# UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE ENGENHARIA CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

#### LUIZ GUSTAVO MORETTI DE SOUZA

OTIMIZAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA SOJA EM FUNÇÃO DA REINOCULAÇÃO EM COBERTURA SOB PLANTIO DIRETO

# UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE ENGENHARIA CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

#### LUIZ GUSTAVO MORETTI DE SOUZA

# OTIMIZAÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NA SOJA EM FUNÇÃO DA REINOCULAÇÃO EM COBERTURA SOB PLANTIO DIRETO

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. Dr. Edson Lazarini

Orientador

Dra. Mariangela Hungria da Cunha

Coorientadora

ILHA SOLTEIRA 2016

#### FICHA CATALOGRÁFICA Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Souza, Luiz Gustavo Moretti de .

S729o

Otimização da fixação biológica de nitrogênio na soja em função da reinoculação em cobertura sob plantio direto / Luiz Gustavo Moretti de Souza. Ilha Solteira: [s.n.], 2016

70 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2016

Orientador: Edson Lazarini

Co-orientador: Mariangela Hungria da Cunha

Inclui bibliografia

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. Sistema plantio direto.

3. Glycine max (L) Merrill. 4. Inoculação suplementar.



# UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

#### Câmpus de Ilha Solteira

#### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Otimização da fixação biológica de nitrogênio na soja em função da inoculação em cobertura sob plantio direto.

AUTOR: LUIZ GUSTAVO MORETTI DE SOUZA

ORIENTADOR: EDSON LAZARINI

CO-ORIENTADORA: MARIANGELA HUNGRIA DA CUNHA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, especialidade: SISTEMAS DE PRODUÇÃO pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDSON LAZARINI

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha

Solteira

Prof. Dr. MARCELO ANDREOTTI

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. AGUINALDO JOSÉ FREITAS LEAL

Agronomía / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Ilha Solteira, 14 de julho de 2016

"Ama e faz o que quiseres.

Se calares, calarás com amor;
se gritares, gritarás com amor;
se corrigires, corrigirás com amor;
se perdoares, perdoarás com amor.

Se tiveres o amor enraizado em ti,
nenhuma coisa senão o amor serão os teus frutos."

Santo Agostinho (Homilia sobre a Primeira Epístola de João)

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelas ocasiões favoráveis e desfavoráveis, nas boas pela proteção concedida nestes 25 anos de vida, nas ruins pelo crescimento cotidiano. À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", em especial à Faculdade de Engenharia, campus de Ilha Solteira, por proporcionar minha formação profissional até o presente momento, e por proporcionar os melhores anos de minha vida.

Á AGRISUS, Agricultura Sustentável, e FEALQ – Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", por bolsa de estudo de Mestrado, projeto protocolado PA 1505-15. E á parceria com Laboratório de Biotecnologia do Solo – Embrapa Soja.

Ao Prof. Dr. Edson Lazarini, pelo conhecimento transmitido, confiança, incentivo e paciência durante estes 60 meses de orientação, manifesto minha gratidão pelo profissionalismo, mas, muito mais pela referência de pessoa íntegra, honesta e amizade. A Dra. Mariangela Hungria, por todas as portas abertas, empatia, receptibilidade e toda contribuição no desenvolvimento do projeto.

A todo suporte que sempre tive de minha família, aos meus pais que sacrificaram muitos de seus sonhos para que o meu se torne realidade. Pela educação que meus avós me deram, e pela simplicidade do Córrego da Alegria. Aos meus avôs Laurindo Moretti e Arnóbio de Souza (*in memorian*) por todo amor transmitido e orgulho que sinto.

A todos os orientados do professor Lazarini, meu muito obrigado por todos os momentos de muita risada e de também muito trabalho, em especial, ao Raul Pivetta, João Bossolani, Matheus Bruschi, Vitor Rodrigues, Raphael Negrisoli, Naira Biazi, Ariani Garcia e Carina Oliveira. Os quais contribuíram para a instalação e condução deste e de outros experimentos realizados na FEPE, foi um grande prazer estagiar, conviver e usufruir do companheirismo e amizade destes amigos.

A todos os grupos que participei, e de certa forma contribuíram para minha formação profissional, em especial ao cursinho Diferencial, por despertar a paixão em ser professor. A todos os funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão – FEPE, pela ajuda e suporte dados no desenvolvimento deste experimento.

Por fim, obrigado a todos os amigos, a casa sempre cheia, a rodas de conversas sempre com muitas risadas, e a histórias lendárias. É gratificante saber que tenho o privilégio de poder confiar e contar com muitas pessoas que passaram em minha vida.

#### **RESUMO**

Simbioses, da mesma forma que a maioria das interações patogênicas, são caracterizadas pela sua complexidade e especificidade. Esses processos são de enorme importância para a produtividade global na agricultura e fornecem modelos para estudos fundamentais dos sistemas da planta e do microrganismo. O presente trabalho visou avaliar a influência de diferentes palhadas e de inoculações suplementares em cobertura na nodulação por Bradyrhizobium japonicum e Bradyrhizobium elkanii no desenvolvimento e produtividade na cultura da soja. Os experimentos foram conduzidos na FEPE/UNESP, em área irrigada e de sequeiro, em delineamento em blocos casualizados, em um esquema fatorial 3 x 5, com quatro repetições para as avaliações na palhada das culturas antecessoras, ou seja, três culturas (Zea mays, Urochloa ruziziensis e Crotalaria spectabilis) e cinco épocas de coleta da palhada (0; 25; 50; 75 e 100 dias após o manejo). E um esquema fatorial, 3 x 8 x 4, com três repetições, para as avaliações na cultura da soja, ou seja, três culturas antecessoras, e, dois tratamentos controle (testemunha; 200 kg ha<sup>-1</sup> N) + seis de inoculação [inoculação via semente (IVS); IVS + V1; IVS + V3; IVS + V6; IVS + R1 e IVS + R3], e avaliação da nodulação em quatro estádios (V4, R2, R4 e R6). Os restos culturais de Z. mays e de U. ruzizensis proporcionam maior cobertura do solo e acúmulo de nitrogênio na palhada em área irrigada, sendo que em área de sequeiro, foi a cultura da C. spectabilis que proporcionou maior matéria seca e acúmulo de nitrogênio na palha. Em ambas as áreas as gramíneas proporcionam maior permanência da palhada em função de suas maiores relações C/N. As inoculações suplementares não interferem no estado nutricional e nos atributos biométricos da soja em nenhuma área experimental de estudo. Os tratamentos em combinação com inoculações suplementares não diferem da inoculação padrão (via semente) para as variáveis analisadas em área de sequeiro, possivelmente pela ausência de lâmina de irrigação ou precipitação, inviabilizando a infecção pela bactéria. A nodulação em área irrigada é beneficiada sob palhada de U. ruziziensis e C. spectabilis, e as inoculações em cobertura nos estádios vegetativos e em reprodutivo (R1), com aplicação de lâmina de 10 mm de irrigação após inoculação em cobertura, proporcionam maior nodulação e produtividade na cultura da soja. Esses resultados indicam que a soja mantém a capacidade de formação de nódulos durante todo o ciclo vegetativo e parte do ciclo reprodutivo, inclusive respondendo à inoculações.

**Palavras-chave**: *Glycine max* (L.) Merrill. *B. japonicum, B. elkanii*. Inoculação suplementar. Sistema plantio direto.

#### **ABSTRACT**

Symbiosis, likewise mostly of the pathogenic interactions, it is characterized by its complexity and specificity. These processes are greatly important to the global productivity in agriculture and provide models for fundamental studies of plant and microorganism systems. This study aimed to evaluate the influence of different crop residues as well as supplementary spray inoculations in coverage on the nodulation of Bradyrhizobium japonicum and Bradyrhizobium elkanii and on the soybean development and yield. The experiment was conducted at FEPE / UNESP, in a randomized block design and factorial 3 x 5, with four repetitions for the evaluation on the previous crop stover, that is, three crops (Zea mays, Urochloa ruziziensis in Crotalaria spectabilis) and five straw sampling dates (0; 25; 50; 75 and 100 days after the treatment). Also, a factorial 3 x 8 x 4, with three repetitions for the evaluations on the soybean crop, being three previous crops and two control treatments (control; 200 kg ha<sup>-1</sup> N) + six inoculations treatments [seed inoculation (IVS); IVS + V1 stage; IVS + V3 stage; IVS + V6 stage; IVS + R1 stage; IVS + R3 stage] and the nodulation evaluation in four stages (V4, R2, R4 and R6). The crop residue of Z. mays and U. ruziziensis provided greater soil coverage and N accumulation in the straw in irrigated area. However, in the dryland area the crop residue of *C. spectabilis* was the one that provided more dry matter and N accumulation in the straw. In both areas the grass crops provide greater permanence of the straw in function of its higher C/N relation. The supplementary inoculations do not interfere in the nutritional state and in the crop biometric parameters in none of the experimental areas of this study. The treatments in combination with the supplementary inoculations do not differ from the standard inoculation (seed inoculation) for the variables analysed in the dryland area, possibly due to the absence of the irrigation or rainfall, preventing infection by the bacterium. The nodulation in the irrigated area is benefited under U. ruziziensis and C. spectabilis straw, and the inoculations in coverage at the vegetative and reproductive stages (R1), under irrigation depth of 10 mm after inoculating in coverage, provide greater soybean nodulation and crop yield. These results indicate that soybean maintain its capacity of nodule formation during all the vegetative cycle and part of the reproductive cycle, responding, as well, to supplementary inoculations.

**Keywords**: *B. japonicum*. *B. elkanii*. *Glycine max* (L.) Merrill. No-till system. Supplementary inoculation.

# LISTA DE FIGURAS

	recipitação pluvial e lâmina de irrigação (mm), temperatura média (°C) e umidade relativa média (%) ocorridos durante a condução do experimento. Selvíria – MS
	2015/1626
Figura 2-	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de
	"Litter bags", em área de sequeiro, para produtividade de massa seca de culturas
;	antecessoras. Selvíria-MS, 2015/1636
	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de
	"Litter bags", em área irrigada, para produtividade de massa seca de culturas
;	antecessoras. Selvíria-MS, 2015/1637
Figura 4-	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de
	"Litter bags", em área de sequeiro, para teor de N na massa seca das culturas
i	antecessoras. Selvíria-MS, 2015/1637
	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para teor de N na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/1638
	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para teor de C na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/1638
	Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para teor de C na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16

Figura 8- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta o "Litter bags", em área de sequeiro, para a relação C/N na massa seca das cultur antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.	ras
Figura 9- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta e "Litter bags", em área irrigada, para a relação C/N na massa seca das cultur antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16	ras
Figura 10- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta du "Litter bags", em área de sequeiro, para acúmulo de N na palhada nas culturantecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.	ras
Figura 11- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta e "Litter bags", em área de sequeiro, para acúmulo de N na palhada nas cultur antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16	ras
Figura 12- Massa seca total de plantas de soja, em área irrigada, em função de épocas coleta. Selvíria-MS, 2015/165	
Figura 13- Massa seca total de plantas de soja, em área de sequeiro, em função de épocas coleta. Selvíria-MS, 2015/165	de 55
Figura 14- Número de nódulo por planta, em área de sequeiro, em função de épocas coleta. Selvíria-MS, 2015/165	
Figura 15- Massa seca de nódulo, em área irrigada, em função de épocas de coleta. Selvíri MS, 2015/16.	ia- 56
Figura 16- Massa seca de nódulo, em área de sequeiro, em função de épocas de coler Selvíria-MS, 2015/16.	ta. 57

Figura 17- Fotos do desenvolvimento das culturas antecessoras em ambas as áreas experimentais. (1) Manejo de plantas voluntárias em área experimental anterior a semeadura das culturas antecessoras. (2) Correção do solo das áreas experimentais. (3) Semeadura das culturas antecessoras. (4) e (6) Culturas antecessoras em área de sequeiro. (5) Culturas antecessoras em área irrigada. (7) Crotalária em área irrigada. (8) Culturas antecessoras após manejo químico e mecânico (rolo faca). Selvíria, 2015/16.

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Resultados da análise química da amostra de solo da área experimental. Selvíria-
	MS, 201525
Tabela 2-	Teores de argila, silte e areia total no solo da área experimental. Selvíria – MS 201526
Tabela 3-	Valores de F e médias para massa seca de culturas antecessoras (MS), teor de nitrogênio (TN), relação C/N, carbono total (C) e nitrogênio acumulado na palhada (NAP), em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/1635
Tabela 4-	Estado nutricional da cultura da soja e teor de proteína nos grãos ( <b>PG</b> ), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados.
Tabela 5-	Estado nutricional da cultura da soja e teor de proteína nos grãos ( <b>PG</b> ), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados44
Tabela 6-	Valores de F e médias para população final de plantas ( <b>PF</b> ), altura de plantas ( <b>AP</b> ), inserção primeira vagem ( <b>IPV</b> ), número de vagens por planta ( <b>NVP</b> ), massa de cem grãos ( <b>M100</b> ) e produtividade de grãos ( <b>P</b> ), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.
Tabela 7-	Valores de F e médias para população final de plantas ( <b>PF</b> ), altura de plantas ( <b>AP</b> ), inserção primeira vagem ( <b>IPV</b> ), número de vagens por planta ( <b>NVP</b> ), massa de cem grãos ( <b>M100</b> ) e produtividade de grãos ( <b>P</b> ), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/1648
Tabela 8-	Valores de F e médias para massa seca total de plantas (MSP), número de nódulos por planta (NNP) e massa seca de nódulos (MSN), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/1652
Tabela 9-	Desdobramento entre a interação tripla para o número de nódulos por planta em função dos tratamentos utilizados. Safra 2015/16.

**Tabela 10-** Valores de F e médias para massa seca total de plantas (**MSP**), número de nódulos por planta (**NNP**) e massa seca de nódulos (**MSN**), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.\_\_\_\_\_54

# Sumário

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO	. 15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	FATORES QUE AFETAM A NODULAÇÃO NA CULTURA DA SOJA	16
3.2	MANEJO E TRATOS CULTURAIS NA CULTURA DA SOJA	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	LOCALIZAÇÃO	25
4.2	INSTALAÇÃO DAS CULTURAS ANTECESSORAS	25
4.3	INSTALAÇÃO DA CULTURA DA SOJA	28
4.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	29
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
4.6	AVALIAÇÕES	30
4.6.1	1 AVALIAÇÕES NAS CULTURAS ANTECESSORAS	30
4.6.2	2 AVALIAÇÕES NA CULTURA DA SOJA	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXOS	68
	APÊNDICES	69

# 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* [L.] Merrill) é considerada uma das plantas de utilização humana mais antigas do mundo. Segundo a literatura chinesa, possivelmente, tenha sido cultivada na China e Manchúria a 2.500 a.c.. No Brasil, essa leguminosa foi introduzida no milênio passado, no estado da Bahia. Nas décadas seguintes, a cultura migrou para São Paulo e Rio Grande do Sul, mas apenas nos anos 60, com a expansão do trigo, houve o grande impulso na produção nacional de soja, em decorrência da sucessão do cultivo de trigo no Rio Grande do Sul (GOMES, 1990). Desde então, o país vem se destacando no cultivo desta leguminosa, e, em 1976, o Brasil atingiu a vice-liderança mundial na produção de soja, perdendo apenas para os EUA.

O teor elevado de proteína dos grãos de soja resulta em uma demanda de 65 kg ha<sup>-1</sup> de N para a produção de 1.000 kg de grãos, devendo-se adicionar a isto cerca de 15 kg ha<sup>-1</sup> de N para a produção de folhas, caules e raízes resultando em um total de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N. Consequentemente, a produtividade de 3.000 kg ha<sup>-1</sup> de grãos implicam na necessidade de 240 kg ha<sup>-1</sup> de N (HUNGRIA et al., 2001).

Vários experimentos foram conduzidos para estudar os efeitos da adubação nitrogenada no rendimento da soja e a aplicação de doses iniciais de N na semeadura (20 a 40 kg ha<sup>-1</sup>), no florescimento (50 a 100 kg ha<sup>-1</sup>), e no inicio de enchimento dos grãos (50 kg ha<sup>-1</sup>). Os resultados demostraram um decréscimo na nodulação sem trazer benefícios á produtividade, tanto em plantio convencional como em plantio direto. Considerando o baixo aproveitamento dos fertilizantes nitrogenados pelas plantas (em torno de 50%) seria necessário uma quantidade estimada de 480 kg ha<sup>-1</sup> em N para obtenção da produtividade de 3.000 kg ha<sup>-1</sup>. Essa quantidade de nitrogênio seria equivalente a 1.067 kg ha<sup>-1</sup> de ureia, o que tornaria a cultura da soja, economicamente, inviável para o Brasil (MERCANTE, 2005).

Em levantamento da safra 2012/13, 25 organizações - entre as quais Embrapa, Fundação MT, Universidades e empresas particulares de todo o país, grupo este que integra uma rede de pesquisas associada ao Comitê Estratégico Soja Brasil (CESB), investigaram os efeitos da aplicação de nitrogênio em lavouras de soja em relação à produtividade, sob a hipótese de aplicação no estádio R 5.3.. Levantando novamente o uso de N na cultura.

Retornaram para a avaliação da CESB, 51 experimentos, e na análise conjunta destes experimentos não houve diferenças com a aplicação de N e, portanto, a adição do nutriente em R 5.3 não aumentou significativamente a produtividade. Na análise individual, foi observado que em 7 dos 51 resultados analisados (13,7%) houve respostas significativas às doses de nitrogênio e que o aumento da produtividade foi em geral proporcional ao aumento do fertilizante. Em média, o incremento foi de 5,2 sacas ha<sup>-1</sup>, para a dose de 200 kg ha<sup>-1</sup> de ureia, não sendo viável economicamente. Por outro lado, o processo de fixação biológica do nitrogênio, realizado por bactérias da ordem Rhizobiales (*Bradyrhizobium japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii*) pode fornecer todo o nitrogênio que a soja necessita, desde que respeitados os procedimentos para uma boa nodulação. A recomendação atual para o cultivo da soja é a utilização de inoculante sem a suplementação com fertilizante nitrogenado, ou de até 20 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura.

Segundo Döbereiner (1997), os produtores brasileiros aplicam menos de 6% do nitrogênio necessário para a soja, sendo grande parte, fixado a partir do N<sub>2</sub> da atmosfera, o que equivale a 150 milhões de toneladas de N. A autora considera que a fixação biológica de nitrogênio traz uma economia financeira de 3,2 bilhões de dólares, e em valores atualizados estima-se a economia de fertilizantes nitrogenados em 15 bilhões de dólares anuais (HUNGRIA et al., 2005; HUNGRIA; MENDES, 2015). Em vista disso, o entendimento do processo fisiológico da fixação biológica do nitrogênio e de fatores que o controlam é de suma importância tanto para pesquisadores como para produtores, pois com esse conhecimento é possível adequar o manejo da planta visando aumentar a eficiência de utilização de N e incrementar a produtividade da cultura. A longevidade de um nódulo estende-se desde seu desenvolvimento com seis dias após a semeadura e, dependendo das condições de crescimento, a fixação do N, em condições de campo, pode ser detectada três ou quatro semanas depois da semeadura, estendendose até perto da maturidade da planta. Esse período, provavelmente, não é o período de atividade de um simples nódulo, mas sim, de uma série de nódulos, pois a viabilidade de um nódulo estende-se entorno de 40 dias (VEST et al., 1973).

Em condições de campo, a viabilidade e grau de simbiose planta- bactéria estão diretamente relacionados com a disponibilidade de fotoassimilados, tais como a especificidade dos dois simbiontes, estado hídrico, grau de aeração, umidade, temperatura do solo e teor de nutrientes do solo, que influenciam, em maior ou menor grau, a fixação do  $N_2$  (GIBSON, 1997).

Todavia, com a maior disponibilização de N a planta, a partir de uma tecnologia barata, consolidada e totalmente eficiente, há aumento dos patamares produtivos e surge a hipótese de estudos com inoculações suplementares em cobertura, em diferentes estádios fenológicos da cultura, a qual garanta uma possível infecção e consequentemente maior número de nódulos, em condições de sistema plantio direto, pois trata-se do sistema mais utilizado no cultivo da soja atualmente no pais. Diante da diversidade de culturas em sucessão a soja, utilizadas para produção grãos e/ou palha, também se pondera o efeito destas coberturas na eficiência desta nova modalidade de inoculação, sempre procurando obter maior produtividade e qualidade de produção com menor custo.

#### 2 OBJETIVO

Este trabalho teve por objetivo quantificar as palhadas de diferentes culturas antecessoras, em combinação com inoculações suplementares em cobertura por *Bradyrhizobium japonicum* e *elkanii* na cultura da soja, visando avaliar a influencia na nodulação, desenvolvimento e produtividade de grãos.

# 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# 3.1 FATORES QUE AFETAM A NODULAÇÃO NA CULTURA DA SOJA

O nódulo consiste de uma região cortical da raiz infectada, envolvida por células corticais que possuem uma rede vascularizada. A camada vascular possui uma rede de esclereídeos que serve de sustentação e proteção e que estão associadas com células parenquimáticas (WALSH, 1995).

De acordo com Kamicker e Brill (1986), alguns fatores são determinantes na nodulação ou fixação biológica do N<sub>2</sub> por leguminosas sendo a tensão da água, teor de O<sub>2</sub> no nódulo, temperatura e pH do solo, salinidade, toxinas e predadores, os principais que podem atuar junto à vasta variedade de estirpes de rizóbio que se encontram no solo.

Na rizosfera existe a presença dos mais diversos exsudatos radiculares e é onde se concentra o maior número de microrganismos. A exsudação radicular também determina quais organismos residirão naquela rizosfera, como também quais irão gerar benefícios físicos e químicos para as plantas. Um exemplo desses benefícios é a produção de mucilagem no sistema radicular, reduzindo a descamação das raízes e melhorando o contato entre as raízes e a solução do solo (NEHL; BROWN, 1996).

As mudanças da composição dos exsudatos por causa da estrutura e do funcionamento da comunidade microbiana do solo são pouco compreendidas. Contudo, um motivo provável para a não promoção de crescimento por um isolado bacteriano decorre de sua falta de habilidade e agressividade em colonizar a rizosfera de uma espécie vegetal (JJEMBA; ALEXANDER, 1999).

Fatores bióticos também influenciam a colonização da rizosfera, como a existência de predação por protozoários, ou a qualidade dos exsudatos radiculares (que podem atingir de 40 a 90% do carbono translocado para as raízes). Os exsudatos radiculares são classificados em cinco tipos: difusatos, secreções, lisatos, gases e mucilagem. As plantas são capazes de liberar esses compostos no solo bem como reabsorver esses rizodepósitos, balanceando o fluxo de carbono na rizosfera. Esse tipo de recaptura permite aos vegetais certo controle sobre o tamanho das comunidades microbianas associadas à rizosfera.

É importante relatar que os fenômenos de antibiose, densidade populacional, capacidade de degradar moléculas energicamente estáveis e/ou quimicamente repelentes

são ativos na capacidade de colonização da rizosfera. Estudos de inoculação demonstram que a sobrevivência de bactérias na rizosfera possui correlação positiva com os atributos físicos do solo, como o teor de argila, de matéria orgânica e de nitrogênio, e uma correlação negativa com o teor de areia e carbonato de cálcio (BENIZRI et al., 2001).

Em estudos mais recentes, as técnicas de biologia molecular vêm sendo cada vez mais empregadas na busca de identificação de genes ou de produtos gênicos que alterem a competitividade (BATISTA et al.,2007). O genótipo da planta também pode alterar a competitividade da bactéria pela seleção de determinadas estirpes. A seleção de estirpes eficientes para maximizar a FBN em espécies vegetais de importância econômica tem sido um dos principais alvos de pesquisa. Além da eficiência, essas estirpes devem apresentar outras características tais como: competição por sítios de infecção nodular, boa sobrevivência e adaptação às condições edáficas e climáticas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

No caso de competitividade, as estirpes introduzidas atuam em diferentes estádios de nodulação pois competem na rizosfera, durante a ocupação dos sítios de infecção, e ao penetrar nas raízes e vão promover o desenvolvimento do nódulo. Aliada à eficiência simbiótica, essas características são altamente desejáveis para estirpes de rizóbios recomendadas para inoculação.

Trabalhos desenvolvidos por Xavier et al. (2006) estudam a taxa de ocupação nodular de estirpes de rizóbio inoculadas em acessos de feijão oriundos do Brasil, Estados Unidos e Nigéria, e a sua relação com a especificidade simbiótica resultou que os acessos brasileiros apresentaram as maiores taxas de ocupação nodular. A maior porcentagem de ocupação em seis dos 10 acessos de feijão caupi testados foi decorrente da inoculação com a estirpe BR 3267. A avaliação da capacidade de ocupação de nódulos pode fornecer subsídios em relação à capacidade de sobrevivência, estabelecimento e competitividade da estirpe inoculante com os outros rizóbios presentes no solo ou com as estirpes já introduzidas (MARTINS et al., 2003). Nem sempre a população de rizóbio nativo do solo é capaz de estabelecer uma simbiose mutualística com o hospedeiro cultivado, sendo, então necessária a inoculação de estirpes selecionadas e eficientes para a espécie vegetal-alvo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Também se observa o efeito da disponibilidade hídrica no transporte de sacarose e compostos nitrogenados, pois segundo Walsh (1995), o sistema vascular desenvolve tugor positivo em resposta ao transporte de compostos nitrogenados via fluxo de massa. Isso supõe que a exportação requer água e esta é indispensável neste fluxo, uma vez que a água que traz sacarose via floema é absorvida pelo nódulo seguindo o caminho de volta, carregando os solutos nitrogenados. Portanto, o balanço de água via transporte simplasto e apoplasto altera a pressão de turgor das células e provavelmente tem influência na permeabilidade da membrana do nódulo a gases, principalmente o oxigênio.

Para que o processo de nodulação aconteça de forma efetiva é importante que a temperatura seja adequada à atividade da nitrogenase. Segundo Zhang et al. (1996), a temperatura de 25°C é considerada ideal, enquanto temperaturas em torno de 15°C causam diminuição da atividade ou até inibição em várias raças de bactérias fixadoras.

Algumas pesquisas mostram o efeito do oxigênio na nodulação de plantas como a realizada por Kuzma et al. (1999). O trabalho mostrou que o oxigênio é fator importante na nodulação da soja, uma vez que a respiração e a atividade da enzima nitrogenase foram afetadas pela disponibilidade de O<sub>2</sub>. De acordo com o estudo, pequenas concentrações de nitrogênio no bacteróide são importantes, pois concentrações baixas (próximo a 10%) afetam a atividade da nitrogenase devido à diminuição da respiração e disponibilidade de energia.

A permeabilidade gasosa no bacteróide é afetada por diversos fatores. Entre eles, a luz, água e nitrato, sendo que de modo geral, o teor de O<sub>2</sub> aumenta na luz e decresce em condições de seca ou exposição ao nitrato (TAÍZ; ZIEGER, 2004).

O estresse hídrico afeta a atividade da nitrogenase de duas formas. Primeiro, limita a disponibilidade de oxigênio na zona do bacteróide restringindo a respiração e a segunda, pela diminuição da síntese de leghemoglobina, acúmulo de ureídeose aspartato nas folhas e nódulos devido ao decréscimo no fluxo de água no floema (HUNGRIA; VARGAS, 2000).

King e Purcell (2005) avaliaram a inibição da fixação de nitrogênio em soja cultivar Jacson e KS 4895 submetidas a déficit hídrico, associados com elevação de ureídeos e aminoácidos. Com a diminuição na disponibilidade de água, as duas cultivares apresentaram diminuição da atividade nitrogenase, que foi acompanhado pelo aumento da concentração de ureídeos, aspartato e vários outros aminoácidos nas folhas,

devido ao decréscimo na exportação destes para as raízes, que segundo os autores, são candidatos potenciais para o "feedback" de inibição na fixação de nitrogênio.

O manganês tem papel fundamental na catálise de vários processos enzimáticos e de transferência de elétrons. Valdez et al. (2000) citam que o Mn<sup>2+</sup> pode regular a fixação biológica de N<sub>2</sub> em condições de seca. Isso porque, a enzima amido hidrolase responsável pela degradação de ureídeos nas folhas é dependente de Mn<sup>2+</sup>, sendo assim, em condições de estresse hídrico o suprimento de manganês pode auxiliar na manutenção da fixação biológica de nitrogênio.

A eficiência de fixação de nitrogênio também está relacionada com o pH e a disponibilidade de alguns nutrientes no solo. Para obter boa eficiência de bactérias fixadoras no solo, este deve apresentar pH em torno de 6,5. Altos teores de alumínio trocável e íons H<sup>+</sup> prejudicam o desenvolvimento radicular, o crescimento do rizóbio e a infecção radicular (SILVA et al., 2002).

O fósforo tem influência na iniciação, crescimento e funcionamento dos nódulos (SÁ; ISRAEL, 1991). A atividade da nitrogenase é dependente de ATP. Este fator explica porque a cultura da soja responde mais a adubação fosfatada quando comparada com culturas não noduladas. O experimento realizado por Israel (1987) ressaltou que altos requerimentos de fósforo são necessários para a fixação biológica de N, de forma que o aumento do suprimento de fósforo promove incremento na atividade e no acúmulo de fitomassa seca do nódulo.

Silva (1998) também observou que a concentração de P nos nódulos das plantas que apresentaram omissão de P se reduziu e, consequentemente, o seu acúmulo de fitomassa seca. Entretanto o aumento no suprimento de fósforo durante o estágio reprodutivo não proporcionou recuperação na produção de fitomassa seca de nódulos. O reflexo deste comportamento foi a redução na produção de ureídeos pela planta, que é a principal forma de transporte de N pela cultura e da atividade da sintetase glutamina e da glutamato, dependente de ferredoxina. No trabalho foi observado que a deficiência de P no estágio V2 ocasiona inibição na formação de nódulos e no seu desenvolvimento, o mesmo aconteceu no estágio reprodutivo R1, com posterior senescência dos mesmos.

O molibdênio é um elemento importante no metabolismo do nitrogênio por fazer parte do complexo enzima nitrogenase e redutase do nitrato. A produção de aminoácidos e, consequentemente, de proteínas são alterados pela deficiência de

molibdênio. Outro nutriente de grande importância na nodulação é o Cobalto, que faz parte de precursores da leghemoglobina (TAÍZ; ZIEGER, 2004), portanto, também está associado à fixação biológica de N<sub>2</sub>.

Outro ponto importante a ser ressaltado sobre a nodulação em soja refere-se à aplicação de produtos químicos na semente ou na cultura em desenvolvimento visando o controle de plantas daninhas. Esta constatação corrobora com os resultados obtidos por Arruda et al. (2001), que em seu trabalho com objetivo de analisar nodulação e fixação de nitrogênio em soja tratada com sulfentrazone (herbicida), verificaram que a massa que a massa seca de nódulos, os teores de nitratos, aminoácidos e ureídeos decresceram com o incremento na dose de sulfentrazone. A causa provável deste comportamento foi a menor produção de fotoassimilados pela planta e desta forma restou menor quantidade para ser alocada para os nódulos, pois é dos fotoassimilados que vem a energia essencial para a formação e manutenção da enzima nitrogenase.

Dentre vários experimentos, Trang e Giddens (1980) evidenciam uma relação direta entre a densidade do fluxo de luz e a fixação do nitrogênio (N), embora haja uma densidade máxima do fluxo de luz além da qual a simbiose é prejudicada. A interferência da densidade da radiação solar no processo de fixação do N<sub>2</sub> deve ser indireta, por meio da intensidade da fotossíntese, que abastece os nódulos de foto assimilados indispensáveis para fixação do N<sub>2</sub> molécula (ROCHA et al. 1970). Assim, a disponibilidade de açucares é o principal fator limitante da nodulação (HARDY; HAVELKA, 1976). Câmara (2001) enfatiza que aplicação de Co, Mo e fungicidas nas sementes também podem ser fatores com interferência direta na sobrevivência do rizóbio e com consequência imediata na nodulação.

Os níveis de auxinas, citocininas e etileno estão associados à nodulação em leguminosas e possuem efeito regulatório pronunciado na divisão e expansão celular (NUKUI et al., 2000). A divisão celular é modulada pelo gradiente de auxinas e citocininas, promovendo o desenvolvimento do nódulo. Todos esses processos são influenciados por fitohormônios e inibidores da parte aérea (ANOLLÉS, 1997).

Segundo Riggle et al. (1984), a hipótese de declínio da atividade específica dos nódulos, durante o período de enchimento de grãos, é ou não resultado da competição por carboidratos entre vagens e nódulos. Entretanto permanece, ainda, de forma conjectural, essa competição que parece ser mais severa em cultivares de hábito de crescimento indeterminado que em cultivares de hábito de crescimento determinado.

Durante o estádio vegetativo, os nódulos da raiz primária são os principais responsáveis pela fixação do  $N_2$ , atividade essa que declina durante o início do desenvolvimento reprodutivo, provavelmente como resultado da senescência natural dos nódulos. No período de enchimento das vagens, o número de nódulo declinam rapidamente, possivelmente em consequência do decréscimo da eficiência nodular e da senescência natural dos nódulos. O declínio da fixação do  $N_2$  é atribuído à competição por assimilados entre os nódulos e as estruturas reprodutivas (HAM et al., 1976).

Peat et al. (1981) observaram que aumento de nódulos nas raízes laterais de soja, coincide com o rápido crescimento das sementes, quando se espera grande competição por assimilados entre os nódulos e os órgãos reprodutivos. Isso sugere a necessidade de uma segunda população de nódulos, para proporcionar a maior parte do N necessário para o desenvolvimento das sementes.

Em leguminosas, a adição de adubos nitrogenados tem efeito adverso na fixação biológica devido a redução de disponibilidade de oxigênio na respiração nodular e a limitação de carboidratos ao metabolismo do nódulo (DENINSON; HARTER, 1995). Trabalhando com doses de nitrogênio (0, 224 e 448 kg ha<sup>-1</sup>), Lawn e Brun (1974) evidenciaram que as taxas de redução de acetileno foram mais altas nos tratamentos com menor disponibilidade de nitrogênio no solo, mostrando declínio da atividade biológica de fixação de nitrogênio com o incremento da disponibilidade do nutriente no solo.

Koutroubas et al. (1998) encontraram supremacia das plantas inoculadas no acúmulo de fitomassa seca nos estágios R2 e R5, sobre as que receberam aplicação de N. De acordo com os autores, o nitrogênio fixado pela nitrogenase é incorporado mais rapidamente aos compostos orgânicos sendo mais facilmente disponível à planta, enquanto a fixação via nitrato redutase gasta maior energia para reduzir o nitrogênio a NH<sub>3</sub>. Constatou-se também que a produtividade de grãos esteve positivamente correlacionada com o acúmulo de fitomassa seca nos estágios de florescimento (R2) e enchimento de grãos (R5), que são os estágios que apresentam a maior intensidade metabólica, portanto é o subperíodo onde a planta deve estar bem suprida de nitrogênio e fotoassimilados.

#### 3.2 MANEJO E TRATOS CULTURAIS NA CULTURA DA SOJA

O sistema plantio direto (SPD) tem se mostrado como boa opção de manejo na cultura da soja a ser empregado em solos pouco férteis e locais com possibilidades de ocorrência de veranicos. Segundo Resck (1998), o sistema possibilita à superação das restrições impostas pelo ecossistema cerrado e mantêm ou aumenta a produtividade das culturas, embora haja necessidade de vários estudos para a obtenção de sucesso total e sustentação dessa nova tecnologia de produção.

O SPD em condições de cerrado, de acordo com Spehar e Landers (1997), é geralmente caracterizado pelo cultivo de verão com soja ou milho sucedido por sorgo, milheto, milho ou uma cobertura vegetal de outono/inverno. Nele foi constatado o favorecimento à nodulação das raízes de soja, em comparação com semeadura em preparo convencional de solo, em experimentos em que não houve pastejo, em Londrina e em Carambeí, no Paraná (VOSS; SINDIRAS, 1985).

No conceito mais atual de agricultura, observa a busca por uma recuperação do equilíbrio natural do solo, que passa necessariamente, pelo uso de sistemas de produção sustentáveis, do ponto de vista ambiental e econômico. É neste contexto que se desenvolveu o sistema plantio direto (SPD), que se caracteriza pelo não preparo do solo, sendo o cultivo feito em terreno coberto por palha durante tempo indeterminado, proporcionando efeitos significativos na conservação e melhoria do solo, da água, no aproveitamento de insumos, na fertilidade do solo, no controle de plantas daninhas, na redução dos custos e na estabilidade de produção, assim como nas condições de vida do produtor rural e da sociedade.

A utilização de sistemas de preparo com o mínimo ou nenhum revolvimento do solo promove sua melhoria da estrutura, porosidade, retenção e infiltração de água, atividade biológica, conteúdo e teor de carbono orgânico e nitrogênio total no solo, capacidade de troca de cátions e conteúdo de nutrientes (BAYER; MIELNICZUK, 1997). De acordo com Alves et al. (1995), para as condições de solos tropicais e na maioria pobres, como os encontrados na região do cerrado, um manejo mais adequado é fundamental, visto que o clima favorece a rápida decomposição dos restos culturais existentes sobre o solo, devendo-se, portanto, atentar para a quantidade e durabilidade dos resíduos vegetais produzidos pelas espécies antecessoras à cultura principal.

A adição de calcário ao sistema de produção é de suma importância para corrigir atributos químicos do solo alterados pelo cultivo. Em condições de SPD, estas

alterações são observadas principalmente na camada superficial, que apresenta uma tendência de maior acidificação, contribuindo para isso os resíduos de adubação e a decomposição de matéria orgânica, e sobretudo de fertilizantes nitrogenados (CASTRO; MARIA, 1993).

Embora tenha havido grande crescimento de áreas sob plantio direto nos últimos anos, ainda há muitas controvérsias e indefinições sobre o manejo das culturas e fertilidade do solo neste sistema. Trabalhos recentes têm indicado que a necessidade de calcário no SPD talvez seja menor do que no sistema convencional de preparo.

Entretanto, segundo Caires et al. (2000), faltam informações a respeito da reação do calcário aplicado na superfície do solo e de critérios de recomendação de calagem, com base na análise química do solo, em sistema plantio direto. Além disso, a maioria dos estudo concluídos se concentram na região sul do país. Portanto, há deficiência de informações quanto à reação do calcário aplicado na superfície em áreas de SPD localizadas em região de cerrado, que possuem condições edafoclimáticas distintas.

Diante das evidências quanto a ação benéfica da calagem superficial atuando nas primeiras camadas abaixo da superfície do solo, Sá (1996) salientou que o calcário colocado em superfície corrige a acidez, aumentando significativamente o pH e elevando os teores de Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> trocáveis até a profundidade de cinco centímetros e, em menor grau, nas camadas mais profundas onde se concentra grande parte do sistema radicular da soja, e consequentemente os nódulos. Considerando que nas condições de solos tropicais, na maioria pobres, como os encontrados nas regiões de Cerrado, um manejo mais adequado é fundamental, visto que o clima favorece a rápida decomposição dos restos culturais. Assim, verifica-se a necessidade de se atentar para a quantidade e persistência dos resíduos vegetais produzidos pelas espécies antecessoras (ALVES et al., 1995).

Vários trabalhos conduzidos na região sul do Brasil mostram os efeitos de diferentes espécies vegetais no sistema, mas poucos relatam sobre pesquisas desenvolvidas com a utilização de espécies mais adaptadas à região do cerrado. Nesta região estudos de culturas de cobertura antecedendo a cultura do milho demonstram de maneira geral que as opções mais interessantes são milheto (DELAVALE, 2002), e crotalária (CARVALHO, 2000).

Além dos benefícios apontados, segundo Franchini et al. (2000), o manejo de solos ácidos com resíduos vegetais se constitui em estratégia para diminuir a acidez, pois compostos orgânicos hidrossolúveis de baixo peso molecular, liberados no período inicial da decomposição, colaboram para a neutralização da acidez ligando as bases, fato que contribui na promoção da ação em profundidade da calagem aplicada em superfície. Segundo estes mesmos autores os resíduos vegetais funcionam como um reservatório de nutrientes, sendo liberados gradualmente pela ação de microrganismos, refletindo no comportamento e produtividade das culturas posteriores, além de controlar a temperatura e umidade do solo, favorecendo o desenvolvimento da microfauna.

# 4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 LOCALIZAÇÃO

O experimento foi desenvolvido na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria - MS (51°22'W e 20°22'S e altitude de 335 m, aproximadamente), região esta caracterizada por clima tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno – Aw (KÖPPEN, 2001), pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar média anual de aproximadamente 1.330 mm, 25°C e 66%, respectivamente (CENTURION, 1982). O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico típico argiloso, A moderado, hipodistrófico, álico, caulinítico, férrico, compactado, muito profundo, moderadamente ácido (LVd), de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA- EMBRAPA, 2006).

#### 4.2 INSTALAÇÃO DAS CULTURAS ANTECESSORAS

A instalação do experimento ocorreu em duas áreas, sendo uma em condição irrigada por aspersão em pivô central e a outra em condição de sequeiro. Procurou-se utilizar áreas que não tinham tido cultivo de soja a pelo menos dois anos. Iniciou-se a instalação no dia 04/05/2015 com o controle mecânico (roçadeira) de plantas daninhas nas áreas do experimento, posteriormente em 06/05/2015 foram retiradas duas amostragens compostas de solo (uma em cada área) para análise química e física. Constam na Tabela 01 análise química, e na Tabela 02 a análise física, respectivamente em ambas as áreas. Na Figura 01 encontram-se os dados meteorológicos ocorridos nas áreas experimentais entre maio/2015 a março/2016.

**Tabela 1-** Resultados da análise química da amostra de solo da área experimental<sup>1</sup> (0,00-0,20 m). Selvíria-MS, 2015.

Prof.	P resina	M.O.	pН	K	Ca	Mg	H+Al	Al	V
0-0,2m	mg dm <sup>3</sup>	g dm <sup>3</sup>	$CaCl_2$			mr	nol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup>		%
Irrigado	20	22	4,8	3,4	17	11	47	2	40
Sequeiro	17	18	4,4	1,6	9	5	47	6	25

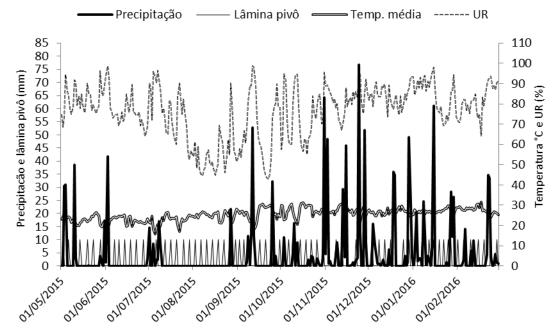
Fonte: Souza (2016), <sup>1-</sup> Metodologia de Raij e Quaggio (1983).

**Tabela 2-** Teores de argila, silte e areia total no solo da área experimental<sup>2</sup>. Selvíria – MS, 2015.

Profundidade	Argila	Areia	Silte	
0-0,2m	g k	g <sup>-1</sup>		
Irrigado	535	334	131	
Sequeiro	337	545	79	

Fonte: Souza (2016), <sup>2</sup>- Metodologia de Bouyoucos (1926).

**Figura 1-** Precipitação pluvial e lâmina de irrigação (mm), temperatura média (°C) e umidade relativa média (%), ocorridos durante a condução do experimento. Selvíria – MS, 2015/16.



Fonte: Souza (2016).

Com a caracterização química de ambas as áreas, no dia 12/05/2015 foram realizadas as correções do solo, procurou-se elevar a saturação de ambas as áreas á 60%. Foi utilizado o calcário dolomítico, o qual apresentava CaO (28,0%); MgO (20,0%); PN (99%); PRNT (80,3%); peneira ABNT 10 (2,0 mm)-100%, peneira ABNT 20 (0,84 mm) -88% e peneira ABNT 50 (0,3 mm) - 65%. Desta forma, foram aplicados 2,8 t ha<sup>-1</sup> de calcário na área de sequeiro; e 2,0 t ha<sup>-1</sup> na área irrigada. Após a calagem, nos dias 21 e 28/05/2015 foram realizadas duas gradagens intermediárias e duas niveladoras, respectivamente, a fim da incorporação do calcário e preparo do solo para a semeadura.

No dia 29/05/2015 foi realizada a semeadura das culturas antecessoras: *Crotalaria spectabilis, Urochloa ruziziensis*, e do milho segunda safra.

As três culturas não foram utilizadas adubações na semeadura. Para a crotalária utilizou-se 20 kg de sementes ha<sup>-1</sup>, com germinação de 68%, espaçamento de 0,34 m. Para a braquiária utilizou-se 5 kg de sementes ha<sup>-1</sup> (valor cultural de 72%, pureza de 80%, e germinação de 90%), espaçamento de 0,34 m. Para o milho foi utilizado o híbrido DKB 390 RR, a fim de atingir uma população final de 65 mil plantas ha<sup>-1</sup>, em espaçamento de 0,90 m.

Durante o mês de junho/2015 foi realizada capina entre linhas na cultura do milho, e controle químico de olheiros de saúvas (*Atta* spp.) em áreas de crotalária, com 2 g do produto comercial (principio ativo: Fipronil), 100 mL<sup>-1</sup> de água por olheiro. O controle químico de plantas voluntárias de milho em área de crotalária foi realizado com 750 mL do produto comercial/calda de 200 L ha<sup>-1</sup> (principio ativo: Fenoxaprope-P-Etílico).

No mês subsequente, julho, foi realizada adubação em cobertura na cultura do milho (irrigado e sequeiro), com 200 kg ha<sup>-1</sup> de ureia e 80 kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio. Para o controle químico de plantas daninhas (folha estreita) na cultura do milho foi utilizado 1,2 kg do produto comercial com volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup> de calda, principio ativo: Glifosato.

Em 06/08/2015, diagnosticou-se que a crotalária em área irrigada apresentava menor desenvolvimento vegetativo ocasionado por severa virose (mosaico) e infestação por mosca branca. Durante o mês de agosto foi realizado controle mecânico (roçadeira) de plantas invasoras nos carreadores das áreas e controle de formigas cortadeiras, com recomendação já citada. Durante o mês de setembro, as áreas foram supervisionadas, não necessitando nenhum manejo específico.

No dia 22 de outubro todas as culturas foram dessecadas utilizando-se a mistura de 2 kg ha<sup>-1</sup> do produto comercial (principio ativo: Glifosato) + 1,5 L ha<sup>-1</sup> do produto comercial (principio ativo: 2,4 – dichlorophenoxy) com volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>.

No dia 30/10/2015 todas as culturas foram manejadas mecanicamente com rolo faca, deixando a área pronta para a semeadura da soja, na primeira quinzena de novembro. E por ultima caracterização das mesmas, duas amostras compostas de solo foram encaminhadas ao Laboratório de Biotecnologia do Solo – Embrapa Soja, para avaliação do número de rizóbios capazes de nodular a soja pelo método NMP - número

mais provável (HUNGRIA; ARAUJO, 1994), as quais foram estimadas em 2,1 x 10  $^4$  bactérias g $^{-1}$  de solo.

# 4.3 INSTALAÇÃO DA CULTURA DA SOJA

A cultura da soja foi semeada em ambas as áreas no dia 10/11/2015, utilizando o cultivar BMX Potência RR, recomendada para região, em espaçamentos de 0,45 m entre linhas. A formulação de fertilizante no sulco de semeadura utilizado foi a 00-20-20 aplicando-se 300 kg ha<sup>-1</sup>. As sementes foram tratadas com fungicida e inseticida (principio ativo: Carboxina + Tiram) dose recomendada 250 mL para cada 100 kg de sementes. Para a inoculação via sementes foi utilizado o inoculante turfoso contendo as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080 oriundas do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Soja, com contagem de células atestadas segundo metodologia da Relare (2001). A dose adotada foi de 6 g por kg<sup>-1</sup> de semente (3,6 milhões de células semente<sup>-1</sup>), adicionando com solução açucarada a 10%, em volume de 250 mL 50 kg<sup>-1</sup> de semente. Foi aplicada em pulverização foliar em área total no estádio V4, 20 g Mo e 2 g de Co ha<sup>-1</sup>. Para o tratamento controle não inoculado + 200 kg ha<sup>-1</sup> de N (fonte: ureia), foi realizado parcelamento da dose total, sendo 100 kg ha<sup>-1</sup> em V1 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N em R2 (realizado a lanço).

Para as inoculações em cobertura nos estádios vegetativos e reprodutivos utilizou-se 300 mL ha<sup>-1</sup> do inoculante líquido (7 x 10<sup>9</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) em volume de calda de 150 L ha<sup>-1</sup>. As aplicações foram realizadas com pulverizador costal, e procurou-se fazer a aplicação direcionando o jato ao solo, com bico tipo Leque. Todas as pulverizações foram realizadas às 18h00min (horário de verão). Em área irrigada, após cada pulverização houve irrigação com lâmina de 10 mm. As pulverizações ocorreram nos estádios V1 (21/11/2015), V3 (02/12/2015), V6 (19/12/2015), R1 (28/12/2015) e R3 (11/01/2015). Nas fases vegetativas a cultura ainda não estava fechada, facilitando o contato bactéria-solo. Logo, a partir de V7/ R1, nos tratamentos com aplicação em fase reprodutiva, o fechamento nas entrelinhas dificultou o contato inoculante aplicado com o solo. O experimento seguiu todas as solicitações do Protocolo Oficial para avaliação da viabilidade e eficiência agronômica de cepas, inoculantes e tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica de nitrogênio em leguminosas.

Todos os tratamentos fitossanitários na cultura da soja foram realizados conforme a necessidade e sua recomendação. Quando a mesma estava em V3 foi

realizada a pulverização com os produtos comerciais: 1,5 L (principio ativo: Glifosato) + 30 g (principio ativo: Clorimuron), para controle de plantas daninhas. Durante todo o manejo foram necessárias quatro pulverizações para controle de lagartas desfolhadoras, 0,7 L do produto comercial (principio ativo: Metomil) + 30 mL do produto comercial (principio ativo: Triflumurom), 3 pulverizações para controle de percevejo com 1,0 L do produto comercial (principio ativo: Imadacloprido), e três pulverizações preventivas para ferrugem asiática 0,6 L do produto comercial (principio ativo: Epoxiconazol), todas as pulverizações em volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>. A colheita ocorreu aos 120 DAE.

#### 4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em duas áreas (irrigada e de sequeiro), analisadas de forma separada, os delineamentos experimentais consistiram de:

<u>Culturas antecessoras:</u> O delineamento experimental para as avaliações na qualidade e quantificação constituiu-se de blocos ao acaso com os tratamentos dispostos em um esquema fatorial duplo, 3 x 5, com três repetições. Ou seja, três culturas antecessoras (*Zea mays*, *Urochloa ruziziensis* e *Crotalaria spectabilis*) em combinação com cinco épocas de coleta de palhada (0; 25; 50; 75 e 100 dias após o manejo e instalação de "Litter Bags" nas áreas).

Nodulação na soja: O delineamento experimental constitui-se de blocos ao acaso com os tratamentos dispostos em um esquema fatorial triplo, 3 x 8 x 4, com três repetições. Ou seja, três culturas antecessoras (*Zea mays*, *Urochloa ruziziensis* e *Crotalaria spectabilis*) em combinação com dois tratamentos controle + seis tratamentos de inoculação [testemunha, 200 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, inoculação via semente (IVS), IVS + inoculação em estádio V1, IVS + estádio V3, IVS + estádio V6, IVS + estádio R1 e IVS + estádio R3], com quatro épocas de coleta de nódulos (V4, R2, R4 e R6).

<u>Biometria, estado nutricional e produtividade de grãos na soja:</u> O delineamento experimental constituiu-se de blocos ao acaso com os tratamentos dispostos em um esquema fatorial duplo, 3 x 8, com três repetições. Ou seja, três culturas antecessoras (*Zea mays, Urochloa ruziziensis* e *Crotalaria spectabilis*) em combinação com dois tratamentos controle + seis tratamentos de inoculação [testemunha, 200 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, inoculação via semente (IVS), IVS +

inoculação em estádio V1, IVS + estádio V3, IVS + estádio V6, IVS + estádio R1 e IVS + estádio R3].

As parcelas tinham 3,5 metros de largura e 7 metros de comprimento, perfazendo uma área total de 24,5 m² cada.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com da análise da variância com aplicação do teste "F". As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade, e para épocas de coleta de "Litter bags" e épocas de coleta de raízes de soja utilizou-se a regressão polinomial (FERREIRA, 2003).

# 4.6 AVALIAÇÕES

#### 4.6.1 Avaliações nas culturas antecessoras

Determinação de produção de massa seca da parte área: No dia 21/10/2015 foram coletadas dois metros em linha de plantas de milho e de crotalária, e um m² de Braquiária Ruziziensis, em três pontos por bloco (nove pontos em cada cultura). O material colhido foi acondicionado em sacos de papel, devidamente identificados e levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar a  $\pm$  65 °C, até atingir massa constante.

**Decomposição da palhada:** Após isso foi pesado e os dados transformados em kg ha<sup>-1</sup> de massa seca produzida, posteriormente, foram feitas amostras proporcionais em sacos de nylon ("Litter Bags") de 0,06 m² (0,3 x 0,2 m), sendo esses depositados em contato direto com o solo da respectiva unidade experimental (30/10/2015) e coletados aos 25; 50; 75 e 100 dias após o manejo (DAM), a fim de avaliar a decomposição da palhada por meio do remanescente de massa seca em seu interior. Cada "Litter Bag" foi coletado, seco a ± 65°C até massa constante, posteriormente limpo em peneira e determinada a massa seca em kg ha<sup>-1</sup>.

<u>Determinação dos atributos químicos da palhada:</u> Amostras da palhada de cada coleta foram separadas e levadas para o laboratório. O material foi moído em moinho tipo Willey, com armazenamento do material obtido em sacos plásticos, devidamente identificados. Posteriormente determinou-se o teor de nitrogênio da

palhada, relação C/N na palhada, carbono total na palhada e nitrogênio acumulado na palhada, segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

#### 4.6.2 Avaliações na cultura da soja

Número de nódulos por planta e massa de nódulos: As avaliações foram realizadas em V4 (08/12/2015), R2 (05/01/2016), R4 (25/01/2016), e R6 (19/02/2016), onde foram coletados com auxílio de um enxadão, raízes de cinco plantas consecutivas na linha, em local pré-determinado na área útil de cada parcela. As raízes foram lavadas e posteriormente feita a contagem do número de nódulos. A seguir, os nódulos foram destacados e colocados em estufa por 48 horas à 65°C com pesagem do material seco em balança de precisão e calculado a razão entre a massa de matéria seca e o número de nódulos para obter-se a massa de matéria seca média por nódulo.

Massa seca de plantas: Simultaneamente a cada coleta de nódulos, coletou-se 1 m de plantas em cada parcela, o material coletado foi levado para o laboratório, lavado com água corrente depois com água destilada e colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar a  $\pm$  65 °C, até atingir massa constante. Após isso foram pesados e os dados transformados em kg ha<sup>-1</sup> de massa seca produzida.

Estado nutricional das plantas: Foi coletado, no estádio R2, a terceira folha desenvolvida, com o pecíolo, a partir do ápice da planta na haste principal, de 30 plantas na área útil de cada parcela de acordo com Raij et al. (1996). Para cada parcela, o material coletado foi levado para o laboratório, lavado com água corrente depois com água destilada e colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C. Após secagem, o material foi moído em moinho tipo Willey, com armazenamento do material obtido em saquinhos plásticos, devidamente identificados. Nesse material foram determinados os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Zn e Mn segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

<u>Características agronômicas:</u> Foram coletadas por ocasião da colheita, 5 plantas seguidas em uma das linhas da área útil de cada parcela, as quais foram identificadas e levadas ao laboratório para as seguintes avaliações:

Altura de planta: medindo-se à distância entre o colo e o ápice da haste principal.

Altura de inserção da primeira vagem: medindo-se à distância entre o colo da planta e a inserção da primeira vagem;

<u>Número de ramos por planta:</u> foram contados em cada planta o número de ramos que possuíam vagens e posteriormente determinando-se o número médio de ramos nas 5 plantas amostradas;

<u>Número de vagens por planta:</u> destacando e contando-se todas as vagens das plantas que apresentaram grãos e dividindo-se pelo número de plantas amostradas.

**Produtividade de grãos:** Foram coletadas as plantas de 2 linhas com 3 m na área útil de cada parcela, onde após secagem ao sol, foram trilhadas mecanicamente e os grãos pesados. Após pesagem, foi determinado o grau de umidade dos grãos com aparelho digital, e então transformados os dados obtidos em kg ha<sup>-1</sup> (13% de umidade em base úmida).

<u>População final:</u> Simultaneamente a colheita das plantas no campo, foi realizada a avaliação da população final, contando em duas linhas 5 metros todas as plantas e extrapolando para hectare.

Massa de 100 grãos e teor de proteína nos grãos: Foi avaliado pela da contagem de 100 grãos, da produção obtida em cada parcela, com posterior pesagem em balança de precisão. Uma amostra de grãos cada parcela foi separada, moída em moinho do tipo Willey, levado ao laboratório e determinado o teor de proteína pela conversão vezes 6,25; segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em ambas as áreas de estudo, as culturas antecessoras diferiram em relação à produtividade de massa seca, como observado no desdobramento (Figura 02) da Tabela 03. Verifica-se que em área de sequeiro, houve maior produtividade de massa seca da parte aérea da crotalária, e em sequencia do capim Ruziziensis, demostrando suas rusticidades em relação à cultura do milho (segundo safra), com produtividade menor decorrente das baixas precipitações (Figura 01) ocasionando estresse e deficiência hídrica e menor aporte de fitomassa,

Enquanto em área irrigada, a menor produtividade de massa seca foi verificada na leguminosa devido ao ataque severo de pragas (mosca branca - *Bemisia tabaci*) e doenças (Mosaico Dourado), limitando o seu desenvolvimento. Desta forma, Nunes et al. (2006) relatam que para garantir adequada cobertura do solo em condições de cerrado é recomendada a produção de massa seca superior a 6 t ha<sup>-1</sup>, produtividades menores entre as Braquiárias nestes ensaios.

Pariz et al. (2011) verificaram que aos 90 dias após o manejo (DAM), restavam sobre a superfície do solo apenas 30% da palhada dos capins marandu e ruziziensis manejados no início do mês de novembro. Essa taxa de decomposição é equivalente à apresentada no presente trabalho, em que aos 100 DAM (Figuras 02 e 03) restavam aproximadamente 30% da palhada sobre o solo. Em relação à crotalária em área irrigada, não houve praticamente cobertura do solo a partir do 70° DAM (Figura 03) e seu tempo de meia vida (T½) foi de 25 DAM, inferior ao relatado por Soratto et al. (2012), que observaram que a massa de crotalária atingiu 50% da quantidade inicial aos 65 DAM, com produtividade de massa seca de 8,11 t ha<sup>-1</sup>. O comportamento da decomposição das culturas varia conforme suas relações C/N, como verificado nas Figuras 08 e 09, em que as gramíneas apresentam maiores relações, proporcionando maior permanência da palhada.

Torres et al. (2005), ao avaliarem a decomposição e a liberação de N de resíduos culturais de plantas de cobertura consorciadas na região do cerrado observaram, em todos os tratamentos, que a cinética do processo de decomposição dos diferentes resíduos culturais foram similares, apresentando padrão de decréscimo exponencial no decorrer do tempo. Comportamento semelhante também foi verificado neste trabalho, onde os maiores decréscimos no material orgânico em cada cultura

foram observados nos primeiros 25 DAM, quando o material está menos lignificado, resultando em maior velocidade de decomposição e liberação de alguns nutrientes, como N, P e K. Desse modo, durante a fase inicial de decomposição da palha sobre o solo, é comum a imobilização de nutrientes, sobretudo do N, principalmente quando a palha residual e a cultura sucessora são gramíneas. Torna-se, assim, necessário o estudo de técnicas que aumentem o acúmulo de fitomassa por parte das plantas de cobertura (KLIEMANN et al., 2006) e que sincronizem a decomposição da palhada e a taxa de liberação dos nutrientes com a demanda e necessidade das culturas anuais semeadas em sucessão (GAMA-RODRIGUES et al., 2007).

Desta forma, os teores de nitrogênio, carbono total e, respectivamente, relações C/N das palhadas, são de suma importância para o estudo e/ou desenvolvimento de microrganismos decompositores e simbiontes de plantas, como demonstrado na cinética de decomposição nas Figuras de 04 a 09. De acordo com Cochran et al. (1988), a decomposição da palha no solo é realizada por dois tipos de biomassa. A biomassa X utiliza rapidamente o carbono e o nitrogênio presentes na fração solúvel da palha. Após a utilização da fração solúvel, a biomassa X tem limitação em carbono e inicia a fase de morte onde o carbono e o nitrogênio presente nesta biomassa são reciclados pela biomassa ainda viva. A biomassa Y apresenta uma velocidade de crescimento mais lenta e possui uma capacidade de se desenvolver e de sustentar o crescimento em função da habilidade que possui em sintetizar as enzimas capazes de solubilizar hemicelulose e celulose.

Também Potthoff et al. (2001) afirmam haver a existência de duas diferentes frações de microrganismos envolvidas na decomposição de resíduos culturais no solo: uma fração, corresponde à comunidade microbiana autóctone do solo a qual é relativamente independente dos resíduos culturais; e a outra fração, correspondente à comunidade zimogênea, a qual coloniza os resíduos culturais. Esta segunda fração é provavelmente composta, em menor proporção, de microrganismos provenientes do solo, e, em maior proporção, de microrganismos presentes nos resíduos culturais antes destes entrarem em contato com o solo. Neste sentido, Potthoff et al. (2005) ao avaliarem a decomposição de palha de milho no solo, verificaram que 75% do C contido na biomassa microbiana do solo foram derivados do C da palha, indicando que, após a chegada da palha de milho no solo, a microbiota de origem filosférica tem forte participação na comunidade microbiana total dos decompositores.

**Tabela 3-** Valores de F e médias para massa seca de culturas antecessoras (**MS**), teor de nitrogênio (**TN**), relação C/N, carbono total (**C**) e nitrogênio acumulado na palhada (**NAP**), em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.

2015/16.	Área	de Sequeiro			
Culturas Antecessoras	MS	TN	C/N	С	NAP
(CA)	kg ha <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Z. mays	1.449	9,0	42,2	380,9	13,7
U. ruziziensis	2.140	9,3	44,6	364,3	23,3
C. spectabilis	3.091	28,8	15,5	435,0	95,2
Épocas de Coleta (EC)					
0 DAM	4.157	20,4	29,9	477,7	95,0
25 DAM	2.229	17,8	29,7	411,7	48,9
50 DAM	1.840	15,6	33,1	394,9	34,4
75 DAM.	1.567	14,2	32,6	351,1	26,2
100 DAM	1.342	10,7	45,2	331,4	16,0
Test F					
CA	483,784**	945,647**	129,193**	80,103**	819,954**
EC	543,513**	59,157**	12,041**	114,933**	236,616**
CA*EC	20,497**	7,171**	9,221**	12,037**	59,991**
D.M.S.	131,24	1,29	4,98	14,45	5,44
C.V.	6,52	9,1	16,16	4,07	13,66
Regressão					
R.L.	1689,829 **	232,956**	33,005**	438,494**	809,279**
R.Q.	378,086**	$0,325^{\text{ns}}$	9,957**	10,878**	108,189**
	Áre	a Irrigada			
<b>Culturas Antecessoras</b>	MS	TN	C/N	C	NAP
(CA)	kg ha <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Z. mays	3.898	9,0	41,8	376,3	35,8
U. ruziziensis	2.501	10,3	40,3	389,3	29,5
C. spectabilis	368	19,3	8,43	270,3	12,4
<b>Épocas de Coleta (EC)</b>					
0 DAM	3.480	20,9	30,3	502,1	53,8
25 DAM	2.456	18,1	27,2	397,4	30,4
50 DAM	1.987	15,5	31,5	371,0	19,8
75 DAM	1.796	5,5	29,5	233,2	14,4
100 DAM	1.559	4,6	32,5	222,9	11,1
Test F					
CA	2071,091**	334,277**	702,065**	123,494**	304,074**
EC	226,918**	359,462**	4,766*	241,133**	370,071**
CA*EC	29,418**	177,365**	28,956**	87,942**	27,004**
D.M.S.	136,74	1,07	2,49	20,56	2,43
C.V.	6,71	9,19	9,13	6,59	10,39
Regressão					
R.L.	797,291**	1318,145**	5,109*	907,336**	1281,974**
R.Q.	96,160**	5,103*	$2,841^{ns}$	7,402**	183,848**

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

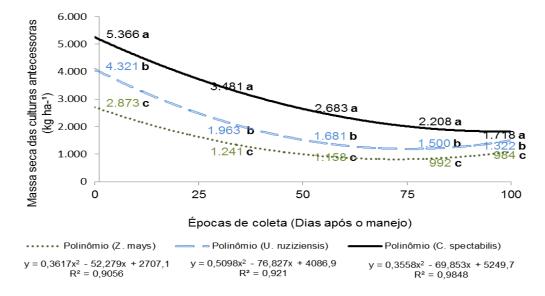
<sup>&</sup>gt; RL – valores de F para regressão linear; RQ – valores de F para regressão quadrática.

<sup>➤</sup> Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.

Sabe-se, porém, que durante o processo de mineralização da matéria orgânica das espécies de cobertura do solo, ocorrem perdas de nutrientes por volatilização, lixiviação e/ou escorrimento superficial. Apesar disso, estima-se que entre 60 a 70% do N encontrado na biomassa vegetal é ciclado e novamente absorvido pelas plantas cultivadas em sequência (BRAZ et al., 2010).

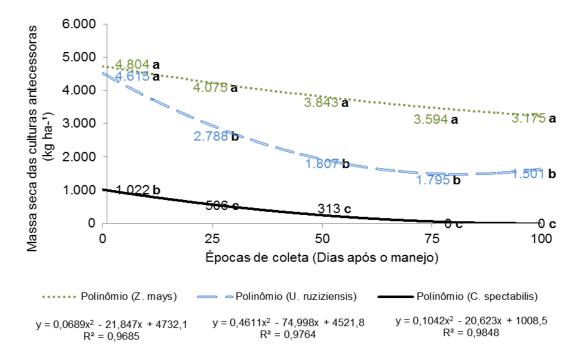
Assim, aos 50 DAM, as palhadas de *C. spectabilis*, *Z. mays e U. ruziziensis* (área de sequeiro) disponibilizaram ao sistema aproximadamente 114,2; 20,5 e 47,1 kg ha<sup>-1</sup> N (Figura 10), e em área irrigada respectivamente 28,0; 18,6 e 55,8 kg ha<sup>-1</sup> N nos estádios de germinação, emergência e consecutivamente até o 40° dia de cultivo da cultura (Figura 11). No entanto, sabe-se que devido as gramíneas terem elevada relação C/N, esse nitrogênio em primeiro momento acabará sendo imobilizado por microrganismos decompositores, enquanto que na leguminosa será mineralizado devido a menor relação C/N. Todavia, também pode ocorrer perdas por lixiviação ou volatilização. Assim, a quantidade de N liberado nesses 50 DAM, não limitou a nodulação inicial, conforme pode ser verificado na Tabela 09 e Tabela 10.

**Figura 2-** Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para produtividade de massa seca de culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



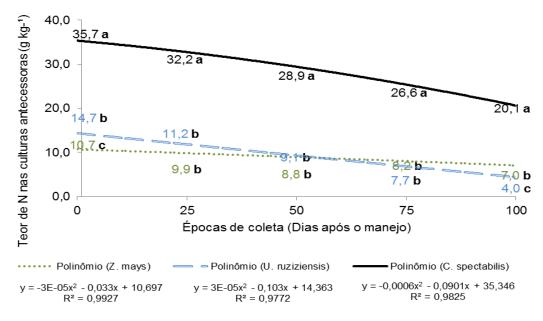
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**FIGURA 3**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para produtividade de massa seca de culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



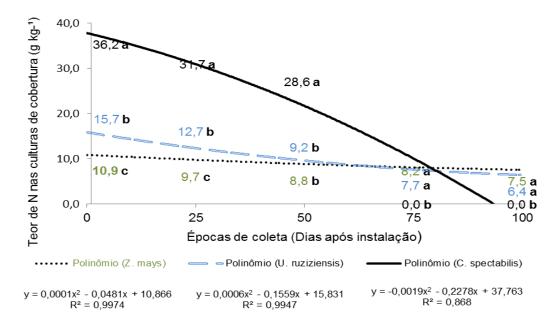
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**FIGURA 4-** Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para teor de N na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



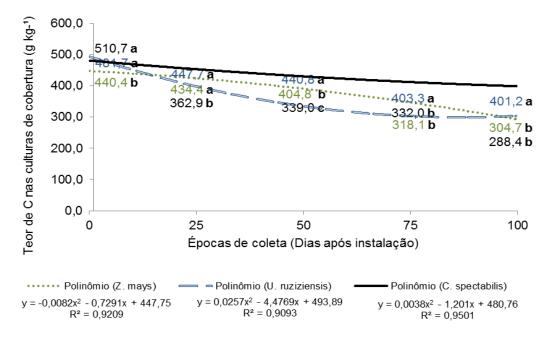
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 5**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para teor de N na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



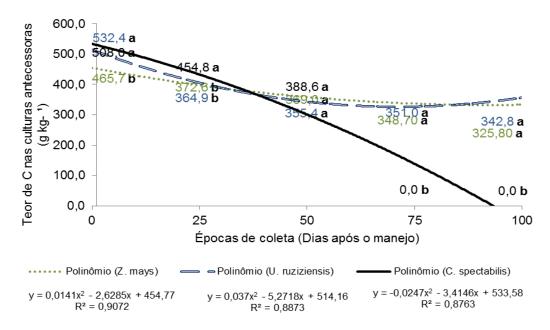
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 6**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para teor de C na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



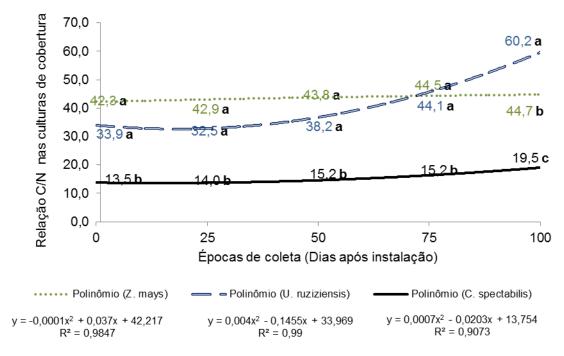
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 7**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para teor de C na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



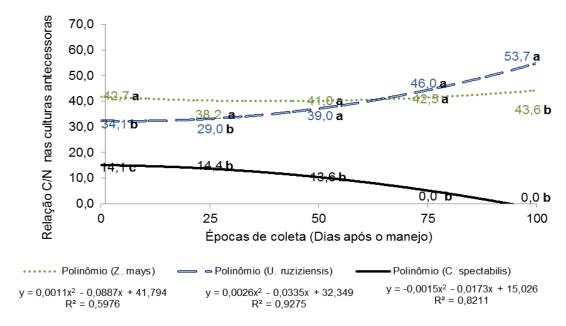
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 8**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para a relação C/N na massa seca das culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



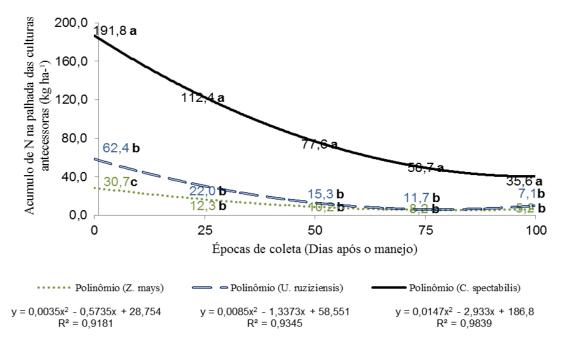
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- ➤ Fonte: Souza (2016).

**Figura 9**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para a relação C/N na massa seca nas culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



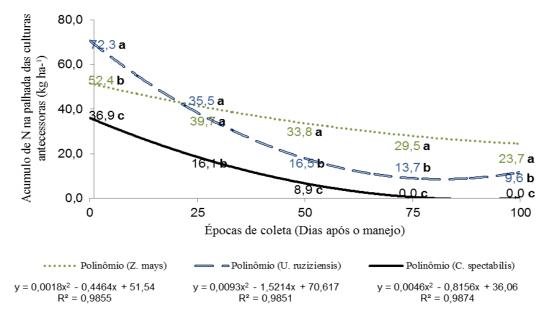
- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 10**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área de sequeiro, para acúmulo de N na palhada nas culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

**Figura 11**- Desdobramento da interação entre culturas antecessoras e épocas de coleta de "Litter bags", em área irrigada, para acúmulo de N na palhada nas culturas antecessoras. Selvíria-MS, 2015/16.



- Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
- Fonte: Souza (2016).

Os teores nutricionais obtidos no experimento, expressos na Tabela 04 (área irrigada) e Tabela 05 (área de sequeiro), estão em uma faixa de suficientes a altos para o desenvolvimento da cultura da soja no estado de Mato Grosso do Sul, baseados nos valores publicados pela (EMBRAPA, 2008).

A crotalária é em uma leguminosa com relação C/N inferior ao milho e á braquiária, como se verifica nas Figuras 08 e 09. Portanto, poderia nas parcelas onde houve o cultivo desta cultura de cobertura, ter obtido maior teor de N foliar na soja, o que apenas foi observado em área de sequeiro.

Em relação ao teor de proteínas nos grãos, os valores obtidos em ambas as áreas estão dentro da descrição fitotécnica para a variedade. E entende-se que os processos de mineralização ou imobilização de N nas palhadas das culturas antecessoras, bem como a maior atividade do processo de fixação biológica de nitrogênio e todos os outros processos que o nutriente pode estar envolvido no sistema de cultivo, não influenciaram diretamente o enchimento de grãos. Pois esses processos ocorreram em maior intensidade nos estádios vegetativos, não coincidindo, principalmente, no estádio R5 (enchimento de grãos). A mineralização do N da palha, assim como sua imobilização na biomassa microbiana ocorre simultaneamente no solo, e a quantidade de N do material

em decomposição determinarão, em parte, qual das reações será predominante (LARA CABEZAS; BRANCALIÃO, 2012). Esta implicação em relação à fertilidade do solo pode resultar no maior ou menor acúmulo de compostos na planta.

Zilli et al. (2008) em experimento conduzido com os tratamentos: testemunha, 200 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, inoculação via semente e inoculação em cobertura aos 14 DAE, constataram que o único tratamento que diferiu inferiormente no teor de N, consecutivamente de proteínas nos grãos, foi a testemunha. O nitrogênio é essencial na formação deste composto, neste contexto, Hungria et al. (2007) afirmam que os solos brasileiros são muito pobres neste nutriente, e em geral fornecem apenas cerca de 10 a 15 kg ha<sup>-1</sup> para a cultura. Devido a isso, os fertilizantes minerais nitrogenados e a FBN são as principais fontes de N utilizadas na agricultura.

A soja também pertencente à família das leguminosas, possui eficiente processo de fixação biológica do nitrogênio, o que, mesmo em sucessão ás gramíneas, culturas que não fixam nitrogênio, apresentou teor de N foliar considerado suficiente para a cultura. De tal forma, na Tabela 04 (área irrigada) foi constatado efeito significativo entre os tratamentos de inoculação para o teor N foliar, no qual, o tratamento testemunha foi inferior aos demais, no entanto, as plantas de soja não demostraram deficiência nutricional. E em área de sequeiro (Tabela 05), os dois tratamentos sem inoculação foram inferiores aos demais inoculados. O comportamento inferior no tratamento de adubação pode ter sido em função de perdas por volatilização, a qual pode ter ocorrido pela fonte de N mineral (ureia) no momento da aplicação, pois não houve irrigação ou precipitação pluvial, diminuindo-se assim a taxa de conversão.

Segundo Embrapa (2008), com o advento dos herbicidas de pós-emergência, a maior precisão das semeadoras, a significativa melhoria na qualidade das sementes produzidas no país e sua classificação por tamanho, bem como a adoção do tratamento das sementes com fungicidas, há obtenção de populações mais uniformes. Essas mudanças permitiram reduzir a população de plantas de soja para aproximadamente 300 mil plantas ha<sup>-1</sup> e, em condições favoráveis ao acamamento de plantas, para 200-250 mil plantas ha<sup>-1</sup>. No entanto, deve-se atentar para a população ideal, pois Rocha et al. (2001) detectaram que o componente de produção mais alterado pelo aumento da população de plantas na cultura da soja é o número de vagens por planta, em consequência da redução do número de ramos.

Tabela 4- Estado nutricional da cultura da soja e teor de proteína nos grãos (PG), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados.

				Área Irri	gada								
Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	PG		
Tratamentos			g k	(g <sup>-1</sup>				mg	mg kg <sup>-1</sup>				
Culturas Antecessoras (CA)													
Z. mays	48,7	3,7	19,5	10,3	3,5	3,0	22,3	268,5	34,5	89,3	46,4		
U. Ruziziensis	46,6	3,6	18,6	9,9	3,9	3,1	20,4	250,4	35,6	83,1	45,3		
C. spectabilis	49,1	3,6	19,5	10,4	4,0	2,9	21,5	279,0	38,4	80,4	45,0		
Inoculação (I)													
Testemunha	44,1 b	3,9	18,5	10,4	3,6	3,2	20,3	284,0	36,5	78,9	43,4		
$200~\mathrm{kg~ha^{-1}N}$	46,3 a	3,7	18,3	9,3	3,8	3,1	21,8	250,3	37,9	83,2	45,0		
Via Semente	49,3 a	3,6	19,6	10,3	4,1	3,0	22,3	267,4	34,5	85,4	46,3		
Via Semente + V1	48,3 a	3,9	19,0	10,8	3,9	2,9	24,3	269,0	36,5	79,0	45,4		
Via Semente + V3	47,3 a	3,3	18,4	9,1	3,7	2,7	20,1	278,0	35,4	83,0	46,4		
Via Semente + V6	48,5 a	3,6	19,1	10,5	4,2	3,3	23,2	256,0	36,4	82,4	42,3		
Via Semente + R1	47,5 a	3,5	18,3	9,6	3,7	2,8	20,4	276,4	35,4	75,8	45,1		
Via Semente + R3	48,9 a	3,7	18,9	10,0	4,0	3,0	21,0	265,8	37,4	80,2	46,0		
Test F													
CA	1,840 <sup>ns</sup>	1,254 <sup>ns</sup>	0,932 ns	1,568 <sup>ns</sup>	1,342 ns	0,783 <sup>ns</sup>	1,793 <sup>ns</sup>	1,753 <sup>ns</sup>	1,979 ns	1,683 <sup>ns</sup>	1,291 <sup>ns</sup>		
I	2,431 *	1,543 ns	$0,793^{\text{ns}}$	1,234 <sup>ns</sup>	1,548 <sup>ns</sup>	0,683 <sup>ns</sup>	1,323 ns	1,653 <sup>ns</sup>	1,732 ns	1,362 ns	0,355 <sup>ns</sup>		
CA*I	0,876 <sup>ns</sup>	1,453 <sup>ns</sup>	1,873 <sup>ns</sup>	1,834 <sup>ns</sup>	1,753 <sup>ns</sup>	1,633 <sup>ns</sup>	0,983 <sup>ns</sup>	1,384 <sup>ns</sup>	0,983 <sup>ns</sup>	1,972 ns	1,343 ns		
C.V.	8,8	7,4	12,3	14,1	15,4	10,4	26,4	34,0	27,8	38,2	15,3		

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Tabela 5- Estado nutricional da cultura da soja e teor de proteína nos grãos (PG), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados.

			Á	rea de Se	queiro							
Tratamentas	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	PG	
Tratamentos			g k	rg <sup>-1</sup>				mg kg <sup>-1</sup>				
<b>Culturas Antecessoras (CA)</b>												
Z. mays	45,2 b	3,7	18,0	11,3	3,9	3,1	21,3	268,8	36,4	82,0	44,3	
U. Ruziziensis	44,3 b	3,6	17,4	10,9	4,2	3,0	20,4	257,4	35,4	81,4	46,1	
C. spectabilis	48,5 a	3,5	17,9	10,3	4,0	3,0	20,5	274,8	34,1	78,9	47,2	
Inoculação (I)												
Testemunha	42,0 b	3,6	17,8	10,9	3,9	3,2	19,8	289,0	37,3	79,3	45,1	
200 kg ha <sup>-1</sup> N	43,4 b	3,7	17,5	10,4	4,3	2,8	20,9	274,4	35,4	80,2	46,3	
Via Semente	46,3 a	3,5	18,0	10,6	4,1	3,0	20,0	273,4	37,5	81,4	45,9	
Via Semente + V1	48,3 a	3,6	18,2	11,0	4,3	3,2	21,2	265,5	36,3	84,2	46,7	
Via Semente + V3	46,3 a	3,6	18,1	10,1	4,9	3,2	21,4	275,4	34,4	79,6	46,0	
Via Semente + V6	47,8 a	3,4	17,9	10,4	4,0	2,9	20,3	279,4	37,5	78,6	46,3	
Via Semente + R1	45,3 a	3,8	18,3	11,3	4,2	3,4	20,5	265,4	32,6	83,2	46,1	
Via Semente + R3	45,7 a	3,6	18,3	10,6	4,0	3,2	21,5	275,3	38,1	87,3	45,4	
Test F												
CA	2,943 *	1,365 <sup>ns</sup>	0,983 <sup>ns</sup>	1,632 ns	1,322 ns	0,973 <sup>ns</sup>	0,563 <sup>ns</sup>	0,892 ns	1,462 ns	1,783 <sup>ns</sup>	1,232 n	
I	2,764 *	1,122 ns	1,453 <sup>ns</sup>	0,983 <sup>ns</sup>	1,423 <sup>ns</sup>	$0,784^{\text{ ns}}$	0,867 <sup>ns</sup>	0,924 <sup>ns</sup>	1,578 <sup>ns</sup>	1,374 <sup>ns</sup>	0,983 <sup>ns</sup>	
CA*I	0,683 <sup>ns</sup>	1,344 <sup>ns</sup>	1,234 <sup>ns</sup>	0,897 <sup>ns</sup>	$0,892^{\text{ ns}}$	1,322 ns	1,325 <sup>ns</sup>	1,683 <sup>ns</sup>	1,74 <sup>ns</sup>	1,093 <sup>ns</sup>	1,002 <sup>n</sup>	
C.V.	10,3	4,6	6,7	11,5	13,3	9,9	29,3	37,4	30,1	37,2	14,2	

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

<sup>&</sup>gt; Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Corroborando com os resultados obtidos por Vasquez (2005), que analisou os efeitos da população de plantas na cultura da soja em palhadas e manejos distintos, e Heiffig (2002) que estudou a plasticidade da cultura da soja. A população final de aproximadamente 300 mil plantas ha<sup>-1</sup> para ambas as áreas (Tabelas 06 e 07) está dentro da recomendação para o cultivar. Ponderando-se que houve maior dificuldade de semeadura sobre palhada de capim ruziziensis, proveniente da massa vegetal produzida em ambas as áreas (Figuras 02 e 03), mas, não houve redução da população final da soja.

Os valores obtidos para altura de inserção da primeira vagem e altura de plantas, conforme apresentados nas Tabelas 06 e 07, estão acima dos recomendados por Queiroz et al. (1981), ou seja, 13 e 65 cm respectivamente, para se evitar perdas durante a colheita da soja. Como a soja é uma cultura onde a colheita desta cultivar é principalmente mecanizada, a altura de inserção da primeira vagem é uma característica importante para se reduzir as perdas na colheita, e conforme os tratamentos, esses valores podem ser considerados favoráveis ao sistema. Aratani (2003), em mesmas condições do presente trabalho obteve em média 46 vagens por planta, valor este menor que o obtido neste experimento.

Em relação à massa de 100 grãos e produtividade em área irrigada (Tabela 06) nota-se que os tratamentos padrões diferiram dos tratamentos com inoculações suplementares em cobertura, evidenciando influência da fixação no enchimento de grãos. Em área de sequeiro (Tabela 07), todos os tratamentos inoculados foram superiores aos não inoculados, demostrando que a adubação em condições reais de cultivo da sojicultora no Brasil, é inviável não apenas pelo custo e baixa operacionalidade, mas por perdas que podem ocorrer nas fontes nitrogenadas, e, apesar de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N ser um tratamento padrão estipulado para trabalhos de inoculação, atualmente os cultivares necessitam de um aporte maior de tal nutriente.

O cultivar BMX Potência RR tem como descrição fitotécnica, massa de 100 grãos média de 15,8 g<sup>-1</sup>. No experimento, todos os tratamentos inoculados e/ou inoculados em cobertura apresentaram médias superiores. Para a produtividade, fica evidente a importância da FBN para a absorção e enchimento de grãos, com médias superiores nos tratamentos onde foram realizadas inoculações em cobertura (área irrigada) ou apenas inoculação convencional (área de sequeiro). Todas as médias de produtividade de grãos dos tratamentos com algum tipo de inoculação foram superiores à média nacional da safra

2015/16, de 2.882 kg ha<sup>-1</sup>, e a média do estado de Mato Grosso do Sul, de 3.120 kg ha<sup>-1</sup> (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB, 2016).

Em ambas as áreas, a produtividade de grãos foi menor em sucessão a palhada de milho, sistema esse de maior área cultivada no Brasil. No entanto, no experimento as áreas cultivadas com milho tiveram problemas durante a condução, não proporcionando palhada suficiente para a soja. Em área de sequeiro (Figura 02) o menor aporte de massa seca de plantas foi ocasionado pelo estresse hídrica, e em área irrigada (Figura 03), apesar de ter manejo da lâmina d'água, houve alta incidência de doenças.

Zilli et al. (2008) em experimento conduzido com os tratamentos: testemunha, 200 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, inoculação via semente e inoculação em cobertura aos 14 DAE verificaram que a inoculação em dose única na cobertura, não deve ser uma prática para substituir a inoculação tradicional nas sementes, haja vista que o melhor resultado ocorreu com a inoculação padrão. Entretanto, mostrou-se viável como método complementar, para situações emergenciais em que ocorreu falha na nodulação das plantas, e como consequência da deficiência de nitrogênio. Essa situação tende a ocorrer em áreas de primeiro cultivo de soja e em solos com baixos teores de matéria orgânica. Todavia, o presente trabalho, visando o estudo da inoculação padrão (via semente) + inoculação suplementar em cobertura, constatou-se que tais pulverizações em cobertura visam apenas à suplementação e nodulação secundária, adicionando e não substituindo uma prática cultural na soja.

Não existem, na literatura, pesquisas que visam os mesmos tratamentos ou o objetivo de inoculações em cobertura. Os trabalhos atuais estão direcionados ao estudo da inoculação apenas na semeadura, ou via semente, ou via sulco. Vários trabalhos relatam o comportamento da bactéria em contato com o solo, quando são feitas inoculações em jato dirigido no suco de semeadura.

Em trabalho conduzido por Voss (2002), a nodulação inicial foi maior com a inoculação na semente, seguida pelo tratamento inoculação no sulco de semeadura, e ambos foram superiores à testemunha sem inoculação, em que poucas plantas apresentaram nódulos. A inoculação no sulco de semeadura resultou em esverdeamento menos intenso nas folhas, com muitas plantas amareladas entre outras mais verdes, indicando que as raízes de muitas plantas demoraram para ser infectadas pelo rizóbio, neste tratamento. Esses sintomas foram ainda mais intensos na testemunha.

No entanto, segundo Greenfield (1991), a diluição do inoculante na água, para aplicação no sulco de semeadura, melhora a distribuição do rizóbio na semente e no solo, afastando-o da superfície e posicionando-o onde há menor oscilação de temperatura e umidade, ficando, portanto, melhor localizado para infectar as raízes da soja.

**Tabela 6-** Valores de F e médias para população final de plantas (**PF**), altura de plantas (**AP**), inserção primeira vagem (**IPV**), número de vagens por planta (**NVP**), massa de cem grãos (**M100**) e produtividade de grãos (**P**), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.

	Ár	ea Irrigad	a			
	PF	AP	IPV	NVP	M100	P
Tratamentos	n° ha <sup>-1</sup>	С	m	n°	g <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
<b>Culturas Antecessoras (CA)</b>						
Z. mays	290.874	89	15	64	16,5	4.045 b
U. Ruziziensis	297.304	90	16	75	16,4	4.611 a
C. spectabilis	300.408	93	15	76	16,3	4.788 a
Inoculação (I)						
Testemunha	293.094	90	14	67	15,7 b	3.304 b
$200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$	298.937	93	16	63	15,9 b	3.352 b
Via Semente	300.632	89	15	70	17,3 a	3.637 b
Via Semente + V1	304.232	95	13	82	17,0 a	5.098 a
Via Semente + V3	297.739	88	17	79	17,2 a	4.394 a
Via Semente + V6	302.083	94	16	71	16,9 a	4.492 a
Via Semente + R1	297.309	93	15	69	16,4 a	3.992 a
Via Semente + R3	296.384	90	17	70	16,3 a	4.193 a
Test F						
CA	0,498 <sup>ns</sup>	0,987 <sup>ns</sup>	1,231 <sup>ns</sup>	1,345 <sup>ns</sup>	0,537 <sup>ns</sup>	9,301 **
I	1,372 ns	$0,987^{\text{ ns}}$	1,212 <sup>ns</sup>	1,243 <sup>ns</sup>	7,670**	8,342 **
CA*I	1,364 <sup>ns</sup>	1,739 <sup>ns</sup>	0,679 ns	0,986 <sup>ns</sup>	0,678 <sup>ns</sup>	1,465 <sup>ns</sup>
C.V.	20,4	10,4	9,8	26,3	5,53	13,92

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

Independentemente da forma de aplicação do inoculante, sabe-se que os ganhos em produtividade decorrentes da inoculação, em áreas cultivadas anteriormente com soja, são menos expressivos do que os obtidos em solos de primeiro ano de cultivo (ZHANG; SMITH, 1997; CAMPOS, 1999; CAMPOS; GNATTA, 2006). Não obstante, têm-se

<sup>&</sup>gt; Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

observado ganhos médios de 4,5 % na produtividade de grãos com a inoculação em áreas cultivadas com essa leguminosa (EMBRAPA, 2003). Tal fato pode ser explicado, pois as estirpes provenientes do inoculante estão totalmente ativas, enquanto, estirpes de mesma espécie, ou nativas, que estão no solo, podem estar em estado latente.

**Tabela 7-** Valores de F e médias para população final de plantas (**PF**), altura de plantas (**AP**), inserção primeira vagem (**IPV**), número de vagens por planta (**NVP**), massa de cem grãos (**M100**) e produtividade de grãos (**P**), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.

	Área d	e Sequeir	0			
	PF	AP	IPV	NVP	M100	P
Tratamentos	n° ha <sup>-1</sup>	CI	m	n°	g <sup>-1</sup>	kg ha <sup>-1</sup>
Culturas Antecessoras (CA)						
Z. mays	284.986	87	17	63	16,1	3.780 b
U. Ruziziensis	290.764	89	15	71	15,9	4.120 a
C. spectabilis	290.646	90	16	69	16,0	4.090 a
Inoculação (I)						
Testemunha	287.087	88	15	62	16,0	3.300 b
$200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$	285.764	88	16	72	15,9	3.374 b
Via Semente	290.097	90	14	81	15,8	4.240 a
Via Semente + V1	289.753	91	14	67	16,2	4.130 a
Via Semente + V3	290.786	86	16	62	16,0	4.072 a
Via Semente + V6	291.886	87	15	77	15,9	4.152 a
Via Semente + R1	285.864	90	17	65	16,3	4.220 a
Via Semente + R3	288.908	89	15	63	16,2	4.054 a
Test F						
CA	1,653 <sup>ns</sup>	0,568 <sup>ns</sup>	0,677 <sup>ns</sup>	1,430 <sup>ns</sup>	1,002 <sup>ns</sup>	3,865 *
I	0,987 <sup>ns</sup>	0,986 <sup>ns</sup>	0,743 <sup>ns</sup>	1,572 <sup>ns</sup>	1.523 <sup>ns</sup>	2,652 *
CA*I	1,342 ns	1,653 <sup>ns</sup>	1,256 <sup>ns</sup>	0,565 <sup>ns</sup>	1,372 <sup>ns</sup>	0,973 <sup>ns</sup>
C.V.	17,3	13,2	10,4	21,2	9,4	19,1

<sup>&</sup>gt; "s - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

Observa-se nas Tabelas 08 e 10, o acúmulo de matéria seca do cultivar em relação às épocas de coleta. Notando-se que os tratamentos não influenciaram em seu crescimento, e apenas houve um ajuste quadrático em ambas as áreas em função as épocas de coleta (Figuras 12 e 13). Essas variáveis são importantes para demostrar o desenvolvimento do

Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

cultivar na região em função dos tratamentos utilizados, onde a cultura da soja apresenta um retorno de aproximadamente 60 % da MS em forma de palha.

Existem vários estudos visando à pulverização de inoculante no solo (sulco de semeadura), porém, não nas entre linhas como no presente trabalho. Esses trabalhos estão sendo conduzidos, pois, a aplicação tradicional, via semente, nem sempre é eficiente, principalmente pela aplicação conjunta do *Bradyrhizobium* com fungicidas, inseticidas e micronutrientes, que contribuem para causar toxidez às bactérias e danos às vezes irreversíveis às sementes (VARGAS; SUHET, 1980).

A maioria dos fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de soja reduz a nodulação e a FBN (CAMPO; HUNGRIA, 2000). Isto acaba se agravando ainda mais quando os micronutrientes também são adicionados via semente e, também, depende do ingrediente ativo do fungicida e estirpe de bactéria realizada. Ao se realizar o tratamento das sementes com fungicidas, tem-se preferência aos ingredientes ativos carboxin, difeconazol, thiram, carbendazin, tolylfluanid e thiabendazol, que têm demonstrado serem menos tóxicos para bactérias. E alternativamente aplicar Co e Mo (2 a 3 g ha<sup>-1</sup> e 12 a 30g ha<sup>-1</sup>, respectivamente), via foliar, por volta dos 35-40 dias (V4).

Neste sentido, as inoculações suplementares em cobertura, em área irrigada, não foram eficientes na nodulação sobre palhada de milho. Possivelmente pela dificuldade contato bactéria-solo/bactéria-planta, impossibilitada pela cobertura vegetal ou por sua desuniformidade (maior parte formada por colmos) que não proporcionam um microclima propício, ainda que tenha sido fornecida irrigação para distribuir a bactéria no perfil, como observado no desdobramento (Tabela 09) da Tabela 08.

A melhor resposta das plantas ao inoculante se dá quando as bactérias estão espacialmente próximas ao sistema radicular das plântulas, nas primeiras semanas de desenvolvimento das raízes. Nesse estádio, os rizóbios captam os sinais moleculares da planta e infectam os pelos radiculares, o que culmina na formação dos nódulos (HIRSCH et al., 2003).

Na avaliação da eficiência de um inoculante, devem-se observar, principalmente, os nódulos formados na coroa da raiz principal, que resultam do contato direto da raiz com a bactéria fisiologicamente pronta do inoculante. Nodulações em raízes secundárias são também importantes e, em geral, ocorrem pela infecção por rizóbios nativos ou naturalizados do solo (HUNGRIA; BOHRER, 2000; HUNGRIA et al., 2005). Todavia,

esses nódulos em raízes secundárias podem ser provenientes de uma segunda população desta bactéria oriunda de uma inoculação em cobertura.

Observa-se na Tabela 09 que oposto ao observado para o milho, os tratamentos com inoculações suplementares em fase vegetativa (V1, V3 e V6) proporcionam maior nodulação em palhada de *U. ruziziensis* (coleta em R2) e *C. spectabilis* (coleta em R4 e R6). No caso da gramínea acredita-se que o microclima ocasionado pela uniformidade e pela maior permanência da palhada proporcione melhor desenvolvimento da bactéria. E para a leguminosa releva-se que um solo pouco coberto ou descoberto facilite a primeiro momento o contato para a simbiose. Ressalta-se que a massa de nódulos não diferiu em relação aos tratamentos de inoculação e palhadas em nenhuma das áreas de estudo, e sim, apenas houve um ajuste quadrático para épocas de coleta, área irrigada (Figura 15) e área de sequeiro (Figura 16).

A inoculação em jato dirigido, ou no sulco, apresentam alguns benefícios com relação à aplicação via semente, pelo fato desta aplicação poder utilizar altas doses, aumentando consideravelmente o número de células viáveis das bactérias fixadoras, fundamental para a FBN (JENSEN, 1987), aumentando as populações estabelecidas de rizóbio no solo, o que acarreta em uma nodulação mais prolongada quando comparada com a inoculação via semente (CIAFARDINI; BARBIERI, 1987), disponibilizando nitrogênio no período critico de demanda por este nutriente (R5) (VARGAS; PERES; SUET, 1982).

Considerando a viabilidade de um nódulo em torno de 40 dias e a dinâmica da nodulação, constata-se que no período de enchimento das vagens, os números de nódulos declinam rapidamente, possivelmente em consequência do decréscimo da eficiência nodular e da senescência natural dos nódulos, o que em grande parte, pode ser atribuído à competição por assimilados entre os nódulos e as estruturas reprodutivas (HAM et al., 1976). Desta forma, ao analisar a Tabela 09, verifica-se que os últimos estádios vegetativos seriam o momento ideal para uma inoculação em cobertura, visando uma população secundária de nódulos ativa na fase de enchimento de grãos.

O presente trabalho constatou-se comportamento semelhante ao relatado por Peat et al. (1981), de incremento de nódulos nas raízes laterais de soja, coincidente com o rápido crescimento das sementes, quando se espera grande competição por assimilados entre os nódulos e os órgãos reprodutivos. Isso sugere que uma segunda população de nódulos (Tabela 09), assim como verificada sob área de *U. ruziziensis* e *C. spectabilis*, ou em outras condições como em áreas de preparo convencional que facilite a infecção, ou

sob uma palhada uniforme de boa qualidade que possibilite um microclima favorável, possa facilitar o contato bactéria-planta, proporcionando parte do N necessário para o enchimento dos grãos.

Na Tabela10 (área de sequeiro), os tratamentos inoculados que foram superiores, aos tratamentos controle, demonstrando que pelo fato de não ter umidade adequada no solo, ou lâmina de irrigação, no momento da pulverização, a bactéria não conseguiu transpor a palhada e percolar no perfil do solo, permanecendo na superfície, onde é sensível a temperatura e luminosidade, ocasionando sua morte. Logo, apenas houve ajuste quadrático pra o número de nódulos por planta em relação às épocas de coleta (Figura 14).

**Tabela 8-** Valores de F e médias para massa seca total de plantas (**MSP**), número de nódulos por planta (**NNP**) e massa seca de nódulo (**MSN**), em área irrigada, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.

Área	Área Irrigada											
T	MSP	NNP	MSN									
Tratamentos	kg ha <sup>-1</sup>	n° planta <sup>-1</sup>	mg <sup>-1</sup>									
Culturas Antecessoras (CA)												
Z. mays	4000	22	7,6									
U. Ruziziensis	4132	26	7,4									
C. spectabilis	4146	25	7,5									
Inoculação (I)												
Testemunha	3839	15	7,4									
$200 \mathrm{~kg~ha}^{-1} \mathrm{~N}$	3975	14	7,5									
Via Semente	4119	26	7,5									
Via Semente + V1	4072	27	7,5									
Via Semente + V3	4142	30	7,6									
Via Semente + V6	4050	30	7,4									
Via Semente + R1	4029	27	7,4									
Via Semente + R3	4164	27	7,8									
Épocas de Coleta (EC)												
V4	681	18	3,2									
R2	4.692	30	7,8									
R4	4.984	26	8,9									
R6	5.811	22	10,1									
Test F												
CA	1,012 <sup>ns</sup>	21,346**	0,998 <sup>ns</sup>									
I	$0,754^{\text{ ns}}$	21,346**	0,918 <sup>ns</sup>									
EC	2,754 **	158,172**	1574,918**									
CA*I	0,865 <sup>ns</sup>	9,378**	0,682 <sup>ns</sup>									
CA*EC	1,350 <sup>ns</sup>	8,783**	0,684 <sup>ns</sup>									
I*EC	$0,986^{\text{ ns}}$	2,758**	0,660 <sup>ns</sup>									
CA*EC*I	0,990 <sup>ns</sup>	2,822**	1,060 <sup>ns</sup>									
C.V.	29,21	14,16	8,64									
Regressão (I)												
R.L.	3,872*	24,755**	4101,796**									
R.Q.	6,632*	385,592**	487,922**									

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

<sup>&</sup>gt; RL – valores de F para regressão linear; RQ – valores de F para regressão quadrática.

Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

Tabela 9- Desdobramento entre a interação tripla para o número de nódulos por planta em função dos tratamentos utilizados. Safra 2015/16.

Tratamentos -						Culturas Antecessoras										
Tratamentos -		Z. n	nays		U. ruzizensis						C. spectabilis					
Incaplação	Époc	as de Col	eta de no	ódulos	los Épocas de Coleta de nódulos						Época	as de Cole	eta de nó	dulos		
Inoculação -	V4	R2	R4	R6	R.	V4	R2	R4	R6	R.	V4	R2	R4	R6	R.	
Testemunha	10 b	18 b	19 b	13 b	** (1)	11 b	18 b	14 c	14 b	ns	10 b	19 c	14 d	14 c	ns	
$200~kg~ha~N~ha^{-1}$	10 b	18 b	14 b	14 b	ns	10 b	18 b	16 c	13 b	** (2)	10 b	18 c	15 d	14 c	* (3)	
Via Semente	20 a	29 a <b>B</b>	26 a	20 a	** (4)	22 a	37 a <b>A</b>	28 b	24 a	** (5)	18 a	31 b <b>B</b>	30 b	25 b	** (6)	
Via Semente + V1	22 a	31 a <b>B</b>	29 a	24 a	** (7)	24 a	38 a <b>A</b>	31 b	24 a	** (8)	18 a	39 a <b>A</b>	31 b	23 b	** (9)	
Via Semente + V3	21 a	33 a <b>B</b>	27 a <b>B</b>	21 a <b>B</b>	** (10)	25 a	37 a <b>A</b>	28 b <b>B</b>	24 a <b>B</b>	** (11)	18 a	39 a <b>A</b>	43 a <b>A</b>	45 a <b>A</b>	** (12)	
Via Semente + V6	22 a	32 a <b>B</b>	28 a <b>B</b>	22 a <b>B</b>	* (13)	24 a	38 a <b>A</b>	29 b <b>B</b>	24 a <b>B</b>	** (14)	18 a	31 b <b>B</b>	41 a <b>A</b>	41 a <b>A</b>	** (15)	
Via Semente + R1	21 a	32 a <b>B</b>	28 a <b>B</b>	19 a <b>B</b>	** (16)	24 a	40 a <b>A</b>	37 a <b>A</b>	23 a <b>B</b>	** (17)	19 a	31 b <b>B</b>	29 b <b>B</b>	21 b <b>B</b>	* (18)	
Via Semente + R3	22 a	31 a	29 a	19 a <b>B</b>	** (19)	25 a	35 a	32 a	25 a <b>A</b>	* (20)	19 a	31 b	29 b	24 b <b>A</b>	** (21)	

Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna.

Letras maiúsculas diferem entre si entre culturas de cobertura, sendo analisado em mesmo tratamento de inoculação e em época de coleta.

$$^{(1)} y = -3.5x^2 + 18.5x - 5.0 R^2 = 1 ^{(2)} y = -2.25x^2 + 11.9x + 1.3 R^2 = 0.56 ^{(3)} y = -2.75x^2 + 14.45x - 1.25 R^2 = 0.89 ^{(4)} y = -2.25x^2 + 12.2x + 0.8 R^2 = 0.74 ^{(5)} y = -4.25x^2 + 20.4x + 4.3 R^2 = 0.97 ^{(6)} y = -4.75x^2 + 23.45x + 4.75 R^2 = 0.68 ^{(7)} y = -4.5x^2 + 24.5x - 1.5 R^2 = 0.95 ^{(8)} y = -3.5x^2 + 17.9x + 8.0 R^2 = 0.94 ^{(9)} y = -5.25x^2 + 25.55x + 4.75 R^2 = 0.83 ^{(10)} y = -7.25x^2 + 36.95x - 10.25 R^2 = 0.84 ^{(11)} y = -4.5x^2 + 21.9x + 4.5 R^2 = 0.84 ^{(12)} y = -4x^2 + 18.8x + 11.5 R^2 = 0.68 ^{(13)} y = -4.75x^2 + 32.25x - 8.75 R^2 = 0.99 ^{(14)} y = -4x^2 + 19.6x + 7.0 R^2 = 0.90 ^{(15)} y = -4.75x^2 + 22.85x + 7.25 R^2 = 0.72 ^{(16)} y = -3.25x^2 + 24.15x - 3.25 R^2 = 0.99 ^{(17)} y = -7.5x^2 + 36.9x - 5.0 R^2 = 0.99 ^{(18)} y = -4.25x^2 + 20.55x + 3.75 R^2 = 0.77 ^{(19)} y = -3.75x^2 + 18.9x + 7.3 R^2 = 0.96 ^{(20)} y = -5.5x^2 + 26.1x + 5 R^2 = 0.95 ^{(21)} y = -3.75x^2 + 19.05x + 4.75 R^2 = 0.72 .$$

**Tabela 10-** Valores de F e médias para massa seca total de plantas (**MSP**), número de nódulos por planta (**NNP**) e massa seca de nódulo (**MSN**), em área de sequeiro, em função dos tratamentos utilizados. Selvíria-MS, 2015/16.

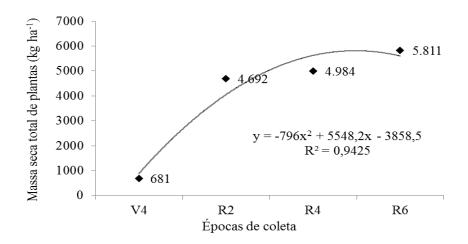
Área	Área de sequeiro											
T44	MSP	NNP	MSN									
Tratamentos	kg ha <sup>-1</sup>	n° planta <sup>-1</sup>	mg <sup>-1</sup>									
Culturas Antecessoras (CA)												
Z. mays	3848	23 b	6,5									
U. Ruziziensis	3669	29 a	7,0									
C. spectabilis	3915	27 a	6,8									
Inoculação (I)												
Testemunha	3865	13 b	6,4									
$200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$	3927	17 b	7,0									
Via Semente	4020	27 a	7,1									
Via Semente + V1	4100	30 a	6,7									
Via Semente + V3	4098	28 a	6,6									
Via Semente + V6	3992	30 a	7,0									
Via Semente + R1	4069	26 a	7,4									
Via Semente + R3	4039	29 a	7,8									
Épocas de Coleta (EC)												
V4	593	15	2,8									
R2	4.623	29	7,0									
R4	4.824	24	7,9									
R6	5.720	20	9,2									
Test F												
CA	1,432 <sup>ns</sup>	2,873*	0,976 <sup>ns</sup>									
I	$0,521^{\text{ns}}$	4,765*	1,092 ns									
EC	2,187 **	42,822**	98,012**									
CA*I	1,521 <sup>ns</sup>	1,542 <sup>ns</sup>	$1,092^{ns}$									
CA*EC	1,352 ns	1,021 <sup>ns</sup>	0,988 <sup>ns</sup>									
I*EC	$0,992^{\text{ ns}}$	$0.872^{\text{ns}}$	$0,962^{\text{ ns}}$									
CA*EC*I	1,352 ns	1,221 <sup>ns</sup>	1,087 <sup>ns</sup>									
C.V.	26,98	26,21	12,87									
Regressão (I)												
R.L.	4,273*	43,822**	123,02**									
R.Q.	8,332*	120,21**	230,992**									

<sup>&</sup>gt; ns - tratamentos não significativos; \*- significativos a 5%; \*\* - significativos a 1% pelo teste F.

<sup>&</sup>gt; RL – valores de F para regressão linear; RQ – valores de F para regressão quadrática.

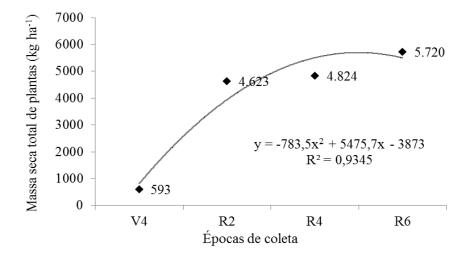
Letras minúsculas diferem entre si em mesma coluna pelo teste de Scott & Knott a 5%.

**Figura 12-** Massa seca total de plantas de soja, em área irrigada, em função de épocas de coleta. Selvíria-MS, 2015/16.

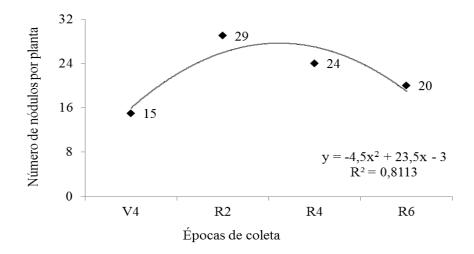


Fonte: Souza (2016).

**Figura 13-** Massa seca total de plantas de soja, em área de sequeiro, em função de épocas de coleta. Selvíria-MS, 2015/16.

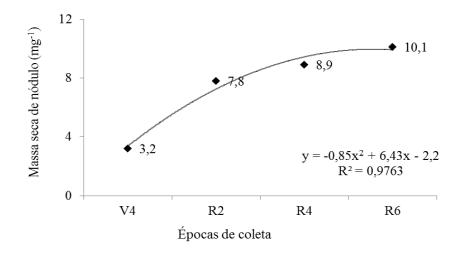


**Figura 14-** Número de nódulo por planta, em área de sequeiro, em função de épocas de coleta. Selvíria-MS, 2015/16.

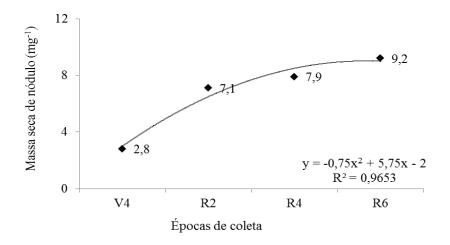


Fonte: Souza (2016).

**Figura 15-** Massa seca de nódulo, em área irrigada, em função de épocas de coleta. Selvíria-MS, 201



**Figura 16**- Massa seca de nódulo, em área de sequeiro, em função de épocas de coleta. Selvíria-MS, 2015/16.5/16.



## 6 CONCLUSÕES

- Em área irrigada, as culturas do milho segunda safra e do capim ruzizensis proporcionam maior acúmulo de nitrogênio, aporte de fitomassa e permanência da cobertura do solo no período de 100 dias de avaliação da palhada remanescente para a soja em sucessão.
- Em área de sequeiro, a cultura da crotalária spectabilis proporciona maior acúmulo de nitrogênio na palhada e aporte de fitomassa. No entanto, as gramíneas proporcionam maior permanência da cobertura do solo no período de 100 dias de avaliação da palhada remanescente para a soja em sucessão.
- Independentemente da condição de cultivo (irrigado ou não), as culturas antecessoras e os tratamentos de inoculação não interferiram no estado nutricional e nas características biométricas da cultura da soja em sucessão.
- A nodulação na soja mostra-se mais efetiva em sucessão com á crotalária spectabilis e capim ruziziensis.
- A nodulação da soja em área irrigada é beneficiada sob palhada de capim ruziziensis e crotalária spectabilis. Inoculações suplementares em cobertura, nos estádios vegetativos V1, V3 e V6, e reprodutivo, em R1 na soja, com aplicação de lâmina de 10 mm de irrigação após a inoculação, proporcionam maior número de nódulos e produtividade de grãos na cultura.
- As plantas de soja respondem á inoculações suplementares em cobertura, no entanto, há necessidade de alta umidade no solo, precipitação pluvial ou irrigação que favoreça o contato da bactéria com o sistema radicular.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, A. G. C.; COGO, N. P.; LEVIEN, R. Relações da erosão do solo a persistência da cobertura morta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 19, n. 1, p. 126, 1995.
- ANOLLÉS, C. G. Research molecular dissection and improvement of the nodule symbiosis in legumes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 47-68, 1997.
- ARATANI, R. G. Culturas de cobertura e épocas de aplicação de nitrogênio para as culturas de milho e soja em plantio direto na região de cerrado. 2003. 48 f. Dissertação (Mestrado Sistema de Produção)- Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Ilha Solteira 2003.
- ARRUDA, J. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, A. M. Nodulação e fixação de nitrogênio em soja tratada com sulfentrazone. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 36, n. 2, p. 325-330, 2001.
- BATISTA, J. S. S.; HUNGRIA, M; BARCELLOS, F. G.; FERREIRA, M. C. F.; MENDES, I. C. Variability in *Bradyrhizobium japonicum* and *B. elkanii* seven years after introduction of both the exotic microsymbiont and the soybean host in Cerrados soil. **Microbial Ecology**, New York, v. 53, n. 2, p. 270-284, 2007.
- BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science Technology**, Abingdon, v. 11, n. 1, p. 557-574, 2001.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Conteúdo de nitrogênio total em um solo submetido a diferentes métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 21, n. 2, p. 235-239, 1997.
- BRAZ, A. J. B. P.; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M. Produtividade de palhada de plantas de cobertura. In: SILVEIRA, P. M.; STONE, L. F. (Ed.). **Plantas de cobertura dos solos do cerrado**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2010. 218 p.
- BOUYOUCOS, G. J. Estimation of the colloidal material in soils. **Science**, Cambridge, v. 64, n. 3, p. 362, 1926.
- CAIRES, E. F.; BANZATO, D. A.; FONSECA, A. F. Calagem na superfície em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 24, n. 1, p. 161-169, 2000.
- CÂMARA, G. M. S. **Soja:** tecnologia da produção II. Piracicaba: G.M.S. Câmara, 2001. 450 p.

- CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja em sistema plantio direto. In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS NO SISTEMA PLANTIO DIRETO, 1., 2000, Ponta Grossa. **Anais....** Ponta Grossa: Associação dos Engenheiros Agrônomos, 2000. p. 145-160.
- CAMPOS, B. H. C. Dose de inoculante turfoso para soja em plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 423-426, 1999.
- CARVALHO, M. A. C. Sucessão de culturas a quatro adubos verdes em dois sistemas de semeadura. 2000, 185 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Jaboticabal, 2000.
- CASTRO, O. M.; MARIA, I. C. Plantio direto e manejo do solo. In: WUTKE, E. B.; BULIZANI, E. A.; MASCARENHAS, H. A. A. (Coord.). **Curso sobre adubação verde no Instituto Agronômico 1**. Campinas: IAC, 1993. p. 87-103. (IAC, 35).
- CENTURION, J. F. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. **Científica**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 57-61, 1982.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira:** grãos, sétimo levantamento, abril/2016. Brasília: CONAB, 2016. 116 p.
- CAMPOS, B. H. C.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 69-76, 2006.
- CIAFARDINI, G.; BARBIERI, C. Effects of cover inoculation of soybean on nodulation, nitrogen fixation, and yield. **Agronomy Journal**, Madison, v. 79, n. 3, p. 645-648, 1987.
- COCHRAN, V. L.; HORTON, K. A.; COLE, C. V. An estimation of microbial death rate and limitations of N or C during wheat straw decomposition. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 2, p. 293-298, 1988.
- DELAVALE, F. G. Culturas de cobertura do solo e calagem na implantação de plantio direto para as culturas de milho e soja. 2002, 111 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)— Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Ilha Solteira, 2002.
- DENISON, R. F.; HARTER B. L. Nitrate effects on nodule oxygen permeability and leghemoglobin. Nodule oximetry and computer modeling. **Plant Physiology**, Rockville, v. 107, n. 3, p. 1355-1364, 1995.
- DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 36, p.771-774, 1997.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA— EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 2006. 306 p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA- EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja:** região central do Brasil 2008. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 280 p. (Documentos, 12).
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja na Região Central do Brasil, 2003:** inoculação das sementes com Bradyrhizobium. Londrina: Embrapa Soja, 2010. Disponível em: <a href="http://sistemasdeproducao.cnptia">http://sistemasdeproducao.cnptia</a>. embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/literatura.htm>. Acesso em: 17 março 2016.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar versão 5.0 (Biud 66):** sistemas de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2003.
- FRANCHINI, J. C.; BORKERT, C. M.; FERREIRA, M. M.; CAUDÊNCIO, C. A. Alterações a fertilidade do solo em sistemas de rotação de culturas em semeadura direta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 24, n. 2, p. 459-467, 2000.
- GAMA-RODRIGUES, A. C.; GAMA-RODRIGUES, E. F.; BRITO, E. C. Decomposição e liberação de nutrientes de resíduos culturais de plantas de cobertura em argissolo vermelho-amarelo na região noroeste Fluminense (RJ). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 1421-1428, 2007.
- GIBSON, A. H. The influence of environmental and managerial practices on the legume *Rhizobium symbiosis*. In: HARDY, R. W. F.; GIBSON, A. H. (Ed.). **A treatise on dinitrogen fixation**. New York: John Wiley & Sons, 1997. p. 393-450.
- GREENFIELD, P. L. The influence of method of inoculation and certain herbicides on nodulation and seed yield of soybeans. **South African Journal of Plant and Soil,** Bloemfontein, v. 8, n. 1, p. 119-123, 1991.
- GOMES, M. F. **Efeitos da expansão da produção de soja em duas regiões do Brasil.** 1990. 105 f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1990.
- HAM, G. E.; LAWN, R. J.; BRUN, W. A. Influence of inoculation, nitrogen fertilizers and photosynthetic source-sink manipulations on field-grown soybeans. In: NUTMAN, P. S. (Ed.). **Symbiotic nitrogen fixation in planta**. London: Cambridge University Press, 1976. p. 239.53.
- HARDY, R. W. F.; HAVELKA, U. D. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In: NUTMAN, P.S. (Ed.). **Symbiotic nitrogen fintion in plants**. London: Cambridge University Press, 1976. p. 421-39.

- HEIFFIG, L. S. **Plasticidade da cultura da soja** (*Glycine max* (**L.**) **Merrill) em diferentes arranjos espaciais.** 2002. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Fitotecnia)—Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo- USP, Piracicaba, 2002.
- HIRSCH, A. M.; BAUER, W. D.; BIRD, D. M.; CULLIMORE, J.; TYLER, B.; YODER, J. Molecular signals and receptors: controlling rhizosphere interactions between plants and other organisms. **Ecology**, Columbus, v. 84, n. 4, p. 858-868, 2003.
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 542 p.
- HUNGRIA, M.; BOHRER, T. R. J. Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, Firenze, v. 31, n. 2, p. 45-52, 2000.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, J. R.; MENDES, I. C. A importância do processo da fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Documentos, 283).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, J. R.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2001. 48 p.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; GRAHAM, P. H. The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W. E. (Ed.). **Nitrogen fixation in agriculture**: forestry ecology and environment. Dordrecht: Kluwer Academic, 2005. p. 27-42.
- HUNGRIA, M; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F. J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation.** New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. v. 2, p. 1005-1019.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Dordrecht, v. 65, n. 2, p. 151-164, 2000.
- ISRAEL, D. W. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. **Plant Physiology,** Rockville, v. 84, n. 3, p. 835-840, 1987.
- JENSEN, E. S. Inoculation of pea by aplication of Rhizoblium in the planting furrow. **Plant Soil**, Amsterdan, v. 97, n. 4, p. 63-70, 1987.
- JJEMBA, P. K..; ALEXANDER, M. Possible determinants of rhizosphere competence of bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 3, p. 623-632. 1999.
- KAMICKER, B. J.; BRILL, W. J. Identification of *Bradyrhizobium japonicum* nodule isolates from Wisconsin soybean farms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 51, n. 3, p. 487-492, 1986.

- KING, C. A.; PURCELL. Inhibition of N<sub>2</sub> fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiology**, Rockville, v. 137, n. 2, p. 1389-1396, 2005.
- KLIEMANN, H. J.; BRAZ, A. J. P. B.; SILVEIRA, P. M. Taxas de decomposição de resíduos de espécies de cobertura em Latossolo Vermelho distroférrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 21-28, 2006.
- KÖPPEN, W. Climatologia. In: PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. (Ed). **Agrometeorologia**: fundamentos e aplicações práticas. Guaíba: Agropecuária, 2001. 478 p.
- KOUTROUBRAS, S. D.; PAPAKOSTA, D. K.; GAGIANAS, A. A. The importance of early dry matter and nitrogen accumulation in soybean yield. **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 1-10, 1998.
- KUZMA, M. M.; WINTER, H.; STORER, P.; ORESNIK, I.; ATKINS, C. A.; LAYZELL, D. E. The site of oxygen limitation in soybean nodules. **Plant Physiology**, Rockville, v. 119, n. 2, p. 399–407. 1999.
- LARA CABEZAS, W. A. R.; BRANCALIÃO, S. R. Avaliação técnico-econômica de milho, sorgo granífero e milheto em manejo exclusivo e consorciado com *Urocloa ruziziensis*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 11, n. 2, p. 1-24, 2012.
- LAWN, R. J.; BRUN, W. A. Symbiotic nitrogen fixation soybean. 1. Effect of photosynthetic source-sink manipulations. **Crop Science**, Madison, v. 14, n. 3, p. 1-16, 1974.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas.** Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa de potassa e do fosfato, 1997. 201 p.
- MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soil**, Firenze, v. 38, n. 2, p. 333-339, 2003.
- MERCANTE, F. M. Uso de inoculante garante economia de três bilhões de dólares na cultura da soja no país. Dourados: Embrapa Cerrados, 2005. Disponível em: < http://www.embrapa.br/imprensa/ar tigos/2005/artigo.2005-12-05.0506770395/ >. Acesso em: 13 maio 2016.
- MOREIRA, F. M. S. Nitrogen-fixing Leguminosae-nodulating bacteria. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Wallingford: CAB International Publishing, 2006. p. 237-270.

- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- NEHL, D. B.; BROWN, J. F. Deleterius rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 5, n.1, p. 1-20. 1996.
- NUKUI, N.; EZURA, H.; YUHASHI, K.; YASUTA, T.; MINAMISAWA, K. Effects of ethylene precursor and inhibitors for ethylene biosyntheses and perception and nodulation in *Lotus japonicas* e *Macroptilium atropurpureum*. **Short Comunication**, **Plant Cell Physiology**, Netherlands, v. 41, n.7, p. 803-807, 2000.
- NUNES, U. R.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; SILVA, E. B.; SANTOS, N. F.; COSTA, H. A. O.; FERREIRA, C. A. Produção de palhada de plantas de cobertura e rendimento do feijão em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 943-978, 2006.
- PARIZ, C. M.; ANDREOTTI, M.; BUZETTI, S.; BERGAMASCHINE, F. A.; ULIAN, N. A.; FURLAN, L. C.; MEIRELLES, P. R. L.; CAVASANO, F.A. Straw decomposition of nitrogen-fertilized grasses intercropped with irrigated maize in an integrated crop livestock system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n 1, p. 2029-2037, 2011.
- PEAT, J, R.; MINCHIN, F. R.; JEFFCDAT, B.; SUMMERFIELD, R. J. Young reproductive structures promote nitrogen fixation in soybean. **Annals of Botany**, Oxford, v. 48, n. 2, p. 177-82, 1981.
- POTTHOFF, M.; JOERGENSEN, R. G.; WOLTERS, V. Short-term effects of earthworm activity and straw amendment on the microbial C and N turnover in a remoistened arable soil after summer drought. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 583-591, 2001.
- POTTHOFF, M.; DYCKMANS, J.; FLESSA, H.; MUHS, A.; BEESE, F.; JOERGENSEN, R. G. Dynamics of maize (*Zea mays* L.) leaf straw mineralization as affected by the presence of soil and the availability of nitrogen. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1259-1266, 2005.
- QUEIROZ, E. F.; NEUMAIER, N.; TORRES, E.; PEREIRA, L. A. G.; BIANCHETTI, A.; TERAZAWA, F.; PALHANO, J. B.; YAMASHITA, J. Recomendações técnicas para a colheita mecânica. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). **A soja no Brasil.** Campinas: ITAL, 1981. p. 701-10.
- RAIJ, B. van; QUAGGIO, J. A. **Métodos de análise química do solo para fins de fertilidade**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 31 p. (Boletim Técnico, 81).
- RAIJ, B van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Campinas: Instituto Agronômico, 1996. 285 p. (Boletim técnico, 100).

- REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO RELARE. **Padronização** e difusão de tecnologia de inoculantes microbianos de interesse agrícola. Londrina: Embrapa Soja, 2001. Protocolo RELARE.
- RESCK, D. V. S. Plantio direto: desafios para os cerrados: In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambú. **Resumos...** Caxambú: UFLA/SBCS/SBM, 1998. p. 32-33.
- RIGGLE, B. D.; WIEBOLD, W. J.; KENWORTHY, W. J. Effect of photosynthate source-sink manipulation on dinitrogen fixation of male-fertile and male-sterile soybean isolines. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 2, p. 5-8, 1984.
- ROCHA, H. M.; ALV1M, P. de T.; DÔBEREINER, J. Influência da intensidade da radiação solar sobre o crescimento e a fixação simbiótica do nitrogênio pela soja. **Turrialba**, Costa Rica, v. 20, n. 2, p. 293-8, 1970.
- ROCHA, R. N. C; PELÚZIO, J. M.; BARROS, B. H.; FIDELIS, R. R.; SILVA JUNIOR, H. P. de. Comportamento de cultivares de soja em diferentes populações de plantas em Gurupi, Tocantins. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 279, p. 529-537. 2001.
- SÁ, J. C. M. Manejo de nitrogênio na cultura do milho no sistema plantio direto. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1996. 24 p.
- SÁ, T. M.; ISRAEL, D. W. Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules. **Plant Physiology**, Rockville, v. 97, n. 4, p. 928-935, 1991.
- SILVA, A. F.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P. Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 1327-1333, 2002.
- SILVA, M. D. Crescimento, fotossíntese e metabolismo do nitrogênio em plantas de soja noduladas sob omissão e ressuprimento de fósforo. 1998. 117 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.
- SPEHAR, C. R.; LANDERS, J.N. Características, limitações e futuro do plantio direto nos cerrados. In: SEMINÁRIO INTERNÁCIONAL DO SISTEMA PLANTIO DIRETO, 2., 1997. Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1997. p. 127-131.
- SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J.; CASTRO, G. S.A. Produção, decomposição e ciclagem de nutrientes em resíduos de crotalária e milheto, cultivados solteiros e consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 2, p. 1462-1470, 2012.
- TAÍZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artemed, 2004. p. 696.

- TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J. C.; FABIAN, A. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n.1, p. 609-618, 2005.
- TRANG, K. M.; GIODENS, J. Shading and temperature as environmental factors affecting growth, nodulation, and symbiotic N<sub>2</sub> fixation soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v. 72, n. 3, p. 305-308, 1980.
- VALDEZ, D. et al. Manganese application alleviates the water deficit-induced declined of N<sub>2</sub> fixation. **Plant Cell and Enviroment,** Oxford, v. 23, n. 1, p. 497-505, 2000.
- VASQUEZ, G. H. Efeitos de reduções na população de plantas sobre a produtividade, a qualidade fisiológica da semente e o retorno econômico na produção de grãos de soja. 2005. 146 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2005.
- 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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 1127-1132, 1982.
- VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Efeitos da inoculação e deficiência hídrica no desenvolvimento da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.4, n.1, p. 17-21, 1980.
- VEST, O.; WEBER, D. F.; SLOGER, C. Nodulation and nitrogen fixation. In CALDWELL, B.E. cd. **Soybeans:** improvement, production, and uses. Madison: American Society of Agronomy, 1973. p. 353-90.
- VOSS, M. Inoculação de rizóbio no sulco de semeadura para soja, em um campo nativo, no norte do Rio Grande do Sul. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 5 p. (Comunicado Técnico, 108). Disponível em: <a href="http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\_co108.htm">http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\_co108.htm</a>. Acessado em: 15 maio 2016.
- VOSS, M.; SINDIRAS, N. Nodulação da soja em plantio direto em comparação com plantio convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 7, p.775-782, 1985.
- WALSH, K. B. Physiology of the legume nodule and its response to stress. **Soil Biologic Biochemical,** Oxford, v. 27, n. 4-5, p. 637-655, 1995.
- XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 2, p. 25-33. 2006.
- ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 4, p. 541-544, 2008.

ZHANG, F.; DASHTI, N.; HYNES, R. K.; SMITH, D. L. Plant growth promoting rhizobacteria and soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and nitrogen fixation at sub optimal root zone temperatures. **Annals of Botany**, Oxford, v. 77, n. 3, p. 453-459, 1996.

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**, Amsterdam, v. 192, n. 9, p. 141-151, 1997.

## **ANEXOS**

	2015								2016						
	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J
Preparo de solo / Dessecação	X														
Semeadura das culturas	X														
Avaliação das culturas antecessoras		X	X	X	X										
Manejo químico e mecânico das culturas antecessoras				X	X	X									
Semeadura da soja							X								
Tratos culturais da soja							X	X	X						
Avaliação da soja								X	X	X					
Análises laboratoriais									X	X	X				
Tabulação dos dados									X	X	X	X			
Análise estatística e revisão de literatura											X	X	X		
Redação do trabalho*													X	X	X

## **APÊNDICES**

Figura 17- Fotos do desenvolvimento das culturas antecessoras em ambas as áreas experimentais. (1) Manejo de plantas voluntárias em área experimental anterior a semeadura das culturas antecessoras. (2) Correção do solo das áreas experimentais. (3) Semeadura das culturas antecessoras. (4) e (6) Culturas antecessoras em área de sequeiro. (5) Culturas antecessoras em área irrigada. (7) Crotalária em área irrigada. (8) Culturas antecessoras após manejo químico e mecânico (rolo faca). Selvíria, 2015/16.

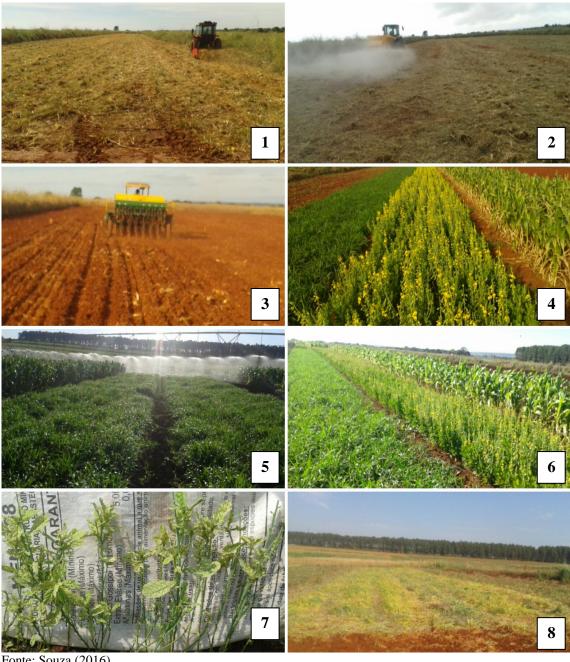


Figura 18. Fotos do desenvolvimento da cultura da soja em ambas as áreas experimentais. (1) Calibração de calda para pulverização de inoculante em cobertura. (2) e (4) Coleta de raízes de soja-V4, em área de sequeiro. (3), (5) e (7) Pulverização de inoculante em cobertura e coleta de raízes de soja-V4 em área irrigada. (6) Coleta de raízes de soja-R4 em área irrigada. (8) Soja em R7, área de irrigada. Selvíria, 2015/16.

