

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM SOJA

Gil Miguel de Sousa Câmara¹

INTRODUÇÃO

Nos últimos 30 anos, a produção brasileira de grãos, em especial a da cultura da soja, vivenciou ganhos de produtividade agrícola fundamentados no desenvolvimento e na aplicação de tecnologias, predominantemente nacionais, destacando-se as áreas de conhecimento sobre melhoramento genético, ciência do solo – com ênfase na fertilidade e nutrição das plantas –, agricultura de precisão e tecnologias focadas no manejo fitotécnico da cultura.

Acompanhando essa evolução, a pesquisa pública nacional descobriu e selecionou novas estirpes de bactérias com elevada capacidade de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), inclusive para outras culturas de importância econômica, enquanto, paralelamente, a indústria nacional de inoculantes diversificou e desenvolveu novos produtos, mais eficazes quanto ao estabelecimento de simbiose entre a soja e os rizóbios.

Recentemente, têm surgido questionamentos quanto à capacidade da FBN em atender às exigências em nitrogênio (N) para altas produtividades agrícolas da cultura da soja no Brasil, induzindo-se ao raciocínio errôneo de que a soja deve receber adubação nitrogenada mineral suplementar, visando suprir a suposta deficiência do sistema simbiote. Mas isto é ainda mais questionável. Será que essa suposta deficiência da FBN não é resultado de várias e complexas interações, ora atuando isoladamente, ora em conjunto, tais como deficiências dos ambientes de produção, dos sistemas de produção, hídrica, de manejo, de falta de tempo para inocular devido à dimensão da escala de plantio e até mesmo, deficiência de conhecimento?

Essas dúvidas e considerações pertinentes são objeto de análise deste artigo, cujo desenvolvimento considera a revisão e a recordação de importantes fundamentos relativos à planta de soja e à FBN, que servirão de base para outras discussões.

A PLANTA DE SOJA

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill], pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), é uma planta de ciclo anual, porte herbáceo a sublenhoso, cuja parte aérea é constituída de um caule principal ou haste principal, com ausência ou presença de ramificações primárias, raramente secundárias. Quando jovem, observam-se, da base para o ápice da haste principal, as seguintes estruturas vegetativas: um par de cotilédones inseridos de forma oposta, seguido de um par de unifólios, também de inserção oposta, que são sucedidos por folhas trifolioladas com inserção simples e alterna, em número variável, de acordo com o cultivar. Nas ramificações vegetativas a planta emite exclusivamente folhas trifolioladas. Todas as estruturas vegetativas encontram-se inseridas nas regiões dos nós (CÂMARA e HEIFFIG, 2000).

A mudança da fase vegetativa para a reprodutiva ocorre como resposta da planta a estímulos do ambiente, iniciando-se pelo florescimento, seguido da formação das vagens, que precede a visualização do desenvolvimento das sementes. Estas estruturas reprodutivas ocorrem, predominantemente, em nós de folhas trifolioladas.

Quanto ao crescimento, existem dois tipos básicos de plantas de soja: as com tipo de crescimento determinado (TCD), que paralisam por completo o crescimento vegetativo com o início do florescimento, e as com tipo de crescimento indeterminado (TCI)

Abreviações: Ca = cálcio; Co = cobalto; FBN = fixação biológica de nitrogênio; K = potássio; MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Mg = magnésio; Mo = molibdênio; N = nitrogênio; N₂ = nitrogênio molecular; Ni = níquel; TCD = tipo de crescimento determinado; TCI = tipo de crescimento indeterminado; TIS = tratamento industrial de sementes; UFC = unidades formadoras de colônia.

¹ Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor Associado, Departamento de Produção Vegetal, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, Piracicaba, SP; e-mail: gil.camara@usp.br

INFORMAÇÕES AGRONÔMICAS

Publicação trimestral gratuita do International Plant Nutrition Institute (IPNI), Programa Brasil. O jornal publica artigos técnico-científicos elaborados pela comunidade científica nacional e internacional visando o manejo responsável dos nutrientes das plantas.

ISSN 2311-5904

COMISSÃO EDITORIAL

Editor

Valter Casarin

Editores Assistentes

Luís Ignácio Prochnow, Eros Francisco, Silvia Regina Stipp

Gerente de Distribuição

Evandro Luis Lavorenti

INTERNATIONAL PLANT NUTRITION INSTITUTE (IPNI)

Presidente do Conselho

Steve Wilson (CF Industries Holdings, Inc.)

Vice-Presidente do Conselho

Mhamed Ibnabdeljalil (OCP Group)

Tesoureiro

Jim Prokopanko (Mosaic Company)

Presidente

Terry L. Roberts

Vice-Presidente, Coordenador do Grupo da Ásia e África

Adrian M. Johnston

Vice-Presidente, Coordenadora do Grupo do Oeste Europeu/Ásia Central e Oriente Médio

Svetlana Ivanova

Vice-Presidente Senior, Diretor de Pesquisa e Coordenador do Grupo das Américas e Oceania

Paul E. Fixen

PROGRAMA BRASIL

Diretor

Luís Ignácio Prochnow

Diretores Adjuntos

Valter Casarin, Eros Francisco

Publicações

Silvia Regina Stipp

Analista de Sistemas e Coordenador Administrativo

Evandro Luis Lavorenti

Assistente Administrativa

Renata Fiuza

Secretária

Elisângela Toledo Lavorenti

ASSINATURAS

Assinaturas gratuitas são concedidas mediante aprovação prévia da diretoria. O cadastramento pode ser realizado no site do IPNI:

<http://brasil.ipni.net>

Mudanças de endereço podem ser solicitadas por email para:

rfiuza@ipni.net ou etoledo@ipni.net

Nº 147 SETEMBRO/2014

CONTEÚDO

Fixação biológica do nitrogênio em soja

Gil Miguel de Sousa Câmara..... 1

Papel fisiológico do níquel: essencialidade e toxidez em plantas

André Rodrigues dos Reis, Bruna Wurr Rodak, Fernando Ferrari Putti, Milton Ferreira de Moraes 10

Divulgando a Pesquisa 21

IPNI em Destaque 22

Painel Agronômico 24

Cursos, Simpósios e outros Eventos 25

Publicações Recentes 26

Lançamentos Recentes do IPNI 27

Ponto de Vista 28

NOTA DOS EDITORES

Todos os artigos publicados no *Informações Agronômicas* estão disponíveis em formato pdf no website do IPNI Brasil: <<http://brasil.ipni.net>>

Opiniões e conclusões expressas pelos autores nos artigos não refletem necessariamente as mesmas do IPNI ou dos editores deste jornal.

FOTO DESTAQUE



Dr. Victor Hugo Alvarez Venegas, vencedor do Prêmio IPNI Brasil - Pesquisador Sênior - Edição 2014, acompanhado do Dr. Alfredo Scheid Lopes, vencedor do Prêmio em 2013.

que, a partir do início do florescimento, continuam o crescimento vegetativo simultaneamente ao desenvolvimento dos estádios reprodutivos de floração, frutificação e início da granação.

A parte subterrânea da planta de soja é constituída por um sistema radicular do tipo pivotante, que apresenta uma raiz principal com ausência de ramificações nos primeiros 3 cm abaixo da superfície do solo, a partir dos quais se observa um ponto de intensa ramificação de raízes, denominado coroa radicular. As ramificações da raiz principal podem chegar até a 5ª ordem, originando um sistema radicular intensamente profuso e ramificado, que atinge profundidades de 1,5 m a 2,0 m.

A soja, como Fabácea, também é uma planta nodulífera, pois as raízes, além de exercerem as funções normais (ancoragem física, absorção de água e elementos minerais em solução), podem estabelecer relação simbiótica com espécies de bactérias capazes de fixar o nitrogênio molecular (N_2) presente no ar do solo.

BACTÉRIAS FIXADORAS DE N_2 EM SOJA

Bradyrhizobium é um dos gêneros que abrigam espécies de bactérias fixadoras de N_2 , que vivem em simbiose com vegetais superiores. São bactérias Gram-negativas, que se movimentam por apenas um flagelo polar ou subpolar, possuem crescimento lento e não são autotróficas, demandando carbono de outros compostos orgânicos e, desta forma, vivem saprofiticamente no solo como organismos de vida livre ou em simbiose muito específica com vegetais superiores. Atualmente, no Brasil, as estirpes bacterianas recomendadas para a inoculação da soja são SEMIA 5079 e SEMIA 5080, da espécie *Bradyrhizobium japonicum*, e SEMIA 587 e SEMIA 5019, pertencentes à espécie *Bradyrhizobium elkanii* (MENDES et al., 2014).

A NODULAÇÃO DAS RAÍZES DE SOJA

A soja e os bradirrizóbios que a nodulam não são naturais no Brasil, existindo ampla variabilidade genotípica quanto à capacidade de estabelecimento do sistema simbiote entre a planta e as bactérias (MULLER, 1981b; DESTRO, SEDIYAMA, GOMES, 1990). Além disso, não há obrigatoriedade quanto ao estabelecimento da simbiose entre os dois organismos, principalmente se o ambiente em que se encontram não apresenta limitações quanto à disponibilidade de nitrogênio (N).

No solo, estimuladas por substâncias orgânicas exsudadas pelas raízes da soja, as bactérias se multiplicam na rizosfera da planta, entrando em contato com diversos pelos radiculares. Simultaneamente, ocorre a adesão das bactérias à epiderme dos pelos absorventes, quando, então, sinais moleculares são estabelecidos entre planta hospedeira e bactéria. Esses sinais moleculares ativam os genes “nod” da nodulação da bactéria, determinando a infecção das raízes e a consequente formação dos nódulos. Tais substâncias pertencem à classe dos compostos fenólicos e dos flavonoides (VARGAS e HUNGRIA, 1997; MERCANTE, GOI, FRANCO, 2002; BORTOLAN et al., 2009). Em seguida, ocorre o encurvamento da parede celular dos pelos absorventes colonizados pelas bactérias, caracterizando uma estrutura denominada cordão de infecção, que adentra as células epidérmicas da raiz. As bactérias continuam sua multiplicação no interior dos cordões de infecção, que vão, gradativamente, infeccionando células radiculares, atravessando as primeiras camadas do parênquima cortical, podendo atingir até o endoderma ou camadas mais profundas, como o periciclo da raiz. No parênquima cortical da raiz, devido à presença de cordões de infecção, células tetraploides multiplicam-se, originando os pri-

mórdios do nódulo. A ação de reguladores de crescimento do grupo das auxinas e das citocininas transforma as células tetraploides em meristemáticas, aumentando a capacidade de multiplicação celular. Em consequência, formam-se os nódulos radiculares, cujo interior é totalmente ocupado por células bacterianas, com forma diferente da original, motivo pelo qual são chamadas de bacteroides (MÜLLER, 1981b; HUNGRIA, VARGAS, ARAUJO, 1997a).

Os nódulos bacterianos provenientes da inoculação ocorrem mais intensamente na coroa da raiz, concentrando-se mais na raiz principal do que nas raízes secundárias.

FISIOLOGIA DA FIXAÇÃO DO N_2 NA SOJA

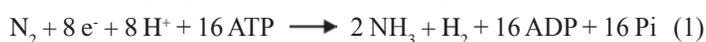
A funcionalidade da fixação do N_2 é garantida pelo estabelecimento de um eficiente sistema vascular no interior do nódulo, que supre as bactérias fixadoras com nutrientes. A nutrição básica desses microrganismos constitui-se da fosforilação oxidativa dos produtos elaborados nas folhas pelo processo da fotossíntese (sacrose, glicose e ácidos orgânicos), liberando carbono e energia para as bactérias. Estas, por sua vez, fixam o N_2 , o qual, por meio da ação da enzima nitrogenase, é reduzido à amônia (NH_3). Em seguida, a amônia é reduzida a amônio (NH_4^+) em função da abundância dos íons H^+ no interior das células bacterianas, sendo assimilado em formas de N orgânico, principalmente na forma de ureídeos, cuja origem é proveniente da ação da glutamina sintetase e da glutamato sintase. A presença do níquel (Ni) é essencial para que a enzima hidrogenase execute o reprocessamento do H_2 no interior do nódulo, pois na redução do H^+ em H_2 pode haver competição pelos elétrons da nitrogenase. Cerca de 90% do N total presente na seiva do xilema da soja é translocado na forma de ureídeos em direção à parte aérea da planta, onde passa a participar do metabolismo nitrogenado da soja (MÜLLER, 1981a e 1981b; VARGAS e HUNGRIA, 1997).

Para sua atividade, os bacteróides precisam de: a) N_2 como matéria-prima; b) produtos da fotossíntese, que são desdobrados na presença de oxigênio (O_2) para formar adenosina-trifosfato (ATP), gerando a energia necessária para a redução do N_2 ; c) nitrogenase, como sistema enzimático que reduz N_2 a NH_3 ; d) um sistema doador de elétrons e, e) um substrato receptor da amônia produzida para sua posterior incorporação ao metabolismo nitrogenado da planta na forma de ureído (MÜLLER, 1981b; VARGAS e HUNGRIA, 1997).

A produção de ATP por meio da fosforilação oxidativa fundamenta-se na respiração aeróbia dos bacteróides. Portanto, há necessidade da entrada de O_2 , presente na atmosfera do solo, no interior dos nódulos radiculares. A substância leghemoglobina, constatável somente no sistema simbiote, tem a função de introduzir o O_2 no sistema, ao mesmo tempo em que regula a concentração de O_2 no interior do nódulo, evitando o seu excesso, pois a enzima nitrogenase é irreversivelmente inativada pelo O_2 . Por volta de duas e três semanas após o início da formação dos nódulos tem-se, respectivamente, a formação da leghemoglobina, constatada pela coloração interna rósea, e a plena atividade fixadora do N_2 .

Os elétrons são utilizados, junto com o ATP, para reduzir o N_2 a NH_3 . Estes elétrons também são provenientes do desdobramento de vários compostos produzidos pela fotossíntese (MÜLLER, 1981a e 1981b). Primeiramente, passam por um sistema de ferridoxina antes de chegar à nitrogenase, enzima-chave de todo o processo de fixação, constituída por dois componentes: molibdato-ferro-proteína e ferro-proteína. Juntos, os dois componentes catalizam a redução do N_2 a NH_3 .

A reação geral da FBN é assim representada:



A redução de N_2 a NH_3 pela nitrogenase é uma reação fortemente endergônica, consumindo, portanto, muita energia. Para a redução de uma molécula de N_2 são necessários 8 elétrons e 16 moléculas de ATP, enquanto a assimilação de nitrato requer 12 moléculas de ATP.

Os parâmetros **número de nódulos** e **massa seca de nódulos** têm apresentado correlação positiva com a avaliação da nodulação radicular em soja e respectiva estimativa da fixação biológica do N_2 , razão pela qual suas determinações são imprescindíveis em experimentos agrônômicos de campo, que se propõem a avaliar o efeito do N mineral em soja.

FENOLOGIA E NODULAÇÃO

A variação da nodulação em função do crescimento e do desenvolvimento fenológico da soja é apresentada na Figura 1 e na Figura 2, respectivamente para número e massa seca total de nódulos, coletados em 10 plantas. As mensurações foram repetidas quatro vezes em cada estágio fenológico. Essas figuras apresentam os valores médios observados em dois anos agrícolas consecutivos (2000/2001 e 2001/2002), nos quais o cultivar de soja MG/BR-46 (Conquista), com tipo de crescimento determinado, foi cultivado em solo Nitossolo Vermelho eutrófico muito argiloso (Piracicaba, SP), sem ocorrência de deficiência hídrica e com armazenamento de água, em ambos os anos e durante o ciclo total do cultivar, acima de 65 mm.

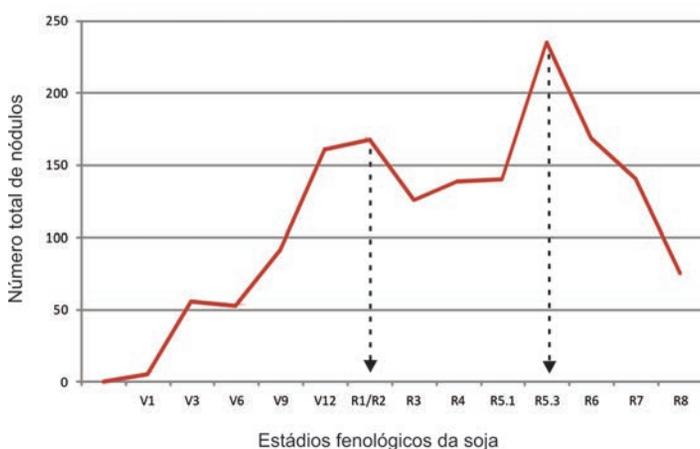


Figura 1. Variação da nodulação durante o ciclo fenológico da soja, cv. Conquista, expressa como número total de nódulos em raízes de 10 plantas. Média de dois anos agrícolas.

Fonte: Câmara (2014).

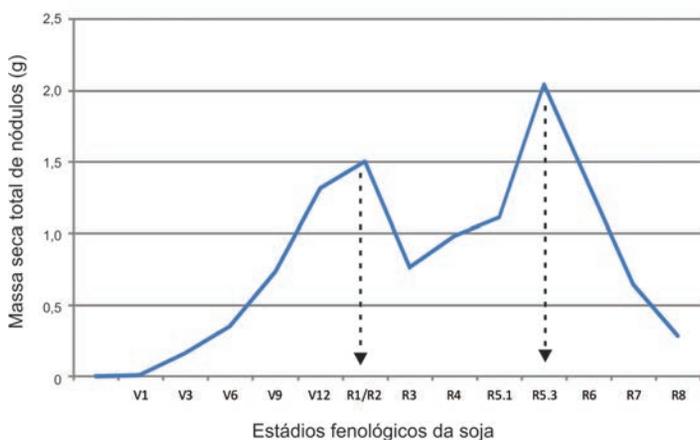


Figura 2. Variação da nodulação durante o ciclo fenológico da soja, cv. Conquista, expressa como massa seca total (g) de nódulos em raízes de 10 plantas. Média de dois anos agrícolas.

Fonte: Câmara (2014).

A Figura 3 mostra o acúmulo total de N ao longo do ciclo fenológico de um cultivar de soja com TCI, utilizado por Ritchie et al. (1994) para descrever e ilustrar a fenologia da soja, divulgada inicialmente por Fher e Caviness (1977).

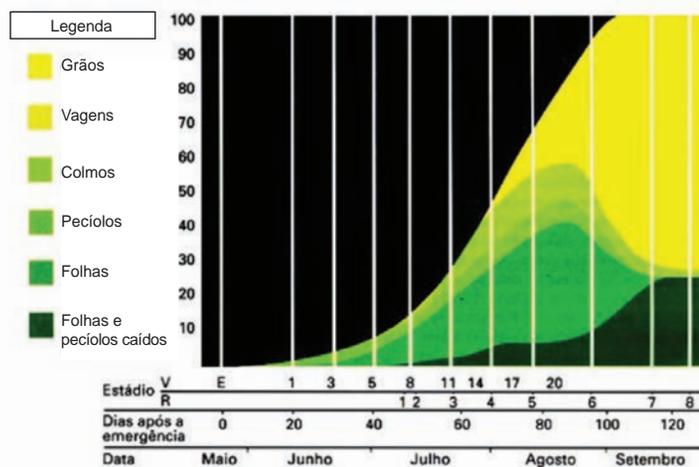


Figura 3. Acúmulo total de nitrogênio em diferentes partes da planta de soja. Fonte: Ritchie et al. (1994).

Fenologicamente, os primeiros nódulos radiculares na soja iniciam-se a partir das infecções da raiz principal e suas ramificações primárias, tornando-se visíveis a partir de 10 a 15 dias após a emergência das plantas (estádios V1 a V2), dependendo da boa especificidade entre o cultivar de soja e a estirpe de bactéria, além de condições favoráveis de ambiente e manejo (CÂMARA, 2000).

Durante a fase vegetativa, a nodulação é estimulada pelo crescimento simultâneo da área foliar da planta. Iniciada a fase reprodutiva, o surgimento de novos drenos fisiológicos, junto com a área foliar em fase final de expansão, passa a regular a intensidade da nodulação e da FBN no sistema radicular.

De início, os nódulos são de tamanho reduzido e em pequeno número, pois, nos estádios iniciais de desenvolvimento, a planta demanda pouco N, fornecido pelas reservas cotiledonares e pela incipiente absorção radicular, utilizado juntamente com outros nutrientes para a formação de um mínimo de parte aérea autônoma em fotossíntese, com um sistema radicular minimamente capaz de absorver água e nutrientes, com os primeiros nódulos visíveis e funcionais.

A partir da expansão do 3º ou 4º trifólio (V4 a V5) a nodulação aumenta em intensidade, acompanhando o incremento de matéria seca da parte aérea e de raízes, que também se reflete em intensificação do crescimento do número e da massa seca de nódulos (Figura 1, Figura 2 e Figura 3). Esse incremento na nodulação atinge um primeiro pico no pleno florescimento das plantas (estádios R1 e R2), em resposta ao primeiro pico de atividade fotossintética, observado por ocasião do início do florescimento (DORNHOFF e SHIBLES, 1970; KOLLER, NYQUIST, CHORUSH, 1986).

Com esse incremento de fotossíntese, a soja aumenta a taxa de fixação de CO_2 , disponibilizando mais carbono para atender a alta demanda energética da carga de flores do estágio R2. Parte desse carbono é translocada até as raízes e nódulos, estimulando a nodulação em número e em massa e resultando em maior quantidade de N_2 fixado. Estabelece-se uma nova relação C/N na parte aérea, destinada ao pegamento de flores e de vagens.

Parte do N proveniente desse primeiro pico de nodulação agrega-se ao N já assimilado durante os estádios vegetativos e que se encontra armazenado nos tecidos da haste principal e de suas ramificações. Provavelmente, essa reserva é prontamente remobilizada das estruturas vegetativas para as reprodutivas, dispensando momentaneamente (estádios R3 e R4) altas atividades de fotossíntese e de FBN (Figura 1 e Figura 2).

O decréscimo das curvas de nodulação em número e em massa seca de nódulos após o florescimento da soja vem sendo interpretado erroneamente como deficiência de N devido à competição entre flores, frutos, raízes e nódulos, dando margem à recomendações desnecessárias de adubação nitrogenada mineral nos estádios reprodutivos da frutificação ou no início da granação das vagens de soja. Provavelmente, este seja um dos fatos que explica a ausência e, às vezes, a ocorrência de baixíssima resposta da soja à adubação nitrogenada mineral foliar aplicada em estádios reprodutivos, avaliada recentemente em muitos experimentos realizados em diferentes ambientes de produção no Brasil.

À medida que a frutificação evolui, incrementa-se a atividade fotossintética e um novo pico é atingido entre os estádios R5.1 e R5.2, correspondentes ao início da formação das sementes. Nessa fase, é alta a demanda por energia e nutrientes, refletindo-se em intensa translocação de fotoassimilados e de nutrientes das folhas para as sementes, assim como também se intensifica a remobilização (Figura 3) das reservas contidas na haste principal e nas ramificações. Mais carbono é fixado por meio de um segundo pico de fotossíntese entre os estádios R4 e R5.1, e parte deste é enviado às raízes, refletindo-se em um segundo pico de nodulação e FBN entre os estádios R5.1 e R5.3 (Figura 1 e Figura 2).

Todo esse esforço fisiológico visa assegurar nutrição e energia para a intensa atividade metabólica de biossíntese de óleo e de proteína nas sementes em formação. Quantitativamente, Hardy e Havelka (1976) consideram que cerca de 90% do N são fixados durante os estádios reprodutivos da soja. Após o segundo pico de fotossíntese e de FBN, ambas as atividades se reduzem, à medida que a fenologia evolui para os estádios da maturidade fisiológica (R7), com senescência foliar crescente, e para a maturidade de campo (R8), com total abscisão foliar. Simultânea e gradativamente vai diminuindo o número de nódulos novos e em franca atividade, aumentando a quantidade de nódulos verdes, velhos e mortos.

Ao longo do ciclo da soja ocorre uma constante formação e renovação de nódulos no sistema radicular, o que torna o fenômeno extremamente dinâmico e responsivo a diferentes fatores do meio.

A fotossíntese e a FBN são processos fisiológicos interdependentes e muito bem regulados pela planta de soja, sendo influenciadas por fatores ambientais e de manejo. A FBN em soja opera por demanda e as Figuras 1, 2 e 3 ajudam a compreender melhor a intrínseca relação entre a parte aérea e o sistema radicular nodulado da soja.

As considerações apresentadas neste item também podem ser úteis para a compreensão dos resultados apresentados na Tabela 1, referentes a um dos experimentos feitos em rede nacional sobre adubação nitrogenada em soja e muito bem conduzido no ano agrícola 2012/2013 no município de Guarapuava, PR, em ambiente de produção para alta produtividade de soja (Latosolo Bruno aluminico), cujos resultados da análise de fertilidade são apresentados na Tabela 2 (FONTOURA e BARTH, 2013).

Tabela 1. Produtividade agrícola de grãos de soja, cultivar BMX Ativa, precoce com TCD, em função da aplicação de nitrogênio (ureia) na forma granulada ou foliar. Safra 2012/13. Guarapuava, PR, Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária – FAPA, 2013.

Tratamentos	Dose de N (kg ha ⁻¹)	Modo de aplicação	Estádio fenológico	Produtividade agrícola	
				(kg ha ⁻¹)	(sc ha ⁻¹) ¹
T1	0	-	-	6.326 a	105,4
T2	100	Cobertura via solo	V5	5.988 a	99,8
T3	200	Cobertura via solo	V5	6.167 a	102,8
T4	100	Cobertura via solo	R1	5.888 a	98,1
T5	200	Cobertura via solo	R1	6.103 a	101,7
T6	100	Cobertura via solo	R5.3	6.283 a	104,7
T7	200	Cobertura via solo	R5.3	6.475 a	107,9
T8	5	Via foliar	R1	6.260 a	104,3
T9	10	Via foliar	R1	6.004 a	100,0
T10	5	Via foliar	R5.3	6.179 a	103,0
T11	10	Via foliar	R5.3	6.211 a	103,5
Média	-	-	-	6.171	102,9

¹ Produtividade agrícola expressa em sacas de 60 kg de grãos.

Fonte: Fontoura e Barth (2013), adaptada pelo autor.

Tabela 2. Análise química do solo à profundidade de 0 a 20 cm, relativa ao local de condução de experimento sobre adubação nitrogenada mineral em soja, na safra 2012/2013. Guarapuava, PR, FAPA – Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2013.

P ¹	Matéria orgânica	pH	H + Al	Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	m	
(mg dm ⁻³)	(g dm ⁻³)	(CaCl ₂)	----- (cmol _c dm ⁻³) -----									---- (%) ----
5	42,90	5,30	6,21	0	0,24	4,77	3,17	8,18	14,39	57	0	

¹ Extrator Mehlich.

Fonte: Fontoura e Barth (2013).

Em todos os tratamentos, as sementes foram inoculadas convencionalmente. Observa-se a ausência total de resposta à adubação nitrogenada mineral via solo ou via foliar, tanto no início (V5) quanto nos estádios reprodutivos de início do florescimento (R1 com primeiro pico de fotossíntese e de FBN) e de média granação das vagens (R5.3 com segundo pico de fotossíntese e de FBN).

INOCULAÇÃO DAS SEMENTES DE SOJA: UMA EXCELENTE PRÁTICA AGRÍCOLA

Câmara (2000) define inoculação como “a operação agrícola manual ou mecanizada, realizada previamente à semeadura da cultura, por meio da qual se possibilita, via inoculante (veículo), o contato físico entre a bactéria fixadora do N₂ e a planta hospedeira (semente), com o objetivo de se estabelecer o processo simbiote da fixação biológica do nitrogênio atmosférico no sistema radicular da soja”. Uma boa inoculação só é obtida quando a superfície da semente é recoberta integralmente pelas partículas do inoculante turfoso ou pelo filme de inoculante líquido.

Além de veículo, o inoculante atua como meio de sobrevivência das bactérias. Preferencialmente, deve conter duas das estirpes recomendadas para o Brasil e o número mínimo de 1,0 x 10⁹ células bacterianas viáveis ou unidades formadoras de colônias (UFC) por g ou mL de inoculante, até o prazo final de validade do produto, para formulação sólida (turfoso) ou líquida, respectivamente. Esta concentração equivale à quantidade mínima de inoculante que deve ser misturada a uma saca de 50 kg de sementes de soja, para proporcionar, pelo menos, 1.200.000 UFC por semente de soja inoculada.

Para garantir os direitos do consumidor, a embalagem comercial de um inoculante deve apresentar as seguintes informações: a) número do registro do produto no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA; b) garantia do inoculante, isto é, concentração de UFC por g ou mL presentes no produto; c) estirpes de bactérias presentes no inoculante; d) dosagem recomendada e procedimentos básicos de inoculação; e) prazo de validade, isto é, período no qual o produto deve manter a concentração de células de bradirrízobios nos limites de garantia.

Atualmente, em função do histórico do solo em relação à produção de soja, pode-se utilizar dois procedimentos distintos quanto à recomendação das doses de inoculante:

1. Reinoculação ou inoculação de manutenção: indicada para solos com histórico de cultivo de soja. Refere-se à prática anual da inoculação com o objetivo de manter no solo um nível satisfatório de população bacteriana. A dose recomendada para inoculação de manutenção é aquela que atenda ao mínimo de 1.200.000 UFC por semente de soja inoculada. Justifica-se a recomendação desta prática com base nos seguintes aspectos:

a) Durante as entressafas de soja ocorre competição entre as espécies de bactérias fixadoras do N₂ e outros microrganismos nativos da área agrícola (bactérias e fungos), pelos fatores de crescimento (energia + nutrientes) presentes no solo da área de produção.

b) Entre os períodos de cultivo da soja (abril a outubro de cada ano) o solo agrícola passa por diferentes regimes térmicos e hídricos, aos quais os microrganismos nativos estão muito mais adaptados do que as bactérias fixadoras de N₂, fazendo com que a população e a eficiência desta diminuam, face à competição descrita no item anterior.

c) Essa prática, cientificamente comprovada no Brasil, tem se revertido em ganhos de produtividade agrícola de grãos de soja entre 4% e 15%, com média de 8% (HUNGRIA, VARGAS, CAMPO, 1997b).

Na Tabela 3 encontram-se valores médios para ganhos de produtividade agrícola de grãos de soja, com diferentes inoculantes aplicados via reinoculação das sementes do cultivar BRS 133, em um Nitossolo Vermelho eutrófico muito argiloso, com histórico de 5 anos de cultivo com soja, pH (CaCl₂) = 5,0; M.O. = 25 g dm⁻³; P_{resina} = 6,0 mg dm⁻³; K, Ca e Mg = 2,8, 34 e 16 mmol_c dm⁻³, respectivamente; Al = 2,0 mmol_c dm⁻³ e V = 53% (CÂMARA, 2000).

Tabela 3. Ganhos de produtividade agrícola de grãos de soja, cultivar BRS 133, obtidos com a reinoculação das sementes com inoculantes turfosos e líquidos.

Tratamento	Rendimento de grãos (kg/ha)	Valor de referência (%)
Controle 1 (sem inoculação)	3.007 a	100,0
Controle 2 (Inoculante turfoso IAC)	3.289 a	109,4
Quatro inoculantes turfosos comerciais (média)	3.365 a	111,9
Dois inoculantes líquidos comerciais (média)	3.274 a	108,9
Média de sete inoculantes	3.328	110,7

Fonte: Câmara (2000).

2. Inoculação de correção: recomendada para áreas de fronteira agrícola ou para solos já cultivados, porém, nunca com a cultura da soja. Refere-se ao uso de maiores quantidades de inoculante durante a operação de inoculação, de maneira que um excesso de população de bactérias é adicionado ao solo agrícola para garantir boa nodulação das raízes na primeira cultura de soja. A dose recomendada para inoculação de base ou corretiva é, pelo menos, o dobro daquela que atenda ao mínimo de 1.200.000 UFC por semente de soja.

Antes de se pensar na dose de inoculante a ser utilizada, deve-se atentar para os procedimentos básicos relativos ao ambiente de inoculação e à operação em si, os quais, se forem negligenciados, levarão à perda da eficiência e das vantagens da FBN.

A operação de inoculação deve ser devidamente dimensionada, de maneira que as embalagens de inoculantes sejam abertas no dia da semeadura e, proporcionalmente, ao consumo diário de sementes para atender a área a ser semeada, evitando-se desperdícios.

O ambiente de inoculação deve ser ventilado e sombreado para que as bactérias não sofram rápida desidratação e nem sejam mortas pela radiação solar direta. Convém aguardar de 15 a 20 minutos para equalizar a umidade das sementes tratadas e inoculadas com a umidade do ambiente, antes de colocá-las nos depósitos de sementes da semeadora. Não colocar o inoculante sobre as sementes dentro das caixas da semeadora.

Com exceção do sistema orgânico de produção de soja, o tratamento químico de sementes é rotina no Brasil, aplicando-se fungicidas, inseticidas e soluções contendo os micronutrientes cobalto (Co) e molibdênio (Mo). Mais recentemente, tem aumentado o uso de substâncias biorreguladoras. Seja qual for a sequência de tratamento químico, a inoculação sempre deve ser a última operação e, se possível, em dose dobrada, para amenizar os efeitos deletérios que algumas substâncias químicas exercem sobre a população das bactérias inoculadas.

Atualmente, cerca de 70% das operações de tratamento e inoculação de sementes são realizadas nas fazendas. As outras 30% têm sido feitas por empresas e cooperativas, como tratamento

industrial de sementes (TIS), com tendência para a inversão dessas posições nos próximos cinco anos. Nas fazendas de menor escala de produção, essas operações são realizadas predominantemente no tambor com eixo fora de centro (10 a 12 sacas de 50 kg por hora); nas de média escala, na máquina de tratamento de sementes ou na betoneira (50 a 70 sacas de 50 kg por hora), e nas de grande escala ocorre a compra de sementes com TIS.

3. Inoculação no sulco de semeadura: visa reduzir a ação deletéria do tratamento de sementes, trabalhando-se com equipamento montado no mesmo chassi da semeadora, constituído de tanque para inoculante líquido, bomba pressurizadora, mangueiras e pontas de orifício circular para jato contínuo, com volume de aplicação não inferior a 50 L ha⁻¹. A dose de manutenção deve ser, no mínimo, de 3,6 milhões de células por semente e o dobro desse valor para a inoculação de primeiro ano.

FATORES QUE INTERFEREM NA NODULAÇÃO E NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

Os seguintes fatores podem interferir na nodulação e na FBN em soja:

- Qualidade, transporte e armazenamento do inoculante.
- Ambiente e operação da inoculação.
- Tratamento químico das sementes.
- Inoculação no sulco de semeadura – não há controle eletrônico quanto à adequada de aplicação. Limpeza e manutenção do equipamento, velocidade de semeadura e solo úmido favorecem esta prática.
- Fotossíntese – toda a funcionalidade do nódulo e a respectiva fixação biológica do N₂ dependem do adequado suprimento dos produtos da fotossíntese elaborados pelas folhas, uma vez que o nódulo não possui ampla capacidade armazenadora desses produtos. Assim, todo e qualquer fator que interfira negativamente na atividade fotossintética da planta determinará reduções nas taxas de FBN, destacando-se: excesso de radiação solar difusa; sombreamento de plantas daninhas; autossombreamento promovido por excesso de população de plantas; temperaturas elevadas, aumentando a fotorrespiração das plantas, a redução da área foliar por ação de pragas e doenças, entre outros.
- Temperatura – desde a semeadura até a máxima nodulação das raízes de soja, o sistema solo-planta-atmosfera deve ter à sua disposição boa distribuição de chuvas e regime térmico favorável. Durante o desenvolvimento da cultura, temperaturas adequadas em presença de umidade disponível no solo promovem o metabolismo normal da planta, a turgescência celular e foliar, a abertura dos estômatos, a fixação do CO₂ e, conseqüentemente, o fornecimento de energia para os bacteróides no interior dos nódulos. Temperaturas elevadas no ambiente, principalmente as noturnas, aumentam a taxa respiratória e exaurem as reservas da planta, reduzindo a disponibilidade de produtos da fotossíntese para a FBN.
- Umidade do solo – solos úmidos amenizam as temperaturas, possibilitando maior sobrevivência das bactérias no solo, enquanto a nodulação não se estabelece nas raízes da planta. A deficiência hídrica determina o fechamento dos estômatos, reduzindo a atividade fotossintética da soja. Logo, compromete seriamente a nodulação e a FBN, principalmente se ocorrer na fase reprodutiva da cultura. Por outro lado, solos encharcados, com deficiência de oxigênio para as raízes, prejudicam a absorção de água e nutrientes pela planta, reduzindo a fotossíntese e a produção de produtos orgânicos. Durante ou após o encharcamento do solo observa-se a presença de nódulos internamente esverdeados.

• Solos bem preparados ou a adoção do sistema de plantio direto permite a rápida germinação e emergência da cultura, favorecendo a nodulação precoce das raízes. A “semeadura no pó” é prejudicial às sementes inoculadas, pois o solo seco e quente é ambiente altamente letal para os bradirrízobios.

• Calagem – o solo deve estar livre de acidez média a alta, pois o melhor desempenho da fixação ocorre na faixa de pH(CaCl₂) de 5,0 a 6,0. Isto é possível por meio da calagem bem dimensionada e incorporada que, além de corrigir a acidez do solo, fornece cálcio (Ca) para o crescimento radicular, magnésio (Mg) para a molécula de clorofila e a produção de fotoassimilados, melhorando ainda, a absorção de fósforo (ATP) e de potássio (K), necessários para a translocação interna dos fotoassimilados na planta. A calagem melhora as condições químicas do solo, aumentando a taxa de mineralização de matéria orgânica, proporcionando a elevação do pH e da fertilidade, resultando em aumento da produtividade agrícola de grãos de soja. Dependendo do teor de matéria orgânica do solo e dos níveis da calagem, a mineralização da matéria orgânica, disponibilizando maior quantidade de N, pode resultar em ausência de resposta tanto para a inoculação das sementes quanto para a adubação mineral nitrogenada. A intensa mineralização da matéria orgânica aumenta, momentaneamente, o aporte de N no solo, que pode resultar em atraso da nodulação nos estádios iniciais vegetativos da soja, principalmente em lavouras de 1º ano. Isto não significa que a FBN encontra-se deficiente e tão pouco esteja faltando N para a cultura. Com a progressão do consumo de N, a nodulação ativa se estabelece, tornando-se visível às vésperas ou durante o florescimento. Solos muito ácidos, mal corrigidos em fertilidade ou com problemas de excesso de calagem apresentam problemas de deficiência nutricional, principalmente de micronutrientes, refletindo-se diretamente em perda de eficiência da FBN (Tabela 4).

NITROGÊNIO MINERAL NA SOJA

O teor de N no solo também pode interferir na nodulação das raízes e na fixação simbiótica do N₂. Com relação ao uso de fertilizantes nitrogenados minerais na adubação da soja, deve-se considerar que tanto a forma amoniacal como a nítrica (que é reduzida à forma amoniacal) são prontamente solúveis e disponíveis para a absorção radicular por fluxo de massa, enquanto o estabelecimento dos primeiros nódulos nas raízes de soja demanda algum tempo e muita energia por parte da planta. Assim, dependendo da dose, o fertilizante nitrogenado pode atrasar o início da nodulação das raízes.

A amônia produzida pela nitrogenase no interior do nódulo apresenta efeito autorregulador da própria atividade enzimática. Quantidades adicionais de ureia e nitratos podem interferir nesse efeito autorregulador, uma vez que no interior das células são transformados em amônia.

Outro fato a considerar é a redução na nodulação das raízes devida aos compostos nitrogenados incorporados ao solo e próximos à rizosfera da planta, prejudicando a formação dos cordões de infecção bacteriana (MÜLLER, 1981b).

O aumento da adoção do sistema de plantio direto no país tem ocasionado algumas situações nas quais, aparentemente, a adubação mineral nitrogenada da soja se faz necessária. Principalmente nos casos em que o volume de palha é mais acentuado (após cultura de milho ou sorgo safrinha ou milheto).

Se as condições de clima favorecem a lenta decomposição da matéria orgânica bruta, a elevada relação C/N na palha (de 60:1 a 80:1, ou mais) logo no início da cultura da soja proporciona forte

Tabela 4. Nutrientes minerais, funções e consequências das deficiências para a FBN.

Nutriente	Funções	Efeitos da deficiência do elemento
Fósforo	Diretamente relacionado à produção e consumo de energia (ATP)	Redução da nodulação e da FBN, induzindo à deficiência de N
Potássio	Ativador de várias enzimas na fotossíntese e respiração	Redução na massa seca dos nódulos com redução na FBN
Cálcio	Crescimento radicular e atuação em proteínas mensageiras de sinais químicos	Redução da nodulação devido à redução na superfície radicular
Magnésio	Constituinte da clorofila, tem relação direta com a fotossíntese e a ATP na fosforilação oxidativa no interior do nódulo	Deficiência de N induzida por redução da FBN
Enxofre	Constituinte de metabólitos secundários que atuam nos fatores de nodulação (Nod) da soja	Atraso e redução na nodulação das raízes
Boro	Divisão celular	Diminuição no tamanho dos nódulos
Cobalto	Componente da cobalamina (B12), precursora da leghemoglobina	Atraso do início e diminuição da nodulação
Cobre	Ainda não compreendidas	Redução na FBN
Ferro	Constituinte da ferro-proteína da nitrogenase e da leghemoglobina	Atraso do início, diminuição da nodulação e redução da FBN
Molibdênio	Constituinte da molibdato-ferro-proteína da nitrogenase	Nodulação pouco efetiva e deficiência de N
Níquel	Constituinte de enzimas da planta (urease) e requerido nos nódulos para reproprocessamento do hidrogênio (hidrogenase)	Atraso do início da nodulação e redução da FBN
Zinco	Atua na síntese da leghemoglobina	Redução do número e tamanho dos nódulos

Fonte: Marschner (1995).

imobilização do N do solo por parte dos microrganismos decompositores da matéria orgânica. Como o processo simbiótico responde por cerca de 72% a 94% da acumulação total de N pela cultura, surge um temporário e leve quadro de deficiência nitrogenada, que tende a desaparecer tão logo o sistema simbiótico se estabeleça. Em tais casos, é recomendável dobrar a dose de inoculação. A adição de N mineral favorecerá muito mais a palha em processo de decomposição proveniente da safra anterior do que a palha adicionada mais recentemente ao sistema.

Devido à elevada eficiência do sistema biológico de fixação simbiótica do N₂ e também ao seu reduzido custo, não se justifica a recomendação de adubação nitrogenada mineral na cultura da soja. Entretanto, por questão de preço reduzido, vem aumentando o uso de fertilizantes com baixas concentrações de N em sua composição. Neste caso, a recomendação da dose de adubação com esses fertilizantes deve respeitar o limite máximo de 20 kg de N por hectare.

AMBIENTES E SISTEMAS DE PRODUÇÃO COM SOJA E A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

No panorama atual da agricultura de grãos no Brasil, a cultura da soja ocupa 30 milhões de hectares como cultura de primeira safra (primavera/verão), em diferentes ambientes de produção, onde há interações entre genótipo, clima e solo. Em algumas regiões, contempladas com boas chuvas no início da estação da primavera, ocorre predominância do sistema de produção no qual os agricultores antecipam a semeadura da soja para a primeira semana de outubro. Simultaneamente a esse fato, eles vêm concentrando, cada vez mais, a base genética da monocultura da soja em cultivares com durações de ciclos muito semelhantes, preferencialmente precoces e, se possível, superprecoces. Essa estratégia, de alto risco, visa assegurar a semeadura da cultura de 2ª safra dentro das melhores condições de clima da região, principalmente para a cultura do milho (semeadura em janeiro) ou para a do algodão (dezembro/janeiro), neste caso, mais especificamente no estado do Mato Grosso.

A antecipação da data de semeadura fez com que a janela de plantio se estreitasse, aumentando a pressão de escala sobre as ações operacionais. Estas, por sua vez, acabam sendo priorizadas perante

as boas práticas agrícolas pertinentes ao pré-plantio e ao plantio, que vêm deixando de ser utilizadas por boa parte dos agricultores, como por exemplo: manejo varietal com diferentes grupos de maturação, calagem com incorporação do corretivo ao solo, inoculação das sementes e adubação fosfatada de base no sulco de semeadura.

Essas sucessões de culturas (soja x milho, soja x algodão) tem sido realizadas mais como semeadura direta do que propriamente plantio direto. No Centro-Oeste do Brasil é baixa a frequência de uso de uma clássica rotação de culturas, envolvendo rodízio anual entre as culturas geradoras de receitas na mesma área durante a primavera/verão (1ª safra). Durante o verão/outono (2ª safra), também não é comum o rodízio na mesma área, entre diferentes espécies de leguminosas e ou de gramíneas formadoras de palha.

Outro fato agravante é a dificuldade de se manter a palha sobre o terreno durante os meses de março a outubro, devido às temperaturas relativamente elevadas nessa época, normalmente associadas a períodos prolongados de estiagem, resultando em cobertura do solo com palha muito aquém do mínimo de 70%, preconizado como cobertura da classe de um plantio direto. Limita-se, portanto, o aumento e a manutenção de bons teores de matéria orgânica no solo.

Ultimamente, na adubação das grandes culturas de grãos, tem aumentado a prática da aplicação de corretivos (Ca e Mg) e fertilizantes (N, P, K e S) em superfície (a lanço), sobre o solo em área total, assim como a aplicação da maior parte dos micronutrientes e de alguns macros, preferencialmente, via foliar, em diferentes momentos fenológicos da soja. Entretanto, amostragens de solo estratificadas em profundidade têm revelado gradientes de fertilidade no perfil antrópico do solo, identificando-se nitidamente uma camada muito fértil nos primeiros 5 cm, que decai a níveis baixos a muito baixos de fertilidade até os 20 cm. Nota-se, também, um gradiente de acidez que compromete o crescimento radicular em profundidade.

A atual expansão da cultura da soja tem ocorrido em solos de textura mais arenosa ou franco-arenosa, caracterizando ambientes de produção mais restritivos para altas produtividades agrícolas de soja, milho e algodão.

As informações sobre a quantidade de N fixada por hectare através do sistema biológico são muito variáveis na bibliografia,

em função das diferenças existentes entre os experimentos realizados sobre o assunto, das diferentes metodologias de análise e quantificação do N e das próprias condições da planta (diferentes cultivares), de estirpes utilizadas e de ambientes de produção e ações de manejo.

Com os recentes avanços da genética e do melhoramento de plantas e de microrganismos, associados à melhoria das tecnologias de produção, a FBN em ambientes favoráveis ao sistema simbiote tem revelado valores entre 72% e 94% do N total requerido pela cultura, fixando até 300 kg de N por hectare (HUNGRIA et al., 2005). Normalmente, esses valores não consideram o N contido nas raízes, caule e demais órgãos vegetativos, estimando-se que somente na parte vegetativa estejam cerca de 50% da quantidade do N contido nos grãos. Segundo Morse (1950), citado por Müller (1981b), uma produtividade agrícola teórica de grãos da ordem de 6.000 kg ha⁻¹ necessitaria de 360 a 420 kg ha⁻¹ de N, considerando-se respectivamente, 37% e 42% de proteína nas sementes. Entretanto, considerando-se os 50% contidos nas partes vegetativas, deve-se adicionar, respectivamente, 180 a 210 kg ha⁻¹ de N, resultando nas necessidades totais de 540 a 630 kg de N ha⁻¹ para atender as exigências de uma elevada produtividade de grãos.

O cálculo teórico realizado por Morse, em 1950, não é exagerado, ao se comparar os seus resultados com os atuais valores de produtividade de grãos (Tabela 1 e Tabela 5), obtidos em pesquisas de campo bem conduzidas. Deve-se considerar que, em recentes safras nacionais de soja, algumas lavouras comerciais conduzidas com boas práticas agrícolas e em ambientes de produção favoráveis têm produzido acima de 6.000 kg ha⁻¹, com reinoculação das sementes ou inoculação no sulco de semeadura e sem adição de N mineral.

Considerando-se que a FBN supre de 70% a 95% das necessidades nutricionais de N, constata-se que, em condições de campo, o sistema simbiote não consegue atender às exigências totais de N, de maneira que 5% a 30% deverão ser supridos pelo solo e, principalmente, pela matéria orgânica. Essa situação não condiciona a necessidade de se adubar a cultura da soja com N mineral, mas sim, a adoção, nos sistemas de produção, de tecnologias de produção que levem em consideração a rotação de culturas, visando-se a conservação do solo, da água e da matéria orgânica, pois a soja, além de operar a FBN a seu favor, também é muito eficiente no aproveitamento do N proveniente da mineralização da matéria orgânica, principalmente quando participa de sistemas de produção com rotação de culturas produtoras de grande palhada ou de restos culturais.

Esta questão é fundamental e primordial, ao se considerar os fatos apresentados anteriormente em relação às condições tropicais do Brasil como produtor de soja. No atual ritmo de pressão operacional, a inoculação das sementes tem maior chance de permanecer como boa prática agrícola, através da inoculação dos sulcos ou por meio do TIS, desde que se obtenha um novo inoculante capaz de garantir a sobrevivência dos bradirrízobios, pelo menos durante os primeiros 30 dias após o tratamento industrial das sementes.

Finalmente, chama-se a atenção para o fato de que a deficiência de nodulação e de FBN pode representar duas situações distintas:

a) Interação positiva entre ambiente e sistema de produção, na qual, temporariamente, a nodulação e a FBN não sejam necessárias e sem que haja deficiência de N na soja, e

b) Interação negativa entre ambiente e sistema de produção, na qual ambas não consigam se estabelecer. Nesta última situação encaixa-se perfeitamente a Lei do Mínimo de Liebig e cabe ao produtor ou técnico diagnosticar qual o fator, entre os descritos neste artigo, encontra-se limitando a eficiência da fixação biológica de N na cultura da soja.

Tabela 5. Quantidades de N, P, K, Ca, Mg e S absorvidas e exportadas pelo cultivar de soja BRS 360 RR¹. Média de duas safras². Londrina, PR.

Partes da planta	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- (kg t ⁻¹) -----					
Grãos	65,0	5,8 ³	20,0 ⁴	3,2	2,8	3,0
Restos culturais	17,0	1,5	14,0	12,8	7,2	1,5
Total	82,0	7,3	34,0	16,0	10,0	4,5
Exportação (%)	80	80	58	20	28	66
Total lavoura ⁵	----- (kg ha ⁻¹) -----					
3.150 kg ha ⁻¹	258,3	23,0	107,1	50,4	31,5	14,2
6.000 kg ha ⁻¹	492,0	43,8	204,0	96,0	60,0	27,0

¹ Cultivar precoce (grupo de maturação 6.2) com tipo de crescimento indeterminado.

² Safra 2010/11: produtividade agrícola de grãos = 3.300 kg ha⁻¹.

Safra 2011/12: produtividade agrícola de grãos = 3.000 kg ha⁻¹.

³ Valor correspondente à exportação de 13 kg ha⁻¹ de P₂O₅ em cada tonelada de grãos produzida.

⁴ Valor correspondente à exportação de 25 kg ha⁻¹ de K₂O em cada tonelada de grãos produzida.

⁵ Valores calculados pelo autor do artigo com base na produtividade agrícola média de duas safras = 3.150 kg ha⁻¹.

Fonte: Oliveira et al. (2014).

REFERÊNCIAS

- BORTOLAN, S.; BARCELLOS, F. G.; MARCELINO, F. C.; HUNGRIA, M. Expressão dos genes nodC, nodW e nodP em *Bradyrhizobium japonicum* estirpe CPAC 15 avaliada por RT-qPCR. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 11, p. 1491-1498, 2009.
- CÂMARA, G. M. S. Nitrogênio e produtividade da soja. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). *Soja: Tecnologia de produção II*. Piracicaba, Piracicaba: ESALQ/LPV, 2000. p. 295-339.
- CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. Fisiologia, ambiente e rendimento da cultura da soja. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). *Soja: tecnologias da produção II*. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2000. p. 81-120.
- DESTRO, D.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J. L. P. *Genes qualitativos em soja (alguns comentários e listagem)*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 67 p. (Série Didática, 293).
- DORNHOFF, G. M.; SHIBLES, R. M. Varietal differences in net photosynthesis of soybean leaves. *Crop Science*, v. 10, p. 42-45, 1970.
- FHER, W. R.; CAVINESS, C. E. *Stages of soybean development*. Ames, Iowa: Iowa State University, 11 p. 1997. (Special Report, 80).
- FONTOURA, S. M. V.; BARTH, G. Adubação nitrogenada e inoculação da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 33., 2013, Londrina. *Resumos Expandidos...* Londrina: Embrapa, 2013.
- 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 fixation in plants*. Cambridge: Cambridge University, 1976. p. 21-439.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). *Biologia dos solos de cerrados*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1997a. p. 187-294.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. J. A. *Inoculação da soja*. Londrina: Embrapa Soja, 1997b. 28 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 17; Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 34).
- 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, E. E. (Ed.). *Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology and environment*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005. p. 25-42.
- KOLLER, H. R.; NYQUIST, W. F.; CHORUSH, I. S. Growth analysis of the soybean community. *Crop Science*, v. 10, p. 407-412, 1986.
- MARSCHNER, H. Nitrogen fixation. In: MARSCHNER, H. (Ed.) *Mineral nutrition of higher plants*. 2 ed. London: Academic Press, 1995. p. 201-228.
- MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; PERES, J. R. R.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Embrapa Cerrados: 37 anos de contribuições para o avanço da FBN no Brasil. In: *Anais da XVI RELARE – Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologias de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola*. Londrina: Embrapa Soja, 2014. p. 60-61. (Embrapa Soja. Documentos, 350)
- MERCANTE, F. M.; GOI, S. R.; FRANCO, A. A. Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbios. *Revista Universidade Rural*, v. 22, n. 1, p. 65-81, 2002. (Série Ciências da Vida).
- MORSE, W. J. Chemical composition of soybean seed. In: MARKLEY, K. S. (Ed.). *Soybeans and soybean products*. v. 1. New York: Interscience Publ. Inc., 1950. p. 135-156.
- MÜLLER, L. Fisiologia. In: MYIASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). *A soja no Brasil*. Campinas: ITAL, 1981a. p. 109-129.
- MÜLLER, L. Fixação simbiótica do nitrogênio. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Ed.). *A soja no Brasil*. Campinas: ITAL, 1981b. p. 401-414.
- OLIVEIRA, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; FOLONI, J. S. S. Marcha de absorção e acúmulo de macronutrientes em soja com tipo de crescimento indeterminado. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, 34., 2014, Londrina. *Resumos Expandidos...* Londrina: Embrapa, 2014. p. 133-136.
- RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E.; BENSON, G. O. *How a soybean plant develops*. Ames, Iowa: Iowa University of Science and Technology, 20 p. 1994. (Special Report, 53).
- VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.) *Biologia dos solos de cerrados*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 295-360.