa de mil grãos quando comparados com a testemunha. Marcon et al. (2017), estudando diferentes fontes de nitrogênio na cultura da soja chegou à conclusão que a aplicação de nitrogênio líquido suplementar tem efeito positivo sobre o componente de rendimento da soja, como a massa de mil grãos. No mesmo estudo, os autores evidenciaram que a aplicação de uréia incrementou a produtividade de grãos. Tais resultados trazem à tona os questionamentos quanto à necessidade de se utilizar este tipo de fertilizante nas lavouras de soja do Brasil

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre as fontes de nitrogênio na cultura da soja, bem como comparar o efeito destas fontes sobre a nodulação, massa de nódulos e produtividade da cultura.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os principais tipos de inoculação e sua utilização na cultura da soja;
- Levantar dados bibliográficos referentes a trabalhos recentes que tenham estudado o efeito da inoculação, co-inoculação e da adubação nitrogenada na nodulação, e rendimento da cultura da soja.

3. JUSTIFICATIVA

A cultura da soja (*Glycine max* [L.] Merrill) possui grande importância na economia brasileira, pois tem o maior faturamento do Produto Interno Bruto (PIB) agropecuário. Essa cultura é exigente em vários nutrientes e, dentre eles o nitrogênio é o que apresenta a maior extração e exportação, sendo necessários em média 80 kg de N para produzir 1000 kg de grãos de soja (Silva et al., 2011), sendo ele obtido exclusivamente pela inoculação. Após seu estabelecimento dentro dos nódulos nas raízes da soja, as bactérias são capazes de realizar o processo de Fixação Biológica do Nitrogênio (FBN), e fornecer eficientemente este nutriente à cultura, proporcionando maiores produtividades (HUNGRIA et al. 2007). Sendo assim, novas tecnologias visando o incremento da produção estão sendo pesquisadas. Sabendo que os produtores estão aumentando os patamares de produtividade, para evitar o possível empobrecimento do solo, sem reduzir a produtividade da soja, muitos pesquisadores permanecem estudando, no mundo inteiro, a possibilidade de se aplicar nitrogênio na soja, aliando essa prática de manejo à fixação biológica.

Tecnologias assim contribuem para uma maior produtividade da soja e reduz os custos de produção, uma vez que, o fornecimento de nitrogênio via inoculação é mais barato que o fornecimento de adubos nitrogenados. Com essas tecnologias elimina-se, também, o risco de contaminação do meio ambiente ocasionados pelo excesso da má utilização de adubos nitrogenados, contribuindo para a sustentabilidade do sistema.

Portanto, justifica-se o estudo da adubação nitrogenada e da inoculação na cultura da soja para verificar se o fornecimento de nitrogênio mineral por meio de adubos nitrogenados influencia no desenvolvimento agrônomo da planta.

4. MATERIAL E MÉTODO

Este estudo constitui-se de uma revisão de literatura, realizada entre Janeiro e Maio de 2019, no qual realizou-se uma pesquisa à periódicos, revistas, trabalhos acadêmicos e publicações científicas, consultadas pelas palavras chaves: adubação, nitrogênio, soja, inoculação, FBN, adubação nitrogenada, via Scielo, google acadêmico e periódicos da CAPES, abordando os principais aspectos das palavras chaves pesquisadas.

Foram compilados trabalhos realizados nos últimos cinco anos que tenham estudado os efeitos de diferentes fontes de N na cultura da soja. Afim de comparar os efeitos observados em cada estudo, os resultados de cada trabalho foram divididos em: efeito sobre o número de nódulos (nº de nódulos por planta), massa de nódulos (gramas de nódulos por planta) e produtividade (produtividade por hectare) conforme o tratamento utilizado, sendo estes: Inoculação de *B. japonicum*, inoculação de *B. japonicum* juntamente com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) e, aplicação de nitrogênio. Os efeitos de cada tratamento foram sempre comparados de acordo com o tratamento controle com a seguinte equação: $\text{Resultado do controle} / \text{resultado no tratamento} \times 100 - 100$, com o objetivo de mostrar a porcentagem de efeito de cada tratamento aplicado sobre as variáveis já citadas.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 SOJA NO CERRADO

No Brasil, a soja começou a expressar valor comercial em meados da década de 1960. Nos anos 80 a expansão da soja no país abriu fronteiras, levando o progresso e o desenvolvimento para regiões despovoadas e desvalorizadas na região central do Brasil, principalmente em Goiás e Mato Grosso (CISOJA, 2014). Com a expansão de fronteiras agrícolas no país, é atualmente a cultura de maior importância econômica (COLUSSI, 2016). O Brasil é o segundo maior produtor e o maior exportador mundial de soja, produzindo 122 milhões de toneladas em 2020, sendo o Estado de Mato Grosso o mais produtivo da cultura da soja na Federação (CONAB, 2020). No cenário brasileiro, desde o ano de 2005, o estado do Mato Grosso apresenta a maior área de cultivo (9,5 milhões de hectares) e é líder em produção de soja (68,3 milhões de toneladas), representando a nível nacional aproximadamente 27% de ambos parâmetros. Do grão da soja se originam diversos produtos e subprodutos utilizados pela agroindústria, indústria química e de alimentos. A proteína é a principal substância de interesse, utilizada pela indústria de adesivos e nutrientes, alimentação animal, adubos, fabricação de fibra entre outros. Já o óleo extraído do grão é utilizado pela indústria de alimentos em geral e o óleo cru se transforma em óleo refinado e lecitina, os quais originam diversos outros subprodutos (EMBRAPA SOJA, 2007). Com as tecnologias empregadas na cultura da soja, tanto em manejo como em genética, a possibilidade de expandir seu cultivo em território nacional com elevadas produtividades se tornou realidade. Exemplo disso são as áreas nas regiões do Centro Oeste e em Estados do Nordeste que, embora sejam solos de textura arenosa, são atualmente as áreas mais expressivas na produção de soja no Brasil.

5.2. O NITROGÊNIO E A SOJA

A região do cerrado ocupa uma área equivalente a 22% do território nacional (MMA, 2020), além disso, a maior parte dessa área é potencialmente agricultável. No entanto, os solos do cerrado normalmente apresentam acidez acentuada e baixa fertilidade natural, sendo necessário o uso de grandes quantidades de insumos para a obtenção de índices de produtividade aceitáveis na cultura da soja. Dentre estes insumos, o elemento químico requerido em maior quantidade pela soja é o nitrogênio (N) (ARATANI et al., 2008; SANTOS NETO et al., 2013). O nitrogênio é constituinte

de proteínas, ácidos nucléicos, aminoácidos, nucleotídeos, coenzimas, alguns hormônios e da clorofila (TAIZ & ZEIGER, 2006), sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, tendo uma relação positiva entre a produção de fitomassa e este nutriente (LARCHER, 2000). Aproximadamente 90% do nitrogênio total da planta está na forma orgânica formando vários compostos como, aminoácidos, proteínas, amidos, purinas, piridinas, ácidos nucléicos, vitaminas e entre outros (BACHEGA, 2015). Quando há carência de nitrogênio, os sintomas de deficiência são observados inicialmente nas partes mais velhas da planta, devido à alta mobilidade do mesmo na planta. Os sintomas consistem de clorose, seguida de necrose, devido à menor produção de clorofila gerando assim baixa síntese proteica.

O nitrogênio é fundamental para a cultura da soja, uma vez que, os grãos são a fonte de proteína mais barata do mercado. A maior demanda de N ocorre na fase reprodutiva, sendo que do total, 84% são destinadas para os grãos e o restante para folhas, caules e raízes (HUNGRIA et al., 2001; HUNGRIA et al., 2007).

5.3. ADUBOS NITROGENADOS

O fertilizante nitrogenado mais utilizado no Brasil é a uréia, devido sua alta concentração de nitrogênio (45% de N), que por sua vez, reduz o custo do transporte, além de possuir alta compatibilidade com outros nutrientes. A uréia é um produto sintético obtido através da junção do dióxido de carbono (CO_2) e NH_3 em laboratório, que apresenta a fórmula química $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ que por ser um produto muito instável, quando aplicado ao solo pode facilmente ser hidrolisada pela ação da enzima urease e ser perdido na forma de gás amônia e CO_2 (ZAMBIAZI et al., 2014).

Diversos fatores também interferem diretamente nas perdas de N através da volatilização, tais como fonte utilizada, temperatura, umidade, pH do solo, textura do solo e teor de matéria orgânica, interferindo diretamente no aumento ou na diminuição da atividade da enzima urease, responsável pela degradação da uréia. (MAZZI et al., 2017).

A adubação mineral nitrogenada na soja requer cuidados especiais visando não prejudicar a fixação biológica de nitrogênio. De modo geral, recomenda-se a utilização de até 20 kg de N ha^{-1} na semeadura (THOMAS & COSTA, 2010). Todavia, por questões de frete ou econômicas os produtores acabam optando por fornecer o nitrogênio através de formulações comerciais como: 06-42-08, 11-52-00, 08-40-00;

08-28-16 (BACHEGA, 2015) uma vez que, os produtores alegam que a cultura necessita de N mineral na semeadura para o “start inicial” das plântulas, que é então fornecido junto com a adubação de base.

5.4. FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA SOJA

A FBN é a reação de redução do N_2 atmosférico realizada por microrganismos que possuem a enzima nitrogenase e são conhecidos como fixadores de nitrogênio ou diazotróficos (SOUZA & FERNANDES, 2006; CANTARELLA, 2007). A capacidade de transformar N_2 atmosférico em NH_3 é restrita a um pequeno grupo de organismos, que podem apresentar hábitos de vida livre, associativa ou simbióticas. A formação dos nódulos nas raízes da soja ocorre devido à simbiose entre bactérias diazotróficas e a planta hospedeira, envolvendo a ativação de vários genes e desencadeando processos específicos. Inicialmente, a bactéria penetra na raiz da soja formando um cordão de infecção que promove o crescimento de células do córtex, até resultar em uma estrutura (o nódulo) que aloja a bactéria em condições adequadas para que esta realize a fixação biológica do N_2 atmosférico por meio da enzima bacteriana nitrogenase (HUNGRIA et al., 2007; MATA et al., 2011).

Segundo Gaertner (2003) a relação de simbiose planta-rizóbio ocorre de forma que o nitrogênio atmosférico (N_2) penetra nas paredes do nódulo, onde é reduzido a amônia pela enzima nitrogenase. Todos os microrganismos fixadores de N_2 são procariotos e possuem o complexo nitrogenase, o qual por ser uma enzima redutora pode sofrer inibição pelo O_2 ou ser inativada quando já sintetizada, dessa forma alguns mecanismos de proteção atuam quando o processo de FBN está ativo (PARENTE, 2014). No caso da simbiose entre leguminosas e bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* este processo acontece no interior dos nódulos, onde a nitrogenase é protegida contra o excesso de oxigênio pela leghemoglobina, que dá coloração rósea aos nódulos (VARGAS et al., 2004; REIS et al., 2006).

As leguminosas regulam a permeabilidade dos gases nos nódulos de forma a manter um nível de oxigênio capaz de sustentar a respiração e, no entanto, sendo suficientemente baixo para não comprometer a atividade da nitrogenase (PARENTE, 2014; MACIEL, 2018). Os nódulos apresentam uma proteína, a leg-hemoglobina, presente em altas concentrações no citoplasma das células infectadas dos nódulos. A leg-hemoglobina possui uma alta afinidade pelo oxigênio, o que lhe confere a

capacidade de armazenar uma quantidade suficiente para a manutenção da respiração nodular. Sua função está relacionada ao transporte desse gás para respiração das células bacterianas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Bactérias diazotróficas ocorrem naturalmente como organismos de vida livre no solo e o estabelecimento da relação simbiótica com a soja depende de diversos processos. Inicialmente ocorre o reconhecimento específico entre ambos, com a liberação de atrativos químicos pelo sistema radicular da soja como flavonoides e betaínas, desencadeando uma resposta quimiotática nas bactérias, as quais migram em direção às raízes. Estes atrativos também são responsáveis pela ativação de proteínas do rizóbio que induzem a transcrição de genes que atuarão na formação do nódulo (OLDROYD & DOWNIE, 2008).

A FBN é afetada por diversos fatores, sendo os principais a acidez, temperatura e umidade do solo. As bactérias são sensíveis a mudança do pH, mostrando-se pouco tolerantes a solos muito ácidos. Segundo Hungria & Vargas (2000), o pH ideal para o desenvolvimento das bactérias diazotróficas é entre 6 e 7. Além disso, o estresse hídrico afeta o crescimento, formação e longevidade dos nódulos, a temperatura tida como adequada a uma boa nodulação encontra-se entre 25 e 35°C.

Geralmente a FBN é mais suscetível a falhas em áreas de primeiro ano de cultivo, devido a erros no processo de inoculação e principalmente às condições de acidez, teor de matéria orgânica, CTC e clima. De acordo com Zilli et al. (2008), ao identificar tal problema o produtor deve adotar medidas para reverter a falta do nutriente à cultura, como o uso de adubação mineral nitrogenada. Porém Hungria et al. (2005), salientam que muitas vezes essa técnica eleva os custos de produção.

Mendes et al. (2008), apontam que a adubação mineral é utilizada em alguns casos para superar problemas com a imobilização e competição por nutriente com plantas invasoras nos primeiros estágios da lavoura. Porém deve-se ter cuidado com o método principalmente pelo fato de que adição de fertilizantes nitrogenados pode prejudicar a ação dos rizóbios. As dúvidas sobre essa prática no (SPD) surgem devido a maior imobilização do N pelos resíduos vegetais presentes, necessitando da dose inicial de fertilizante nitrogenado para evitar sintomas de deficiência no início da lavoura.

Uma questão que tem sido abordada em muitos trabalhos é sobre uma possível senescência dos nódulos após o estágio de florescimento, afetando assim a

fixação de nitrogênio, podendo comprometer parcialmente a fase reprodutiva principalmente nas cultivares de ciclo longo (CRISPINO et al., 2001). Os primeiros trabalhos em relação à quantidade de N fixado por leguminosas, conduzidos no IAC, datam do final do século dezenove e início do século vinte, sendo que a partir da década de 50 consolidou-se a filosofia do uso da FBN como forma exclusiva de fornecimento de N para nutrição da soja (LOPES & GUILHERME, 2007).

5.5. DADOS NACIONAIS SOBRE INOCULANTES E MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

Segundo a associação Nacional de Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII) no Brasil na safra 2018/2019 foram utilizadas 63 milhões de doses de inoculantes, incremento de 11% em relação à safra anterior mesmo tratando-se de uma tecnologia consolidada (ANPII, 2020). Houve um aumento de 21% nas vendas de inoculantes a base de *Azospirillum brasilense*, o que se remete a uma taxa maior de adoção da co-inoculação na cultura da soja (ANPII, 2018), uma vez que na segunda safra do ano anterior, houve uma valorização do grão e aumento de área cultivada. A inoculação, consiste basicamente na aplicação do rizóbio na semente, seja ele na forma líquida ou turfosa, de acordo com o nível tecnológico empregado pelo produtor.

Visando tentar reduzir os danos causados, outros métodos e produtos estão sendo desenvolvidos (HUNGRIA et al., 2015, CAMPO et al., 2010). A aplicação via sulco de semeadura é uma prática adotada, consolidada e recomendada tecnicamente, principalmente pela sua praticidade e eficiência, pois apresenta resultados parecidos e as vezes melhores do que com os obtidos na aplicação tradicional via semente. (EMBRAPA, 2008; VIEIRA NETO et al., 2008). Neste método, o rizóbio é aplicado na mesma operação de distribuição da semente com a utilização de equipamentos específicos como: tanque de água + inoculante, mangueiras e bicos para pulverização acoplados as plantadeiras conciliando todo processo de plantio, tratamento de sementes e inoculação (HUNGRIA et al., 2007; VIEIRA NETO et al., 2008).

A diluição do inoculante na água, para aplicação no sulco de semeadura, melhora a distribuição do rizóbio na semente e no solo, distanciando-o da superfície e se estabelecendo onde há menor oscilação de temperatura e umidade, e evitando

seu contato com outros componentes que são inseridos no tratamento de sementes e ficando melhor localizado para infectar as raízes da soja (VOSS, 2002). Correia (2015), comparando a inoculação no sulco e nas sementes, mostra que a inoculação via sulco de semeadura proporcionou um aumento de produtividade correspondente a 335 kg ha⁻¹. O número de nódulos por planta também foi superior no tratamento de inoculação via sulco de semeadura, sendo igual a 37 nódulos por planta enquanto o tratamento com inoculação na semente apresentou 29 nódulos por planta. Zilli et al. (2010), observaram aumento de produtividade de 35% na inoculação via sulco de semeadura sobre a inoculação nas sementes no ano agrícola de 2007. Quanto à nodulação, na inoculação via sulco de semeadura a média foi de 20,6 nódulos por planta e na inoculação via sementes foi de 2,7 nódulos por planta.

Além da inoculação no sulco, a aplicação de inoculante em pós-emergência é um método que vem apresentando bons resultados e é realizada após as plantas emergirem entre os estádios V3 e V5, neste método o inoculante já misturado com água é pulverizado sobre a linha de semeadura. Pode ser utilizada como um complemento para a forma de inoculação adotada, para tentar amenizar problemas de uma má inoculação na semeadura e/ou promover um aumento de FBN em solos com acidez elevada, baixo teor de matéria orgânica e temperaturas altas, pois não fornecem condições básicas para a sobrevivência das bactérias. A dosagem nesse processo pode ser as mesmas utilizadas quando aplicadas em sulco de semeadura (ZILLI et al., 2008).

5.6. BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO DO GÊNERO *Bradyrhizobium*

O processo de nodulação começa aproximadamente duas horas após o contato da bactéria com as raízes (FAGAN et al., 2007). Segundo Taiz & Zieger (2013), as áreas alongadas e as regiões de formação dos pelos radiculares, são consideradas as áreas preferenciais para a infecção da bactéria e desenvolvimento dos primeiros nódulos.

Fagan (2007), cita que a evolução da infecção é formada por um canal dentro do pelo radicular, enquanto que no periciclo é iniciado o rearranjo do citoesqueleto microtubular, posteriormente acontece ativação das células na parte interna do parênquima cortical, podendo atingir camadas mais profundas, como o periciclo radicular. Com a presença do cordão de infecção, a multiplicação de células

tetraploides se estende progressivamente para o meio e a parte mais externa do córtex, de acordo com dois gradientes de diferenciação celular, resultando na formação de um primórdio nodular (TIMMERS et al., 1999).

A capacidade de multiplicação celular aumenta com a ação de reguladores vegetais de crescimento dos grupos das auxinas e citocininas, transformando as células tetraploides em meristemáticas, formando assim os nódulos radiculares, com o interior completamente infectado por células bacterianas (HUNGRIA et al., 1997).

O complexo da enzima nitrogenase é responsável pela fixação de nitrogênio no nódulo, transformando o N_2 em amônia (NH_3). Esse processo ocorre em ambiente anaeróbio, tendo a leg-hemoglobina e uma barreira de difusão de oxigênio como reguladores importantes na tensão de oxigênio no interior do nódulo, protegendo o complexo enzima nitrogenase que é irreversivelmente inativado pelo oxigênio (MYLONA et al., 1995).

Na fenologia da soja, os primeiros nódulos ocorrem com a infecção da raiz principal, tornando-se visíveis até o estágio V2. A partir disso, o crescimento nodular em massa e número de nódulos aumenta, atingindo seu auge em R2. Durante o ciclo da cultura tem-se uma contínua formação e renovação dos nódulos no sistema radicular da planta, tornando esse processo dinâmico e responsivo aos fatores edafoclimáticos, e acompanhando as necessidades da planta (FAGAN et al., 2007).

Com o início do período reprodutivo tem-se um incremento da atividade fotossintética e um decréscimo de infecção e formação de nódulos, uma vez que, há uma competição dos fotoassimilados, que deixam de ser uma fonte energética para os nódulos e passam a se acumular nos órgãos reprodutivos, bem como a remobilização do N de órgãos vegetativos para formação de vagens e grãos (FARGEIX et al., 2004). A partir desse estágio os nódulos começam a apresentar estagnação e redução de seu crescimento em número e massa, uma vez que os nutrientes estão sendo acumulados na semente, e não mais fornecidos às estruturas nodulares.

Alguns estudos já foram realizados com as quatro estirpes que hoje são as mais utilizadas comercialmente. Conforme Chueire et al. (2003), as estirpes mais utilizadas na cultura da soja no Brasil são: SEMIA 587 e SEMIA 5019 (= 29 w) pertencentes à espécie *Bradyrhizobium elkanii* e SEMIA 5079 (=CPAC 15) e SEMIA 5080 (=CPAC 7) pertencentes à espécie *Bradyrhizobium japonicum*.

Segundo Hungria (2015) os produtores brasileiros aplicam menos de 6% do

nitrogênio necessário para a soja, sendo grande parte, fixado a partir do N₂ da atmosfera, o que equivale a 150 milhões de toneladas de nitrogênio. A autora considera que a fixação biológica de nitrogênio traz uma economia financeira de 3,2 bilhões de dólares, e em valores atualizados estima-se a economia de fertilizantes nitrogenados em 15 bilhões de dólares anuais (HUNGRIA et al., 2005; HUNGRIA & MENDES, 2015).

5.7. RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS E A CO-INOCULAÇÃO

As Rizobactérias Promotoras de Crescimento em Plantas (RPCP's) são classificadas como microrganismos benéficos que podem influenciar o crescimento das plantas através do aumento na disponibilidade de nutrientes minerais, produção de fitohormônios e da supressão de microrganismos deletérios da rizosfera (GLICK, 2012; MAHMOOD et al., 2016). O crescimento vegetal é aumentado porque as RPCPs solubilizam fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo e produzem ou alteram a concentração de hormônios vegetais como o ácido indol acético (AIA), ácido giberélico, citocininas e etileno ou fixam nitrogênio associativamente. (NOSOLINE, 2016). As rizobactérias podem ser classificadas em quatro principais grupos: rizosféricas, endofíticas ou mesmo de vida livre e independentemente do local exato de habitat apresentam os mesmo mecanismos para promover o crescimento das plantas (DOTY, 2013).

Dentre as espécies mais estudadas podem-se citar: *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* e *Serratia*, os quais são exclusivamente microrganismos não simbióticos (SOMERS & VANDERLEYDEN, 2004). Os microrganismos dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* são considerados agentes de biocontrole de doenças de plantas, o que demonstra o seu grande potencial para utilização na agricultura (TEIXEIRA et al., 2007) e Diazotróficos promotoras de crescimento vegetal, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, e *Rhizobia* (BARRIUSO et al., 2008).

Como exemplos dos efeitos de RPCP's na produção de algumas culturas pode-se citar aumentos de 48% na produção de cenoura com a inoculação de *B. subtilis* (MERRIMAN et al., 1974) e aumento de 37% na produção e nodulação de amendoim com *B. subtilis* (TURNER & BACKMAN, 1991). Segundo Lanna Filho

(2010), o *B. subtilis* sob certas condições consegue realizar a regulação hormonal nas plantas, interferindo no crescimento das raízes devido a síntese de citocinina, giberelina e auxina. Costa et al. (2013), verificaram que algumas estirpes não nodulíferas produtoras de ácido indolacético dos gêneros *Bacillus*, *Enterobacter* e *Paenibacillus* aumentaram a produção de massa da matéria seca da parte aérea e da raiz de feijão-caupi. Por outro lado, Li et al. (2008), não encontraram nenhum efeito da inoculação em soja com estirpes produtoras de ácido indolacético (AIA) dos gêneros *Bacillus* e *Enterobacter*.

Com o avanço dos estudos nestas RPCP's surgiu a co-inoculação, que é uma técnica que se baseia na mistura de inoculantes oficialmente recomendados para a soja com outras RPCP's ou bactérias associativas. Apresentando-se como uma alternativa rentável para os agricultores. Esta técnica apresenta melhores resultados na FBN e maiores produtividades do que cada bactéria isolada, podendo ser utilizada na semente, no sulco de semeadura e em pós emergência das plantas. A co-inoculação mais utilizada e recomendada na cultura da soja é com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*, mas surgem diversos estudos neste ramo para tentar encontrar outros métodos, espécies e/ou estirpes que possam ter os mesmos efeitos ou melhores (HUNGRIA et al., 2013).

Desta forma abre-se uma variedade muito grande do ponto de vista comercial e agrônômico, pois há uma combinação composta de: diferentes espécies de microrganismos, estirpes, co-inoculação com dois, três ou mais microrganismos, diferentes formas de aplicação, doses e diferentes culturas a serem exploradas.

5.8. O GÊNERO *Azospirillum*

Entre as alternativas tecnológicas na agricultura com a finalidade de potencialização na eficiência e uso de fertilizantes químicos, está a utilização de inoculantes a base de bactérias promotoras de crescimento vegetal. Este grupo compreende microrganismos que coexistem de forma associativa na raiz, rizosfera e nos tecidos internos de diferentes órgãos de várias espécies de plantas, com a capacidade de estimular o crescimento e desenvolvimento, através de mecanismos diretos e/ou indiretos, nas plantas inoculadas (HUNGRIA et al., 2010).

De forma direta, essas bactérias atuam na síntese de fitormônios vegetais que, auxiliando no desenvolvimento da planta devido o suprimento gerado para esses

compostos, o que favorece a planta para conseguir explorar o solo e absorver água e nutrientes, aumentando sua resistência a estresses bióticos e abióticos (SINGH et al., 2013) e, também, atuam como agentes de controle biológico por induzirem resistência sistêmica na planta (BASHAN et al., 2014).

De maneira semelhante a utilização de estirpes do gênero *Bradyrhizobium* como fornecedor de nitrogênio, as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* merecem atenção, pois promovem a fixação do nitrogênio atmosférico para várias espécies, incluso leguminosas (FERREIRA et al., 2013) e, também, apresentam a capacidade de produzir e liberar para a planta compostos promotores de crescimento ou, até mesmo, estimular a produção endógena desses compostos (RODRIGUES et al., 2012), reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados, sem diminuir a eficiência da cultura (HUNGRIA et al., 2010).

Há vasta literatura que comprova a eficiência do gênero *Azospirillum*, sobretudo na interação com plantas forrageiras e gramíneas, com várias pesquisas relacionadas a sua capacidade de produção de fitormônios que induz o crescimento radicular e melhoram a absorção de água e nutrientes pelas plantas (DOORNBOS et al., 2012). Estudos demonstraram que alguns destes compostos, produzidos na interação planta-microrganismo, já foram identificados, tais como a auxina, ácido indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988), citocininas (CACCIARI et al., 1989), ácido giberélico (BOTTINI et al., 1989), além de outros compostos indólicos (CROZIER et al., 1988).

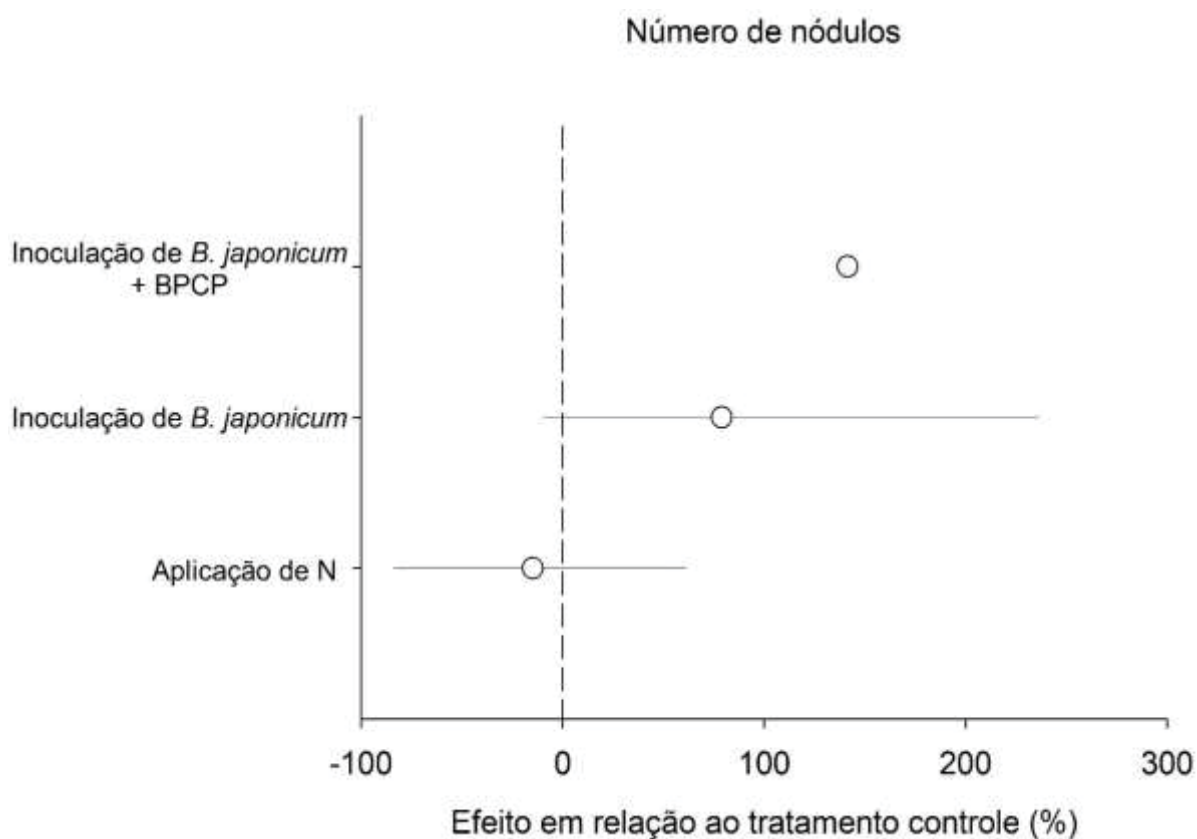
De acordo com Araújo et al. (2012), o sinergismo destas bactérias com a produção endógena da planta, pode aumentar a quantidade de compostos promotores de crescimento e auxiliar o desenvolvimento e produtividade das plantas, pois, observou-se sistemas radiculares mais desenvolvidos em plantas de soja que receberam inoculação nas sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* (BÁRBARO et al., 2009). Fachinelli (2018), também concluiu que a inoculação de sementes de soja com *Azospirillum brasilense* apresenta resultados de equivalência a soja inoculada com *Bradyrhizobium* e ao processo de co-inoculação. Paralelo a isso, a produtividade de plantas de feijão (GITTI et al., 2012) e soja (BÁRBARO et al., 2009) foram incrementadas pela inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e maiores valores médios de massa seca de parte aérea foram verificados em plantas de feijão com a inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes (GITTI et al., 2012).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 NÚMERO DE NÓDULOS POR PLANTA

O número de nódulos sofreu efeito dos tratamentos das fontes de N, sendo que a menor nodulação foi obtida com a utilização de adubos nitrogenados, chegando a redução drástica de aproximadamente 83% da testemunha com nitrogênio mineral em comparação com a testemunha.

FIGURA 1 - EFEITO MÉDIO DE DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO SOBRE O NÚMERO DE NÓDULOS DA SOJA EXTRAÍDOS DOS SEGUINTE TRABALHOS: PARENTE, (2014); BRACCINI et al. (2016); SOUZA, (2016); PASTORE, (2016); MACIEL, (2018); ZAGO et al. (2018); MARINKOVIĆ, (2018).



FONTE: O Autor, adaptados dos trabalhos mencionados na legenda.

Sendo assim a hipótese de que adubação mineral influencia a produção de nódulos negativamente é verdadeira. Segundo Parente, (2014) e Zago (2018), a obtenção de grande quantidade de nódulos viáveis é fundamental para um bom estabelecimento da cultura e boa capacidade de fixação de nitrogênio. Além disso, uma planta de soja com boa nodulação deve apresentar de 15 a 30 nódulos (EMBRAPA, 2007).

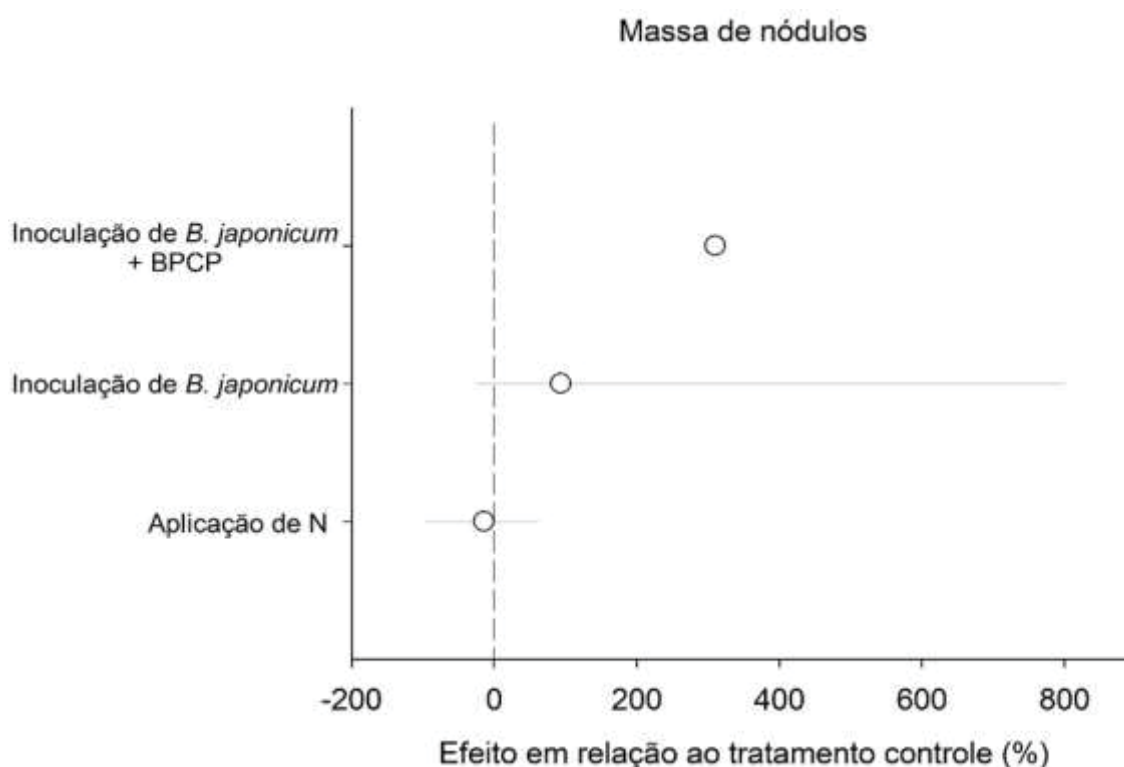
O compilado de dados deste estudo demonstram que os trabalhos descritos na literatura, relatam diminuição do número de nódulos por planta quando há aplicação de adubos nitrogenados na cultura da soja (Figura 1). A média geral dos trabalhos analisados foi de 18,84 nódulos por planta, quando inoculado somente com *B. Japonicum* e 24,43 nódulos por planta quando inoculadas por *B. Japonicum* + *Azospirillum brasilense*, estes resultados corroboram com resultados de Braccini et al. (2016) e Maciel (2018), os quais obtiveram 16,63 e 14,23 nódulos por planta, respectivamente versus 7,08 e 2,09 nódulos por planta com 200 kg ha⁻¹ de N com adubação nitrogenada via uréia. Hungria et al. (2013), obteve uma baixa nodulação na testemunha nitrogenada. Seu trabalho foi desenvolvido em quatro locais diferentes do Brasil onde a redução do número de nódulos foi de 46% em Londrina, 54% em Ponta Grossa, 76% em Rio verde e 92% em Cachoeira Dourada, totalizando uma diminuição média de 67%. Em experimento realizado no ano de 2013 na Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão (FEPE) da Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira (FE/UNESP), localizada no município de Selvíria-MS, Parente (2014), conduziu duas variedades de soja (BMX Potência RR e BRS Valiosa RR) com quatro doses de nitrogênio (0, 10, 20 e 40 kg ha⁻¹) na forma de uréia, em duas épocas de aplicação do fertilizante nitrogenado, na semeadura e no estágio reprodutivo R1. Concluiu-se que a aplicação de N em R1 apresentou resultados mais satisfatórios, promovendo maior quantidade que na semeadura. Tal resultado é devido ao antagonismo da adubação nitrogênica com a bactéria no plantio e ao estresse hídrico sofrido no início do desenvolvimento da cultura. De acordo com Bottomley & Myrold (2007), em suas formas minerais o N presente no solo afeta a fixação e a nodulação das plantas, devido a inibição e senescência dos nódulos formados. Sinclair et al. (2007), destacam o estresse hídrico como um dos fatores responsáveis pela queda no nitrogênio disponível para a planta.

Já Zilli et al. (2010), não observaram diferença estatística no número de nódulos no ano de 2006 comparando a testemunha nitrogenada com o inoculado sem fungicidas. Sendo assim, os resultados das pesquisas comprovam que a utilização de nitrogênio no plantio é responsável pela redução da quantidade de número de nódulos, este efeito negativo pode ser agravado em anos de baixa disponibilidade hídrica devido a sensibilidade das bactérias ao meio.

6.2 MASSA DA MATÉRIA SECA DOS NÓDULOS

Assim como observado para o número de nódulos, a massa seca dos nódulos também foi negativamente afetada pela adubação nitrogenada, com uma média geral de 14,28% menor em relação a aplicação de *B. japonicum* na semente (Figura 2). Entretanto, é válido observar que a porcentagem de redução da massa de nódulos devido a adubação nitrogenada foi inferior quando comparada ao efeito observado na massa de nódulos.

FIGURA 2 - EFEITO MÉDIO DE DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO SOBRE A MASSA DE NÓDULOS DA SOJA EXTRAÍDOS DOS SEGUINTE TRABALHOS: PARENTE, (2014); BRACCINI et al. (2016); SOUZA, (2016); PASTORE, (2016); MACIEL, (2018); ZAGO et al. (2018); MARINKOVIĆ, (2018).



FONTE: O Autor, adaptados dos trabalhos mencionados na legenda.

Segundo Hungria et al. (2001), as plantas que não apresentarem número de nódulos entre 15 e 30, deverão, no florescimento, apresentar de 100 a 200 mg de nódulos por planta para atingirem altas produtividades e suprirem a demanda total de nitrogênio, verificando assim que são poucos nódulos mas são nódulos grandes e com alto potencial de FBN. No trabalho de Souza (2016), avaliando a inoculação na

semente e em diferentes estádios (V1, V3, V6, R1 e R3) pós-emergência não obteve diferença significativa para em relação a testemunha e em relação a adubação nitrogenada para variável. Pastore (2016), avaliando a inoculação com *B. japonicum* em sementes com tratamento de sementes (CTS) e sem tratamento de sementes (STS) obteve um resultado 0,143 g e 0,163 g para os tratamentos acima citados, tal fato pode ser justificados devido a diminuição do número de células viáveis nas sementes. Sabemos que muitos produtos para tratamento de sementes podem matar os rizóbios, caso inoculação não siga recomendações dos institutos de pesquisa. Já Maciel (2018), trabalhando com doses de *B. japonicum* e *Bacillus subtilis* obteve resultado positivo apesar de não diferenciar significativamente.

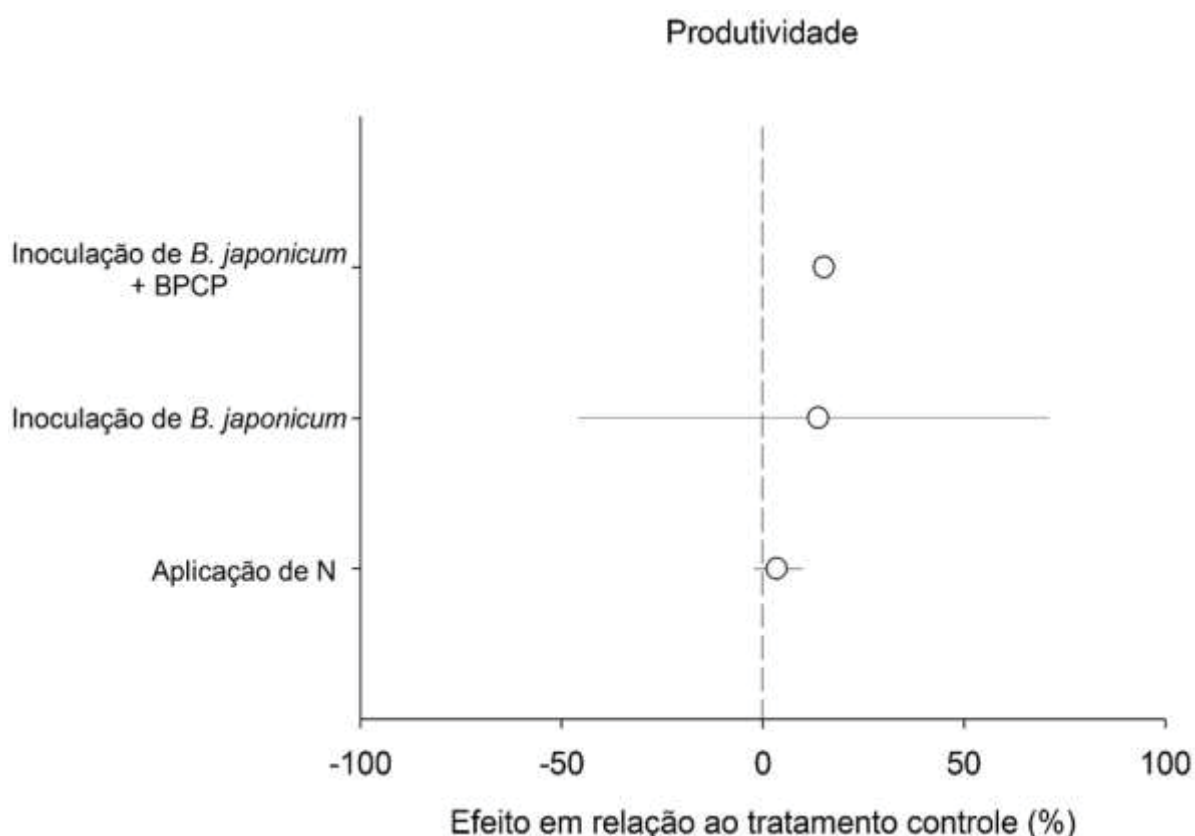
Um fator prejudicial pode ter sido o déficit hídrico que antecedeu a coleta, deixando os nódulos mais flácidos, uma vez que as plantas respondem defensivamente evitando ao máximo a transpiração. Com isso, não foi visualizado efeito das diferentes formas de aplicação da inoculação com *B. japonicum* ou da co-inoculação da mesma com *B. subtilis* embora também não tenha prejudicado na massa da matéria seca dos nódulos.

Resultado distinto foi observado por Braccini et al. (2016), onde o autor avaliou a eficiência da co-inoculação e de diferentes modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e seu efeito na nodulação, nos teores de N e nos componentes de produtividade da cultura da soja. Os tratamentos 1 (testemunha) e 2 (200 kg ha⁻¹) obtiveram, resultados de 56,11 e 91,25 miligramas de nódulos por planta, respectivamente contra 400,16 mg plantas⁻¹ com tratamento 9 (3 doses de inoculante *B. japonicum* + 2 doses de *Azospirillum brasilense*) aplicados no sulco de plantio. Tal resultado corrobora com trabalhos citados acima, confirmando que a adubação nitrogenada para a cultura da soja é dispensável, uma vez que, seja utilizada a inoculação. Assim, é possível influenciar positivamente a qualidade dos solos ao evitar os problemas causados pelo uso de adubos nitrogenados (PANG et al., 1997; LARA CABEZAS et al., 2000). Os resultados obtidos no trabalho de Araújo & Hungria, (1999); Hungria et al. (2007); Brandelero et al. (2009); Braccini et al. (2016) e Maciel (2018) demonstram que uma massa de nódulos acima de 200 mg planta⁻¹ são suficientes para fornecer N requerido por uma planta de soja para seu desenvolvimento normal. Analisando tais fatos é primordial não só a manutenção do número de nódulos como o incremento de sua massa, aumentando assim seu potencial de fixar nitrogênio.

6.3 PRODUTIVIDADE DE GRÃOS

A produtividade dos tratamentos com inoculação e suas variáveis com co-inoculação influenciaram positivamente na produtividade em relação a testemunha com uma média de 15,2% a mais que a testemunha nos tratamentos com associação de bactérias promotoras de crescimento e 13,8% nos tratamentos somente com *B. japonicum* como demonstra a figura 3. No entanto, é valido ressaltar que os efeitos da inoculação com *B. japonicum* foram bastante variados, devido, principalmente ao maior número de trabalhos realizados com esta finalidade.

FIGURA 3 - EFEITO MÉDIO DE DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO SOBRE A PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DA SOJA EXTRAÍDOS DOS SEGUINTE TRABALHOS: PARENTE, (2014); BRACCINI et al. (2016); SOUZA, (2016); PASTORE, (2016); MACIEL, (2018); ZAGO et al. (2018); MARINKOVIĆ, (2018).



FONTE: O Autor, adaptados dos trabalhos mencionados na legenda.

As maiores diferenças de produtividade foram encontradas no trabalho de Braccini et al. (2016), no qual ele diferentes doses de inoculação e co-inoculação e diferentes formas de aplicação, obtendo 3.346,9 kg ha⁻¹, um valor 73,58% maior que o tratamento sem inoculação.

Assim, o resultado obtido corrobora com o de Santos Neto (2013), que avaliou o efeito da adubação mineral de N, associado ou não à inoculação no qual obteve um aumento positivo ($2.843,2 \text{ kg ha}^{-1}$) em relação a testemunha ($2.563,80 \text{ kg ha}^{-1}$). Marinković (2018), associou a inoculação a bactérias promotoras de crescimento e também obteve uma média geral dos tratamentos de 3,34% a mais que a testemunha.

Resultado semelhante ao de Souza (2016), que avaliando a inoculação pós emergência nos estádios V1, V3, V6, R1 e R3 em área irrigada, independentemente do estágio de desenvolvimento, ocorreu aumento em 21% de produtividade em comparação com a inoculação via semente. Entretanto, na área de sequeiro não ocorreu diferença entre as inoculações suplementares com a inoculação via semente. Marinković et al. (2018), avaliaram na Sérvia, os mesmos tratamentos, e a co-inoculação com *B. subtilis* resultou em uma queda de produtividade. Este resultado corrobora com resultados obtidos por Bulegon et al. (2016), onde em seu trabalho analisando duas variedades de soja e a associação da inoculação com *A. brasilense* obteve decréscimo da produtividade em relação a testemunha. Bárbaro Torneli et al. (2018) não encontraram diferença estatística na produtividade, corroborando com esses resultados, enquanto, Zilli et al. (2008) também observaram queda da produção em $12,2 \text{ sacas ha}^{-1}$ na inoculação pós-emergência em comparação com a inoculação padrão e 18 sacas ha^{-1} da testemunha.

Tais resultados podem ter relação com diversos fatores. A presença de bactérias nativas e umidade do solo foram os principais fatores citados pelos autores para justificar tais resultados negativos, uma vez que, a falta de umidade desidrata o nódulo e consequentemente diminui ou cessa a atividade da nitrogenase e pode desencadear respostas fisiológicas e anatômicas nas plantas, como diminuição da emissão de pelos radiculares, diminuição da síntese de leghemoglobina e abortamento de nódulos (FERNANDES JÚNIOR & REIS, 2008). O abortamento de nódulos reduz drasticamente a capacidade de fixação de nitrogênio, tornado assim deficiente o suprimento de N e consequentemente reduzindo a produtividade da soja nesses casos. No entanto, em casos em que o período de seca é curto, ocorre a reidratação dos nódulos e a enzima nitrogenase é reativada, retomando a FBN e reduzindo os danos na cultura (FERNANDES JÚNIOR & REIS, 2008).

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que todas as formas de fornecimento de N promovem incremento na produtividade, contudo, a adubação mineral afeta negativamente a massa de nódulos, tornando inviável sua aplicação como fonte de nitrogênio.

Os tratamentos com co-inoculação obtiveram melhores resultados para todos os fatores em relação ao tratamento com somente inoculação.

Embora alegamos tais implicações, entendemos que existe muita variabilidade de resultados, para todas as fontes de N, no que se refere a massa de nódulos e produtividade da soja, sendo necessário, portanto, o contínuo estudo sobre tais técnicas associadas ao sucesso do cultivo de soja.

REFERÊNCIAS

- ALVES, B. J. R.; ZOTARELLI, L.; FERNANDES, F.M.; HECKLER, J. C.; MACEDO, R.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 449-456. (2006). Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2006000300011&lng=pt&nrm=iso>. acesso em 12 jul. 2020. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300011>.
- AMADO, T. J. C.; SCHLEINDWEIN, J. A.; FIORIN, J. E. **Manejo do solo visando à obtenção de elevados rendimentos de soja sob sistema plantio direto**. In: Thomas AL & Costa JA (Eds.) (2010) Soja - Manejo para alta produtividade de grãos. Porto Alegre, UFRGS. p.35-97
- ANPII (ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES). **Levantamento do uso de inoculantes no Brasil**. 2019.
- ARATANI, R. G.; LAZARINI, E MARQUES, R.R. BACKES, C. Adubação nitrogenada em soja na implantação do sistema plantio direto. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 24, n. 3, p. 31-38, July/Sept. 2008.
- ARAÚJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1633-1643, set. 1999
- ARAÚJO, F. F.; GUABERTO, L. M.; DA SILVA, E I. F. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.521-527, 2012. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982012000300007&lng=en&nrm=iso>. access on 12 July 2020. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000300007>.
- BACHEGA, R. C. C. **Efeito da adubação nitrogenada nas características agrônômicas em soja sob baixa latitude**. 2015. Disponível em: <http://www.uft.edu.br/producaovegetal/dissertacoes/RICARDO%20CESAR%20COSTA%20BACHEGA.pdf> . Acesso em: 05 fev. 2020.
- BANRY, C. A.; VENSKE, E.; NARDINO, M.; FIN, S. S.; ZIMMER, P. D.; SOUZA, V. Q. de; CARON, B. O.; **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.2, p.9-14, jun. 2013.
- BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, E J. A. A. Produtividade da soja em resposta a inoculação padrão e coinoculação. **Colloquium Agrariae**, v.5, p.1-7, 2009.
- BÁRBARO, I. M.; BARBARO JUNIOR, L. S.; TICELI, M.; MACHADO, P. C.; MIGUEL, F. B. Resultados preliminares da coinoculação de *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 8, n. 2, p. 1-6, 2011.

BÁRBARO-TORNELI, L. M.; FINOTO, E. L.; TOKUDA, F. S.; MEDEIROS, C. N. F.; GASPARINI, A. C.; BORGES, W. L. B.; Influência de modos de aplicação da co-inoculação no desempenho agrônomo de soja. **Nucleus**. Edição Especial, 2018. doi:<https://doi.org/10.3738/1982.2278.3008>

BARRIUSO, J.; SOLANO, B. R.; LUCAS, J. A.; LOBO, A. P.; GARCÍA-VILLARACO, A.; MAÑERO, F. J. G. (2008) **Ecology, genetic diversity and screening strategies of plant growth promoting rhizobacteria**. In: Ahmad, I.; Pichtel, J.; Hayat, S. (ed). PlantBacteria Interactions. Strategies and Techniques to Promote Plant Growth, p. 1-17.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. B. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). **Plant and Soil**, v. 378, p. 1-33. 2014.

BISSANI, C. A.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F. A.O.; TEDESCO, M. J. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre. Ed. Metrópole. 2008. 344p.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; SUZUKAWA, A. K.; LIMA, L. H. da S.; PICCININ, G. G. (2016). Co-inoculação e Modos de Aplicação de Bradyrhizobium japonicum e Azospirillum brasilense e Adubação Nitrogenada na Nodulação das Plantas e Rendimento da Cultura da Soja. **Scientia Agraria Paranaensis**. 15. 27-35. 10.18188/1983-1471/sap.v15n1p27-35

BRANDELERO, E. M.; PEIXOTO, C. P.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. Semina: **Ciências Agrárias**, v.30, n.3, p.581-588, 2009

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

BOTTOMLEY, P. J.; MYROLD, D. D. Biological N inputs. In: PAUL, E. A. (Ed.). **Soil microbiology, ecology and biochemistry**. 3. ed. Oxford: Academic Press, 2007. p.365-388.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; EGEWARTH, V. A.; SANTOS, M. G.; HELING, A. L.; FERREIRA, S. D.; WERGRAT, A. P. G. S.; BATTISTUS, A. G. Crescimento e trocas gasosas no período vegetativo da soja inoculada com bactérias diazotróficas. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v.4, n.5, p.277-286, set/out. 2016.

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

CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Soja: importância dos micronutrientes na fixação biológica do N₂. 2002. **Informações Agrônomicas**. (98): 6-9, 2002.

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; MOSTASSO, F. L.; HUNGRIA, M. Inoculação no sulco

de plantio da soja como alternativa para o tratamento de semente com fungicidas e micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.34, n.4, p.1103–1112, 2010.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F. de.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). Fertilidade do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CHUEIRE, L. M. O. et al. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16 S RNA. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 833-840, Oct. 2003. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832003000500007&lng=en&nrm=iso>. access on 05 July 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832003000500007>

CISOJA - Centro De Inteligência da Soja. **Sobre soja – Histórico soja**. Disponível em: <<http://www.cisoja.com.br>>. Acesso em: 04 janeiro 2020.

COLUSSI, J.; WEISS, C. R.; SOUZA, Â. R. L. de; OLIVEIRA, L. de. O agronegócio da soja: Uma análise da rentabilidade do cultivo da soja no Brasil. **Espacios**, Porto Alegre, v. 37, n. 16, p.23-23, abr. 2016.

CONAB. **Avaliação da safra agrícola 2019/2020** - Nono levantamento – Fevereiro/2020. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 05 fev. 2020.

CORREIA, T. P. S. **Eficiência operacional, econômica e agronômica da inoculação de soja via sulco de semeadura**. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu, 2015. 106p. Tese de Doutorado.

COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; DE CARVALHO, F.; TROCHMANN, A.; FERREIRA, L. V. M.; MOREIRA, F. M. S. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 9, p. 1275-1284, 2013.

CRISPINO, C. C.; FRANCHINI, J. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLE, R. N. R.; LOUREIRO, M. F.; SANTOS, E. N.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. **Adução Nitrogenada na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001. (Comunicado Técnico, 75).

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J. M.; MONTEIRO, A. M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Appl. Environ. Microbiol**, USA, v. 54, p. 2833- 2837, Jul 1988.

DOORNBOS, R. F., VAN LOON, L. C. e BAKKER, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 32, 227-243. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>

DOTY S.L. (2013) Endophytic Yeasts: Biology and Applications In: Aroca R. **Symbiotic Endophytes**. v 37. p. 335-343

EMBRAPA SOJA. **Soja na Alimentação**. Londrina, 2007. Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php> Acesso em 05/02/2020

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil**. Londrina, Embrapa Soja/Embrapa Cerrados/Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 280p. (Sistema de Produção, 12).

FACHINELLI, R. **Influência da inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja**. 2018. 141 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade da Grande Dourados, UFGD, 2018.

FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; CASAROLI, D.; SIMON, J.; DOURADO NETO, D.; LIER, Q. D. J. V.; SANTOS, O. S.; MÜLLER, L. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja – revisão. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia – PUC - RS**. v.14, n.1, p. 89-106. 2007.

FARGEIX, C.; GINDRO, K.; WIDMER, F. Soybean (*Glycine max* L.) and bacteroid glyoxylate cycle activities during nodular senescence. **Journal Plant Physiology**, v.161, p.183–190, 2004.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V. M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008. 33p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 252).

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103-108. 2013.

GAERTNER, P. **Interação entre rhizobium tropici e épocas de adubação nitrogenada na cultura do feijão**. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

GAN, Y.; STULEN, I.; POSTHUMUS, F.; VAN KEULEN, H.; KUIPER, P.J.C. Effects of N management on growth, N₂ fixation and yield of soybean. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v.62, p.163 -174, 2002.

GAN, Y.; STULEN, I.; VAN KEULEN, H.; KUIPER, P.J.C. Effect of N fertilizer top-dressing at various reproductive stages on growth, N₂ fixation and yield of three soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes. **Field Crops Research**, v.80, p.147 -155, 2003.

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

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, p.1-15, 2012.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, p. 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. EMBRAPA, 2001, 48 p. (Circular Técnica, 35).

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

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Tecnologia de coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: incrementos no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: **Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil**, 33, 2013, Londrina. Resumos expandidos. Brasília, DF: Embrapa, 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed coinoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American journal of plant sciences**, v. 6, p. 811-817, 2015.

HUNGRIA, M; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. v. 2, p. 1005-1019.

KLARMANN, P.A. **Influência de plantas de cobertura de inverno na disponibilidade de N, fixação biológica e rendimento da soja sob sistema plantio direto**. 2004. 142 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, p.12-20, 2010.

LARA CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O.; KONDÖRFER, G.H. & PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **R. Bras. Ciên. Solo**, 14:363-376, 2000.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. cap. 3. 2000. 478 p

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G. **Fertilidade do solo e produtividade agrícola**. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F. de; FONTTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). *Fertilidade do solo*. Viçosa: Sociedade

Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 2-64.

MACIEL, J.F. dos. S. **Desempenho da soja submetida a diferentes métodos de inoculação e coinoculação**. 2018. 44 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

MAHMOOD, A.; TURGAY O.C.; FAROOQ M.; HAYAT R.; (2016) Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: **A review**. FEMS Microbiology Ecology 92: 1–14.

MARINKOVIĆ, J.; BJELIĆ, D.; TINTOR, B.; MILADINOVIĆ, J.; ĐUKIĆ, V.; ĐORĐEVIĆ, V.; Effects of soybean co-inoculation with plant growth promoting rhizobacteria in field trial. **Romanian Biotechnological Letters**, [S. l.], ano 2018, v. 23, n. 02, 2018.

MARCON, E. C.; ROMIO, S. C.; MACCARI, V. M.; KLEIN, C.; LÁJUS, C. R. Uso de diferentes fontes de nitrogênio na cultura da soja. **Revista Thema**, v. 14, n. 2, 2017. p. 298-308, maio 2017. ISSN 2177-2894. Disponível em: <<http://revistathema.ifsul.edu.br/index.php/thema/article/view/427>>. Acesso em: 10 fev. 2020. doi:<http://dx.doi.org/10.15536/thema.14.2017.298-308.427>.

MATA, F. S. D.; ALMEIDA, J. A. R.; REIS, T. C.; SOUZA, D. S.; MAURICIO, I. S. Eficiência da fixação biológica de nitrogênio na cultura da soja com aplicação de diferentes doses de molibdênio (Mo) e cobalto (Co). **Revista Trópica**, Chapadinha, v. 5, n. 2, p. 15-22, 2011.

MAZZI F. L.; MINATO, E. A.; CASSIM, B. M. A. R.; BESEN, M. R.; INOUE T. T.; BATISTA, M. A.; PERDAS DE NITROGÊNIO POR VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA AO LONGO DO TEMPO NA CULTURA DO MILHO SAFRINHA. **X EPPC**, Maringá, out./2017. Disponível em: <http://rdu.unicesumar.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/1272/epcc--79990.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 5 jul. 2020.

MENDES, I. de C.; REIS JUNIOR, R.B. de; HUNGRIA, M.; SOUSA, D.M.G. de; CAMPO, R.J.C. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada 32 em latossolos do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.8, p.1053 - 1060, ago. 2008.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O Bioma Cerrado**. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em: 5 jul. 2020.

MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K.; BISSELING, T. Symbiotic Nitrogen Fixation. **The Plant Cell**, v.7, p.869-885, 1995.

NOSOLINE, S. M. **Prospecção e caracterização de rizobactérias de feijão caupi cultivado no Estado do Rio de Janeiro**. 2016. 143 f. Tese (Doutorado) Programa de pós graduação em Produção Vegetal- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, 2016.

OLDROYD, G. E. D.; DOWNIE, J. M. Coordinating nodule morphogenesis with

rhizobial infection IN: **legumes Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, n. 1, p. 519-546, 2008.

PANG, X. P.; LETEY, J.; WU, L. Irrigation quality and uniformity and nitrogen application effects on crop yield and nitrogen leaching. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 61, n.2, p. 257-261, 1997

PARENTE, T. de L. **Adubação nitrogenada em genótipos de soja associada à inoculação em semeadura direta no cerrado**. 2014. 49 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115779>>.

PASTORE, ALCINDO. **Manejo de inoculação com bradyrhizobium em soja associado ao tratamento fitossanitário das sementes**. 2016. Monografia (Curso de Pós Graduação em Tecnologias de Bioprodutos Agroindustriais) - Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2016.

PETTER, F. A.; PACHECO, L. P.; ALCÂNTARA NETO, F.; SANTOS, G. G. Respostas de cultivares de soja à adubação nitrogenada tardia em solos de cerrado. **Revista Caatinga**, v. 25, p. 67-72, 2012.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M. de; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.153- 174.

RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V. V.; BARROS, B. G. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta da coinoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e Bradyrhizobium sp. em caupi. **Bioscience Jornal**, v. 28, p.196- 202, 2012.

SANTOS NETO, J. T.; LUCAS, F. T.; FRAGA, D. F.; OLIVEIRA, L. F.; PEDROSO NETO, J. C. (2013). Adubação nitrogenada, com e sem inoculação de semente, na cultura da soja. **Fazu em Revista**, 10, 8-12.

SCHEFER, A.; CIPRIANI, K.; CERICATO, A.; SORDI, A.; RESCHKE LAJÚS, C. Eficiência técnica e econômica da cultura da soja submetida à aplicação de fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 14-20, abr./mai. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v17i2.45413>

SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Ed. Mecenaz, 2009. 314p.

SINCLAIR, T. R.; PURCELL, L. C.; KING, C. A.; SNELLER, C. H.; CHEN, P.; VADEZ, V. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N₂ fixation. **Field Crops Research**, v. 101, n. 1, p. 68-71, 2007.

SILVA, A.F.; CARVALHO, M.A.C.; SCHONINGER, E.L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G. & SANTOS, P.A. (2011) - Doses de inoculante e nitrogênio na semeadura da soja em área de primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, vol. 27, n. 3, p. 404-412.

SINGH, R. K.; MALIK, N.; SINGH, S. Impact of rhizobial inoculation and nitrogen utilization in plant rowth promotion of maize (*Zea mays* L.). **Bioscience Journal**, v. 5, p. 8-14. 2013.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 215-254.

SOUZA, L. G. M. de. **OTIMIZAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA SOJA EM FUNÇÃO DA REINOCULAÇÃO EM COBERTURA SOB PLANTIO DIRETO**. 2016. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” FACULDADE DE ENGENHARIA CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA, [S. l.], 2016. f. 70.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006. 722 p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEIXEIRA, M. A.; MELO, I. S.; VIEIRA, R. F.; COSTA, F. E. C.; HARAKAVA, R. (2007) Microrganismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etnovariedades em três estados brasileiros. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 42:43-49.

THOMAS, A. L.; COSTA, J. A.; **Soja – Manejo para alta produtividade de grãos**. Porto Alegre, Editora Evangraf, 2010, 243 pág.

TIMMERS, A.C.J.; AURIAC, M. C.; TRUCHET, G. Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium-medicago* interaction relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. **Great Britain: the Company of Biologists limited**. V. 126, p. 3617- 3628. 1999.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, L. C.; CARVALHO, A. M. de.; LOBO-BURLE, M.; HUNGRIA, M. Inoculação de leguminosas e manejo de adubos verdes. In: SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p.97-128.

VIEIRA NETO, S. A.; PIRES, F. R.; MENEZES, C. C. E.; MENEZES, J. F. S.; SILVA, A. G.; SILVA, G. P.; ASSIS, R. L. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 861-870, 2008.

VOSS, M. **Inoculação de rizóbio no sulco de semeadura para soja, em um campo nativo, no norte do Rio Grande do Sul**. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 2002. 5p.html (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 108). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p-co108.html>.

ZAGO, L. F.; LIMA, C. R.; CRUZ, R. M. S. da; ALBERTON, O. Inoculação de diferentes doses de *Bradyrhizobium* por cobertura e seu efeito na cultura da soja. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** UNIPAR, Umuarama, v. 21, n. 2, p. 65-69, abr./jun. 2018.

ZAMBIAZI, M. P.; FELDMANN N. A.; HENNECKA J. C.; KLEIN R.; MÜHL F. R.; M.; RHODEN A. C. **Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia através da aplicação de ureia em solos agrícolas.** 2014. Disponível em: <<http://www.faiFaculdades.edu.br/eventos/AGROTEC/2014/1AGROTEC/arquivos/resumos/res28.pdf>>. Acesso em: 17 fev. 2020.

ZILLI, J. É.; MARSON L. C.; MARSON, B. F.; GIANLUPPI V.; CAMPO R. J.; HUNGRIA M. Inoculação de Bradyrhizobium em soja por pulverização em cobertura. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 43, n. 4, p. 541-544, Apr. 2008 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2008000400014&lng=en&nrm=iso>. access on 12 July 2020. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000400014>.

ZILLI, J. E.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R. J.; ROUWS, R. C.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja com Bradyrhizobium no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo.** Viçosa. v. 34, n. 6, p.1875-1881. 2010.