

## AVALIAÇÃO DA INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO NO SULCO DE SEMEADURA NA CULTURA DA SOJA

ANDRZEJEWSKI, J. H. S.<sup>1</sup>; KWIATKOWSKI, C. A. M.<sup>1</sup>; ALVES, G. H. T.<sup>1</sup>;  
BELLETTINI, R.<sup>2</sup>; BELLETTINI, S.<sup>3</sup>; BELLETTINI, N. M. T.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Acadêmicos de Agronomia da Universidade Estadual do Norte do Paraná – Campus Luiz Meneghel (UENP/CLM), Bandeirantes - PR; <sup>2</sup> Engenheiro agrônomo – CARBEL Consultoria Agrícola; <sup>3</sup>Professores da Universidade Estadual do Norte do Paraná – Campus Luiz Meneghel (UENP/CLM), Bandeirantes – PR.

### RESUMO

A prática de inoculação na soja já vem sendo utilizada por muitos produtores, visto que ela substitui o uso de adubação nitrogenada mineral, com menor custo para o produtor rural. A inoculação padrão com estirpes de *Azospirillum* é a mais adotada na cultura da soja, porém existem relatos de uma melhor eficiência na fixação biológica de nitrogênio se for realizada uma coinoculação com estirpes de *Azospirillum brasiliense*. Neste trabalho objetivou-se testar a resposta da cultura da soja submetida a inoculação e a coinoculação no sulco de semeadura. O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes - PR, utilizando o cultivar de soja M6410 IPRO<sup>®</sup>, com 5 tratamentos e 4 repetições, sendo: 1 – NI (Não Inoculado) + adubação nitrogenada. 2 – Inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. 3 – Inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e coinoculação com *Azospirillum brasiliense*. 4 – NI + coinoculação com *Azospirillum brasiliense*. 5 – NI (testemunha). Foram avaliados o número de nódulos, massa verde e massa seca de nódulos, massa verde e massa seca do sistema radicular, massa verde e massa seca da parte aérea em 10 plantas ao acaso por parcela e a produtividade (kg ha<sup>-1</sup>). Concluiu-se que as inoculações de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* isoladamente e a coinoculação apresentaram resultados superiores a testemunha, porém, sem diferença estatística significativa.

**Palavras-chave:** *Glycine max*, *Azospirillum*, sulco de semeadura.

### ABSTRACT

The practice of soybean inoculation has been used by many producers since it replaces the use of mineral nitrogen fertilization, with lower costs for the rural producer. Standard inoculation with *Bradyrhizobium* strains is the most widely used in soybean cultivation, but there are reports of a better efficiency in biological nitrogen fixation if coinoculation with *Azospirillum brasiliense* strains is performed. The objective of this work was to test the response of soybean cultivation submitted to inoculation and coinoculation in the sowing furrow. The experiment was conducted at the State University of the North of Paraná, *Campus Luiz Meneghel*, Bandeirantes – PR, using the soybean cultivation M6410 IPRO<sup>®</sup>, with 5 treatments and 4 replicates, being: 1 - NI + nitrogen fertilization. 2 - Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum*. 3 - Inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and coinoculation with *Azospirillum brasiliense*. 4 - NI + coinoculation with *Azospirillum brasiliense*. 5 - NI (control).

The number of nodules, green mass and dry mass of nodules, green mass and dry mass of the root system, green mass and shoot dry mass were evaluated in 10 random plants per plot and yield ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). It was concluded that the inoculations of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* singly and coinoculation presented better results than the control, however, without significant statistical difference.

**Key words:** *Glycine max*, *Azospirillum*, seeding furrow.

## INTRODUÇÃO

Nas plantas o nitrogênio é o componente responsável por diversas reações além de fazer parte da estrutura da clorofila, de enzimas e proteínas. Por ser um elemento essencial, seu balanço afeta a formação de raízes, a fotossíntese, a produção, a translocação de foto assimilados e a taxa de crescimento entre folhas e raízes, sendo o crescimento foliar o primeiro a ser afetado (RYLE et al., 1979; TAIZ e ZIEGER, 2004), este nutriente pode ser absorvido do solo na forma de  $\text{NH}_4^+$  ou de  $\text{NO}_3^-$  ou através do  $\text{N}_2$  atmosférico pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Nas leguminosas o nitrogênio é absorvido na forma de  $\text{N}_2$  e transformado em  $\text{NH}_4^+$  através do processo simbiótico com bactérias (GERAHTY et al., 1992).

A utilização de fertilizantes nitrogenados é considerada a forma mais rápida de assimilação do nutriente pelas plantas, porém apresenta algumas desvantagens, entre elas a baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, dificilmente passando 50%, ou seja, a cada 100kg de fertilizante aplicados na lavoura, apenas 50kg são aproveitados, a outra metade é perdido em um pequeno espaço de tempo. Outra desvantagem é o alto custo desses fertilizantes nitrogenados, o que torna ainda mais atraente o uso de inoculantes como fonte de nitrogênio para as plantas.

O uso de inoculante com bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Bradyrhizobium* é, atualmente, uma tecnologia indispensável para a cultura da soja. Segundo Alves et al. (2003), a eficiência desses microrganismos tem possibilitado a obtenção de altos rendimentos de grãos da cultura, sem a necessidade de aplicação de nitrogênio mineral. A utilização de inoculantes com *Bradyrhizobium* possibilita uma economia anual aproximada de US\$ 3 bilhões em fertilizantes nitrogenados (FAGAN et al., 2007). A associação do *Bradyrhizobium japonicum* com a soja pode resultar numa fixação de nitrogênio de até 102,9 kg de N  $\text{ha}^{-1}$  (SMITH e HUME, 1987).

Bactérias *Azospirillum brasiliense* correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas devido à sua capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (Davison, 1988; Kloepper et al., 1989). Contudo, segundo Hungria (2011) ao contrário das bactérias simbióticas, bactérias associativas excretam somente uma parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada; posteriormente, a mineralização das bactérias pode contribuir com aportes adicionais de nitrogênio para as plantas, porém, é importante enfatizar que o processo de fixação biológica realizado por essas bactérias consegue suprir apenas uma parte das necessidades das plantas.

A utilização de fungicidas no tratamento das sementes, tem reduzido significativamente a população de *Bradyrhizobium* nas mesmas (ANNAPURNA, 2005). Visando diminuir esse problema, novas formas de inoculação tem sido testada e entre elas a inoculação no sulco de semeadura.

Nesse contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar a resposta da planta de soja quando submetida a inoculação e a coinoculação no sulco de semeadura na cultura da soja.

## MATERIAL E MÉTODOS

### CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi instalado, na Fazenda Experimental da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP/CLM, no município de Bandeirantes – PR, tendo como coordenadas geográficas 23° 06' 40,3" Sul e 50° 21' 31,2" Oeste e a altitude de 437 m.

O clima da região é classificado como mesotérmico subtropical úmido e sem nenhuma estação de seca definida, porém a concentração de chuva tende a acontecer durante os meses de verão. As temperaturas tendem a serem superiores a 22°C nos meses mais quentes e inferiores a 18°C nos meses mais frios (PARANÁ, 1987). A precipitação pluvial gira em torno de 1400 mm anuais e temperatura média anual gira em torno de 21°C (BRASIL, 1981). O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico (EMBRAPA, 2013).

### DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com 5 tratamentos: 1 – Sulco não inoculado com adubação nitrogenada (NI). 2 – Inoculação com *Bradyrhizobium* (I.B.). 3 – Inoculação com *Bradyrhizobium* e coinoculação com *Azospirillum brasilense* (I.B. + I.A.). 4 – Somente coinoculação com *Azospirillum brasilense* (I.A.). 5 – Não inoculado (testemunha) e quatro repetições, parcelas de 6,75 m<sup>2</sup> (2,25m x 3m) com área total de 135 m<sup>2</sup>.

### INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

#### Análise de Solo e Adubação

As amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0 a 20 cm e analisadas no Laboratório de Solos da UENP/CLM e os resultados constam na tabela 1.

**Tabela 1** – Resultado da análise de solos da área experimental.

pH em CaCl <sub>2</sub>	M.O. g/kg	P mg/dm <sup>3</sup>	K	Ca	Mg	Al	H + Al	Soma de Bases	CTC Total	Saturação por Bases (V%)	Saturação por Al (m%)
cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>											
4,3	28,2	15,7	0,65	5,3	2,3	0,7	6,51	8,3	14,8	55,9	7,8

De acordo com a análise de solo, fez-se a adubação na semeadura utilizando 105 kg ha<sup>-1</sup> do adubo formulado 00:18:19, correspondendo a 00 kg de N, 18,5 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 20 kg de K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>. A adubação foi realizada manualmente e coberta com terra para após ser colocada a semente no sulco de plantio. No tratamento com adubação nitrogenada foi utilizado Ureia na dose de 200 kg ha<sup>-1</sup>.

### **Sementes**

As sementes de soja, cultivar M6410 IPRO<sup>®</sup>, apresentavam grau de pureza de 99%, e germinação de 80%. Para o tratamento de sementes foram utilizados: imidacloprido + tiodicarbe (Cropstar<sup>®</sup> 700 ml 100 kg<sup>-1</sup> de sementes) e carboxina + tiram (Vitavax-Thiram<sup>®</sup> 200 SC 300 ml 100kg<sup>-1</sup> de sementes).

### **Sulcamento**

O preparo de solo foi realizado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens para o destorroamento e nivelamento. Os sulcos foram abertos com o auxílio de uma semeadora, no espaçamento de 0,45 m entrelinhas.

### **Inoculação no sulco de semeadura**

A inoculação das bactérias foi realizada no sulco de semeadura aberto nos respectivos tratamentos. Os inoculantes utilizados foram Brasilec TAS On-Farm<sup>®</sup> (*Bradyrhizobium japonicum*) 1,2 milhões de células semente<sup>-1</sup>, da empresa Forquímica Agrociência Ltda<sup>®</sup>, com 6x10<sup>9</sup> UFC ml<sup>-1</sup> e AzzoFix<sup>®</sup> (*Azospirillum brasilense*) 2,5 x 10<sup>5</sup> células/semente, da empresa Microquímica Indústrias Químicas Ltda<sup>®</sup>, com garantia de 2x10<sup>8</sup> UFC ml<sup>-1</sup> (UFC = Unidades Formadoras de Colônias).

### **Distribuição das sementes e emergência das plantas**

As sementes foram distribuídas manualmente nos sulcos, no dia 11/11/2016, utilizando 22 sementes por metro, a profundidade de aproximadamente 3 cm. A emergência das plantas ocorreu em 21/11/2016.

### **Desbaste e população de plantas**

Aos 20 dias após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando 18 plantas por metro, com população de 400.000 plantas ha<sup>-1</sup>.

### **Controle de Plantas Daninhas**

O controle de plantas daninhas infestantes na área foi realizado com 3 aplicações (17/12/2016; 27/01 e 24/02/2017) de herbicida glyphosate (Zap QI 620<sup>®</sup>) 4L p.c. ha<sup>-1</sup>.

### **Controle Fitossanitário**

Para o controle de ferrugem (*Phakopsora pachyrhizi*) utilizou-se uma aplicação (07/01/2017) de fungicida, pyraclostrobina + epoxiconazol (Shake<sup>®</sup>) 700 mL p.c. ha<sup>-1</sup> e o percevejo marrom (*Euschistus heros*) quatro aplicações (10/02; 16/02; 22/02 e 01/03) de imidacloprido + bifentrina (Galil<sup>®</sup>) 400 mL p.c. ha<sup>-1</sup>.

## **Colheita**

A colheita foi realizada no dia 26/03/2017. Em cada parcela foram colhidas duas linhas centrais sendo as plantas ensacadas e marcadas de acordo com a parcela pertencente. Após fez-se a trilhagem para separação dos grãos.

## **VARIÁVEIS AVALIADAS**

### **Massa verde e seca da parte aérea, raízes e nódulos**

No estádio R<sub>2</sub>, ou seja, pleno florescimento, coletou-se dez plantas por parcela para avaliar a massas verde e seca da parte aérea, raízes e dos nódulos.

A avaliação da massa verde da parte aérea, raízes e nódulos ocorreu no dia 26/01/2017. Em seguida colocou-se em sacos de papel separadamente e levadas a estufa com circulação de ar com temperatura de 60°C, até peso constante para avaliação da massa seca.

### **Número de nódulos**

Através da contagem do número de nódulos em 10 plantas por parcela.

### **Produtividade**

Fez-se a colheita da área útil de cada parcela determinando-se o peso e a umidade dos grãos posteriormente corrigidos a 13% de umidade e transformando em kg ha<sup>-1</sup>.

### **Análise estatística**

Os dados das avaliações, foram submetidos a análise de variância aplicando-se o teste F e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade, utilizado o software SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos dados constantes na Tabela 2, verifica-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém, observa-se que no tratamento onde foi realizada somente a inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* apresentou os melhores resultados de massa verde e seca da parte aérea, de raízes, de nódulos e número de nódulos.

A utilização da coinoculação na soja auxiliou no processo de nodulação, aumentando o número de nódulos por planta em relação a testemunha. É valido ressaltar que, no tratamento em que foi utilizada adubação mineral como fonte de nitrogênio houve uma redução no número de nódulos por planta.

Resultados semelhantes foram encontrados no experimento instalado em Maracaju – MS nas safras agrícolas de 2015 e 2016 por Gitti (2016).

As contribuições da FBN pode ser de mais de 300 kg de nitrogênio ha<sup>-1</sup>, além da liberação de 20-30 kg nitrogênio ha<sup>-1</sup> para a próxima cultura a ser implantada (HUNGRIA et al., 2007). A inoculação padrão e a coinoculação, pode contribuir uma vez que aumenta o número de nódulos por planta e como consequência aumenta a taxa de FBN na cultura.

**Tabela 2.** Médias da massa verde da parte aérea (MVPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa verde de raiz (MVR), massa seca de raiz (MSR), massa verde de nódulos (MVN), massa seca de nódulos (MSN) e número de nódulos. Bandeirantes – PR, 2017.

Tratamentos	MVPA (g)	MSPA (g)	MVR (g)	MSR (g)	MVN (g)	MSN (g)	Número nódulos
1 – NI + Uréia	73,92 a	15,75 a	7,64 a	1,95 a	0,1419 a	0,0972 a	19,85 a
2 – I.B.	79,69 a	17,25 a	7,75 a	2,04 a	0,3633 a	0,1780 a	42,83 a
3 – I.B. + I.A.	77,18 a	16,53 a	7,09 a	1,93 a	0,2958 a	0,1542 a	31,15 a
4 – I.A.	72,23 a	14,68 a	7,06 a	1,81 a	0,2788 a	0,0993 a	28,28 a
5 – NI	60,42 a	13,13 a	6,70 a	1,65 a	0,2738 a	0,0847 a	28,38 a
CV (%)	22,12	27,82	19,59	20,32	46,22	43,77	31,87

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade. CV – Coeficiente de variação. I.B. – Inoculação com *Bradyrhizobium*. I.A. – Inoculação com *Azospirillum*. NI – Não Inoculado.

A inoculação padrão e a coinoculação não apresentaram diferenças na produtividade em relação aos demais tratamentos. Porém, é possível observar que no tratamento com a inoculação no sulco de semeadura com bactérias do gênero *Azospirillum* a produtividade foi numericamente maior em comparação ao tratamento sem inoculação e sem adubação nitrogenada.

No tratamento com apenas adubação mineral, houve aumento de 1,32 sc ha<sup>-1</sup>; *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* 1,23 sc ha<sup>-1</sup>; somente *Azospirillum* 2,2 sc ha<sup>-1</sup>, quando comparados com a testemunha.

Em trabalhos conduzidos por Hungria et al. (2013) nos municípios paranaenses de Londrina e Ponta Grossa nas safras dos anos de 2009/10 e 2010/11 pela Embrapa Soja foi possível observar eficiência da coinoculação de sementes, com ganhos de 7,1 sc ha<sup>-1</sup> em relação a 3,7 sc ha<sup>-1</sup> da inoculação realizada apenas com o *Bradyrhizobium*.

**Tabela 3.** Médias da produtividade de soja (kg ha<sup>-1</sup>) em Bandeirantes – PR, 2017.

Tratamentos	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )	Produtividade (sc ha <sup>-1</sup> )	Produtividade relativa (%)
1 – NI + Uréia	2973 a	49,5	102,7
2 – <i>Bradyrhizobium</i>	2800 a	46,7	96,8
3 – <i>Bradyrhizobium</i> + <i>Azospirillum</i>	2968 a	49,5	102,6
4 – <i>Azospirillum</i>	3026 a	50,4	104,6
5 – NI (testemunha)	2894 a	48,2	100
CV (%)	17,23		

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade. CV – coeficiente de variação.

## CONCLUSÃO

As inoculações de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* isoladamente e a coinoculação apresentaram resultados numéricos superiores a testemunha, porém, sem diferença estatística significativa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v.252, p.1-9, 2003a.

ANNAPURNA, K. *Bradyrhizobium japonicum*: Survival and nodulation of soybean as influenced by fungicide treatment. **Indian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 305-307, 2005.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JUNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; DA SILVA, J. A. A. Técnica alternativa: co-inoculação com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade da cultura da soja no Norte do Estado de São Paulo. **Informações Tecnológicas**, Campinas, 2008.

BIZARRO, M. J. **Simbiose e variabilidade de estirpes de *Bradyrhizobium* associadas a cultura da soja em diferentes manejos de solo**. 2008. 107 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BRASIL. **Aptidão agrícola das terras do Paraná**. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Planejamento Agrícola. Brasília: BINAGRI. 1981. 140p.

CAMARA, G. M. S. **Fixação Biológica de nitrogênio em soja**. Informações agrônômicas, n. 7, 2014.

CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J.S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C.V. SASM-Agri: Sistema para análise e reparação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CIAFARDINI, G. e BARBIERI, C. Effects of cover inoculation of soybean on nodulation, nitrogen fixation, and yield. **Agron. J.**, p.645-648, 1987.

COSTA NETO, P. R. e ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura. **Química Nova**, v.23, p. 4, 2000.

DART, J. Infection and development of leguminous nodules. In: HARDY, R.W.F. & SILVER, W. S. **A treatise on dinitrogen fixation**. Section III-BIOLOGY. New York, John Wiley & Sons, 1977. p. 307-472.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, v.6, p.282- 286, 1988.

DONZELI, V.P. **Atividade de alguns componentes da comunidade microbiana do solo e microrganismos diazotróficos endofíticos sob influência do nitrogênio na cultura do milho**. 2002. Dissertação (Mestrado Pós-Graduação Instituto de Biologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002. 84 p.

ECKERT, B., WEBER, O. B., KIRCHHOF, G., HALBRITTER, A., STOFFELS, M., HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass Miscanthus. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 17-26, 2001.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. rev. ampl. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

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).

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

FERLINI, H. A. Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. **Artículos Técnicos** – Agricultura. 2006.

FRANCO, M.C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C.; TSAI, S. M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e mesoamericano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1145-1150, 2002.

GERAHTY, N.; ANÓLLES, G. C.; JOSHI, P. A.; GRESSHOLFF, P. M. Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. **Plant Science**, v.58, p.1-7. 1992.

GRAHAM, P.H.; VANCE, C.P. Legumes: importance and constraints to greater use. **Plant Physiology**, Rockville, v.131, n.3, p.872-877, 2003.

HERRIDGE, D.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.65, n.2, p.229-248, 2000.

HOLT, J.G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins: 9 ed.76-170 p. 1994.

HUERGO, L. F. Regulação do metabolismo do nitrogênio em *Azospirillum brasilense*. 2006. **Tese (Doutorado Pós-Graduação em Ciências Bioquímica)** - Ciências Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 170 p.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina, Embrapa Soja, 2011. 38 p. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2017.

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

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30, 2005, Pernambuco. Solos, sustentabilidade e qualidade ambiental. Pernambuco: SBCS, UFPE; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. p.1-30. CD-ROM.

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: **Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil**, 33, 2013, Londrina. Brasília: Embrapa, p.151-153.

HYMNOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economic Botany**, Bronx, v.24, p.421-480, 1970.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**. v.7, p.39-43, 1989.

LADHA, J.K.; REDDY, P.M. Nitrogen fixation in rice systems: state of knowledge and future prospects. **Plant and Soil** n. 252, p. 151 – 167, 2003.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim, Academic Press: Germany, 1995. 889 p.

MEDINA, J.C. **A soja no Brasil**. 1ª ed. São Paulo: ITAL, p.1-174, 1981.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 729 p. 2006.

NUNES, F. S.; RAIMONDI, A. C.; NIEDWIESKI, A. C. Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. **Química Nova**. São Paulo, v. 26, n. 6, p. 872-879, 2003.

PARANÁ. **Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento**. Instituto de terras, Cartografia e Florestas. Atlas do Estado do Paraná. Curitiba: EAB/ITCF/UFP, 1987. 73 p.

RAMOS, M.L.G. e RIBEIRO, W.Q. Effect of fungicides on survival of Rhizobium on seeds and the nodulation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Soil**, n. 152, p. 145-150, 1993.

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.

- ROMERO, E. M. Cepas mejoradas de Rhizobium. **Investigación y Ciencia**, n. 8, p. 14 – 19, 1998.
- RYLE ,G.J. A.; POWELL, C. E.; GORDON, A. J. The respiratory costs of nitrogen fixation in soybean, cowpea, and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, v.30, p.145-153, 1979.
- SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Ed. Mecenas, 2009. 314p.
- SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A.; BACH, E. E. Ação do *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC- 24) e cevada (variedade CEV 95033). **Conscientia e Saúde**, Universidade Nove de Julho, São Paulo, v. 3, p. 29-35, 2004.
- SMITH, D.L., HUME, D.J. Comparison of assay methods for N<sub>2</sub> fixation utilizing white bean and soybean. **Canadian Journal Plant Science**, v.67, p.11-19, 1987.
- SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. **Handbook for rhizobia**. New York: SpringerVerlag. 470 p. 1994.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 719 p.
- VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T; HUNGRIA, M. (Eds.) **Biologia dos solos cerrados**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1997. p.297-360.
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R. e SUHET, A.R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob Cerrado. **Pesq. Agropec. Bras.**, n. 17, p. 1127-1132, 1982.
- VIEIRA NETO, S.A.; PIRES, F.R.; MENEZES, C.C.E.; MENEZES, J.F.S.; SILVA, A.G.; SILVA, G.P. e ASSIS, R.L. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. **R. Bras. Ci. Solo**, n. 32, p. 861-870, 2008.
- WILLIAMS, P.M. Current use of legume inoculant technology. In: ALEXANDER, M. Biological nitrogen fixation. **Ecology, technology and physiology**. New Work, Plenum Press, 1984. p.173-200.
- ZHANG, F. & SMITH, D.L. Application of genistein to inocula and soil to overcome low spring soil temperature inhibition of soybean nodulation and nitrogen fixation. **Plant Soil**, n. 192, p.141-151, 1996.