

# EFICIÊNCIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N<sub>2</sub> POR ESTIRPES DE *Bradyrhizobium* NA SOJA EM PLANTIO DIRETO<sup>(1)</sup>

B. C. CAMPOS<sup>(2)</sup>, M. HUNGRIA<sup>(3)</sup> & V. TEDESCO<sup>(4)</sup>

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado nas safras de 1994/95, 1996/97, 1997/98 e 1998/99, objetivando avaliar a eficiência das estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas pela pesquisa, pela determinação da capacidade competitiva e da eficiência na fixação do N<sub>2</sub> na cultura da soja, sob o sistema plantio direto. Os experimentos foram instalados em áreas experimentais da FUNDACEP, Cruz Alta (RS), manejadas desde cinco até dez anos em plantio direto. Na safra de 1994/95, foram usados os seguintes tratamentos: testemunha sem inoculação; 200 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral, parcelados e sem inoculação; e as combinações das quatro estirpes recomendadas comercialmente, SEMIA 587 + SEMIA 5019; SEMIA 587 + SEMIA 5079; SEMIA 587 + SEMIA 5080; SEMIA 5019 + SEMIA 5079; SEMIA 5019 + SEMIA 5080; SEMIA 5079 + SEMIA 5080 e dois isolados do sorogrupo SEMIA 586. Em 1996/97, foi retirado o último tratamento e acrescentados os tratamentos CPAC 40 + CPAC 44 e CPAC 42 + CPAC 45. Na safra de 1997/98, foi acrescentado o tratamento 20 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral na semeadura + inoculação com SEMIA 5079 + SEMIA 5080. A adubação nitrogenada reduziu a nodulação e não resultou em acréscimo na produção da soja. Na avaliação do rendimento de grãos, em cada uma das quatro safras e na análise conjunta, a testemunha sem inoculação não apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos. A não-resposta da soja à prática da inoculação pode ser atribuída à população naturalizada de *Bradyrhizobium*, em número adequado e eficiente, e às condições favoráveis à fixação biológica do nitrogênio, como temperatura e umidade adequadas do solo, proporcionadas pelo sistema plantio direto.

**Termos de indexação:** *Glycine max*, inoculação, nodulação, sistema de cultivo.

<sup>(1)</sup> Trabalho da Rede Nacional para Seleção e Avaliação das Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (RELARE), com auxílio financeiro da EMBRAPA. Recebido para publicação em março de 2000 e aprovado em abril de 2001.

<sup>(2)</sup> Pesquisador da FUNDACEP. Caixa Postal 10, CEP 98100-170 Cruz Alta (RS). E-mail: fundacep@azcomnet.com.br

<sup>(3)</sup> Pesquisadora da Embrapa Soja. Caixa Postal 231, CEP 86001-970 Londrina (PR). Bolsista do CNPq.

<sup>(4)</sup> Aluna de Agronomia, UNICRUZ, Caixa Postal 858, CEP 98025-810 Cruz Alta (RS). Bolsista da FAPERGS.

**SUMMARY:** *BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION EFFICIENCY BY STRAINS OF Bradyrhizobium IN SOYBEAN UNDER NO-TILLAGE*

*This study was carried out in the 1994/95, 1996/97, 1997/98 and 1998/99 cropping seasons, to evaluate the efficiency of the Bradyrhizobium strains as recommended by research, evaluation and biological nitrogen fixation efficiency of competitiveness of soybean crop under no-tillage. The experiments were carried out at FUNDACEP, in Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brazil, in an area cultivated under no-tillage over five to ten years. In the year of 1994/95, the treatments were: non-inoculated control; 200 kg ha<sup>-1</sup> of nitrogen fertilizer; split twice and without inoculation; and the combinations of the four commercial strains SEMIA 587 + SEMIA 5019; SEMIA 587 + SEMIA 5079; SEMIA 587 + SEMIA 5080; SEMIA 5019 + SEMIA 5079; SEMIA 5019 + SEMIA 5080; SEMIA 5079 + SEMIA 5080 and two isolates of the serogroup SEMIA 586. In the year of 1996/97, the last treatment was excluded and the treatments CPAC 40 + CPAC 44 and CPAC 42 + CPAC 45 were added. In the year of 1997/98, a treatment with 20 kg ha<sup>-1</sup> of nitrogen fertilizer at sowing + inoculation with SEMIA 5079 + SEMIA 5080 was included. Nitrogen fertilizer decreased nodulation and did not increase soybean grain yield. For grain yield evaluation, during the four cropping seasons, as well as for the global analysis, the non-inoculated control did not differ significantly from the other treatments. The lack of soybean response to inoculation may be attributed to the established population of Bradyrhizobium, in appropriate number and efficiency, as well as to the favorable conditions for biological nitrogen fixation, such as adequate soil temperature and moisture, found in soils under no-tillage.*

*Index terms: Glycine max, inoculation, nodulation, cultivation system.*

## INTRODUÇÃO

No desenvolvimento da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), um importante componente químico é o nitrogênio, que pode ser obtido do solo, por meio da decomposição da matéria orgânica, dos fertilizantes nitrogenados, da fixação química do N<sub>2</sub> em descargas elétricas e, ainda, por meio da fixação biológica do N<sub>2</sub>, que ocorre pela associação simbiótica com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*. Do ponto de vista econômico e ecológico, este último processo é considerado o mais importante; atualmente, no Brasil, não são mais recomendados fertilizantes nitrogenados para a cultura da soja, pois a fixação biológica do N<sub>2</sub> é capaz de suprir as necessidades de nitrogênio da planta (Hungria et al., 1994, 1999; Vargas & Hungria, 1997; Reunião..., 1998). Segundo Vargas et al. (1982), a fixação biológica do N<sub>2</sub> na cultura da soja é capaz de sustentar produções de até 4 t ha<sup>-1</sup> sem o uso de fertilizantes nitrogenados.

De modo geral, os solos brasileiros são, originalmente, isentos de bactérias fixadoras de N<sub>2</sub>, capazes de formar uma simbiose efetiva com a soja (Hungria et al., 1997b, 1999). Com a expansão da cultura, na década dos anos sessenta, foi necessário importar inoculantes, particularmente dos EUA, razão por que a avaliação do desempenho simbiótico de diversas estirpes, bem como a seleção das mais eficientes com

os cultivares brasileiros de soja, iniciou-se imediatamente (Hungria et al., 1994, 1999; Vargas & Hungria, 1997). Atualmente, porém, restam poucas áreas de cultivo da soja que ainda não foram inoculadas, sendo as populações naturalizadas nesses solos, em geral, elevadas. Além disso, com o cultivo da soja ocorre um enriquecimento da população de *Bradyrhizobium* nos solos, e essas bactérias apresentam persistência elevada. Finalmente, foi constatada, também, dispersão de estirpes de áreas produtoras de soja para áreas virgens (Hungria et al., 1999).

Atualmente, as estirpes recomendadas para a cultura da soja são as SEMIA 587, SEMIA 5019 (= 29 w), SEMIA 5079 (= CPAC 15) e SEMIA 5080 (= CPAC 7), introduzidas aos pares nos inoculantes comerciais (Reunião..., 1998). Essas estirpes são mais eficientes do que outras que foram introduzidas em inoculações realizadas nas décadas passadas e estão estabelecidas nos solos (RELARE, 1995; Vargas & Hungria, 1997). Existem, também, programas de seleção para obter estirpes mais eficientes para a cultura da soja, a fim de garantir tetos mais elevados de produção. Contudo, a introdução de novas estirpes nos inoculantes só será bem-sucedida se elas forem capazes de competir com as estirpes naturalizadas do solo (Oliveira & Vidor, 1984ab; Vargas & Hungria, 1997). A dificuldade de introdução de novas estirpes para a cultura da soja em áreas com populações

estabelecidas é amplamente relatada em experimentos realizados nos Estados Unidos (Dunningan et al., 1984; Ellis et al., 1984; Singleton & Tavares, 1986; Thies et al., 1991). No Brasil, porém, há relatos de resposta à reinoculação, resultando em incrementos no rendimento da soja, mesmo em solos com número elevado de células de *Bradyrhizobium*, em experimentos nos Cerrados (Vargas et al., 1992; Vargas & Hungria, 1997) e no Paraná (Nishi & Hungria, 1996; Hungria et al., 1997b; Vargas & Hungria, 1997). Todos esses experimentos, porém, foram realizados sob o sistema de plantio convencional.

Nos últimos anos, tem-se dado ênfase ao cultivo da soja no sistema plantio direto, particularmente pelas vantagens em relação ao sistema convencional, com destaque à maior conservação do solo (Bertoni & Lombardi Neto, 1990). O plantio direto tem a característica de evitar a mobilização do solo, criando um ambiente ecológico diferente do sistema convencional, em consequência do aumento da matéria orgânica (Derpsch et al., 1991; Sá, 1993; Campos et al., 1995), dos nutrientes (Eltz et al., 1989; Derpsch et al., 1991; Sá, 1993) e da atividade microbiana (Campos et al., 1995; Hungria et al., 1997a; Balota et al., 1998; Hungria, 1999) nos primeiros centímetros do solo.

Além disso, ocorrem reduções na temperatura máxima e nas oscilações térmicas e um incremento no teor de umidade do solo (Bragagnolo & Mielniczuk, 1990; Derpsch et al., 1991), favorecendo a atividade microbiana. Os benefícios são, também, verificados na simbiose rizóbio/leguminosas, constatando-se, no caso da soja, maior número de células e diversidade de *Bradyrhizobium*, maior número e massa nodular, distribuição mais profunda dos nódulos no perfil do solo e taxas mais elevadas de fixação do N<sub>2</sub> (Voss & Sidiras, 1985; Hungria et al., 1997a; Hungria, 1999; Ferreira et al., 2000). Não existem, porém, dados sobre os efeitos da reinoculação da soja em plantio direto.

O presente trabalho teve por objetivo, não só verificar o efeito da reinoculação da soja em solos

sob plantio direto, mas também identificar as combinações de estirpes de *Bradyrhizobium* mais eficientes para a utilização em áreas sob esse sistema no estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho realizou-se em áreas experimentais da FUNDACEP, Cruz Alta (RS), nas safras de 1994/95 a 1998/99. O experimento da safra 1995/96 foi severamente prejudicado pela estiagem ocorrida no período e os dados desta safra não serão apresentados. As áreas experimentais encontravam-se no 5<sup>o</sup>, 8<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup> e 10<sup>o</sup> ano de plantio direto, respectivamente, em rotação de culturas, no esquema de um ano milho (*Zea mays* L.) e outro ano soja, no verão. A soja foi antecedida pelas culturas do trigo (*Triticum aestivum* L.) ou aveia preta (*Avena strigosa* Schreb) e o milho pelas culturas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L. var. *oleiferus* Metzg.), ervilhaca (*Vicia sativa* L.) ou consórcio de ervilhaca e aveia preta. O solo ocorrente é classificado como Latossolo Vermelho-Escuro fase argilosa, cujas principais características de cada área experimental são apresentadas no quadro 1.

O método seguiu as determinações da Reunião de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* (RELARE, 1995).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com seis repetições. Na safra de 1994/95, foram usados os seguintes tratamentos: testemunha sem inoculação; 200 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral, parcelados e sem inoculação; inoculação com SEMIA 587 + SEMIA 5019 (= 29 w); SEMIA 587 + SEMIA 5079 (= CPAC 15); SEMIA 587 + SEMIA 5080 (= CPAC 7); SEMIA 5019 + SEMIA 5079; SEMIA 5019 + SEMIA 5080; SEMIA 5079 + SEMIA 5080 e dois isolados do sorogrupo SEMIA 586 (= CB 1809). Na safra de 1996/97, foi retirado o último tratamento e acrescidos os dois tratamentos com a combinação de isolados dos sorogrupos SEMIA 566 + SEMIA 586, denominados

**Quadro 1. Características químicas e teor de argila do solo das áreas experimentais na profundidade de 0-10 cm. FUNDACEP, safras de 1994/95, 1996/97, 1997/98 e 1998/99**

Área	Argila	Matéria orgânica	pH (H <sub>2</sub> O)	P	K	Al	Ca	Mg	CTC <sup>(1)</sup>	H + Al
	— g kg <sup>-1</sup> —			— mg L <sup>-1</sup> —		— cmolc L <sup>-1</sup> —				
Safra de 1994/95	620	30	6,0	9,8	119	0,0	7,6	4,0	12,8	0,9
Safra de 1996/97	400	44	5,9	33,3	153	0,0	8,3	3,8	15,4	3,0
Safra de 1997/98	480	39	5,5	37,7	200	0,1	6,8	2,8	13,7	3,6
Safra de 1998/99	500	35	5,8	16,9	105	0,0	5,5	2,6	11,6	3,3

<sup>(1)</sup> CTC a pH 7.

CPAC 40 + CPAC 44 e CPAC 42 + CPAC 45, respectivamente. Na safra de 1997/98, foi acrescido o tratamento 20 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral na semente + inoculação com SEMIA 5079 + SEMIA 5080. Na safra de 1998/99, foram mantidos os mesmos tratamentos da safra anterior. O parcelamento dos 200 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral foi feito com 20 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral na semente e seis aplicações semanais subsequentes de 30 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral, nas safras de 1994/95 e 1996/97. Nas safras de 1997/98 e 1998/99, este parcelamento foi de 50% na semente e 50% no início do florescimento. Todos os inoculantes foram preparados em turfa estéril, pela FEPAGRO (Porto Alegre, RS) e, em todas as safras, apresentaram uma concentração de 10<sup>9</sup> células g<sup>-1</sup> de inoculante.

Cada parcela constituiu-se de 2,8 x 5,0 m, com sete linhas da cultura, espaçadas de 0,4 m entre si, separadas por ruas com 1,5 m. As parcelas tiveram bordaduras de 0,5 m nas extremidades e uma linha da cultura em cada lateral.

No laboratório, as sementes foram colocadas em sacos plásticos individuais, onde foram aplicados os tratamentos. O fungicida Thiabendazole foi aplicado na dose de 10 g para 50 kg de semente, em todos os tratamentos, adicionando-se 0,5% de água destilada e misturado manualmente. A calda do fungicida serviu como aderente para o inoculante, que foi aplicado na dose de 500 g de inoculante por 50 kg de semente.

Anteriormente à sementeira, a área foi dessecada com 600 g ha<sup>-1</sup> de glifosato, usando-se 1% de óleo mineral e 2% de sulfato de amônio como adjuvante. A sementeira foi realizada manualmente, para diminuir os riscos de contaminação entre os tratamentos, após as linhas de sementeira terem sido abertas com sementeira de plantio direto. As adubações foram feitas com 52 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 52 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na safra de 1994/95, e 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 80 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na safra de 1996/97. Nas safras de 1997/98 e 1998/99, não foram realizadas adubações com P e K. Na safra de 1994/95, foi utilizado o cultivar Cobb, semeado em 21/12/94. Na safra de 1996/97, o cultivar foi o Ocepar 14, semeado em 12/11/96. Em 1997/98 e 1998/99, foi utilizado o cultivar CD 201, semeado em 02/12/97 e 18/11/98.

No florescimento, foram avaliados o número e a massa de nódulos secos e a massa de raízes e da parte aérea secas de 12 plantas por parcela. Para o rendimento, foram colhidas as duas linhas centrais de cada parcela, sendo o resultado expresso em kg ha<sup>-1</sup>, a 13% de umidade. Na safra de 1994/95, foi avaliado o teor de nitrogênio na folha, sendo esta análise substituída, nas outras safras, pelo teor de nitrogênio no grão (Tedesco et al., 1995). Nas safras de 1994/95 e 1996/97, quarenta nódulos por parcela foram caracterizados sorologicamente quanto aos sorogrupos 587, 5019, 5079 (mesmo sorogrupo da

SEMIA 566) e 5080 (mesmo sorogrupo da SEMIA 586), pela técnica de aglutinação direta em placas de poliestireno em "U" (Nishi, 1994).

Os resultados foram avaliados pela análise da variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan a 5%. Além das análises em cada safra, foi realizada uma análise conjunta das quatro safras, após a verificação da relação entre os quadrados médios residuais e a interação das safras x tratamentos, conforme indicado por Banzatto & Kronka (1989). Nesta análise conjunta, o teor de nitrogênio não foi considerado, pois na safra de 1994/95 foi determinado na folha e, nas demais safras, no grão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises dos resultados de nodulação e rendimento de grãos indicaram que não houve efeito da interação safras x tratamentos, permitindo a análise conjunta das quatro safras (Quadro 6), o que não ocorreu com a massa de raízes e da parte aérea secas.

O número de nódulos não foi um bom indicador para avaliar a nodulação, pois somente na safra de 1996/97 (Quadro 3) houve diferença significativa entre os tratamentos. Entretanto, a massa de nódulos secos, ou seja, a massa nodular, apresentou diferenças significativas entre os tratamentos em todas as safras, bem como na análise conjunta (Quadros 2, 3, 4, 5 e 6), demonstrando redução da nodulação da soja com a aplicação de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral. Esses resultados confirmam, portanto, observações anteriores (Döbereiner, 1966; Bohrer & Hungria, 1998) de que a massa e não o número de nódulos é o indicador mais adequado para avaliar o estabelecimento de uma simbiose eficaz. Apesar de ter havido diferença significativa entre os tratamentos apenas na safra de 1996/97, o tratamento com 200 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral reduziu o número de nódulos em todas as safras. Esta diferença, provavelmente, não foi detectada em virtude do coeficiente de variação.

Um dos principais fatores de limitação à resposta à inoculação reside na competição por sítios de infecção nodular que, normalmente, ocorre entre as estirpes utilizadas no inoculante e as estirpes existentes no solo (Weaver & Frederick, 1974; Oliveira & Vidor, 1984a,b). Neste estudo, constatou-se, tanto na safra de 1994/95 como na de 1996/97, que a inoculação conseguiu incrementar, em geral significativamente, a ocupação dos nódulos pelas estirpes carregadas no inoculante, exceto pela SEMIA 5019 no tratamento SEMIA 587 + SEMIA 5019, nas duas safras, pela SEMIA 5079 em 1996/97 e pelas estirpes do sorogrupo SEMIA 566 (CPAC 40 e CPAC 42), em 1996/97 (Quadro 7).

**Quadro 2. Efeito de estirpes de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, cultivar Cobb, em área cultivada há cinco anos no sistema plantio direto, sobre a nodulação, matéria seca de raízes e parte aérea, teor de N na folha e rendimento de grãos. FUNDACEP, 1994/95**

Tratamento	Número de nódulo	Massa de nódulo seco	Massa de raiz seca	Massa da parte aérea seca	Teor de N na folha	Rendimento de grãos
	n <sup>o</sup> planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	23,2 <sup>ns(1)</sup>	146,4 a <sup>(2)</sup>	2,04 ab	9,56 bc	41,9 <sup>ns</sup>	3.060 <sup>ns</sup>
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	11,9	46,9 b	2,40 a	13,21 a	45,2	2.879
SEMIA 587 + SEMIA 5019	27,6	197,8 a	1,75 bc	8,96 bc	45,3	2.928
SEMIA 587 + SEMIA 5079	25,5	189,3 a	2,36 a	12,13 ab	42,3	2.773
SEMIA 587 + SEMIA 5080	18,6	167,1 a	1,78 bc	9,11 bc	42,5	2.913
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	21,2	174,3 a	1,71 bc	8,38 c	41,1	2.844
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	21,3	158,9 a	1,57 bc	7,67 c	43,4	2.873
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	18,2	173,7 a	1,29 c	6,85 c	45,1	2.770
Isolados do grupo SEMIA 586	22,5	199,9 a	1,35 c	8,44 c	48,9	2.653
C.V. (%)	45,9	33,8	22,0	29,8	10,2	10,2
p > F (Tratamento)	0,2533	0,0008	0,0001	0,0062	0,1249	0,4945

(<sup>1</sup>) ns: não-significativo pelo teste F a 5%. (<sup>2</sup>) Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%.

**Quadro 3. Efeito de estirpes de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, cultivar Ocepar 14, em área cultivada há oito anos no sistema plantio direto, sobre a nodulação, matéria seca de raízes e parte aérea, teor de N no grão e rendimento de grãos. FUNDACEP, 1996/97**

Tratamento	Número de nódulo	Massa de nódulo seco	Massa de raiz seca	Massa da parte aérea seca	Teor de N no grão	Rendimento de grãos
	n <sup>o</sup> planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	38,3 a <sup>(1)</sup>	206,9 ab	1,19 <sup>ns(2)</sup>	7,07 <sup>ns</sup>	62,6 ab	2.347 <sup>ns</sup>
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	20,2 c	82,4 c	1,07	6,48	64,9 a	2.278
SEMIA 587+ SEMIA 5019	27,5 abc	166,6 b	1,08	5,40	62,7 ab	2.629
SEMIA 587+ SEMIA 5079	25,4 bc	173,3 b	1,05	5,43	62,9 ab	2.563
SEMIA 587 + SEMIA 5080	39,1 a	236,6 a	1,22	6,21	61,9 ab	2.628
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	37,0 ab	205,5 ab	1,17	6,33	60,5 bc	2.742
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	31,0 abc	196,9 ab	1,31	6,97	56,7 c	2.645
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	33,6 ab	174,9 b	1,23	6,36	60,8 abc	2.525
CPAC 40 + CPAC 44	37,2 ab	214,8 ab	1,25	5,85	59,9 bc	2.470
CPAC 42 + CPAC 45	33,9 ab	214,7 ab	1,35	7,63	60,2 bc	2.572
C.V. (%)	29,1	22,0	25,1	22,5	5,4	10,9
p > F (Tratamento)	0,0143	0,0001	0,6825	0,1846	0,0116	0,1523

(<sup>1</sup>) Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%. (<sup>2</sup>) ns: não-significativo pelo teste F a 5%.

Com relação à massa de raízes e da parte aérea secas, somente houve diferença entre os tratamentos na safra de 1994/95 (Quadro 2), quando ocorreu superioridade do tratamento com 200 kg ha<sup>-1</sup> de N, mas que, para as raízes, não diferiu da testemunha sem inoculação e da inoculação com as estirpes SEMIA 587 + SEMIA 5079 e, para a parte aérea, não diferiu da inoculação com essas mesmas estirpes. Nas demais safras, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Quadros 3, 4 e 5).

Nas safras de 1994/95 e 1998/99 (Quadros 2 e 5), não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos para as análises de teor de N na folha e no grão. Nas safras de 1996/97 e 1997/98 (Quadros 3 e 4), o tratamento com N mineral propiciou maior teor de N no grão. No entanto, na safra de 1996/97, o tratamento com N mineral diferiu apenas dos tratamentos com as combinações de estirpes SEMIA 5019 + SEMIA 5079, SEMIA 5019 + SEMIA 5080, CPAC 40 + CPAC 44 e CPAC 42 + CPAC 45.

**Quadro 4. Efeito de estirpes de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, cultivar CD 201, em área cultivada há nove anos no sistema plantio direto, sobre a nodulação, matéria seca de raízes e parte aérea, teor de N no grão e rendimento de grãos. FUNDACEP, 1997/98**

Tratamento	Número de nódulo	Massa de nódulo seco	Massa de raiz seca	Massa da parte aérea seca	Teor de N no grão	Rendimento de grãos
	n <sup>o</sup> .planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	59,5 <sup>ns(1)</sup>	240,1 a <sup>(2)</sup>	1,07 <sup>ns</sup>	9,92 <sup>ns</sup>	51,8 c	3.004 <sup>ns</sup>
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	39,3	157,0 b	1,25	10,85	59,6 a	3.132
SEMIA 587+ SEMIA 5019	66,2	246,7 a	1,07	9,53	54,2 bc	3.041
SEMIA 587+ SEMIA 5079	51,4	205,0 ab	0,85	8,42	54,1 bc	2.846
SEMIA 587 + SEMIA 5080	50,1	206,1 ab	1,07	10,49	53,6 bc	2.975
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	58,2	246,7 a	1,18	10,92	55,0 bc	2.868
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	57,8	246,5 a	1,06	10,03	54,8 bc	2.911
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	55,7	216,1 ab	0,99	9,21	53,4 bc	2.999
CPAC 40 + CPAC 44	57,9	268,5 a	1,10	10,65	53,6 bc	3.068
CPAC 42 + CPAC 45	56,0	239,2 a	0,96	9,20	56,8 ab	3.146
20 kg ha <sup>-1</sup> de N + inoculação <sup>(3)</sup>	50,5	252,9 a	1,16	11,08	54,4 bc	3.079
C.V. (%)	36,8	23,0	20,5	16,2	4,6	8,2
p > F (Tratamento)	0,7171	0,0426	0,1382	0,1091	0,0004	0,4643

<sup>(1)</sup> ns: não-significativo pelo teste F a 5%. <sup>(2)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%. <sup>(3)</sup> Inoculação com as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080.

**Quadro 5. Efeito de estirpes de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, cultivar CD 201, em área cultivada há dez anos no sistema plantio direto, sobre a nodulação, matéria seca de raízes e parte aérea, teor de N no grão e rendimento de grãos. FUNDACEP, 1998/99**

Tratamento	Número de nódulo	Massa de nódulo seco	Massa de raiz seca	Massa da parte aérea seca	Teor de N no grão	Rendimento de grãos
	n <sup>o</sup> .planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	g planta <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	32,8 <sup>ns(1)</sup>	210,8 ab <sup>(2)</sup>	1,28 <sup>ns</sup>	8,47 <sup>ns</sup>	57,9 <sup>ns</sup>	2.202 <sup>ns</sup>
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	26,5	110,1 c	1,45	10,15	58,9	2.321
SEMIA 587 + SEMIA 5019	29,6	174,8 bc	1,37	9,93	57,5	2.221
SEMIA 587 + SEMIA 5079	34,3	217,1 ab	1,32	9,10	55,8	2.316
SEMIA 587 + SEMIA 5080	27,6	166,9 bc	1,14	8,05	57,6	2.124
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	27,2	194,4 b	1,31	9,04	57,7	2.424
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	43,6	268,2 a	1,44	9,63	58,1	2.285
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	32,5	196,2 ab	1,27	8,88	57,0	2.362
CPAC 40 + CPAC 44	35,2	209,3 ab	1,26	8,50	57,9	2.277
CPAC 42 + CPAC 45	34,7	223,0 ab	1,42	9,79	58,1	2.371
20 kg ha <sup>-1</sup> de N + inoculação <sup>(3)</sup>	34,1	187,1 b	1,14	8,30	57,9	2.177
C.V. (%)	31,4	28,1	25,5	22,7	2,3	7,7
p > F (Tratamento)	0,2195	0,0041	0,7798	0,7069	0,0516	0,1327

<sup>(1)</sup> ns: não-significativo pelo teste F a 5%. <sup>(2)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%. <sup>(3)</sup> Inoculação com as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080.

Já na safra de 1997/98, diferiu de todos os tratamentos, com exceção da inoculação com as estirpes CPAC 42 + CPAC 45.

Não foram constatadas diferenças significativas, entre os tratamentos, para o rendimento de grãos, em todas as safras, bem como na análise conjunta (Quadros 2, 3, 4, 5 e 6). Desse modo, não houve efeito

da aplicação de doses elevadas de fertilizante nitrogenado, mas também não se constatou efeito da reinoculação da soja em ensaios sob o sistema plantio direto. Como em diversos tratamentos foi constatado, nas safras de 1994/95 e 1996/97, que a inoculação foi capaz de aumentar a ocupação dos nódulos pelas estirpes carregadas nos inoculantes

(Quadro 7), esses resultados indicam que a população naturalizada desses solos, que se apresentava acima de 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> células de *Bradyrhizobium* de solo, foi capaz de garantir bons níveis de fixação de N<sub>2</sub>.

Nos Cerrados, em três experimentos realizados em plantio convencional que tenderam a responder à reinoculação com as estirpes SEMIA 5079 + SEMIA 5080, os ganhos variaram de 80 a 291 kg ha<sup>-1</sup>, correspondendo a um incremento, na produtividade, de 4 a 12,5% (Vargas et al., 1992). No Paraná, também em plantio convencional, os incrementos obtidos variaram de 3,2 a 14,5% no rendimento de grãos e de até 25% no teor de proteína dos grãos (Nishi & Hungria, 1996; Hungria et al., 1997b).

Considerando os 20 ensaios realizados em rede nacional, em diversos estados, quase todos em plantio convencional, comprovou-se um incremento médio no rendimento da soja de 4,5%, estatisticamente significativo, pela reinoculação (Hungria et al., 1999).

Já nos quatro ensaios deste estudo, em plantio direto, apesar de ter havido incremento na produção de grãos, tendo os tratamentos reinoculados apresentado acréscimos relativos à testemunha de 5,2 a 16,8%, na safra de 1996/97, e de até 10,1%, na safra de 1998/99, estes resultados não foram estatisticamente significativos. Do mesmo modo, na safra de 1994/95, a testemunha apresentou um rendimento de grãos superior ao dos demais tratamentos, sem também ter sido significativo. O baixo coeficiente de variação dos experimentos, variando de 7,7 a 10,9%, e a relativa alta probabilidade do teste F de não-significância de diferença entre os tratamentos, variando de 13,2 a 49,4%, reforçam a não-significância dessas diferenças.

Esta constatação é ainda reforçada pela análise conjunta, onde mesmo com o pequeno acréscimo do coeficiente de variação, atribuído provavelmente à análise de diferentes safras, o teste F atingiu 99,3%, e quanto ao rendimento de grãos, não houve diferença expressiva entre os tratamentos. Desta forma, pode-se afirmar, com segurança, que estatisticamente não houve resposta à reinoculação nas áreas em plantio direto.

O mesmo se observou em Passo Fundo (RS), também sob sistema plantio direto, em ensaio equivalente, pertencente à rede nacional (Voss & Cunha, 1996). A falta de resposta à reinoculação pode estar relacionada com as condições favoráveis à sobrevivência do *Bradyrhizobium* e à simbiose proporcionadas pelo plantio direto. Dois fatores importantes do plantio direto, o não-revolvimento do solo e a permanência de resíduos vegetais na superfície resultaram em manutenção dos agregados do solo, maior teor de umidade, maior disponibilidade de fontes de carbono, redução das temperaturas máximas do solo e menores oscilações de temperatura (Bragagnolo & Mielniczuk, 1990; Morote et al., 1990; Derpsch et al., 1991), proporcionando um ambiente favorável ao *Bradyrhizobium* e à simbiose. Foi constatado que, quando comparado ao plantio convencional, o plantio direto com soja aumentou o número de células de *Bradyrhizobium* e que as estirpes foram mais eficientes no processo de fixação do N<sub>2</sub> (Hungria et al., 1997a; Ferreira et al., 2000).

A biodiversidade das estirpes de *Bradyrhizobium*, avaliada pelos padrões genômicos detectados pela amplificação pela técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) com oligonucleotídeos curtos e aleatórios,

**Quadro 6. Efeito das estirpes de *Bradyrhizobium* sobre a nodulação e rendimento de grãos na cultura da soja, em área de plantio direto. Análise conjunta de quatro safras. FUNDACEP, 1994/95, 1996/97, 1997/98 e 1998/99**

Tratamento	Número de nódulo	Massa de nódulo seco	Rendimento de grão
	nº planta <sup>-1</sup>	mg planta <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Testemunha	38,5 <sup>ns(1)</sup>	201,1 a <sup>(2)</sup>	2653 <sup>ns</sup>
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	24,5	99,1 b	2652
SEMIA 587 + SEMIA 5019	37,7	196,5 a	2705
SEMIA 587 + SEMIA 5079	34,1	196,2 a	2624
SEMIA 587 + SEMIA 5080	33,8	194,2 a	2660
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	35,9	205,2 a	2720
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	38,4	217,6 a	2678
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	35,0	190,2 a	2664
C.V. (%)	53,3	32,0	14,5
p > F (Tratamento)	0,1916	0,0001	0,9939

<sup>(1)</sup> ns: não-significativo pelo teste F a 5%. <sup>(2)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%.

**Quadro 7. Ocupação dos nódulos de soja pelas estirpes de *Bradyrhizobium* introduzidas via inoculação, em solos com população estabelecida no sistema plantio direto. FUNDACEP, 1994/95 e 1996/97**

Tratamento	Ocupação do nódulo <sup>(1)</sup>			
	587	5019	5079 <sup>(2)</sup>	5080 <sup>(3)</sup>
%				
Safrá 1994/95				
Testemunha	45,8 b <sup>(4)</sup>	50,4 bc	30,0 b	22,1 b
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	2,9 c	21,7 d	29,2 b	29,2 b
SEMIA 587 + SEMIA 5019	63,3 a	42,5 c	-	-
SEMIA 587 + SEMIA 5079	60,0 a	-	47,5 a	-
SEMIA 587 + SEMIA 5080	53,8 ab	-	-	54,2 a
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	-	78,7 a	47,1 a	-
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	-	61,2 b	-	53,3 a
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	-	-	47,1 a	62,5 a
Isolados do grupo 586	-	-	-	52,8 a
C.V. (%)	20,5	20,6	30,4	34,3
Safrá 1996/97				
Testemunha	57,1 b	36,7 b	35,0 ns <sup>(5)</sup>	34,0 b
200 kg ha <sup>-1</sup> de N	47,5 b	39,2 b	38,3	34,2 b
SEMIA 587 + SEMIA 5019	87,1 a	26,7 b	-	-
SEMIA 587 + SEMIA 5079	81,7 a	-	32,5	-
SEMIA 587 + SEMIA 5080	88,3 a	-	-	52,5 a
SEMIA 5019 + SEMIA 5079	-	82,1 a	32,1	-
SEMIA 5019 + SEMIA 5080	-	70,4 a	-	41,7 ab
SEMIA 5079 + SEMIA 5080	-	-	27,9	58,1 a
CPAC 40 <sup>(2)</sup> + CPAC 44 <sup>(3)</sup>	-	-	41,4	40,8 ab
CPAC 42 <sup>(2)</sup> + CPAC 45 <sup>(3)</sup>	-	-	43,2	39,7 ab
C.V. (%)	32,7	21,5	22,8	35,3

<sup>(1)</sup> A soma dos valores, em cada linha, quando supera 100%, significa que alguns nódulos apresentaram ocupação por mais de uma estirpe. Em somas inferiores a 100%, os demais nódulos não apresentaram reação com nenhum dos quatro soros testados. <sup>(2)</sup> Pertencente ao sorogrupo SEMIA 566. <sup>(3)</sup> Pertencente ao sorogrupo SEMIA 586. <sup>(4)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, em cada coluna, para cada safra, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%. <sup>(5)</sup> ns: não-significativo pelo teste F a 5%.

também foi superior no plantio direto (Ferreira et al., 2000). Foram constatados, ainda, maior número e massa de nódulos, distribuição dos nódulos em maior profundidade (Voss & Sidiras, 1985) e incrementos na taxa de fixação de N<sub>2</sub> e no rendimento da cultura no plantio direto (Hungria, 1999).

A aplicação de 200 kg de N mineral reduziu a massa nodular em até 50%, em relação à média dos demais tratamentos (Quadros 2, 3, 4, 5 e 6), sem que houvesse incremento no rendimento de grãos. No Paraná e na Região dos Cerrados, diversos ensaios, testando a aplicação de pequenas doses de N mineral no plantio, doses intermediárias no florescimento ou doses elevadas, de até 400 kg ha<sup>-1</sup> de N parcelados em dez vezes, não resultaram em qualquer incremento no rendimento da soja (Hungria et al., 1997bc). No Rio Grande do Sul, ensaio com doses de N também não mostrou incremento no rendimento

de grãos e variação nos teores de óleo e proteína da soja (Barni et al., 1977).

Também no Rio Grande do Sul, Campos (1999) não obteve resposta à inoculação e ao uso de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N e constatou uma redução de 83% na massa nodular em resposta à aplicação do N mineral. Do mesmo modo, Voss & Cunha (1996) também não encontraram aumento significativo no rendimento pela inoculação, ou pela aplicação de 328,5 kg ha<sup>-1</sup> de N. A falta de resposta às altas doses de N mineral por esses autores e neste estudo indica que a fixação biológica de nitrogênio foi capaz de suprir, adequadamente, as necessidades da cultura em nitrogênio. Por outro lado, a ausência de resposta à reinoculação demonstra que as estirpes estabelecidas no solo encontravam-se em número adequado e estabeleciam uma simbiose eficiente com a cultura da soja.

Os resultados deste trabalho indicam que, nas condições dos experimentos, em plantio direto, a população naturalizada de *Bradyrhizobium* foi capaz de suprir as necessidades de N da soja para garantir os níveis de produtividade encontrados. Outros experimentos, porém, precisam ser realizados para verificar a periodicidade necessária de reinoculação em diversas áreas sob plantio direto. É necessário, também, buscar estirpes mais eficientes, por meio de isolados do solo em áreas de vários anos em plantio direto, a fim de aumentar a eficiência do processo de fixação biológica do N<sub>2</sub>, caso, no futuro, seja necessário atender a demandas mais elevadas de cultivares mais produtivos.

### CONCLUSÕES

1. Não houve resposta à prática da reinoculação na cultura da soja em área de plantio direto no Rio Grande do Sul, em razão da eficiência da população de *Bradyrhizobium* naturalizada do solo, que foi capaz de suprir as necessidades de nitrogênio da cultura.

2. A aplicação de uma dose elevada de nitrogênio mineral reduziu a massa nodular e não resultou em incrementos no rendimento da cultura.

### AGRADECIMENTOS

Ao Técnico Agrícola Valderi Gnatta, ao auxiliar de campo Jorge Antônio de Moraes e demais funcionários, colegas e estagiários que colaboraram para realização deste trabalho. À EMBRAPA, pelo auxílio financeiro deste projeto, e à FAPERGS, pela bolsa de iniciação científica da aluna Vanessa Tedesco. À colega Inês Natalina Canal, pelas análises de nitrogênio.

### LITERATURA CITADA

- BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D.S. & HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. R. Bras. Ci. Solo, 22:641-649, 1998.
- BANZATTO, D.A. & KRONKA, S.N. Experimentação agrícola. Jaboticabal, FUNEP, 1989. 247p.
- BARNI, N.A.; KOLLING, J. & MINOR, H.C. Efeitos de níveis de nitrogênio sobre o rendimento de grão, nodulação e características agrônômicas da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) Agron. Sulriograndense, 13:93-103, 1977.
- BERTONI, J. & LOMBARDI NETO, F. Conservação do solo. São Paulo, Icone, 1990. 355p.
- BOHRER, T.R.J. & HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. Pesq. Agropec. Bras., 33:937-952, 1998.
- BRAGAGNOLO, N. & MIELNICZUK, J. Cobertura do solo por palha de trigo e seu relacionamento com a temperatura e umidade do solo. R. Bras. Ci. Solo, 14:369-374, 1990.
- CAMPOS, B.C. Dose de inoculante turfoso para soja em plantio direto. Ci. Rural, 29:423-426, 1999.
- CAMPOS, B.C.; REINERT, D.J.; NICOLodi, R.; RUEDELL, J. & PETREIRE, C. Estabilidade estrutural de um Latossolo Vermelho-Escuro distrófico após sete anos de rotação de culturas e sistemas de manejo do solo. R. Bras. Ci. Solo, 19:121-126, 1995.
- DERPSCH, R.; ROTH, C.H.; SIDIRAS, N. & KÖPKE, U. Controle da erosão no Paraná, Brasil: Sistemas de cobertura do solo, plantio direto e preparo conservacionista do solo. Eschborn, GTZ, 1991.
- DÖBEREINER, J. Evaluation of nitrogen fixation in legumes by the regression of total plant nitrogen with nodule weight. Nature, 210:850-852, 1966.
- DUNINGAN, E.P.; BOLLICh, P.K.; HUCHINSON, R.L.; HICKS, P.M.; ZAUNBRECHER, F.C.; SCOTT, S.G. & MOWERS, R.P. Introduction and survival of an inoculant strain of *Rhizobium japonicum* in soil. Agron. J., 76:463-466, 1984.
- ELLIS, W.R.; HAM, G.E. & SCHMIDT, E.L. Persistence and recovery of *Rhizobium japonicum* inoculum in a field soil. Agron. J., 76:573-576, 1984.
- ELTZ, F.L.F.; PEIXOTO, R.T.G. & JASTER, F. Efeitos de sistemas de preparo do solo nas propriedades físicas e químicas de um latossolo bruno álico. R. Bras. Ci. Solo, 13:259-267, 1989.
- FERREIRA, M.C.; ANDRADE, D.S.; CHUEIRE, L.M.O.; TAKEMURA, S.M. & HUNGRIA, M. Effects of tillage method and crop rotation on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. Soil Biol. Biochem., 32:627-637, 2000.
- HUNGRIA, M. Características biológicas em solos manejados sob plantio direto. In: REUNIÓN BIENAL DE LA RED LATINOAMERICANA DE AGRICULTURA CONSERVACIONISTA, 5., Florianópolis, 1999. Anais. Florianópolis, Empresa de Pesquisa Agropecuária e de Extensão Rural de Santa Catarina SA., 1999. (CD ROM)
- HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; BALOTA, E.L. & COLOZZI-FILHO, A. Importância do sistema de semeadura direta na população microbiana do solo. Londrina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997a. 9p. (EMBRAPA-CNPSo. Comunicado Técnico, 56)
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. & CAMPO, R. A inoculação da soja. Londrina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997b. 28p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 17; EMBRAPA-CPAC. Circular Técnica, 34)
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; ANDRADE, D.S.; CAMPO, R.J.; CHUEIRE, L.M.O.; FERREIRA, M.C. & MENDES, I.C. Fixação biológica do nitrogênio em leguminosas de grãos. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.; FAQUIN, V.; FURTINNI, A.E. & CARVALHO, J.G., eds. Soil fertility, soil biology and plant nutrition interrelationships. Lavras, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Universidade Federal de Lavras, 1999. p.597-620.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J. & GALERANI, P.R. Adubação nitrogenada na soja? Londrina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997c. p.1-4. (EMBRAPA-CNPSo. Comunicado Técnico, 57)

- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. & PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R.S. & HUNGRIA, M., eds. Microorganismos de importância agrícola. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.9-89.
- MOROTE, C.G.B.; VIDOR, C.; MENDES, N.G. & PEREIRA, J.S. Melhoria da nodulação da soja pela cobertura do solo e inoculação com *Bradyrhizobium*. R. Bras. Ci. Solo, 14:143-150, 1990.
- NISHI, C.Y.M. Identificação sorológica de *Bradyrhizobium/Rhizobium*. In: HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S., eds. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994. p.171-181.
- NISHI, C.Y.M. & HUNGRIA, M. Efeito na reinoculação na soja [*Glycine max* (L.) Merrill] em um solo com população estabelecida de *Bradyrhizobium* com as estirpes SEMIA 566, 586, 587, 5019, 5079 e 5080. Pesq. Agropec. Bras., 31:359-368, 1996.
- OLIVEIRA, L.A. & VIDOR, C. Capacidade competitiva de estirpes de *Rhizobium japonicum* em solos com alta população deste *Rhizobium*. R. Bras. Ci. Solo, 8:49-55, 1984a.
- OLIVEIRA, L.A. & VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* em soja. II. Capacidade competitiva por sítios de nódulos. R. Bras. Ci. Solo, 8:43-47, 1984b.
- RELARE. Reunião de laboratórios para recomendação de estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, 6. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3., Londrina, 1994. Anais. Londrina, IAPAR/EMBRAPA-CNPSO, 1995. p.475-489.
- REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 26. Recomendações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina 1998/99. Cruz Alta, UNICRUZ, 1998. 133p.
- SÁ, J.C.M. Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In.: CNPT-EMBRAPA, FUNDACEP-FECOTRIGO, FUNDAÇÃO ABC. Plantio direto no Brasil. Passo Fundo, Aldeia Norte, 1993. p.37-60.
- SINGLETON, P.W. & TAVARES, J.W. Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous rhizobium population. Appl. Environ. Microbiol., 51:1013-1018, 1986.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. Análises de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim técnico, 5)
- THIES, J.E.; SINGLETON, P.W. & BOHLOOL, B.B. Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. Appl. Environ. Microbiol., 57:19-28, 1991.
- VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M. Fixação biológica do N<sub>2</sub> na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M., eds. Biologia dos solos de cerrados. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1997. p.297-360.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R. & PERES, J.R. Duas novas estirpes de rizóbio para a inoculação da soja. Planaltina, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1992. 3p. (EMBRAPA-CPAC. Comunicado Técnico, 62)
- VARGAS, M.A.T.; PERES, J.R.R. & SUHET, A.R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob cerrado. Pesq. Agropec. Bras., 17:1127-1132, 1982.
- VOSS, M. & CUNHA, M.H. Efeito da inoculação de estirpes recomendadas de *Bradyrhizobium* em soja, com população estabelecida dessa bactéria. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soja: resultados de pesquisa do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 1995/96. Passo Fundo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1996. p.209-213.
- VOSS, M. & SIDIRAS, N. Nodulação da soja em plantio direto em comparação com plantio convencional. Pesq. Agropec. Bras., 20:775-782, 1985.
- WEAVER, R.W. & FREDERICK, L.R. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* (L.) Merrill. II. Field studies. Agron. J., 66:233-236, 1974.