



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS CHAPECÓ

AGRONOMIA

BERNARDO FRIZZO

**NODULAÇÃO DA SOJA SOB DIFERENTES TRATAMENTOS QUÍMICOS DE
SEMENTES**

CHAPECÓ

2018

BERNARDO FRIZZO

**NODULAÇÃO DA SOJA SOB DIFERENTES TRATAMENTOS QUÍMICOS DE
SEMENTES**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção de grau
de bacharel em Agronomia da Universidade Federal
da Fronteira Sul.

Professor Orientador: Siumar Pedro Tironi

CHAPECÓ

2018

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

, Bernardo Frizzo
Nodulação da soja sob diferentes tratamentos químicos
de sementes / Bernardo Frizzo . -- 2018.
30 f.:il.

Orientador: Doutor Siumar Pedro Tironi.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia, Chapecó, SC , 2018.

1. Simbiose. 2. Bradyrhizobium. 3. Fungicidas. I.
Tironi, Siumar Pedro, orient. II. Universidade Federal
da Fronteira Sul. III. Título.

BERNARDO FRIZZO

**NODULAÇÃO DA SOJA SOB DIFERETES TRATAMENTOS QUÍMICOS DE
SEMENTES**

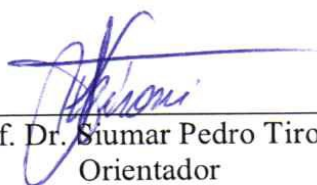
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de
Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, como
requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Siumar Pedro Tironi

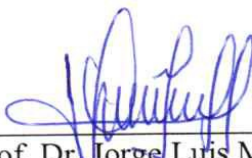
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

06/12/2018

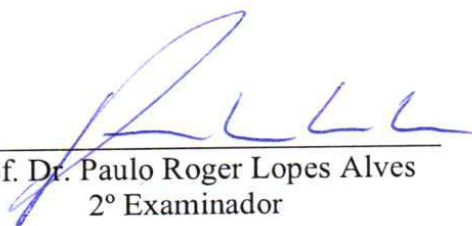
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Siumar Pedro Tironi
Orientador



Prof. Dr. Jorge Luis Mattias
1º Examinador



Prof. Dr. Paulo Roger Lopes Alves
2º Examinador

À minha mãe Mirtes Elisabete Frizzo, à meu pai Eduardo Lino Frizzo e à minha irmã Maria Eduarda Frizzo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus pela vida e pela saúde;

Agradeço a minha mãe, por toda educação dada e por todo o apoio nas diferentes decisões que tomei ao longo da minha vida, ainda, por todo apoio financeiro e por nunca ter deixado faltar nada;

O meu agradecimento ao meu pai, pela educação, valores e os ensinamentos repassados, bem como, pela parceria de trabalho e troca de conhecimento mutuo;

Não poderia esquecer da minha irmã casula Maria Eduarda Frizzo e as duas pessoas que perdi em vida e que sempre terei um enorme apreço, meu tio Gilberto Rodrigo Kraemer e minha vó paterna Olina Beazi Frizzo.

Também, ao professor orientador Siumar Pedro Tironi, pela parceria, pelas dicas, pelos conhecimentos repassados e por ter aceito ser orientador das atividades ao longo da graduação;

Não poderia deixar de lembrar das pessoas que me ajudaram diretamente no desenvolvimento do trabalho, são eles: Pablo Rudiel Diesel, André Ferraz de Camargo, Matheus Velho dos Santos e Matheus Willian Begnini. Grato pela ajuda amigos!

Aos demais amigos de Universidade aos quais tive convívio quase que diário, todos os professores que tive contato e que de alguma forma foram importantes, outros amigos de vida e demais familiares.

RESUMO

A soja destaca-se pela alta concentração de óleo e proteína em seus grãos, também, sabe-se que é alta demanda de Nitrogênio pela cultura, esse elemento só é economicamente viável de ser suprido através da simbiose que ocorre naturalmente entre plantas de soja e bactérias fixadoras de nitrogênio, como as do gênero *Bradyrhizobium*, que podem ser inoculadas às sementes da cultura. Nesse sentido, foi conduzido um ensaio com o objetivo de avaliar os impactos do tratamento de sementes na nodulação e sua eficiência em soja, utilizando a inoculação com *Bradyrhizobium*. O experimento foi conduzido em laboratório e em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A soja foi semeada em vasos com 8 dm³ de solo, sendo conduzidas 4 plantas por vaso, na profundidade de 3 cm. Os tratamentos foram compostos por inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio e tratamentos de sementes, da seguinte forma: testemunha (semente nua); inoculante; fipronil + piraclostrobina + tiofanato metílico + inoculante; fipronil + carboxina + thiram + inoculante; fipronil +, metalaxil – m + fludioxinil + inoculante; fipronil + carboxina + thiram + metalaxil – m + fludioxinil + inoculante. O ensaio foi conduzido até as plantas atingirem o estágio fenológico de V3. As variáveis analisadas foram número de nódulos por planta, área foliar, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz, e teor de nitrogênio foliar, os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott ($p \leq 0,05$). A maior eficiência de nodulação se deu quando foi realizada a inoculação via sementes sem a associação com agrotóxicos, demonstrando o efeito tóxico da associação com fungicidas e inseticidas. A massa seca de raiz apresentou valores superiores quando tratadas com carboxina e thiram, bem como, fludioxinil e metalaxil – m, possivelmente por estímulos fisiológicos positivos. A massa seca de parte aérea e teor de nitrogênio foliar não foram influenciados pelos tratamentos. Conclui-se que associação de agrotóxicos com inoculante via sementes traz prejuízos para o número de nódulos, porém, a redução da nodulação não tem efeitos significativos em outros aspectos das plantas de soja nessa fase.

Palavras-chave: Simbiose. *Bradyrhizobium*. Fungicidas

ABSTRACT

Soy is distinguished by the high concentration of oil and protein in its grains, also, it is known that it is high demand of Nitrogen by the crop, this element is only economically viable to be supplied through the symbiosis that occurs naturally between soybean plants and nitrogen-fixing bacteria, such as those of the genus *Bradyrhizobium*, that can be inoculated to the seeds of the crop. In this sense, a trial was conducted with the objective of evaluating the impacts of seed treatment on nodulation and its efficiency in soybean using *Bradyrhizobium* inoculation. The experiment was conducted in a completely randomized design with four replicates. The soybean was sown in pots with 8 dm³ of soil, and 4 plants per pot were carried out, at a depth of 3 cm. The treatments were composed by inoculation of nitrogen fixing bacteria and seed treatments, as follows: control (bare seed); inoculant; fipronil + pyraclostrobin + methyl thiophanate + inoculant; fipronil + carboxin + thiram + inoculant; fipronil +, metalaxyl-m + fludioxinil + inoculant; fipronil + carboxin + thiram + metalaxyl-m + fludioxinil + inoculant. The test was conducted until the plants reached the phenological stage of V3. The variables analyzed were number of nodules per plant, leaf area, dry shoot mass, root dry mass, and leaf nitrogen content, the results were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Scott Knott test ($p \leq 0.05$). The highest nodulation efficiency occurred when inoculation was carried out via seeds without association with pesticides, demonstrating the toxic effect of the association with fungicides and insecticides. Root dry mass presented higher values when treated with carboxin and thiram, as well as fludioxinil and metalaxyl - m, possibly by positive physiological stimuli. Dry shoot mass and leaf nitrogen content were not influenced by the treatments. It is concluded that the association of agrochemicals with inoculant via seeds causes damage to the number of nodules, however, the reduction of nodulation does not have significant effects on other aspects of soybean plants in this phase.

Keywords: Symbiosis; *Bradyrhizobium*; Fungicides

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
6 CONCLUSÕES.....	28
7 REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Desde o início do cultivo da cultura da soja (*Glycine max*) até os dias atuais, muito se avançou no Brasil. A partir das condições edafoclimáticas favoráveis de quase todas as áreas do país ao cultivo, a qualidade de seu grão, sua demanda e sua cotação de preço ao longo do tempo, a produção aumentou, através do aumento de área e produtividade. Isso só foi possível devido ao esforço da pesquisa que segue até os dias atuais para entender o cultivo, desenvolver tecnologias, elevar ainda mais a produtividade e aumentar a rentabilidade do sojicultor.

Quanto a parte nutricional da cultura, Campos e Hungria (2007) afirmam que soja apresenta alto teor proteico e sendo assim, possui uma alta demanda pelo elemento Nitrogênio (N), ao mesmo tempo, se tem o conhecimento que a cultura possui a capacidade de realizar interação simbiótica com bactérias fixadoras de Nitrogênio (N_2 atmosférico) que conseguem entregar a maioria do Nitrogênio necessitado, em troca, recebe do metabolismo da planta substâncias para sua sobrevivência.

A inoculação de sementes de soja com bactérias fixadoras de Nitrogênio na soja é uma tecnologia indispensável para a cultura no Brasil (ZILLI et al., 2010). Tal técnica, torna o cultivo da mesma viável sem a aplicação de Nitrogênio mineral (ALVES et al., 2003).

Tal técnica é aplicada na maioria das lavouras de soja do Brasil. Sendo o número de células bacterianas na semente o fator determinante para o sucesso da fixação biológica do Nitrogênio (FBN). A população destes microorganismos pode ser aumentada em quantidade e qualidade através das propriedades do inoculante e distribuição dessas bactérias na semente. Em contrapartida, a proteção das sementes com tratamento aplicando agroquímicos, principalmente fungicidas, é um fator que pode influenciar negativamente o sucesso da Fixação Biológica do Nitrogênio em soja (PANDY-LORCH, 2002).

Fossati (2004) mostra que o efeito tóxico de agrotóxicos com seus respectivos ingredientes ativos e inertes podem causar a mortalidade das bactérias diazotróficas e consequentemente a inviabilidade dos nódulos pelo fato de quando se realiza o tratamento de semente por mais que fazemos separadamente, o inoculante de produtos químicos, seguindo as sugestões apontadas por Campo e Hungria (2007) em alguns trabalhos, mesmo assim se tem o contato do inoculante com produtos químicos utilizados no tratamento de semente.

Ainda, a redução na nodulação de soja pelo tratamento de sementes é um efeito dos fungicidas, uma vez que esses reduzem o número de células viáveis na semente, devido o contato direto dos fungicidas com a bactéria, também, ocorre alteração de exsudatos das

raízes e como consequência diminui a emissão dos sinais moleculares nos estágios iniciais da infecção radicular (FOSSATI, 2004).

Por fim, os fungicidas interferem diretamente na eficiência da FBN interferindo na sobrevivência do *Bradyrhizobium* nas sementes (MENTEN et al., 2010), entretanto, novos estudos são necessários para determinar como, quanto e quais os fungicidas que causam mortalidade da bactéria.

2 OBJETIVOS

Os objetivos serão subdivididos em geral e específico.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a nodulação da soja em função do tratamento de sementes com inoculante de bactérias fixadoras de Nitrogênio, inseticida e diferentes fungicidas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar o número de nódulos em plantas de soja em função da interação tratamento de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.

Quantificar a matéria seca de parte aérea e raiz de plantas de soja em função da interação tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.

Avaliar a área foliar de plantas de soja submetida a diferentes tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.

Mensurar o teor de Nitrogênio foliar em folhas de plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão bibliográfica abordará, de maneira sucinta, os principais temas discutidos nesse estudo.

A cultura da soja (*Glycine max*)

A cultura da soja consolidou-se como principal cultura em termos de área semeada no Brasil. A Consultoria FC Stone (2017) havia estimado um aumento na área ocupada pela oleaginosa de 3,14% na safra 2017/2018, abrangendo então uma área total de 34,93 milhões de hectares. A CONAB (2018), no final da safra 2017/2018 confirmou a área plantada em 35,100 milhões de hectares com uma produção total de 116, 996 milhões de toneladas. Para a safra 2018/2019, a Consultoria Céleres (2018) estima um aumento aproximado de 3,1%, podendo chegar a uma área de até 36,17 milhões de hectares.

A produção e comercialização de seus grãos, tanto nacionalmente quanto internacionalmente impactam positivamente a economia brasileira. Em julho de 2017, as exportações do complexo soja (grãos, farelo e óleo) somavam 8,248 milhões de toneladas, a receita com venda externas do complexo somou US\$3,039 bilhões até a data, aumentando 0,2% na comparação com o ano anterior (MDIC, 2017). A força da cadeia produtiva da soja permite, inclusive, ao Brasil ter pretensões geopolíticas e geoeconômicas e a capacidade de influenciar o mercado mundial de commodities agrícolas (HIRAKURI & LAZAROTTO, 2014).

A alta demanda dessas matérias prima e de seus produtos se relacionada a sua composição nutricional diferenciada. A composição centesimal (100 gramas) média da soja em grãos é de 417 Kcal, 38,0 gramas de proteínas, 19,0 gramas de lipídeos, 23,0 gramas de açúcar, 4,0 gramas de fibras e 5 gramas de minerais (KAWAGA, 1995). Sendo assim, é uma fonte proteica importante, aliada ao alto teor de energia, oriundo tanto de lipídeos quanto de carboidratos. No caso da extração do óleo de soja, o subproduto é o farelo de soja, insumos de extrema importância para a produção de proteína animal.

Segundo Câmara (2014), a associação simbiótica entre as raízes da soja e as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* contribui com todo o Nitrogênio que a soja necessita para produtividade média de aproximadamente 3.600 kg ha⁻¹, além de proporcionar valores entre 20 e 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio para a cultura em sucessão. A inoculação (reinoculação) em áreas com histórico de cultivo de soja deve ser realizada anualmente, pois no período de entressafra de soja ocorre competição entre bactérias fixadoras do nitrogênio e outros

microrganismos nativos da área agrícola, reduzindo a população de bactérias eficientes na fixação do Nitrogênio menos adaptadas as variações de regime hídrico e térmico do que os microrganismos nativos, predominando bactérias menos eficientes na fixação do N.

Tratamento de sementes

O tratamento de sementes soja com inseticidas é uma prática fundamental para garantir o número de plantas desejado e de bom desenvolvimento, uma vez que o ataque de insetos-praga em fases iniciais pode comprometer o desenvolvimento inicial da cultura. Sendo assim, o ingrediente ativo fipronil é uma boa ferramenta e atualmente, amplamente utilizado devido ao seu amplo espectro de controle, demonstrando alta eficiência no controle de insetos-praga nas fases iniciais da cultura (FARIAS, 2017).

Segundo Goulart (2005), a semente de soja tem um importante papel no estabelecimento da lavoura, além de ser o mais importante veículo de disseminação e sobrevivência de muitos patógenos. Cerca de quarenta doenças causadas por diversos organismos (fungos, bactérias, vírus e nematoides) podem afetar de forma negativa o estabelecimento das plantas no campo (EMBRAPA, 2011).

A prática de tratamento de sementes de soja está totalmente difundida, sendo que mais de 90% das sementes de soja comercializadas no Brasil recebem esse tipo de tratamento (GOULART, 2005).

Ainda, para Goulart (2017), a escolha do fungicida a ser utilizado no tratamento de sementes deve ocorrer em função do teste de patologia de sementes. Sendo que, os ingredientes ativos dos diferentes fungicidas apresentam diferentes espectros e eficiência de controle, sendo assim, a escolha deve ser ajustada dependente de cada caso.

A incompatibilidade entre o tratamento de sementes com determinados fungicidas e o uso de inoculantes tem sido considerada um dos maiores problemas relacionados à FBN na cultura da soja no País (CAMPO, et al. 2010).

Para Campo et al. (2009), quando avaliaram a compatibilidade entre sementes com fungicidas e inoculadas em áreas sem estirpes nativas a redução da nodulação é de 33% e 14% para áreas com estirpes nativas, respectivamente.

A redução da nodulação pode estar relacionada com os ingredientes ativos bem com os inertes desses produtos utilizados no tratamento de sementes, ou mesmo pela mudança no pH da calda em contato com o solo, quando aplicado ao solo, ou na formulação do tratamento de sementes, qual engloba além dos fungicidas, inseticidas e inoculantes, muitas vezes são incrementados com nutrientes, reguladores de crescimento ou indutores de resistência,

produtos capazes de tornar o pH mais ácido e a calda mais nociva às bactérias diazotróficas (SILVA et al., 2011).

Quanto maior é a adição de ingredientes ativos maior é o efeito tóxico a sobrevivência das bactérias e conseqüentemente menor é a massa das plantas (SANTOS et al., 2013).

Em muitos casos, além do inoculante, as sementes também recebem tratamento com fungicida, que visa evitar a disseminação de fitopatógenos e reduzir os índices de perdas no campo. Entretanto, algumas combinações de fungicidas indicadas para tratamento de sementes de soja podem ser tóxicas às bactérias fixadoras de nitrogênio, podendo ocasionar reduções na nodulação e no rendimento de grãos (PEREIRA et al., 2007). Normalmente, a aplicação de fungicidas tem sido realizada antes da inoculação para diminuir os efeitos tóxicos sobre as células de *Bradyrhizobium*. Mas, ainda ocorrem algumas incompatibilidades dos microrganismos simbioss com alguns fungicidas, sugerindo a necessidade de encontrar técnicas de utilização destes produtos no tratamento de sementes de soja sem comprometer a sobrevivência da bactéria e, conseqüentemente, a nodulação (ARAÚJO, 2006; PEREIRA et al., 2007). Recentemente, aditivos compostos por lipídeos e oligossacarídeos têm sido comercializados no mercado visando proteger as células bacterianas inoculadas às sementes de soja. Portanto, pressupõem-se que o uso de aditivo proteja essas células da ação de fungicidas utilizados em tratamentos de sementes de soja, possibilitando inocular as sementes imediatamente após o tratamento, mesmo quando a semeadura for realizada após algumas horas.

A maioria dos tratamentos de sementes apresenta maior toxicidade as bactérias inoculadas e não as nativas, ainda, as moléculas thiametoxam (inseticida), fludioxonil, metalaxyl-m e thiabendazole (fungicidas) associadas possuem efeito tóxico às bactérias, podendo inibir a FBN ou diminuindo a viabilidade do inoculante (SANTOS et al., 2013).

Do mesmo modo, estudos realizados por Revellin et al. (1993) demonstraram efeito levemente tóxico do fungicida carboxina + thiram (Vitavax Thiram[®]) sobre a nodulação da soja, após 24 horas de contato deste com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum*, antes do plantio. Por outro lado, Bigaton et al. (2006), em condições experimentais similares às do presente estudo, não verificaram decréscimos no número e peso de nódulos secos e na porcentagem de Nitrogênio foliar em plantas de soja, quando avaliados diferentes tratamentos com fungicidas.

Estudos conduzidos sob condições de campo, num solo calcário na França, demonstraram que, embora o fungicida carboxina e thiram (Vitavax Thiram[®]) tenha reduzido

significativamente o número e peso de nódulos de plantas de soja, a produtividade não foi alterada (REVELLIN et al., 1993).

A prática comum no tratamento de sementes, com combinações de fungicidas sistêmico e de contato, pode aumentar o potencial de toxicidade às bactérias presentes no inoculante (CAMPO et al., 2009). Por outro lado, estudos de Gianasi (2010) não têm demonstrado estes efeitos negativos sobre a nodulação das plantas de soja, especialmente em condições de campo, com populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* capazes de nodular a soja eficientemente.

Outro aspecto importante é que os tratamentos com fungicidas e sem inseticidas tendem a ser mais influentes no acúmulo de massa, dado efeito fisiológico dos mesmos (KÖEHLE et al., 1994). Santos et al. (2013) também sugeriu que as moléculas fludioxonil, metalaxil-m e tiabendazol (Maxim Advanced®) associadas possuem um maior efeito fisiológico na formação de raízes na cultura soja. Essas respostas foram também observadas em outro estudo, em que as plantas tratadas com fungicidas apresentaram maior vigor, quando comparadas às plantas sem tratamento (MACEDO, 2012). Fungicidas como os do grupo químico das estrobilurinas atuam na respiração mitocondrial bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocrômico, inibindo que os fungos se alimentem da energia da planta (GHINI e KIMATI, 2002).

Considerando a importância da integração do tratamento de sementes de soja com fungicidas e a inoculação das sementes com o *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkanii*, torna-se necessária a avaliação da compatibilidade destas práticas, de modo a garantir os patamares mais elevados de FBN e a sanidade das sementes (COSTA et al., 2013).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó, conduzido em laboratório e em casa de vegetação no período de verão do ano de 2017.

O ensaio foi realizado com um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Os tratamentos foram compostos por combinações de tratamentos de sementes e inoculação com bactéria fixadora de N, da seguinte forma:

TESTEMUNHA = testemunha sem inoculação e sem tratamento;

INOCULANTE = semente apenas com inoculante;

INO + S.TOP = fipronil + tiofanato metílico + piraclostrobina (Standak Top[®]) + inoculante;

INO + MA + VT = fipronil (Maestro[®]) + carboxina + thiram (Vitavax Thiram[®]) + inoculante;

INO + MA + MAX = fipronil (Maestro[®]) + metalaxil – m + fludioxinil (Maxim[®]) + inoculante;

INO + MA + MAX + VT = fipronil (Maestro[®]) + metalaxil – m + fludioxinil (Maxim[®]) + carboxina + thiram (Vitavax Thiram[®]), inoculante.

O inoculante utilizado foi o “Inoculante Turfoso Simbiose Nod Soja”, inoculante turfoso a base *Bradyrhizobium japonicum* na concentração de 5.000.000 de células bacterianas por grama com a recomendação de 1,4 gramas por kg de sementes, sendo assim, 1 quilo de sementes recebendo 7.000.000 de células bacterianas. O aditivo recomendado para o uso juntamente ao inoculante turfoso é o “Aditivo Inoculante Simbiose Pró”, na forma de grânulos solúveis em água, composto de maltodextrina e espessantes, com dose recomendada de 1 gramas por quilo de semente.

O produto Standak Top[®] se apresenta na formulação de suspensão concentrada com dose comercial de 2 ml kg⁻¹ sementes, concentração de ingredientes ativo fipronil de 250 g L⁻¹, piraclostrobina de 25 g L⁻¹ e tiofanato metílico de 225 g L⁻¹. O produto Maestro[®] se apresenta na forma de suspensão concentrada, com dose comercial de 2 ml kg⁻¹ de sementes, com concentração de fipronil de 250 g L⁻¹. O produto Vitavax Thiram[®] é formulado como suspensão concentrada, dose recomendada é de 3 ml kg⁻¹ de sementes, com concentração de Carboxina de 200 g L⁻¹ e Thiram 200 g L⁻¹. O produto Maxim[®] se apresenta na forma de suspensão concentrada, com dose de 1 ml kg⁻¹ de semente e tem concentração de fludioxinil de 25 g L⁻¹ e de metalaxil – m de 10 g L⁻¹.

A cultivar de soja utilizada foi a TMG 7062 INOX IPRO, da obtentora Tropical Melhoramento Genético, resistente ao herbicida glyphosate, grupo de lagartas desfolhadoras

da soja e ao fungo *Phakopsora pachyrhizi* (fungo causador da doença Ferrugem Asiática), com habito de crescimento semi indeterminado e grupo de maturação 6.2, com indicação de cultivo para toda a região Sul (Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul). A semente que foi utilizada é fiscalizada e não possuía nenhum tratamento oriundo da unidade de beneficiamento de sementes.

O tratamento de sementes foi realizado no Laboratório de Grãos e Sementes. O procedimento aconteceu de forma separada, seguindo recomendações da EMBRAPA, que não prevê a mistura de diferentes produtos, já que por lei não é regulamentado. As sementes foram tratadas manualmente em sacola plástica, primeiramente com calda inseticida, posteriormente com calda fungicida (3 horas após) e por fim, com calda inoculante e aditivo (3 horas após). O volume de cada calda utilizado foi de 10 ml kg⁻¹ de semente, sendo que o veículo utilizado foi água destilada.

Cada parcela foi constituída de um vaso plástico de 8 dm³. O substrato utilizado foi solo coletado de uma área caracterizada como Latossolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA), numa profundidade de 0-20 cm sem presença de cobertura vegetal. A cada vaso foi incorporado 6 g de superfosfato triplo (00-42-00) e 4 g de cloreto de potássio (00-00-60), simulando uma adubação de base que é feita na cultura.

A semeadura dos vasos ocorreu 3 horas após a inoculação, em que as sementes foram depositadas a uma profundidade de 3 cm. Inicialmente, foi semeado o dobro da população final pretendida, após a emergência foi feito o desbaste e a capina manual, deixando a “plantabilidade” ideal, com 4 planta por vaso, no espaçamento de 10 centímetros entre plantas em linha e 18 centímetros entre plantas na entrelinha.

Os vasos foram alocados na casa de vegetação, recebendo irrigação diária e realização de arranquio de plantas daninhas quando necessário (Fotografia 1).

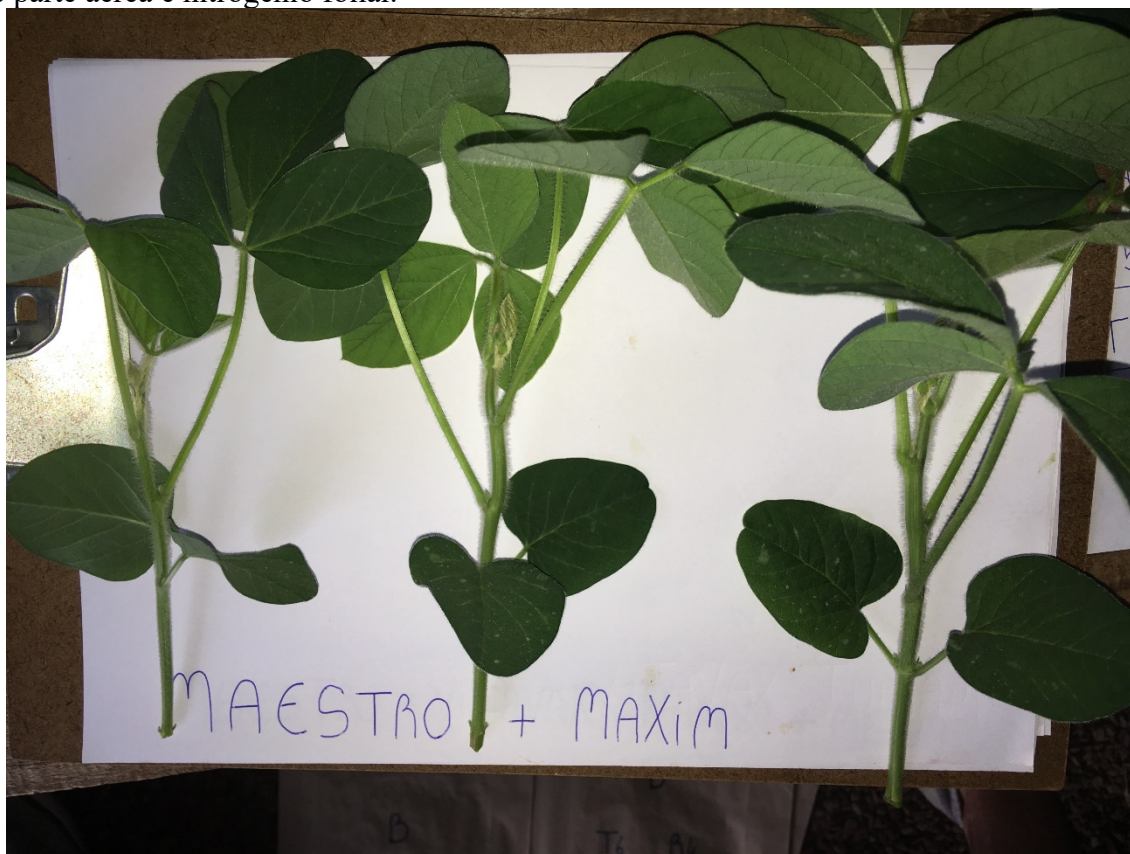
Fotografia 1 – Experimento em andamento na casa de vegetação, estágio de fenológico de VE (emergência de plântulas), no momento do desbaste e capina manual.



Fonte: Autor, 2018.

O experimento foi conduzido até os estágio V3 (3 nós visíveis e dois trifólios desenvolvidos), nesse momento, para Campo e Hungria (2007) as plantas devem estar com bom número de nódulos, por mais que não em grande tamanho. Então as plantas foram retiradas cuidadosamente dos vasos, cortadas na base do hipocótilo (Fotografia 2), a parte aérea foi embalada em sacos de papel para avaliação da área foliar, matéria seca e nitrogênio foliar, as raízes foram lavadas sob uma peneira, para evitar a perda de nódulos (Fotografia 3), então foi determinado o número de nódulos por planta, então, as raízes também foram embaladas em sacos de papel para determinação da matéria seca.

Fotografia 2 – Destacamento da parte aérea de plantas para a análise de área foliar, matéria seca de parte aérea e nitrogênio foliar.



Fonte: Autor, 2017.

Fotografia 3 – Momento da avaliação da nodulação no campo, lavagem das raízes com água e auxílio da peneira em baixo e posterior contagem.

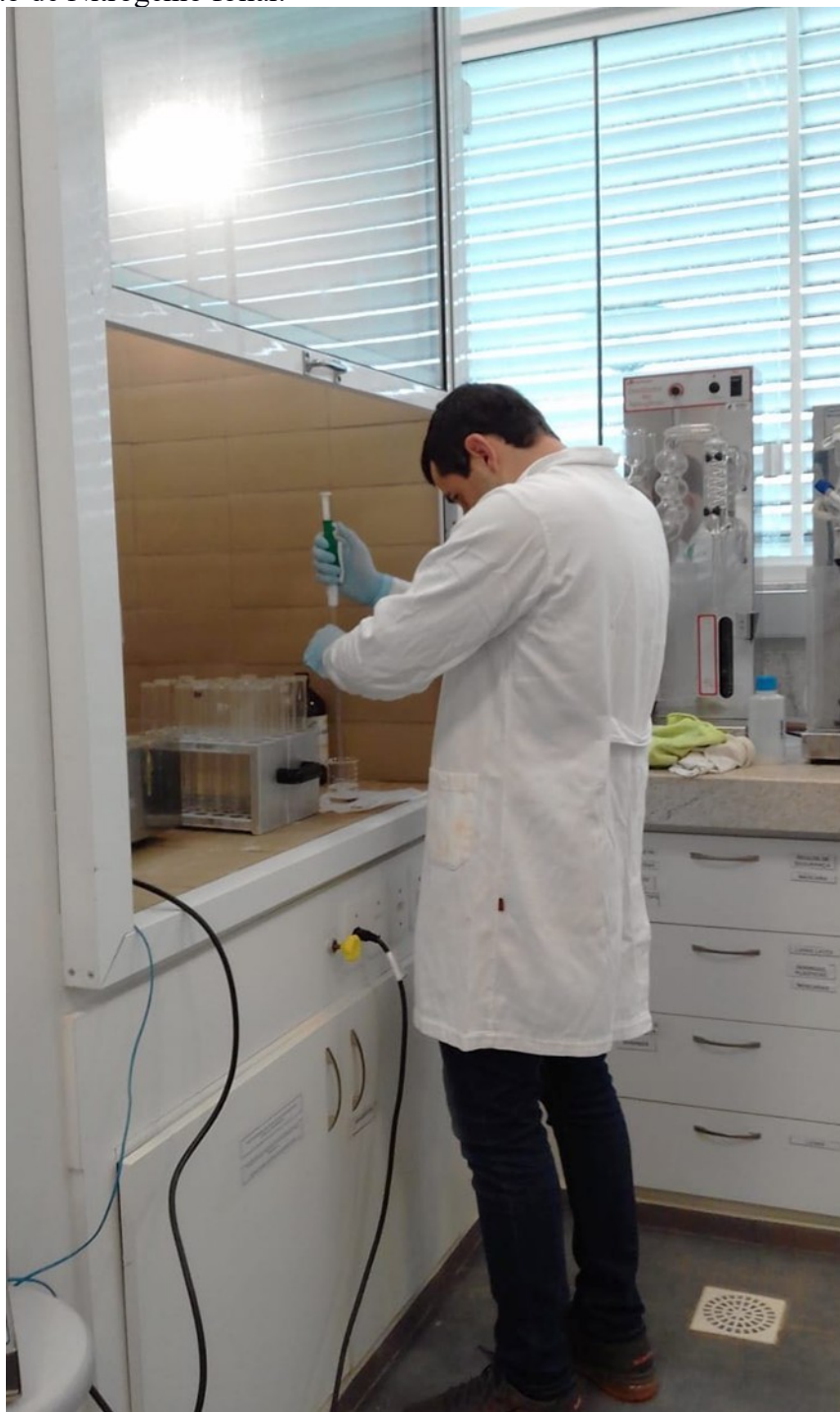


Fonte: Autor, 2017.

Os nódulos foram sendo separados das raízes das quatro plantas de cada parcela e contados. A área foliar foi realizada através da separação de todos os folíolos das plantas de cada parcela e alocação sobre folhas A4 brancas, foram obtidas imagens das folhas que foram processadas no software Quant v.1.0.1 (licenciado para o professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco Sami J. Michereff), obtendo-se a área foliar em cm^2 . A matéria seca da parte aérea, raiz e nódulos foi realizada através da secagem do material em estufa a $60\text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas e, posteriormente, pesado em balança de precisão.

A quantificação do Nitrogênio foliar foi realizado o procedimento de acordo com o método de Tedesco, et. al. (1995), apenas com o ajuste na fórmula de nitrogênio, em que, a concentração proposta da solução titulante Hidróxido de Sódio de 700 g L^{-1} , foi usada na concentração de $682,08\text{ g L}^{-1}$.

Fotografia 4 – Preparo das amostras das folhas de soja para a digestão, posterior destilação e titulação de Nitrogênio foliar.



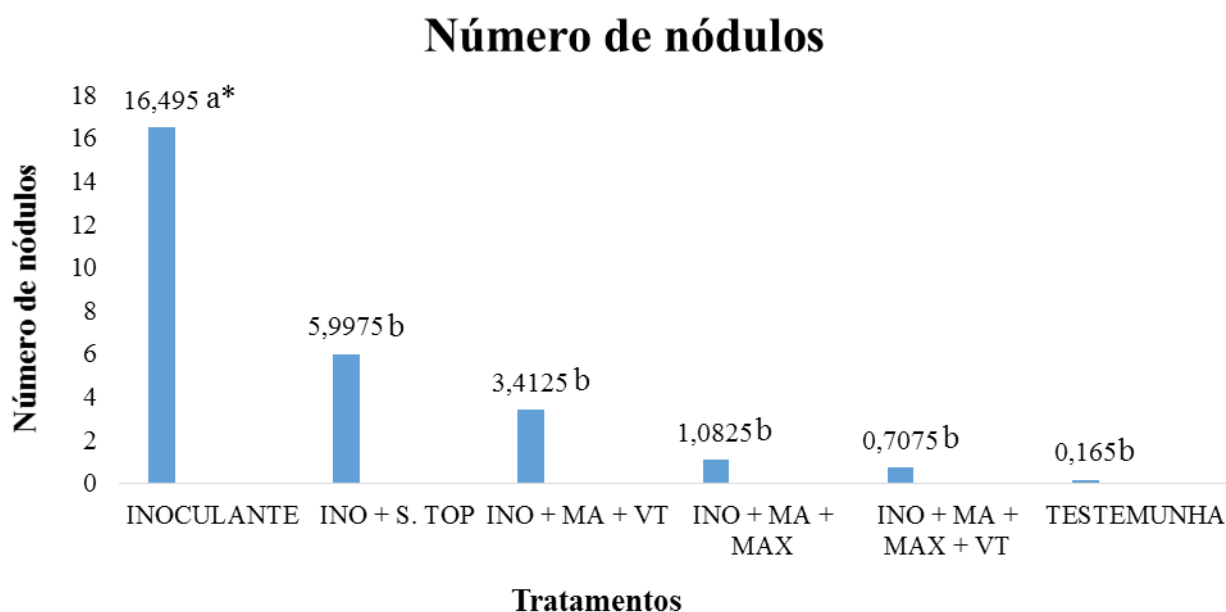
Fonte: Autor, 2018.

Todos os dados coletados foram submetidos à análise de variância, aonde houve significância no teste F, os mesmos foram comparados pelo teste de Scott Knott. Todas as análises foram realizadas com 5% de probabilidade de erro. O programa estatístico usado foi o WinStat.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de nódulos por planta no tratamento apenas com inoculante e seu respectivo aditivo se mostrou o mais eficiente, diferindo estatisticamente dos demais, sendo. É possível notar o benefício da inoculação comparando o tratamento inoculante e testemunha, bem como, a redução da nodulação quando adicionado os fungicidas e ainda, demonstrando que, quanto maior a adição de fungicidas, maior é o declínio do número de nódulos.

Gráfico 1. Número de nódulos em plantas de soja da cultivar TMG 7062 IPRO INOX em estágio fenológico V3 submetida a diferentes tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.



*Colunas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. INO = inoculante; ST = Standak Top; MA = Maestro; VT = Vitavax Thiram; MAX = Maxim. CV = 108,72 %. Fonte: o autor, 2018.

O Standak Top® (fipronil, piraclostrobina e tiofanato metílico) e inoculante demonstraram ter menor efeito tóxico sobre os rizóbios. Mantendo-se o número de células bacterianas após 4, 24 e 48 horas do tratamento das sementes (NETO et al., 2014). Nesse caso, independentemente do uso do aditivo celular, esse tratamento apresenta menor efeito deletério sobre a sobrevivência dos rizóbios e maior nodulação da soja. Porém, nesse mesmo experimento, aonde foi testado a adição do aditivo de inoculante, o próprio Standak Top® (fipronil, piraclostrobina e tiofanato metílico) teve uma resposta negativa, a mesma resposta ocorreu para o produto Maxim® (fludioxinil e metalaxil – m).

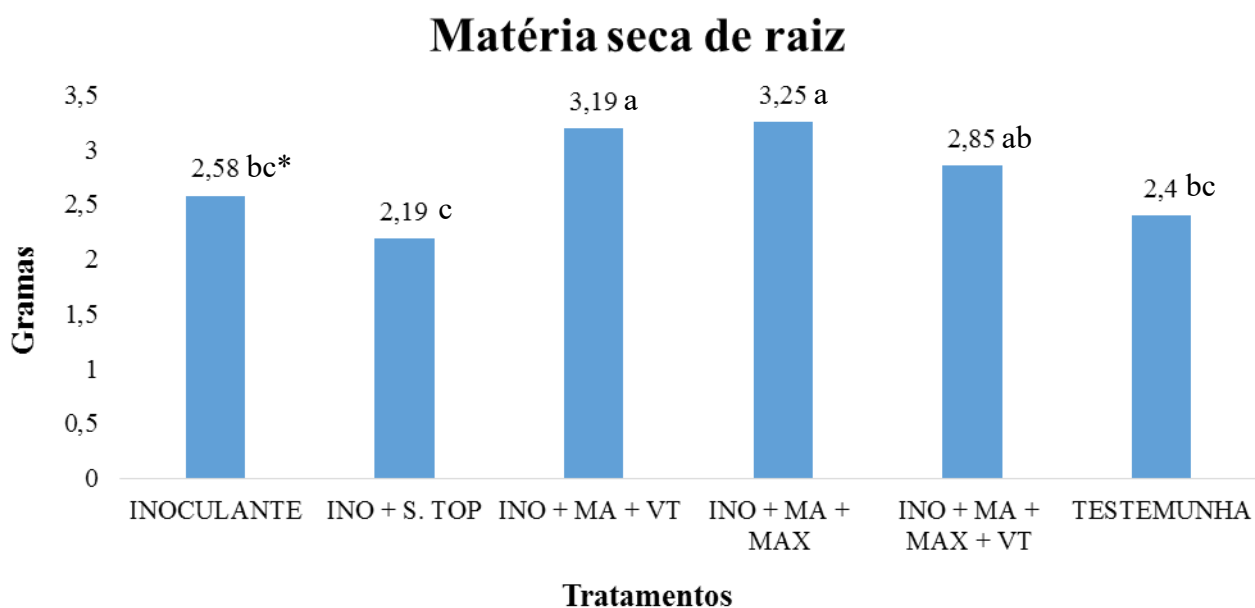
No mesmo estudo mesmo foi identificado que o produto Maxim[®] (fludioxinil e metalaxil – m), resultou na menor população de rizóbios (NETO et al., 2014). Pereira et al. (2009) e Santos et al. (2013), também verificaram redução na população de rizóbios e no número de nódulos quando as sementes foram tratadas com Maxim[®] (fludioxinil e metalixil – m). Pois alguns fungicidas comprometem a simbiose por afetar a sinalização entre rizóbio e planta (CAMPO et al., 2009).

O efeito de toxicidade dos fungicidas não está relacionado apenas aos princípios ativos dos produtos, mas também com outros componentes da sua formulação. Em alguns casos, a formulação e o aditivo podem ter efeitos sinérgicos de toxicidade e em outros a formulação pode proteger os ingredientes ativos do contato direto com as bactérias (COSTA et al., 2013). Tal efeito é demonstrado pelo resultados obtidos por Santos et al. (2014), em que o inseticida thiametoxan e os fungicidas fludioxinil e metalaxil-m (Maxim[®]), quando usados isoladamente são os mais tóxicos de seus grupos as bactérias, porém, quando usado a mistura comercial destes a toxicidade é mais reduzida.

No final da década de 1990, recomendava-se para agricultores o uso do fungicida Vitavax Thiram[®] (carboxina e thiram) em associação a inoculação, após resultados de um ano de ensaios em campo e casa de vegetação o produto demonstrou em alguns casos nenhuma redução na nodulação e maior produtividade final de grãos em relação aos demais produtos testados na época (CAMPOS & HUNGRIA, 2001).

A variável massa seca de raízes foi influenciada pelos tratamentos (Gráfico 2). Em que os tratamentos Inoculante + Maestro[®] + Vitavax Thiram[®], Inoculante + Maestro[®] + Maxim[®] e Inoculante + Maestro[®] + Maxim[®] + Vitavax Thiram[®] apresentaram superioridade nos valores, porém, este último se igualou também aos tratamentos Testemunha. O tratamento com Inoculante + Standak Top[®] apresentou menores valores, igualando-se às testemunhas.

Gráfico 2. Massa seca de raízes (g por vaso) de soja TMG 7062 IPRO INOX em estágio fenológico V3 submetida a diferentes tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.



* Colunas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. INO = inoculante; ST = Standak Top; MA = Maestro; VT = Vitavax Thiram; MAX = Maxim. CV = 11,51 %. Fonte: o autor, 2018.

Tais resultados demonstram não haver uma resposta direta entre o número de nódulos e a matéria seca de raízes, porém, essa se demonstrou influenciada pelos diferentes fungicidas usados, sinalizando, uma interação entre absorção destes e resposta fisiológicas na planta. As respostas observadas nesses estudos já foram relatadas na bibliografia, como para o produto Maxim[®] (fludioxinil e metalaxil – m), indicando que, este possui um efeito fisiológico na formação das raízes na cultura da soja (SANTOS et al., 2014). De maneira geral, são observados mais vigor em plantas tratadas com fungicidas em relação as não tratadas (MACEDO, 2012).

As variáveis resposta, massa seca de parte aérea, teor nitrogênio foliar, área foliar e número de folíolos não foram influenciadas pelos tratamentos testados (Tabela 1)

Tabela 1. Massa seca de parte aérea (g por vaso), teor de nitrogênio foliar (%), área foliar (cm²) em soja TMG 7062 IPRO INOX no estágio fenológico de V3 submetido a diferentes tratamentos de sementes com fungicidas, inseticida e inoculante.

Tratamentos	MSPA (g)	NF (%)	AF (cm ²)
TESTEMUNHA	2,35 ^{NS}	3,62 ^{NS}	428,27 ^{NS}
INOCULANTE	2,75	3,91	540,49
INO + ST ¹	2,47	3,92	521,55
INO + MA + VT	2,73	3,64	533,40
INO + MA + MAX	2,83	3,56	656,88
INO + MA + MAX + VT	2,59	3,35	539,26
CV (%)	19,37	10,42	26,6

^{NS} = não significativo estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ¹ INO = inoculante; ST = Standak Top; MA = Maestro; VT = Vitavax Thiram; MAX = Maxim. Fonte: o autor, 2018

Embora não significativo, numericamente nota-se um menor acúmulo de matéria seca na Testemunha e no tratamento com Inoculante + Standak Top[®] (fipronil, piraclostrobina e tiofanato metílico). No primeiro, pode-se citar a perda dos benefícios da nodulação e disponibilidade de nitrogênio como fator que afeta seu crescimento e consequente acúmulo. Para o segundo, o mecanismo de ação das estrobilurinas, presente através do ingrediente ativo piraclostrobina, que afeta negativamente o fungo, pode afetar negativamente as plantas.

Fungicidas como as estrobilurinas atuam na respiração mitocondrial bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocromico, inibindo que os fungos se alimentem da energia da planta (GHINI e KIMATI, 2002). Ou seja, em todos os tratamentos com fungicidas a alimentação do fungo é inibida, porém, no caso da estrobilurina, o seu mecanismo pode reduzir também a produção de energia da planta.

Para o teor de Nitrogênio foliar embora não havendo diferença significativa, nota-se numericamente que os tratamentos que menos apresentaram acúmulo de matéria seca foram os superiores nesse caso. Isso pode ser explicado pelos resultados da nodulação, em que, estes dois tratamentos apresentaram também maior nodulação e para o caso específico do tratamento Standak Top[®] + Inoculante, o fator da piraclostrobina novamente, porém, nesse caso como fator benéfico, aonde o fabricante, indica o potencial da molécula sobre a fisiologia das plantas, como mecanismo, a maior atividade da enzima nitrato redutase, inclusive, denominando todos os produtos que possuem esse ingrediente ativo como produtos com tecnologia AgCelence[®]. As alterações causadas pelos fungicidas são alteração no ponto

de compensação de CO₂ das plantas; aumento na respiração, aumento na concentração de prótons (H⁺) no citoplasma celular, resultando na ativação da enzima nitrato redutase. A enzima nitrato redutase catalisa o nitrato do solo, possibilitando o aumento grande de assimilação de Nitrogênio (KÖEHLE et al., 1994).

Com relação à área foliar, o que pode ser comparado é a relação numérica de superioridade e inferioridade dos tratamentos testemunha e inoculante + Maestro[®] (fipronil) + Maxim[®] (fludioxinil e metalaxil – m), o que apresentou mesma tendência para a variável matéria seca de parte aérea. Sendo que, o produto Maxim[®] (fludioxinil e metalaxil – m) demonstra seus efeitos na fisiologia, entregando mais área foliar, matéria seca de parte aérea e raízes, porém, menos nódulos. Esse efeito é temporário, em função do baixo residual do produto na cultura (máximo 21 dias), em estágios mais avançados da cultura, o menor aproveitamento do inoculante, o atraso na nodulação e o menor número de nódulos, podem limitar a disponibilidade de nitrogênio e gerar mais efeitos negativos dos que os efeitos positivos no início.

Mostrando que a pode existir uma relação positiva entre precocidade da nodulação, número de nódulos e ciclo da cultura.

Em relação ao experimento em si, duas coisas ficaram muito claras. A primeira que, no estágio em que foram feitas as análises (estádio V3), notou-se uma precocidade no desenvolvimento dos nódulos no tratamento apenas com inoculante, levando a uma hipótese de que, talvez em estágios mais avançados o número de nódulos se iguale (com o fim do residual do tratamento de sementes), sendo assim, o mais correto a dizer que os fungicidas afetam a precocidade dos mesmos. Segundo, no momento das avaliações é importante destacar que o tratamento apenas com inoculante apresentou-se um pouco mais desenvolvido em relação ao demais tratamentos, já se encontrando em estágio V4.

6 CONCLUSÕES

A nodulação da soja é influenciada pela associação do tratamento de sementes com diferentes fungicidas e inoculante. Porém, a diferença de nodulação não influenciou significativamente no acúmulo de massa seca de parte aérea, teor de nitrogênio foliar e área foliar.

Para o número de nódulos, as sementes que são tratadas apenas com inoculante apresentam maior eficiência da nodulação (número e nódulos) no estágio fenológico V3/V4.

Na avaliação de matéria seca de raiz, a significância não teve relação estreita com a nodulação, nesse caso, os tratamentos com Maxim[®] (fludioxinil e metalaxil – m) e Vitavax Thiram[®] (carboxina e thiram) separados e em conjunto foram superiores, e o tratamento com estes em conjunto foi igual ao tratamento apenas com inoculante e a testemunha.

7 REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Bula Maestro**[®]. Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/maestros.pdf>>.
Acessado em: 26 de nov. 2017.
- ADAPAR. **Bula Maxim XL**[®]. Disponível em: <<https://www.syngenta.com.br/product/crop-protection/fungicidatratamento-de-sementes/maxim-xl>>. Acessado em: 26 de nov. 2017.
- ADAPAR. **Bula Vitavax Thiram**[®]. Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Fungicidas/vitavaxthiram200sc.pdf>>. Acessado em: 26 de nov. 2017. Acessado em: 26 de nov. 2017.
- ALCÂNTARA NETO, F. et al. Tempo de contato e de combinações de fungicidas, aditivo e inoculante sobre a sobrevivência de rizóbios e nodulação da soja. **Revista Agroambiente**, On-line, v. 8, n. 1, p. 149-154, 2014.
- ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. **The success of BNF in soybean in Brazil. Plant and Soil**, v.252, p.149, 2003.
- BASF. **Bula Standak Top**[®]. Disponível em:
<http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt/function/conversions:/publish/content/APBrazil/solutions/fungicidas/Bulas/Bula_STANDAKTOP.pdf>. Acessado em: 26 de nov. 2017.
- BIGATON, D.; BACCHI, L. M. A.; MERCANTE, F. M.; GAVASSONI, W. L. Fungicidas aplicados em tratamento de sementes de soja e seus efeitos sobre a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 9, s/p, 2006/2007.
- CAMARA, G. M. S. Fixação Biológica de nitrogênio em soja. **Informações agrônômicas**, n. 7, 2014.
- CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. **Protocolo para análise da qualidade e da eficiência agrônômica de inoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas**. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIAS DE INOCULANTES DE INTERESSE AGRÍCOLA. Londrina, 2006. Londrina: Embrapa Soja, 2007. p.89.
- CAMPOS, R. J.; HUNGRIA, M. MENDES, I. C. Fixação biológica de nitrogênio na soja. **Circular Técnica**, Embrapa Soja: Londrina, n.13, 48 p., 2001.
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and Bradyrhizobium inoculants. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 48, n. 1/3, p. 154-163, 2009.
- 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, MG, v. 34, n. 4, p. 1103–1112, 2010.

COSTA, M. R. et al. Sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* em sementes de soja tratadas com fungicidas e os efeitos sobre a nodulação e a produtividade da cultura. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 39, n. 3, p. 186-192, 2013.

COSTA, M. R. et al. **Aplicação de fungicidas em sementes de soja e seus efeitos na nodulação e fixação biológica de nitrogênio**. UFGD: Dourados.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Programa de melhoramento de soja**, 2008. Disponível em: <<http://www.dag.uem.br/pet/home/MelhoramentoSoja.pdf>>. Acessado em: 09/11/2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja em números (safra 2017/2018)**, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acessado em: 15 nov. 2018.

FARIAS, J. **Inseticidas: planejamento e posicionamento para a próxima safra de soja**. Santa Maria: PhytusClub Webinar, 2017.

FOSSATI, M. L. **Influências do tratamento de sementes de soja com inoculante, micronutrientes e fungicidas sobre população inicial de plantas, nodulação, qualidade de sementes e rendimento de grãos**. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Pelotas, p. 17, 2005.

GASSEN, D. Mais rendimentos. **Revista Cultivar**. Pelotas, ed. especial, p. 3-10, 2015.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2.ed. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2002. 78 p.

GIANASI, L.; FERNANDES, N.; LOURENÇO, A. S. Fungicidas aplica dos em trata mentos de sementes de soja e seus efeitos sobre a nodulação, fixação de nitrogênio, produção de matéria seca e produtividade. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 352-355, 2000.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 72 p.

GOULART, C. **Patologia de sementes de soja**. Santa Maria: PhytusClub Webinar, 2017.

HENNING, A. A. **Tratamento de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA. Disponível em: <<http://radar.cnpso.embrapa.br:8080/documents/10179/16724/Tratamento+de+sementes+de+soja/ff6d84d5-1e97-44c8-bb8f-30acaa8d9078?version=1.0>>. Acessado em 26 de nov. 2017.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: EMBRAPA, 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/990000/1/Oagronegociodasojanoscontextosmundialebrasileiro.pdf>>. Acessado em 26 de nov. 2017.

INTL. FC STone®. **Consultoria de mercado**. Disponível em: <<https://www.intlfcstone.com/pt-BR>>. Acessado em: 26 de nov. 2017.

KAGAWA, A. ed. **Standard table of food composition in Japan**. Tokyo: University of Nutrition for women, 1995. p. 104-105.

KÖEHLE, H.; GROSSMANN, K.; JABS, T.; GERHARD, M.; KAISER, W.; GLAAB, J.; CONRATH, U.; SEEHAUS, K.; HERMS, S. **Physiological effects of strobilurin fungicide Fon plants**. *Biochemical Society Transactions*, London, v. 22, n. 65, 1994.

MACEDO, A. C. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de melão rendilhado, cultivadas em ambiente protegido**. Dissertação de Mestrado, Botucatu: [s.n.], 2012 xi, 65p.

MENTEN, J. O.; HELOISA, M.; MORAES, D. **Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios**. Abrates, vol. 20, nº.3, 2010.

MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS. **Exportação do Complexo Soja**. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br/>>. Acessado em: 25 nov. 2017.
PANDYA-LORCH, R. Global food projections to 2020: the role of soybeans. **Anais do II Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja**, 2002.

NOTÍCIAS AGRÍCOLAS. **Área plantada de soja deve crescer 3% na próxima safra, diz Céleres**. 2018. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/soja/219350-area-plantada-de-soja-deve-crescer-3-na-proxima-safra-diz-celeres.html#.W_CuNuhKjIW>. Acessado em: 15 nov. 2018.

PEREIRA, C. E. et al. Efeito do tratamento das sementes de soja com fungicidas e período de armazenamento na resposta da planta inoculada com *Bradyrhizobium*. **Revista Agroambiente**, On-line, v. 4, n. 2, p. 62-66, 2010.

REVELLIN, C.; LETERME, P.; CATROUX, G. Effect of some fungicide seed treatment on the survival of *Bradyrhizobium japonicum* and on nodulation and yield of soybean [*Glycine max* (L.) Merril]. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 16, p.211-214, 1993.

SANTOS et al. Efeito do tratamento de sementes na nodulação e crescimento inicial da cultura da soja. **Revista Cultivando Saber**. Cascavel, v. 6, n. 4, p. 96- 108, 2013.

SILVA, A. F.; SCHONINGER, E. L.; MONTEIRO, S.; CAIONE, G.; CARVALHO, M. A. C.; DALCHIANON, F. C.; NOETZOLD, R. Inoculação com *bradyrhizobium* e formas de aplicação de cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Revista Agrarian**, v.4, n.12, p.98-104, 2011.

SIMBIOSE. **Simbiose Nod Soja®**. Disponível em: <<http://simbiose-agro.com.br/product/view/simbiose-nod-soja-turfoso>>. Acessado em: 26 de nov. 2017.

SIMBIOSE. **Simbiose Pró®**. Disponível em: <<http://simbiose-agro.com.br/product/view/simbiosepro>>. Acessado em: 26 de nov. 2017.

TECNOLOGIAS de produção de soja – Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: **Embrapa Soja**, 2011. 261 p. (Embrapa Soja. Sistemas de produção, 15).

TEDESCO, M. J. et al. Análises de solo, plantas e outros materiais. **Boletim Técnico**, n. 5, 2º ed., UFRGS: Porto Alegre, 170 p., 1995.

ZILLI, J. E.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de Bradyrhizobium em pré-semeadura da soja. **Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.3, p.335-338, mar. 2010.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C. Inoculação de sementes de soja com Bradyrhizobium. Artigos técnicos, **Grupo cultivar**, 2012.