



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL de LONDRINA

---

DIOGO FERNANDO SATURNO

**EFEITO DO N MINERAL SOBRE A FIXAÇÃO BIOLÓGICA  
DE NITROGÊNIO EM CULTIVARES DE SOJA DE HÁBITO  
DE CRESCIMENTO DETERMINADO E INDETERMINADO**

---

Londrina  
2013

DIOGO FERNANDO SATURNO

**EFEITO DO N MINERAL SOBRE A FIXAÇÃO BIOLÓGICA  
DE NITROGÊNIO EM CULTIVARES DE SOJA DE HÁBITO  
DE CRESCIMENTO DETERMINADO E INDETERMINADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira.

Londrina  
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

S524e Saturno, Diogo Fernando.

Efeito do N mineral sobre a fixação biológica de nitrogênio em cultivares de soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado / Diogo Fernando Saturno. – Londrina, 2013.  
ix, 62 f. : il.

Orientador: Marco Antonio Nogueira.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2013.  
Inclui bibliografia.

1. Nitrogênio – Fixação – Teses. 2. Fertilizantes nitrogenados – Teses. 3. Soja – Adubos e fertilizantes – Teses. 4. Microorganismos do solo – Teses. I. Nogueira, Marco Antonio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. III. Título.

CDU 631.461.5

DIOGO FERNANDO SATURNO

**EFEITO DO N MINERAL SOBRE A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE  
NITROGÊNIO EM CULTIVARES DE SOJA DE HÁBITO DE  
CRESCIMENTO DETERMINADO E INDETERMINADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Dr. Marco Antonio Nogueira  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
– EMBRAPA/Soja

---

Dra. Mariangela Hungria  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
– EMBRAPA/Soja

---

Dra. Diva Souza Andrade  
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 28 de Fevereiro de 2013.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Jorge e Sônia, que me deram educação, amor, apoio e exemplo de vida em todos os momentos. A eles meu eterno amor e gratidão.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Marco Antonio Nogueira, pela confiança depositada e os valiosos conselhos. Muito obrigado pelo apoio, atenção, amizade, incentivo e pela grande contribuição em minha formação científica, minha grande admiração.

Agradeço também à Dra. Diva Andrade, que me acolheu no laboratório de microbiologia do solo do IAPAR, concedendo a oportunidade de iniciar meus estudos na área, pelos conselhos valiosos e principalmente pela amizade, minha grande admiração.

À Dra. Mariangela Hungria e à Dra. Diva Andrade, membros da comissão examinadora, pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Aos meus Pais, presentes sempre com orações, amor e palavras de incentivo, minha eterna gratidão.

Ao Dr. Carlos Arrabal Arias, Embrapa-Soja, pela indicação das cultivares utilizadas.

À Embrapa Produtos e Mercados, na pessoa do Dr. Luiz Carlos Miranda, quem forneceu as amostras de sementes das cultivares.

À Dra. Maria Cristina Neves de Oliveira, Embrapa Soja, pelas contribuições nas análises estatísticas.

À Embrapa Soja pela estrutura fornecida e, aos funcionários que colaboraram de alguma forma para a realização deste trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão de bolsa de estudo para realização dos meus estudos de mestrado.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, pelo conhecimento transmitido e o apoio concedido.

Aos amigos que encontrei nos laboratórios de microbiologia do solo (IAPAR) e Biotecnologia do solo (Embrapa-Soja), estagiários, técnicos, mestres e doutores, pela ajuda e pelos bons momentos de convívio.

A todos os meus amigos das repúblicas em que morei, pelo convívio e alegrias divididas, não citarei nomes para não cometer o risco de esquecer alguém.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho.

Muito Obrigado.

“Mestre não é quem  
sempre ensina, mas quem de repente aprende.”  
(João Guimarães Rosa)

SATURNO, Diogo Fernando. **Efeito do N mineral sobre a fixação biológica de nitrogênio em cultivares de soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado**. 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

## RESUMO

A tecnologia da fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma das responsáveis pelo sucesso da cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill) no Brasil. Apesar da consolidação dessa tecnologia, mudanças no cenário do cultivo da oleaginosa, como genótipos mais produtivos, precoces e de hábito de crescimento indeterminado, têm levado a especulações sobre a necessidade de adubação complementar com fertilizantes nitrogenados, o que pode comprometer os benefícios da FBN. Este trabalho avaliou os efeitos da aplicação do N mineral sobre atributos relativos à FBN nas principais cultivares de soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado recomendadas para o Estado do Paraná, para a safra 2012/13. O experimento foi realizado em condições controladas de casa de vegetação na Embrapa Soja. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em que 14 cultivares de soja (7 de crescimento determinado e 7 de crescimento indeterminado), todas inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587), receberam 4 tratamentos de N (sem adição de N mineral; equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral na semeadura, na forma de ureia; equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N mineral em cobertura na forma de nitrato de amônio; e a combinação de N mineral na semeadura e em cobertura), com 5 repetições. Os dados foram analisados segundo um arranjo fatorial 4 x 7, para cada hábito de crescimento, com 4 níveis de N e 7 cultivares. Como o hábito de crescimento é um importante aspecto desse trabalho, os dados também foram analisados segundo um arranjo 4 x 2, para avaliação do efeito dos tratamentos de N frente ao hábito de crescimento. A adição de N mineral na semeadura reduziu a nodulação em 17% nas cultivares de hábito de crescimento determinado e em 12% nas indeterminadas. No tratamento com N mineral na semeadura e em cobertura, a redução chegou a 32% nas de hábito determinado e 23% nas indeterminadas. Em geral o fornecimento de N mineral aumentou a massa da parte aérea seca e os teores de N-nitrato, N-amônio e N-amida, mas diminuiu os teores de ureídos (N de origem biológica), tanto nas folhas, como nos pecíolos, e também o teor de N, N total acumulado na parte aérea e o teor de carboidratos nos nódulos, independente do hábito de crescimento da soja. Os resultados indicam que a aplicação de N mineral foi prejudicial para a maioria das variáveis, principalmente as relacionadas à FBN. A pronta disponibilidade e assimilação do N mineral compromete a eficiência da FBN em soja, seja aplicado na semeadura, seja em cobertura na fase reprodutiva, independente do seu hábito de crescimento.

**Palavras-chave:** Adubação nitrogenada. Fertilizantes nitrogenados. Nitrogênio mineral. Nodulação. *Glycine max* (L.) Merrill.

SATURNO, Diogo Fernando. **Effect of mineral N on the biological nitrogen fixation in soybean cultivars with determinate and indeterminate growth habit.** 2013. 61 p. Dissertation (Master's degree in Microbiology) – Universidade Estadual de Londrina, 2013.

## ABSTRACT

The technology of biological nitrogen fixation (BNF) is responsible for the success of the soybean (*Glycine max* L. Merrill) crop in Brazil. Despite the consolidation of this technology, changes in the scenario of soybean cropping system, such as more productive and early genotypes, and with indeterminate growth habits, have led to speculations on the need of supplemental fertilization with mineral N, which may impair the BNF benefits. We assessed the effects of mineral N on some attributes related to the BNF in the main important soybean cultivars of determinate and indeterminate growth habit recommended for the southern Brazil in the 2012/13 season. The trial was conducted under greenhouse controlled conditions following a completely randomized blocks design, in which 14 cultivars (7 determinate and seven indeterminate growth habit), all inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) and *B. elkanii* (SEMIA 587), received 4 treatments with mineral N (without mineral N; equivalent to 50 kg ha<sup>-1</sup> as urea at sowing; equivalent to 50 kg ha<sup>-1</sup> as ammonium nitrate in topdressing; and the combination of mineral N at sowing and topdressing), in five replications. Data were analysed according to a 4 x 7 factorial arrangement, with four levels of N treatments in combination with 7 genotypes for each growth habit. As the growth habit was an important factor in this study, the data were also analysed as a 4 x 2 arrangement, in which the effects of the four N treatments were combined with the growth habit. The addition of mineral N at sowing reduced nodulation by 17% in the determinate growth cultivars and by 12% in the indeterminate cultivars. When plants received mineral N at sowing and topdressing, nodulation was reduced by 32% in the determinate genotypes and 23% in the indeterminate ones. In general, mineral N increased plant shoot dry weight, concentrations of nitrate-N, ammonium-N, amide-N, but decreased the ureides (biological N) in both leaves and petioles, total N concentration, total N accumulated in shoots and the carbohydrates in nodules, irrespectively the soybean growth habit. These results show that the addition of mineral N impaired most of the attributes, especially those related to the BNF. The prompt assimilation of mineral N via N-fertilizers is negative to the effectiveness of the BNF, independently of the soybean growth habit. Most of the attributes associated to the BNF were impaired due to mineral N added at both sowing and/or topdressing.

**Keywords:** Nitrogen manuring. N fertilizers, mineral N. Nodulation, *Glycine max* (L.) Merrill.

## LISTA DE FIGURA

**Figura 1** - Proporção relativa de compostos nitrogenados envolvidos no transporte de N determinados em folhas de cultivares de soja de hábito de crescimento determinado (A) e indeterminado (B), inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral na semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Médias seguidas de mesma letra minúsculas nas faixas correspondentes a cada variável, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento) .....38

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** -Características das cultivares de soja utilizadas no experimento, grupo de maturação, tempo de maturação, ciclo, altura, cor de flor, teor de proteína, teor de óleo e época de semeadura.....27
- Tabela 2** -Características químicas e granulométricas do solo utilizado no experimento, antes de receber calagem e adubação.....28
- Tabela 3** -Efeito da adubação com N mineral no crescimento das plantas (massa da parte aérea seca, MPAS; massa da raiz seca, MRS; e a relação entre MPAS/MRS) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento) .....33
- Tabela 4** -Efeito da adubação com N mineral na nodulação (número de nódulos, NN; massa de nódulos secos, MNS; massa específica de nódulos) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral na semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).....34
- Tabela 5** -Efeito da adubação com N mineral no teor de N-nitrato, N-amônio e N-amida e nos teores de ureídeos (folha e pecíolo) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B.*

*elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento) .....36

**Tabela 6** -Efeito da adubação com N mineral no teor de nitrogênio total e nitrogênio total acumulado na parte aérea (NTPA) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento) .....39

**Tabela 7** -Efeito da adubação com N mineral no teor de carboidratos nos nódulos, em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semeadura em dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).....40

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	12
2.1	A CULTURA DA SOJA E O SEU CULTIVO NO BRASIL .....	12
2.2	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA.....	13
2.3	PRODUÇÃO BRASILEIRA DE SOJA .....	13
2.4	HÁBITOS DE CRESCIMENTO DA SOJA .....	15
2.5	NITROGÊNIO .....	17
2.6	FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO .....	18
2.6.1	Fixação do Nitrogênio no Nódulo .....	19
2.6.2	Bactérias Fixadoras de Nitrogênio em Soja.....	21
2.6.3	Fatores que Afetam a Fixação Biológica de Nitrogênio .....	21
2.7	O USO DE INOCULANTES EM SOJA .....	23
2.8	FERTILIZANTES UTILIZADOS EM SOJA.....	24
<b>3.</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	25
<b>4.</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	26
<b>5.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	27
5.1	CULTIVARES DE SOJA .....	27
5.2	DELINEAMENTO, INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO .....	28
5.3	PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM.....	29
5.4	TEOR DE NITROGÊNIO E NITROGÊNIO TOTAL NA PARTE AÉREA.....	30
5.5	TEOR DE UREÍDOS NAS FOLHAS E PECÍOLOS.....	30
5.6	NITROGÊNIO FOLIAR .....	30
5.7	CARBOIDRATOS SOLÚVEIS NOS NÓDULOS.....	30
5.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	31
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	32
6.1	CRESCIMENTO DAS PLANTAS .....	32
6.2	NODULAÇÃO .....	33

6.3	NITROGÊNIO FOLIAR E UREIDOS NA FOLHA E PECÍOLO.....	34
6.4	NITROGÊNIO NA PLANTA .....	38
6.5	CARBOIDRATOS NOS NÓDULOS .....	39
<b>7.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>8.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>46</b>
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>56</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um elemento essencial ao desenvolvimento de plantas, fazendo parte de rotas metabólicas chaves e da composição de diversas moléculas como a clorofila, ácidos nucleicos, enzimas, vitaminas, aminoácidos e proteínas. Porém, apesar de ser o elemento mais abundante da atmosfera (78%), o nitrogênio em sua forma molecular ( $N_2$ ) não é assimilado pelas plantas. Assim, juntamente com a água em geral, é o principal fator limitante da produção agrícola. Contudo, microrganismos comumente denominados “rizóbios” possuem a capacidade de converter o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis pelas leguminosas, pelo processo da fixação biológica de nitrogênio (FBN).

No caso da soja (*Glycine max* (L.) Merrill), bactérias que pertencem ao gênero *Bradyrhizobium* se associam simbioticamente, formando nódulos em suas raízes, nos quais ocorre a FBN, de onde o  $N_2$  transformado é distribuído para a planta em diversas formas de N orgânico, como os ureídeos, aminoácidos e amidas.

O teor de nitrogênio nos solos brasileiros é baixo e supre apenas parcialmente a demanda deste nutriente pela cultura, o uso de fertilizante nitrogenado pode suprir essa demanda, porém, considerando seu baixo aproveitamento, apenas de 50%, representa fonte de poluição ambiental e onera os custos da produção. Destaca-se, então a FBN como um importante fator de competitividade do setor agrícola brasileiro, porque além de ser uma tecnologia viável e de baixo custo, principalmente para a produção da soja, contribui para a manutenção da fertilidade do solo e preservação ambiental.

A soja, planta de origem asiática, é hoje a principal oleaginosa produzida e consumida mundialmente. Isto se deve ao elevado teor de proteína de seus grãos e, conseqüentemente, de N, o que faz com que a cultura necessite de grandes quantidades desse nutriente, cerca de 80 kg para cada tonelada de grãos produzidos.

Uma característica diferenciadora de cultivares de soja consiste em seu hábito de crescimento, que pode ser determinado, ou indeterminado. Cultivares de hábito de crescimento determinado possuem inflorescência racemosa terminal e axilar, em que o crescimento vegetativo é paralisado após o florescimento, podendo ainda crescer 10% de sua altura final. Assim, ao entrar no estágio reprodutivo, a planta já atingiu 90% da sua altura e produção de matéria seca. Já cultivares de

hábito de crescimento indeterminado possuem apenas inflorescência axilar e, após o florescimento, a gema terminal mantém sua atividade vegetativa, conferindo maior altura e número de nós em relação às plantas de crescimento determinado, podendo dobrar de altura após o florescimento. Devido a estas diferenças, pode-se esperar que cultivares com hábito de crescimento determinado e indeterminado, respondam diferencialmente à FBN e ao N mineral.

No Brasil, práticas de manejo relacionadas à FBN e à nutrição mineral da soja foram definidas com base nos princípios fenológicos e metabólicos de cultivares de soja com hábito de crescimento determinado, estando estas práticas estabelecidas e fundamentadas. Porém, nos últimos anos tem aumentado significativamente a área cultivada com cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado.

Em virtude dessa mudança no cenário do cultivo da oleaginosa, com genótipos mais produtivos, precoces e de hábito de crescimento indeterminado, tem levado a especulações sobre a necessidade de adubação complementar com fertilizantes nitrogenados, o que pode comprometer os benefícios da FBN. Por isso, existe a necessidade de pesquisas sobre os efeitos da adubação nitrogenada na FBN em novos cultivares de soja, visando o auxílio a técnicos e produtores.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação do N mineral sobre atributos relativos à FBN nas principais cultivares de soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado, recomendadas para o Estado do Paraná para a safra 2012/13.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A CULTURA DA SOJA E O SEU CULTIVO NO BRASIL

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das mais importantes culturas agrícolas na economia mundial. Seus grãos são usados na agroindústria para a produção de óleo vegetal e rações para alimentação animal, pela indústria química e de alimentos. Recentemente, vem crescendo também o uso como fonte alternativa de biocombustível (COSTA NETO; ROSSI, 2005).

Apresenta como centro de origem e domesticação o nordeste da Ásia (China e regiões adjacentes) (CHUNG; SINGH, 2008). A espécie é cultivada há milhares de anos e a sua disseminação do oriente para o ocidente ocorreu por meio das navegações. No Brasil, o primeiro relato sobre o cultivo é de 1882, no Estado da Bahia (BLACK, 2000). Em seguida, foi levada por imigrantes japoneses para São Paulo, mas somente em 1914 o primeiro registro de cultivo de soja ocorreu no município de Santa Rosa, no Estado do Rio Grande do Sul. A partir dos anos de 1940, começou a adquirir importância econômica, merecendo o primeiro registro estatístico nacional em 1941, no Anuário Agrícola do RS, com área cultivada de 640 alqueires, produção de 450 toneladas e rendimento de 700 kg ha<sup>-1</sup>. Nesse mesmo ano, instalou-se a primeira indústria processadora de soja do país, também em Santa Rosa. Em 1949, com produção de 25.000 toneladas, o Brasil figurou pela primeira vez, como produtor de soja nas estatísticas internacionais (EMBRAPA, 2004).

Foi a partir da década de 1960, impulsionada pela política de subsídios ao trigo, visando autossuficiência, que a soja começou a figurar como cultura importante para o Brasil (EMBRAPA, 2004). Com o aumento explosivo da cotação internacional do grão em 1973, devido ao aumento da demanda por alimentos proteicos nos países desenvolvidos, e à queda da oferta de outras matérias primas ricas em proteínas, houve uma rápida expansão do cultivo deste grão no Brasil, influenciada pelo incentivo governamental e por fatores edafoclimáticos favoráveis (MUELLER, 1992).

Desse modo, foi na década de 1970 que se deu o incremento significativo da produção de soja no Brasil, passando de 1,5 milhões de toneladas em 1970, para mais de 15 milhões de toneladas em 1979. Esse crescimento foi possível graças ao

aumento da área cultivada e também ao expressivo aumento da produtividade devido às novas tecnologias disponíveis (CONAB, 2011a).

## 2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

A soja é amplamente cultivada em vários países, sendo os principais produtores mundiais os Estados Unidos, o Brasil, a Argentina e a China (EMBRAPA, 2008).

Entre as safras de 1987/1988 e 2009/2010, enquanto a área cultivada cresceu 88,6%, a produção mundial foi ampliada em 150,7%. Nesse período, a área passou de 54 milhões de hectares para, aproximadamente, 102 milhões de hectares na safra 2009/10. Já a produção mundial, que em 1987/88 foi de 103,67 milhões de toneladas, atingiu 259,89 milhões de toneladas na safra 2009/10 (LAZZAROTTO; HIRAKURI, 2011).

No relatório realizado durante o mês de maio de 2012, o USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) estimou a produção mundial de soja para a safra de 2011/12 em 236,87 milhões de toneladas. Na última safra 2010/11, a produção mundial foi de 263,7 milhões de toneladas em uma área plantada de 103,5 milhões de ha. Os Estados Unidos continuaram liderando a produção mundial da oleaginosa, com 90,6 milhões de toneladas, seguidos pelo Brasil, com 75,0 milhões e em terceiro lugar, com 45,3 milhões, a Argentina (USDA, 2012).

## 2.3 PRODUÇÃO BRASILEIRA DE SOJA

No Brasil as principais áreas produtoras de soja estão nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste, sendo o Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul, e Goiás os principais Estados produtores (CONAB, 2011b). Ao longo das últimas décadas, a produção brasileira de soja apresentou um grande avanço. Tanto o crescimento da produção, quanto o aumento da capacidade competitiva da soja brasileira estão associados aos avanços científicos e à disponibilização de tecnologias ao setor produtivo.

A importância do complexo de soja para o Brasil pode ser dimensionada tanto pelo crescimento de sua produção, quanto pela arrecadação com as exportações de

soja em grão e derivados (óleo e farelo de soja). Por ser fonte de proteínas na alimentação humana e de grande parte dos animais que produzem carne, leite e ovos, resulta em uma cadeia produtiva bastante abrangente, pois animais criados com rações produzidas a partir do farelo de soja oferecem outros subprodutos que vão afiançar outras áreas da economia (ROESSING; SANCHES; MICHELLON, 2005).

Dall'agnol (2000) afirmou que a soja foi a grande responsável pelo surgimento da agricultura comercial brasileira, acelerando a mecanização das lavouras, modernizando o transporte, expandindo a fronteira agrícola e colaborando para a tecnicidade e produção de outras culturas.

Entre 1998/1999 e 2010/2011, a área plantada com soja no Brasil cresceu 11,21 milhões de ha, passando de 12,99 milhões de ha para 24,2 milhões de ha, podendo chegar à expressiva marca de 82 milhões de toneladas na safra 2012/2013, com destaque para o Estado do Mato Grosso, o maior produtor nacional com 24 milhões de toneladas, e para o Estado do Paraná, em segundo, com 15,4 milhões (CONAB, 2012).

O cultivo desta leguminosa responde por uma receita cambial direta de mais de US\$ 29 bilhões anuais para o país (ABIOVE, 2012), e cinco vezes esse valor se forem considerados os benefícios gerados ao longo de toda a cadeia produtiva. Em função do grande valor agregado que possui, muito se tem investido em pesquisas, visando ao aumento da produtividade e à diminuição dos impactos ambientais gerados pelo cultivo da soja. Tais estudos permitiram o desenvolvimento de cultivares melhor adaptadas às condições edafoclimáticas de cada região do país; um melhor manejo de plantas invasoras e pragas; uma melhoria das técnicas de adubação, incluindo o desenvolvimento de inoculantes contendo bactérias fixadoras do nitrogênio que substituem os fertilizantes nitrogenados; e um melhor manejo do solo, com a implantação das técnicas de plantio direto e de sucessão de culturas, com reflexos positivos na sustentabilidade dos sistemas produtivos (EMBRAPA, 2008).

Dentre os grandes produtores mundiais, o Brasil é o que apresenta a maior capacidade de multiplicar a atual produção, por meio de novas técnicas agrícolas, assumindo assim a liderança mundial na produção de grãos (VENCATO et al., 2010).

## 2.4 HÁBITOS DE CRESCIMENTO DA SOJA

O ciclo total da planta pode ser dividido em duas fases: vegetativa e reprodutiva. A fase vegetativa corresponde ao período entre a emergência da plântula até a abertura das primeiras flores e a fase reprodutiva compreende o período do início do florescimento até o ponto de maturidade fisiológica (RIBEIRO JÚNIOR; FRANCO; LOPES, 1987).

O germoplasma de soja possui grande diversidade quanto ao ciclo (número de dias da emergência à maturação), variando de 70 dias, para as mais precoces, a 200 dias, para as mais tardias. De modo geral, as variedades brasileiras têm ciclo entre 100 e 160 dias e, para determinada região, podem ser classificadas em grupos de maturação precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio (EMBRAPA, 2004).

O hábito de crescimento é uma característica diferenciadora de cultivares de soja. São considerados os hábitos de crescimento determinado, semideterminado e indeterminado (SNPC, 2006 – Lista de descritores mínimos de soja, publicados no Diário oficial da União em 3/5/2002).

Cultivares que apresentam hábito de crescimento determinado são caracterizadas por plantas que possuem inflorescência racemosa terminal e axilar, tendo o crescimento vegetativo paralisado após o florescimento, ou em algumas circunstâncias, estas ainda podem crescer cerca de 10% da sua altura final; portanto, ao entrar no estágio reprodutivo, a planta já atingiu aproximadamente 90% da sua altura e produção de matéria seca final. Normalmente possuem maior ramificação, menor altura e, conseqüentemente, menor número de nós. As folhas da parte superior do caule são semelhantes às demais; as primeiras flores surgem no terço superior e as últimas, no terço inferior. A maturação inicia-se de cima para baixo (SEDIYAMA et al., 1996; SEDIYAMA; TEIXEIRA; REIS, 2005).

As cultivares de hábito de crescimento indeterminado possuem apenas inflorescência axilar. A gema terminal mantém atividade vegetativa após o florescimento, desenvolvendo nós e alongando o caule (MÜLLER, 1981). Desse modo, têm maior altura e número de nós na haste principal e, após o florescimento, podem dobrar de altura (SEDIYAMA; TEIXEIRA; REIS, 2005). A parte terminal do caule é mais delgada, e as folhas e os pecíolos possuem maiores dimensões na região central do caule. A maturação das vagens inicia-se na parte inferior.

Os genes  $Dt_1/dt_1$ , que controlam o hábito de crescimento em soja, foram relatados pela primeira vez por Woodworth (1933), com base em uma população segregante  $F_2$  derivada do cruzamento entre uma cultivar de hábito de crescimento indeterminado (Manchu) do norte da China e uma cultivar de hábito de crescimento determinado (Ebony) da Coreia. De acordo com Bernard (1972), o genótipo  $dt_1dt_1$  é responsável pelo hábito de crescimento determinado, e o  $Dt_1Dt_1$  pelo hábito de crescimento indeterminado, enquanto  $Dt_1dt_1$  pelo hábito semideterminado.

Predominantemente, os estudos realizados sobre efeitos do gene  $Dt_1/dt_1$  têm também como característica de interesse a produção de grãos. Há autores que relatam maior produção nas cultivares de hábito crescimento determinado, enquanto outros relatam situação contrária. Contudo, de acordo com Robinson e Wilcox (1998) e Quattara e Weaver (1995), o potencial de altas produtividades é expresso em ambos os tipos de plantas. Entretanto, argumenta-se que as plantas de crescimento indeterminado possam apresentar maior estabilidade de produção frente a estresse hídrico, por exemplo, visto que a perda de uma florada por falta de água não compromete tanto a produção, pois a florada seguinte pode ser aproveitada se houver disponibilidade hídrica suficiente (SEDIYAMA; TEIXEIRA; REIS, 2005).

## 2.5 NITROGÊNIO

O nitrogênio (N) é um elemento essencial para o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais, participando de uma série de rotas metabólicas-chave e da constituição de diversas moléculas como proteínas, ácidos nucleicos, alguns hormônios e clorofila (EPSTEIN, 1999). As fontes de N para as plantas são: o solo, principalmente pela decomposição da matéria orgânica; fixação não biológica, resultante de descargas elétricas, combustão e vulcanismo; fertilizantes nitrogenados e fixação biológica do nitrogênio atmosférico (HAVLIN, 1999).

O reservatório de N presente na matéria orgânica do solo é limitado, podendo ser esgotado rapidamente após alguns cultivos. Além disso, as condições de temperatura e umidade predominantes no território brasileiro aceleram os processos de decomposição da matéria orgânica e levam a perdas de N (HUNGRIA et al., 2007). Do mesmo modo, a fixação não biológica, isto é, independente da ação de organismos vivos, contribui apenas com pequenas e variáveis quantidades de N. A utilização dos fertilizantes nitrogenados apresenta diversas limitações, como a baixa taxa de aproveitamento pelas plantas (HUNGRIA et al., 2006), relacionada com perdas elevadas por lixiviação para o lençol freático e, também, por perdas na forma gasosa, pela volatilização e desnitrificação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). O nitrato é bastante móvel no solo por ser um ânion, portanto, não se acumula e quando não é absorvido pelas plantas e tende a ser lixiviado para águas subterrâneas, que por sua vez pode atingir rios e lagos (PICCOLO, 2005). Estima-se que entre 15 a 18 x 10<sup>7</sup> toneladas de N sejam perdidas por lixiviação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Entretanto, por meio do processo da fixação biológica do nitrogênio, bactérias do gênero *Rhizobium* estabelecem simbiose com plantas leguminosas formando estruturas específicas denominadas de nódulos, onde ocorre a conversão do N<sub>2</sub> atmosférico a amônia (NH<sub>3</sub>) molécula acessível à planta, que a incorpora em diversas formas de N orgânico (VARGAS; HUNGRIA, 1997). Essa é uma maneira economicamente e ambientalmente mais sustentável de fornecimento de N aos sistemas de produção.

## 2.6 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo pelo qual o  $N_2$  atmosférico é reduzido a  $NH_3$ , podendo ser transferido para compostos contendo carbono, a fim de produzir aminoácidos e substâncias orgânicas que contêm nitrogênio (RAVEN; EVERT; EICHHOR; 2001). Segundo Hungria et al. (2007), a FBN em espécies da família Leguminosae é realizada por bactérias pertencentes a diversos gêneros, denominadas popularmente de rizóbios, que se associam às raízes das plantas formando estruturas específicas, denominados nódulos. Nos nódulos, a amônia sintetizada são rapidamente incorporados íons hidrogênio  $H^+$ , abundantes nas células das bactérias, ocorrendo a transformação em íons amônio  $NH_4^+$  que serão incorporados em diversas formas de N orgânico, como os ureídeos, aminoácidos e amidas. Em troca, a planta fornece metabólitos fotossintetizados ao microrganismo.

O mecanismo da FBN envolve uma sucessão de fatores a partir da adaptação da bactéria à planta até a fixação do  $N_2$  atmosférico. O processo de infecção pelo rizóbio envolve diferentes agentes sinalizadores entre a planta e a bactéria (GERAHTY et al., 1992; TIMMERS et al., 1999; TAÍZ; ZIEGER, 2004). A planta hospedeira excreta substâncias quimiotáticas (açúcares, aminoácidos e ácidos carboxílicos), que estimulam a multiplicação dos rizóbios na rizosfera e promovem a sua adesão aos pelos radiculares das plantas (HUNGRIA, 1994b). Além desses compostos, concomitantemente, a planta libera uma série de compostos fenólicos e betaínas, que induzem à transcrição e à expressão de determinados genes na bactéria, denominados genes de nodulação ou genes *nod* (BRENCIC; WINANS, 2005; PINTO; HUNGRIA; MERCANTE, 2007). Esses genes ativados promovem a síntese de moléculas pela bactéria, que são liberadas externamente e percebidas pela planta hospedeira, ativando o início do processo da simbiose.

No modelo proposto por Timmers et al. (1999), a bactéria migra em direção às raízes em função de uma resposta quimiotática. Essa resposta é decorrente da atração pelos flavonoides e betaínas secretados pelas raízes; atraindo as bactérias à rizosfera e pelos radiculares, ativam enzimas, que induzem à transcrição de genes *nod*, os quais codificam moléculas sinalizadoras de oligossacarídeos de lipoquitina, os fatores Nod. A planta hospedeira apresenta receptores lecitinas especiais, produzidas nos pelos radiculares que auxiliam na adesão das bactérias.

Durante o contato, as bactérias aderidas aos pelos liberam fatores de nodulação (Nod), causando encurvamento dos mesmos e uma série de outros processos. Com a evolução da infecção, é formado um canal dentro do pelo radicular, enquanto que no periciclo é iniciado o rearranjo do citoesqueleto microtubular. Posteriormente, acontece ativação das células na parte interna do córtex, as quais se dividem formando um primórdio. Logo após, ocorre a infecção nos pelos radiculares, localizada distanciadamente da área radicular ativada. A ativação celular se estende progressivamente para o meio e para a parte mais externa do córtex, de acordo com dois gradientes de diferenciação celular, resultando na formação de um primórdio nodular.

Durante o crescimento do nódulo, as bactérias internalizadas são liberadas para produzir infecções no citoplasma das células hospedeiras. Elas começam a se dividir e a membrana que as envolve aumenta em superfície, para acomodar esse crescimento pela fusão com vesículas menores (GERAHTY et al., 1992; TIMMERS et al., 1999). Ainda no estágio de crescimento nodular, ocorre o controle da expansão do nódulo, considerado um mecanismo de autorregulação, situação que conduz à maturidade do nódulo. Nesse momento, as bactérias param de se dividir e começam a aumentar em tamanho e a se diferenciar em estruturas endossimbióticas fixadoras de nitrogênio, denominadas de bacteroides. A membrana que as envolve se chama peribacteroide, desenvolvida com um sistema vascular semelhante ao das plantas, que facilitaria a troca de nitrogênio fixado pelos bacteroides por nutrientes disponibilizados pela planta (TAÍZ; ZIEGER, 2004).

### 2.6.1 Fixação do Nitrogênio no Nódulo

As mudanças fisiológicas e morfológicas que ocorrem na célula hospedeira e na bactéria durante a formação dos nódulos visam o recebimento de fontes de C pelos bacteroides, para prover o ATP e poder redutor necessários à FBN, e pela planta hospedeira para a assimilação da amônia produzida pelas bactérias (HUNGRIA et al., 1994b).

No processo de fixação biológica, o  $N_2$  é transformado em  $NH_3$  às custas de energia da planta (BURRIS, 1999; TAÍZ; ZIEGER, 2004). O complexo enzimático da nitrogenase formado por duas unidades proteicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína) é responsável pela fixação de nitrogênio

no nódulo (BURRIS, 1999; MYLONA, PAWLOWSKI, BISSELING, 1995; TAÍZ; ZIEGER, 2004). A FBN é muito dispendiosa do ponto de vista energético, pois para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de  $N_2$ , são necessários oito elétrons e, portanto, 16 ATPs (TAÍZ; ZIEGER, 2004).

Para que ocorra a FBN, é necessário que a nitrogenase se encontre em condições anaeróbicas. Os nódulos possuem uma heme proteína denominada leghemoglobina, que se liga ao oxigênio e que está presente em altas concentrações nos nódulos. A planta produz a porção globina em resposta à infecção da bactéria, tendo esta proteína uma alta afinidade por oxigênio. Tanto a leghemoglobina, como a barreira de difusão de oxigênio no nódulo são reguladores importantes na tensão de oxigênio no nódulo, protegendo o complexo da enzima nitrogenase, que é irreversivelmente inativado pelo oxigênio (MYLONA, PAWLOWSKI, BISSELING, 1995).

Na reação de redução do  $N_2$ , a nitrogenase é auxiliada por uma enzima transportadora de elétrons, a ferredoxina, originária do fotossistema I da fase fotoquímica da fotossíntese. A Ferro-proteína frequentemente é reduzida por um doador de elétrons, a ferredoxina reduzida. A Ferro-proteína reduzida se liga com o magnésio ATP, que recebe elétrons; estes são passados para outra enzima, a molibdênio ATP e, desta, os elétrons são passados para o  $N_2$ , transformando-o em  $NH_3$ , o qual é liberado por difusão do bacteroide para o citosol da célula hospedeira (BURRIS, 1999; TAIZ; ZIEGER, 2004). Depois de formado, o  $NH_3$ , em contato, com o substrato aquoso do citoplasma dos bacteróides, é transformado em  $NH_4^+$  (TAIZ; ZIEGER, 2004).

O acúmulo de  $NH_4^+$  inibe a fixação de nitrogênio dentro dos bacteroides e também é prejudicial à célula, por diminuir a formação do ATP e do transporte de elétrons na cadeia respiratória, por isso, é exportado dissolvidamente para o citosol e incorporado em moléculas orgânicas para reduzir seu efeito tóxico. As enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT) convertem o  $NH_4^+$  em aminoácidos. A atividade destas enzimas aumenta durante o desenvolvimento dos nódulos e com o aumento na disponibilidade de energia (ATP) no meio de reação (BURRIS, 1999). O principal meio de transporte de nitrogênio da soja, dos nódulos

para a parte aérea, é na forma dos ureídeos alantoína e ácido alantóico (KING; PURCELL, 2005).

### 2.6.2 Bactérias Fixadoras de Nitrogênio em Soja

As bactérias que nodulam a soja foram classificadas inicialmente como *Rhizobium japonicum* (FRED, BALDWIN, McCOY, 1932). Posteriormente, foram reclassificadas como *Bradyrhizobium japonicum* (JORDAN, 1982) e, dez anos depois, subdivididas nas espécies *B. japonicum* e *B. elkanii* (KUYKENDALL et al., 1992).

Os bradirrizóbios caracterizam-se por terem crescimento lento e pela alcalinização de meios de cultura contendo manitol como fonte de C durante seu crescimento, sendo algumas espécies hospedeiro-específicas, enquanto outras são promíscuas (RIVAS et al., 2009).

A soja é uma leguminosa exótica ao Brasil e apresenta alta especificidade em relação às estirpes de *B. japonicum* e *B. elkanii*, com as quais consegue estabelecer uma simbiose efetiva, sendo capaz de ter a sua exigência de N satisfeita com a FBN (MENGEL; KIRKBY, 2001). A melhor capacidade de competir por sítios de infecção no campo tem sido atribuída à espécie *B. elkanii* (BODDEY; HUNGRIA, 1997; NEVES; RUMJANEK, 1997). Porém, quanto ao acúmulo de N, tem sido verificada maior eficiência alcançada por *B. japonicum* (TEANEY; FUHRMANN, 1992; NEVES; RUMJANEK, 1997).

Desde a expansão comercial da cultura da soja no Brasil, grandes esforços foram empreendidos no melhoramento das cultivares e na seleção de estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*, para proporcionar taxas elevadas de FBN. Segundo Hungria et al. (2006), até 94% do N requerido pelas cultivares mais produtivas de soja podem ser fornecidos pela FBN, o que permite rendimentos superiores a 4.000 kg ha<sup>-1</sup>.

### 2.6.3 Fatores que Afetam a Fixação Biológica de Nitrogênio

Diversos fatores bióticos e abióticos influenciam a FBN em leguminosas, podendo atuar sobre a bactéria e/ou sobre o hospedeiro afetando a simbiose. A

combinação favorável dos fatores bióticos e abióticos presentes nos ecossistemas vai determinar o sucesso da inoculação no processo da FBN.

Os principais fatores abióticos são: acidez do solo, toxidez de alumínio, salinidade e baixa fertilidade do solo, disponibilidade de N mineral, deficiência de nutrientes como fósforo, molibdênio e cobalto, altas temperaturas no solo, luminosidade e baixa precipitação pluviométrica (HUNGRIA; VARGAS, 2000), tipo de solo, textura e composição (BENIZRI, BAUDOIN, GUCKERT, 2001). Fatores abióticos alteram quantitativa e qualitativamente a população de rizóbio no solo (FIGUEIREDO et al., 1999; ANTÓN, 2004). Em relação aos fatores bióticos: o tipo de inóculo e a via de inoculação (BROCKWELL et al., 1988), a seleção de cultivares (WANI, RUPELA, LEE, 1995), competitividade e presença de antagonistas (SINGH et al., 1995).

Em estudos que avaliam o processo de FBN associado às plantas, a disponibilidade de água, fundamental para qualquer processo biológico, é de essencial importância. Outro fator importante para a otimização do processo de FBN consiste na nutrição adequada das plantas com micronutrientes, especialmente molibdênio, uma vez que este elemento é essencial para a síntese e atividade da enzima nitrogenase, responsável pela FBN, e da redutase do nitrato, que possibilita a assimilação do nitrato derivado do solo ou fertilizantes, pela planta (POLIDORO, 2001). O cobalto também influencia a absorção de N por via simbiótica, porque faz parte da estrutura das vitaminas B12, necessárias à síntese de leghemoglobina, que determina a atividade dos nódulos (SOMASEGARAN; HOBEN, 1994; MENGEL; KIRKBY, 2001).

Araújo e Carvalho (2006) afirmam que, em alguns casos, estão sendo usadas pequenas doses de N (20 a 30 kg ha<sup>-1</sup> de N) em semeadura, cuja finalidade seria a de disponibilizar N às plantas até o início da nodulação. No entanto, pesquisas têm mostrado que o N na forma mineral, aplicado em semeadura, pode reduzir a nodulação e a eficiência da FBN (CRISPINO et al., 2001). Segundo Mendes e Hungria (2000), em áreas de primeiro cultivo, onde não existem populações de rizóbio eficientes estabelecidas no solo, o retardamento inicial da nodulação, promovido pelo uso de pequenas doses de N na semeadura, pode ter consequências mais sérias, acarretando prejuízos na produtividade.

A adubação inicial de N em semeadura só é justificada se o custo de formulados comerciais de fertilizantes contendo N for menor em comparação ao

fertilizante desprovido de N, e desde que a dose máxima não ultrapasse 20 kg ha<sup>-1</sup> de N (EMBRAPA, 2011). Assim, é necessário o conhecimento do efeito de aplicação de N mineral acima do limite estabelecido pela recomendação técnica na FBN, seja em termos de dose, seja quanto à fase de desenvolvimento da cultura, especialmente com o advento de cultivares mais precoces e de hábito de crescimento indeterminado.

## 2.7 O USO DE INOCULANTES EM SOJA

A inoculação é o processo no qual são colocados microrganismos (bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, no caso da soja) em contato com as sementes, que durante a germinação e desenvolvimento da plântula, infectarão a mesma, levando à formação de nódulos no sistema radicular, por onde a planta obterá o nitrogênio para o seu desenvolvimento. O inoculante é o veículo que contém as bactérias.

Os inoculantes para a soja no Brasil são formulados com a combinação aleatória, duas a duas, das quatro estirpes recomendadas (*Bradyrhizobium japonicum*, SEMIA 5079 e SEMIA 5080; *B. elkanii*, SEMIA 587 e SEMIA 5019), consideradas as mais responsivas pela pesquisa brasileira e autorizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), conforme Instrução Normativa nº 13, de 24 de março de 2011 (SISLEGIS, 2011). São comercializados nas formas líquida ou turfosa. A forma turfosa possibilita a manutenção de bactérias viáveis por mais tempo e oferece mais proteção física aos microrganismos (Lupwayi et al., 2005), mas os produtos de formulação líquida possuem vantagens em sistemas agrícolas dos trópicos, onde a acessibilidade a turfas de boa qualidade e a baixo custo é limitada (SINGLETON; KEYSER; SANDE, 2002).

O mercado de inoculantes agrícolas para leguminosas movimentava milhões de dólares anualmente. Segundo a Associação Nacional de Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII), no ano de 2011 foram vendidas aproximadamente 19,3 milhões de doses de inoculantes no Brasil, somente entre as empresas afiliadas (ANPII, 2012).

Nesse sentido, a prática da inoculação deve ser considerada pelos produtores de soja, uma vez que é economicamente viável, com respostas

positivas em termos de aumento de produtividade da cultura (CAMPOS, 1999; HUNGRIA et al., 2006; CAMPOS; GNATTA, 2006).

## 2.8 FERTILIZANTES UTILIZADOS EM SOJA

A cultura da soja é a maior consumidora de fertilizantes no Brasil (34,7%), com 3,8 milhões de toneladas frente a 2,7 toneladas empregadas no milho e 2,4 toneladas na cana-de-açúcar (HOMEM DE MELO, 2011). Os fertilizantes nitrogenados fornecem N mineral que é facilmente assimilado pelas plantas, mas têm um custo elevado. O processo industrial que transforma o  $N_2$  em amônia ( $NH_3$ ) requer: hidrogênio (derivado de gás de petróleo); catalisador contendo ferro; altas temperaturas (300 °C a 600 °C) e altas pressões (200 a 800 atm) (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Um agravante na utilização dos fertilizantes nitrogenados reside na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50% (HUNGRIA et al., 2007), além do alto custo ambiental (CRISPINO et al., 2001).

Em 2011, as vendas de fertilizantes no Brasil cresceram em relação a 2010, perfazendo o total de  $11,1 \times 10^6$  t (ANDA, 2011), quando também aumentaram as importações brasileiras de fertilizantes (HOMEM DE MELO, 2011).

### **3. JUSTIFICATIVA**

Recentemente têm surgido especulações sobre a necessidade de adubação complementar da soja com fertilizantes nitrogenados, frente a genótipos mais produtivos, precoces e de hábito de crescimento indeterminado, o que pode comprometer os benefícios já consolidados da fixação biológica de nitrogênio na cultura. Por isso, há necessidade de pesquisas que avaliem os efeitos da adubação nitrogenada na fixação biológica de nitrogênio em novos genótipos de soja.

#### **4. OBJETIVO**

Avaliar os efeitos do uso de fertilizante nitrogenado aplicado em diferentes fases do desenvolvimento da cultura sobre atributos relacionados à fixação biológica de nitrogênio nas principais cultivares de soja com hábito de crescimento determinado e indeterminado, recomendadas para o Estado do Paraná para a safra 2012/13.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 CULTIVARES DE SOJA

Utilizaram-se 14 cultivares de soja [*Glycine max* (L.) Merr.], sete das quais de hábito de crescimento indeterminado e sete de hábito de crescimento determinado (Tabela 1), recomendadas para a semeadura na safra 2012/13 no Estado do Paraná.

**Tabela 1.** Características das cultivares de soja utilizadas no experimento, grupo de maturação, tempo de maturação, ciclo, altura, cor de flor, teor de proteína, teor de óleo e época de semeadura.

Cultivares	Grupo Maturação	Maturação (dias) <sup>1</sup>	Ciclo (dias)	Altura (cm)	Cor da Flor	Teor de proteína (%) <sup>2</sup>	Teor de óleo <sup>2</sup>	Época de semeadura (preferencial)
Cultivares de hábito de crescimento indeterminado								
BRS 283	6.5	Precoce	120-126	85-105	Roxa	36,6	21,6	05/10-05/12
BRS 284	6.3	Precoce	120-126	80-100	Roxa	38,7	20,4	10/10-05/12
BMX Potência	6.6	Semi-precoce	125-140	95-112	Branca	39,4	19,7	15/10-15/11
BMX Turbo	5.8	Super-precoce	110-122	80-105	Roxa	38,7	20,0	15/10-15/11
BMX Força	6.2	Precoce	118-128	81-107	Branca	40,4	20,1	15/10-15/11
Nidera	5.9	Semi-precoce	110-125	72-92	Roxa	37,2	18,2	20/10-10/12
5909 RR		Super-precoce						
V Max RR	6.1	Super-precoce	110-115	76-103	Branca	39,2	23,2	20/10-20/11
Cultivares de hábito de crescimento determinado								
BRS 184	6.7	Semi-Precoce	122-128	68-95	Roxa	39,0	24,2	15/11-05/12
BRS 232	6.9	Semi-Precoce	126-132	67-93	Roxa	40,9	19,5	25/11-05/12
BRS 317	6.6	Semi-precoce	122-128	80-110	Branca	37,1	22,1	20/10-05/12
BRS 295 RR	6.5	Precoce	118-126	70-95	Branca	39,1	19,9	20/10-05/12
Embrapa 48	6.8	Semi-Precoce	122-128	60-95	Branca	39,1	21,4	25/11-05/12
BRS 255 RR	6.7	Semi-precoce	122-128	70-94	Branca	39,9	23,3	20/10-05/12
BRS 294 RR	6.5	Precoce	120-126	64-92	Branca	38,5	19,0	25/10-30/11

<sup>1</sup> Grupos de maturação: super-precoce (100 a 112 dias); precoce (113 a 122 dias) e semiprecoce (123 a 130 dias). Maturação para o Estado do Paraná, podendo variar com a época do ano. <sup>2</sup> Teores de proteína e óleo no grão de soja.

## 5.2 DELINEAMENTO, INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado em condições controladas de casa de vegetação na Embrapa Soja, Londrina, PR, no período de janeiro a março de 2012, em delineamento em blocos casualizados, com arranjo fatorial e cinco repetições. Foi utilizado como substrato solo coletado na camada 0-20 cm de um Latossolo Vermelho Distrófico, proveniente de Ponta Grossa/PR, acondicionado em vasos de PVC com capacidade de 4 kg. Os resultados das análises químicas e granulométricas antes da calagem e adubação são apresentados na Tabela 2. Foram aplicados 2,5 kg de calcário dolomítico em 1.150 kg de solo e após 30 dias de incubação, foi realizada a leitura de pH ( $\text{CaCl}_2$ ) do solo que ficou em 6,5.

Já acondicionado em vasos, o solo recebeu sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) na dose de  $1,15 \text{ g vaso}^{-1}$  e fosfato ácido de potássio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) na dose de  $0,293 \text{ g vaso}^{-1}$ . Também foi aplicada uma solução contendo os micronutrientes: Co ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  -  $0,028 \text{ mg vaso}^{-1}$  da fonte), Mo ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,1 \text{ mg vaso}^{-1}$  da fonte) e B ( $\text{H}_3\text{BO}_3$  -  $10 \text{ mg vaso}^{-1}$  da fonte).

Cada cultivar, sendo sete de hábito de crescimento determinado e sete de hábito de crescimento indeterminado, foi submetida a quatro tratamentos de N: [T1] - sem adição de N mineral; [T2] - adição de N mineral na sementeira (equivalente a  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), na dose de  $222 \text{ mg vaso}^{-1}$  de ureia; [T3] - adição de N mineral em cobertura (equivalente a  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), aos 32 dias após a emergência, na dose de  $286 \text{ mg vaso}^{-1}$  de nitrato de amônio e [T4] - adição de N mineral em sementeira (equivalente a  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), na forma de ureia, e em cobertura (equivalente a  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), na forma de nitrato de amônio, totalizando dose equivalente a  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de N.

**Tabela 2** - Características químicas e granulométricas do solo utilizado no experimento, antes de receber calagem e adubação.

pH	P	H + Al	Al	Ca	Mg	K	SB	CTC	V	M	C	MO	argila	silte	areia
	mg/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>				-----				%			g kg <sup>-1</sup>		
4,7	2,14	5,6	0,01	4,02	0,64	0,31	4,97	10,5	47,0	0,09	1,93	3,32	238	30	732

pH ( $\text{CaCl}_2$ ); P (Mehlich I); H+Al (SMP); Al, Ca, Mg, K (KCl).

A capacidade de campo (CC) do solo foi calculada para manutenção da umidade a 70% da CC. Três amostras de 10 g de solo saturado com H<sub>2</sub>O<sub>d</sub> por capilaridade por 24 h foram colocadas em estufa a 105°C por 24 h. Após o período de secagem, as amostras foram pesadas novamente e os valores iniciais e finais usados para o cálculo da CC.

Imediatamente antes da semeadura, as sementes de todas as cultivares foram inoculadas com inoculante turfoso contendo duas estirpes comerciais (*Bradyrhizobium japonicum*-SEMIA 5079 e *B. elkanii*-SEMIA 587) contendo  $6 \times 10^9$  células g<sup>-1</sup>. Utilizou-se a quantidade de inoculante para fornecer  $1,2 \times 10^6$  células por semente. Antes da inoculação foi adicionada solução açucarada a 10% nas sementes, na proporção de 6 mL kg<sup>-1</sup>. As sementes e o inoculante foram agitados vigorosamente em sacos plásticos, a fim de espalhar o inoculante homoganeamente sobre a superfície das sementes.

Cinco sementes de cada cultivar foram semeadas por vaso e, em seguida, foram aplicados os tratamentos de N na semeadura nos respectivos tratamentos com uma solução de ureia. Aos sete dias após a emergência procedeu-se o desbaste, deixando-se duas plantas por vaso. Nos tratamentos que receberam N mineral em cobertura, aplicou-se uma solução de nitrato de amônio aos 32 dias após a emergência. As plantas foram regadas periodicamente para manutenção da umidade a 70% da CC.

### 5.3 PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM

As plantas foram coletadas 52 dias após a emergência, coletando-se separadamente a parte aérea das raízes. Cada parte foi secada em estufa de ventilação forçada de ar a 65°C até atingir massa constante, para determinação da massa da parte aérea seca (MPAS) e massa de raízes secas (MRS).

Foram coletados aleatoriamente 20 nódulos frescos, lavados em água destilada, secos em papel toalha, pesados e imediatamente armazenados em freezer (-80°C). Os nódulos restantes foram coletados, lavados em água de torneira, contados para obtenção do número de nódulos (NN), pesados e secos em estufa a 65°C, para quantificar a massa de nódulos secos (MNS). A massa seca dos nódulos congelados foi estimada com base na relação massa úmida e massa seca dos

nódulos restantes, cujos resultados foram somados para a estimativa da massa total de nódulos secos. A massa específica de nódulos foi obtida pela relação MNS/NN.

#### 5.4 TEOR DE NITROGÊNIO E NITROGÊNIO TOTAL NA PARTE AÉREA

Para a determinação do teor de N na parte aérea das plantas, as mesmas foram moídas e 0,1 g do tecido moído foi digerido em solução sulfúrica, em duplicata.

A quantificação do N foi realizada em espectrofotômetro pelo método de verde de salicilato (SEARLE, 1984). Para a obtenção da quantidade de N total acumulado na parte aérea (NTPA) o teor foi multiplicado pela MPAS das plantas de cada vaso.

#### 5.5 TEOR DE UREÍDOS NAS FOLHAS E PECÍOLOS

As amostras de folha e pecíolos secos foram moídas separadamente em micromoinho (1 mm de malha) e, posteriormente, foi determinado o teor de N ureído em 300 mg de cada tecido, com base na metodologia de Vogels & Van der Drift (1970).

#### 5.6 NITROGÊNIO FOLIAR

As amostras moídas conforme descrito no item 5.5 também foram utilizadas na determinação dos teores de N-amida, N-amônio e N-nitrato. A determinação do N-amida foi baseada no método de Boddey et al. (1987). A determinação do N-amônio foi baseada no método de Mitchell (1972), mas a solução de hipoclorito de sódio foi substituída por dicloroisocianurato de sódio, segundo Felker (1977). A determinação do N-nitrato foi realizada pelo método de Cataldo et al. (1975), com pequenas modificações sugeridas por Hungria (1994a).

#### 5.7 CARBOIDRATOS SOLÚVEIS NOS NÓDULOS

O método utilizado para determinação do teor de carboidratos solúveis nos nódulos foi baseado em Haissig & Dickson (1979) e Ou-Lee & Setter (1985).

## 5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Previamente às análises de variância (ANAVA) foram avaliados os pré-requisitos da normalidade e independência dos erros, a não aditividade do modelo e a homogeneidade de variâncias dos tratamentos (SHAPIRO; WILK, 1965; PARENTE, 1984; TUKEY, 1949, BURR; FOSTER, 1972). Com esses procedimentos foi possível, pela ANAVA, obter a estatística F para os efeitos de tratamentos.

Foram considerados dois métodos de análise, segundo um delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial. No primeiro, para cada grupo de hábito de crescimento, foram avaliados os efeitos dos tratamentos de N em combinação com cada uma das sete cultivares (7 x 4), visando-se avaliar o efeito dos tratamentos de N em cada cultivar, independente do hábito de crescimento. Esses resultados encontram-se nos anexos e não serão discutidos nesse trabalho. No segundo, considerou-se a análise conjunta dos dois grupos de crescimento frente aos tratamentos de N (2 x 4), visando avaliar o efeito dos tratamentos de N frente aos diferentes hábitos de crescimento e não na cultivar isoladamente.

Constatada a significância estatística para o efeito de tratamentos, foi aplicado o teste de comparações múltiplas de médias pelo método de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As análises foram realizadas com os programas estatísticos SISVAR<sup>®</sup> (FERREIRA, 2008), SAS (SAS Institute, 2009) e SANEST (ZONTA; MACHADO; SILVEIRA JÚNIOR, 1982).

## 6. RESULTADOS

### 6.1 CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Os resultados de MRS, MPAS e a relação entre MPAS e MRS são apresentados na Tabela 3. As cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentaram maior MRS, independente do tratamento de N. Por sua vez, não houve efeito dos tratamentos de N na MRS, independente do hábito de crescimento.

As cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentaram maior MPAS, independente do tratamento de N. Quanto aos tratamentos de N, independente do hábito de crescimento, a aplicação de N mineral em semeadura e em cobertura [T4] proporcionou maior MPAS em relação às plantas do tratamento testemunha [T1] e do tratamento com adição de N mineral na semeadura [T2].

As cultivares de hábito de crescimento determinado apresentaram maior relação parte aérea/raiz. Independente do hábito de crescimento, as plantas apresentaram maior relação parte aérea/raiz no tratamento [T4] quando comparadas às plantas do tratamento testemunha [T1] e às do tratamento [T2].

**Tabela 3** - Efeito da adubação com N mineral no crescimento das plantas (massa da parte aérea seca, MPAS; massa da raiz seca, MRS; e a relação entre MPAS/MRS) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semente na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).

Hábito de crescimento	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
----- MRS (g/pl) -----					
Determinado	2,12	2,19	2,32	2,19	2,21 b
Indeterminado	2,57	2,45	2,43	2,46	2,48 a
Média	2,35 A	2,32 A	2,37 A	2,32 A	
ANAVA	Trat. N (N) = ns	Hábito (H) = **	N x H = ns	C.V. (%) 6,57	
----- MPAS (g/pl) -----					
Determinado	8,60	8,12	8,78	9,03	8,63 b
Indeterminado	8,98	9,08	9,23	9,71	9,25 a
Média	8,79 B	8,60 B	9,00 AB	9,37 A	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = ns	C.V. (%) 3,94	
----- MPAS/MRS (g/pl) -----					
Determinado	4,20	3,87	4,15	4,36	4,14 a
Indeterminado	3,64	3,56	4,08	4,21	3,87 b
Média	3,92 BC	3,71 C	4,11 AB	4,29 A	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = ns	C.V. (%) 11,13	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

## 6.2 NODULAÇÃO

Os resultados de NN, MNS e a relação entre NN e MNS estão apresentados na Tabela 4. As cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentaram, na média dos tratamentos de N, maior NN por planta. Já a adição de N mineral causou diminuição do NN, independente do hábito de crescimento das plantas de soja, sendo que a maior nodulação foi observada no tratamento [T1] em relação ao tratamento [T4], que recebeu N mineral na semente e em cobertura. A variável MNS diminuiu pela adição de N mineral, nesse caso em interação com o hábito de crescimento, sendo mais prejudicial nas cultivares de hábito de crescimento determinado, sobretudo quando recebeu N mineral na semente [T2] e na semente e em cobertura [T4].

A testemunha somente com FBN [T1] apresentou maior massa específica de nódulos em relação às plantas de todos os tratamentos que receberam N mineral. Não houve diferença de massa específica de nódulos entre os hábitos de crescimento das cultivares.

**Tabela 4** - Efeito da adubação com N mineral na nodulação (número de nódulos, NN; massa de nódulos secos, MNS; massa específica de nódulos) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral na semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).

Hábito de crescimento	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
-----NN (nód./pl.) -----					
Determinado	67,00	55,17	63,08	45,62	57,72 b
Indeterminado	73,51	64,25	68,97	56,51	65,81 a
Média	70,25 A	59,71 AB	66,02 A	51,07 B	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = ns	C.V. (%) 14,8	
-----MNS (g/pl.) -----					
Determinado	0,20 a A	0,13 b B	0,12 a B	0,07 b C	0,13
Indeterminado	0,20 a A	0,15 a B	0,14 a B	0,13 a B	0,15
Média	0,20	0,14	0,13	0,10	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 11,13	
-----massa específica (mg/nód.) -----					
Determinado	3,15	2,50	2,14	1,70	2,37 a
Indeterminado	3,12	2,49	2,09	2,38	2,52 a
Média	3,14 A	2,50 B	2,11 B	2,04 B	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = ns	N x H = ns	C.V.(%) 21,01	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

### 6.3 NITROGÊNIO FOLIAR E UREÍDOS NA FOLHA E PECÍOLO

Os teores de N-nitrato, N-amônio e N-amida na folha e os teores de ureídos na folha e no pecíolo são apresentados na Tabela 5.

As cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentaram, em todos os tratamentos de N, maior teor de nitrato. Nas plantas de hábito determinado que receberam N mineral apenas na semeadura [T2] apresentaram os menores teores de nitrato, enquanto que as plantas que receberam N mineral em cobertura

[T3] apresentaram o maior teor de nitrato. Embora menos expressivo, resultado semelhante também foi observado nas cultivares de hábito indeterminado, em que o fornecimento de N mineral em cobertura aumentou os teores foliares de nitrato.

Os teores de amônio foram mais elevados nas cultivares de crescimento indeterminado nos tratamentos [T1] e [T2], tendo havido uma inversão no tratamento [T3] e não diferença em [T4]. Entretanto, desdobrando-se a interação em cada hábito de crescimento, o nitrato de amônio aplicado em cobertura nos tratamentos [T3] e [T4] resultou em maior teor foliar de amônio em comparação à testemunha [T1] apenas nas cultivares de hábito determinado.

O teor foliar de amida variou com o hábito de crescimento em interação com os tratamentos de N. No tratamento testemunha sem N mineral [T1] os teores foram mais elevados nas plantas de hábito de crescimento determinado. Entretanto, quando as plantas receberam N mineral, seja na semeadura, na cobertura, ou em ambas, maiores teores foram observados nas plantas de hábito de crescimento indeterminado. Quanto aos efeitos dos tratamentos de N, tanto nas plantas de crescimento determinado, quanto indeterminado, os teores diminuíram pela adição de N mineral somente em semeadura [T2]. Já nos tratamentos com adição de N mineral em cobertura, [T3] e [T4], houve aumento nos teores de amida, em ambos hábitos de crescimento, especialmente quando o N mineral não foi fornecido na semeadura [T3].

O teor de ureídeos decresceu em razão da adição de N mineral, tanto na folha quanto no pecíolo. As plantas apenas com inoculação [T1] apresentaram, nos dois hábitos de crescimento, maior teor de ureídeos quando comparadas às dos demais tratamentos que receberam N mineral. A diminuição foi mais pronunciada quando as plantas receberam N mineral apenas na semeadura [T2]. Quando as plantas receberam N mineral em cobertura [T3], apresentaram o segundo maior teor. Independente do tratamento de N, as cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentaram maiores teores foliares. Já no pecíolo, as concentrações mudaram com o tratamento de N, sendo que as cultivares indeterminadas apresentaram menores teores na testemunha [T1] e no tratamento [T3], enquanto no tratamento [T2] houve uma inversão, mas não diferiram em [T4].

**Tabela 5** - Efeito da adubação com N mineral no teor de N-nitrato, N-amônio e N-amida e nos teores de ureídeos (folha e pecíolo) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semente na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).

Hábito de crescimento	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
-----Teor Nitrato (µmol/g)-----					
Determinado	0,74 b C	0,65 b D	0,93 b A	0,84 b B	0,79
Indeterminado	1,02 a B	1,04 a B	1,09 a AB	1,16 a A	1,08
Média	0,88	0,85	1,01	1,00	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 4,35	
-----Teor Amônio (µmol/g)-----					
Determinado	2,38 b B	2,45 b B	2,74 a A	2,67 a A	2,56
Indeterminado	2,51 a A	2,61 a A	2,61 b A	2,62 a A	2,59
Média	2,45	2,53	2,68	2,64	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 2,51	
-----Teor Amida (µmol/g)-----					
Determinado	2,34 a C	1,24 b D	2,63 b A	2,41 b B	2,16
Indeterminado	2,10 b C	1,51 a D	3,05 a A	2,60 a B	2,32
Média	2,22	1,38	2,84	2,51	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 1,45	
-----Teor Ureidos Folha (µmol/g)-----					
Determinado	2,69 b A	1,41 b D	2,24 b B	1,92 b C	2,07
Indeterminado	3,00 a A	1,57 a D	2,45 a B	2,27 a C	2,32
Média	2,84	1,49	2,35	2,10	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 1,69	
-----Teor Ureidos Pecíolo (µmol/g)-----					
Determinado	18,64 a A	10,84 b D	16,15 a B	15,28 a C	15,22
Indeterminado	18,24 b A	11,12 a D	15,92 b B	15,37 a C	15,17
Média	18,44	10,98	16,04	15,32	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 1,86	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

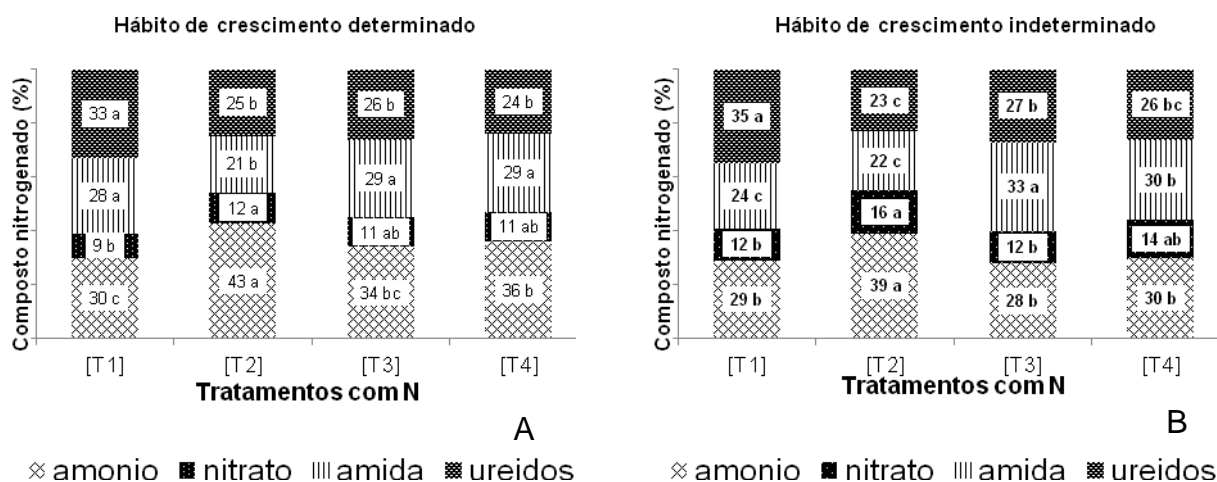
A proporção relativa de cada composto nitrogenado envolvido no transporte de N está apresentada na Figura 1. No tratamento testemunha somente com FBN, o teor de ureído foliar representou maior porcentagem em relação aos teores de amônio, nitrato e amida, independente do hábito de crescimento das cultivares. Já nos tratamentos com fornecimento de N mineral, a maior porcentagem foi constatada nos teores de amônio, seguidos dos teores de amida e de nitrato, tanto nas cultivares de hábito de crescimento determinado (Figura 1A), quanto nas de hábito de crescimento indeterminado (Figura 1B).

Nas plantas de hábito determinado, as que se beneficiaram somente da FBN apresentaram teor de ureído foliar correspondente a 33% dos compostos nitrogenados, enquanto os teores de amônio, nitrato e amida, corresponderam 30%, 9% e 28%, respectivamente. Nas de hábito de crescimento indeterminado foi observado resultado semelhante, em que as plantas do tratamento testemunha apresentaram 35% do N foliar na forma de ureído, enquanto teores de amônio, nitrato e amida, corresponderam a 29%, 12% e 24%, respectivamente.

Nos tratamentos com fornecimento de N mineral em semeadura e/ou cobertura, nas cultivares de hábito determinado, o teor de amônio apresentou maior porcentagem em relação aos demais compostos nitrogenados nos tratamentos [T2], [T3] e [T4]. O teor de amônio aumentou com a aplicação de ureia em semeadura no tratamento [T2] nas plantas dos dois hábitos de crescimento.

O teor de nitrato variou pouco com adição de N mineral em semeadura e/ou cobertura em ambos os hábitos de crescimento, representando as menores porcentagens de compostos nitrogenados nas plantas em todos os tratamentos.

**Figura 1** - Proporção relativa de compostos nitrogenados envolvidos no transporte de N determinados em folhas de cultivares de soja de hábito de crescimento determinado (A) e indeterminado (B), inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral na semente na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. Médias seguidas de mesma letra minúsculas nas faixas correspondentes a cada variável, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).



#### 6.4 NITROGÊNIO NA PLANTA

Os resultados dos teores de nitrogênio e nitrogênio total acumulado na parte aérea (NTPA) estão apresentados na Tabela 6.

A adição de N mineral diminuiu o teor de N na parte aérea quando comparado à testemunha só com FBN, sendo o efeito mais drástico quando as plantas receberam N mineral em semente. Esse efeito foi mais intenso nas plantas de hábito de crescimento determinado. No tratamento testemunha sem N mineral as plantas de crescimento determinado apresentaram maior teor de N, enquanto que nos tratamentos em que houve adição de N mineral, maiores teores foram encontrados nas cultivares de crescimento indeterminado, exceto no tratamento em que a adição de N mineral foi somente em cobertura [T3], caso em que os teores não diferiram entre si.

As plantas de crescimento determinado apresentaram maiores valores de NTPA no tratamento testemunha e apresentaram redução com aplicação de N mineral. Nas cultivares indeterminadas, entretanto, apenas as plantas do tratamento que recebeu N mineral em semente [T2] tiveram redução. Quando se considera o efeito dos tratamentos de N frente aos hábitos de crescimento das cultivares, as

indeterminadas apresentaram maiores acúmulos em todos os tratamentos que receberam N mineral.

**Tabela 6** - Efeito da adubação com N mineral no teor de nitrogênio total e nitrogênio total acumulado na parte aérea (NTPA) em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semente na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).

Hábito de crescimento	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
-----Teor de N (g/kg) -----					
Determinado	27,48 a A	18,03 b D	25,42 a B	24,54 b C	23,87
Indeterminado	26,96 b A	18,97 a C	25,56 a B	25,66 a B	24,29
Média	27,22	18,50	25,49	25,10	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V. (%) 1,45	
-----NTPA (mg/pl) -----					
Determinado	236,48 a A	146,02 b C	223,01 b B	221,73 b B	206,81
Indeterminado	242,81 a A	172,98 a B	236,07 a A	248,03 a A	224,98
Média	239,65	159,50	229,54	234,88	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 3,35	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

## 6.5 CARBOIDRATOS NOS NÓDULOS

O teor de carboidratos nos nódulos decresceu em razão da adição de N mineral em ambos os hábitos de crescimento, sendo mais prejudicial quando as plantas receberam N mineral na semente [T2]. Contudo, as diminuições foram mais intensas nas cultivares de hábito de crescimento determinado (Tabela 7).

No tratamento testemunha [T1] sem a adição de N mineral, as cultivares de hábito de crescimento indeterminado apresentam menores teores de carboidratos nos nódulos, porém, quando receberam N mineral apresentaram os maiores teores.

**Tabela 7** - Efeito da adubação com N mineral no teor de carboidratos nos nódulos, em cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N mineral; [T2] - N mineral em semente em dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 35, sete cultivares de cada hábito de crescimento).

Hábito de crescimento	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
	----- Carboidratos (g/kg) -----				
Determinado	49,84 a A	34,28 b C	39,63 b B	35,24 b C	39,75
Indeterminado	48,36 b A	38,72 a C	45,88 a B	38,76 a C	42,93
Média	49,10	36,50	42,75	37,00	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Hábito (H) = **	N x H = **	C.V.(%) 2,47	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

## 7. DISCUSSÃO

Diferenças genótípicas em soja quanto à fixação biológica do  $N_2$  já haviam sido relatadas desde os primeiros ensaios conduzidos no Brasil (DÖBEREINER; ARRUDA, 1967). Comparando-se as cultivares de hábito de crescimento determinado e indeterminado frente à aplicação ou não de N mineral, foi observado que as mesmas apresentam comportamento distinto, daí a importância de se investigar o desempenho de novas cultivares como as de hábito de crescimento indeterminado, buscando informações para que a FBN continue a ser aproveitada ao máximo nos sistemas de produção da soja no Brasil.

As respostas da MRS e MPAS de cultivares de soja à adição de N mineral são variáveis, mas quando positivas, geralmente não resultam em incrementos na produtividade de grãos, a não ser quando algum fator ambiental (estresse hídrico, acidez excessiva, altas temperaturas), inoculação inadequada (incompatibilidade com produtos químicos para tratamentos de sementes, subdosagens e inoculação desuniforme) ou disponibilidade de N mineral no solo impedem a expressão de todo o potencial da FBN (HUNGRIA et al., 2001; 2005).

Neste estudo, a aplicação de N mineral na semeadura e/ou cobertura reduziu a nodulação, expressa pelo número, assim como pela massa de nódulos. Esses resultados corroboram os obtidos por Loureiro et al. (2001) e Hungria et al. (2006), em que a aplicação de 50 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura promoveu decréscimo na nodulação e na massa de nódulos em relação ao controle somente com inoculação. Desde a década de 60 há relatos de que o fornecimento de N mineral interfere negativamente na eficiência da fixação biológica de nitrogênio, reduzindo a nodulação e a massa de nódulos em leguminosas (ALLOS; BARTHOLEMEU, 1959; WEBER, 1966). Estudos recentes de Bottomley e Myrold (2007) confirmam que o N mineral pode, dependendo da dose, inibir a formação e deteriorar nódulos já formados, afetando a FBN. Esses mesmos autores relatam que a aplicação de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N promoveu redução da nodulação, que resultou na diminuição da quantidade de nitrogênio fixado biologicamente, afetando negativamente o rendimento de grãos de soja.

Apesar das diferenças no NN, MNS e na relação NN/MNS entre as cultivares de hábito de crescimento distintos, frente aos tratamentos de N, todas as plantas apresentaram entre 46 e 74 nódulos e entre 70 e 200 mg de nódulos por planta. O

número de nódulos entre 15 e 30 e massa de nódulos entre 100 a 200 mg por planta são suficientes para garantir o fornecimento de N requerido por uma planta de soja para seu desenvolvimento (HUNGRIA et al., 2007), corroborando os resultados obtidos no presente estudo. Entretanto, as cultivares de hábito de crescimento determinado que receberam N mineral em semeadura e cobertura apresentaram massa menor que 100 mg porque os nódulos foram prejudicados pelo suprimento de N mineral.

Em diversos estudos a soja se mostra sensível aos fertilizantes nitrogenados, com prejuízos à nodulação inicial, resultando em perdas no rendimento da cultura. Segundo Hungria et al. (2000) o fornecimento de 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na semeadura resultou em diminuição na nodulação em 14%, corroborando os resultados obtidos nesse estudo, em que a adição de dose similar na semeadura reduziu a nodulação em 17% nas cultivares de hábito de crescimento determinado e 12% nas cultivares indeterminadas. No tratamento que além do N mineral em semeadura também se adicionou N mineral em cobertura, a redução na nodulação chegou a 32% e 23%, nas cultivares de hábito de crescimento determinado e indeterminado, respectivamente.

Em geral, o fornecimento de N mineral aumentou a MPAS, mas os teores de ureídeos, tanto nas folhas como nos pecíolos, teor de N e NTPA, decresceram com a adição de N mineral, independente do hábito de crescimento da soja, indicando prejuízos à FBN. Segundo Deaker et al. (2004), o teor de N na parte aérea das plantas que recebem N mineral pode até diminuir, uma vez que o fertilizante nitrogenado afeta negativamente a FBN, reduzindo a nodulação e, conseqüentemente, o teor de N na parte aérea.

O menor acúmulo de N nas plantas, sobretudo nos tratamentos com fornecimento de N mineral na semeadura, é explicado pela menor nodulação verificada, independente do hábito de crescimento. O menor aporte de N para a parte aérea resulta em menores teores de clorofila nas folhas (ARGENTA et al., 2001) e reduz a eficiência fotossintéticas das plantas. O maior acúmulo de NTPA nas plantas somente com a inoculação em relação às que receberam N mineral é um indicativo da eficiência da FBN (FERNANDES JÚNIOR et al., 2009).

No tratamento com adição de N mineral somente em cobertura, exceto MNS e massa específica de nódulos, os valores da maioria das variáveis foram maiores em relação aos encontrados nas plantas do tratamento com adição de N mineral em

semeadura. Nas plantas que receberam N mineral somente em cobertura, os nódulos tiveram tempo de se desenvolver e contribuir para a FBN, da mesma forma que as plantas do tratamento testemunha até o dia da adubação de cobertura. O N mineral aplicado na semeadura prejudica a nodulação inicial e, conseqüentemente, a FBN (BERGAMIN et al., 2007; HUNGRIA et al., 2000). Entretanto, mesmo tendo as mesmas condições das plantas testemunhas até o momento da adubação de cobertura, bastou receber N mineral para reduzir a massa de nódulos, corroborando os resultados de Aratani et al. (2008) em que a adubação nitrogenada na soja, independente da época de aplicação, não alterou o número, mas reduziu a massa de nódulos em relação ao tratamento sem aplicação de N mineral.

Segundo King e Purcell (2005), o principal meio de transporte de nitrogênio da soja, dos nódulos para a parte aérea, é na forma de ureídos (alantoína e ácido alantoico), atuando como principais produtos da FBN que entram no metabolismo nitrogenado global da espécie (MÜLLER, 1981; VARGAS; HUNGRIA,1997). Nos tratamentos com adição de N mineral foram constatados efeitos negativos nos teores de ureídos, tanto nas folhas, quanto nos pecíolos, indicando efeito negativo à FBN. De acordo com Bergensen (1982), quando leguminosas são cultivadas na presença de N mineral, a concentração de ureídos pode diminuir, o que indica a inibição da FBN.

A aplicação de N mineral em cobertura foi menos prejudicial aos teores de ureídos em relação à aplicação em semeadura. Isso ocorreu porque as plantas que receberam N em cobertura permaneceram nas mesmas condições das plantas sem N mineral por 32 dias, quando só então receberam N mineral. Durante esse período, tiveram tempo para se beneficiar da FBN e acumular os compostos de transporte de N. Essa observação indica que a aplicação de N mineral na semeadura foi a que mais prejudicou o processo da FBN na soja.

Apesar das diferenças intrínsecas a cada hábito de crescimento, observa-se que houve uma resposta diferenciada à adição de N. Neste trabalho, o fornecimento de N mineral aumentou os teores de N-nitrato, N-amônio e N-amida. Já as plantas que se beneficiaram apenas da inoculação apresentaram cerca de 10% a mais de ureídos nas folhas em relação aos teores das demais formas de N transportadas, o que confirma que a síntese de ureídos é reduzida na presença de N mineral.

O tipo de composto nitrogenado transportado da raiz para a parte aérea das plantas foi dependente do tipo de N fornecido (FBN e/ou N mineral). Herridge e

Peoples (1990) demonstraram que os teores de compostos nitrogenados nos tecidos da planta, tanto a campo como em casa de vegetação, podem ser utilizados para estimar a FBN. Neste mesmo trabalho, os autores confirmaram, por meio da técnica da diluição isotópica de  $^{15}\text{N}$ , a teoria de que quanto maior e mais eficiente a FBN, maior o teor de ureídeos nos tecidos das plantas.

É importante considerar que a adubação com N mineral aumenta os custos de produção, porém, não necessariamente resulta em ganhos significativos de produtividade, como já relatado em outros estudos (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; MENDES et al., 2008). Resultados observados por Hungria et al. (2006) apontaram redução na produtividade da soja inoculada e que recebeu  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N em relação à testemunha somente com inoculação. Crispino et al. (2001) não obtiveram incrementos na produtividade de grãos por duas cultivares de soja inoculadas e que receberam  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na semeadura, verificando que somente a inoculação possibilitou um suprimento satisfatório de N à cultura. Diversos trabalhos relatam a capacidade da FBN em suprir a demanda de N para a cultura da soja, demonstrando que não há necessidade de adubação nitrogenada concomitantemente com a inoculação (VARGAS; PEREZ; SUHET, 1982; MENDES; HUNGRIA; VARGAS, 2003; HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Respostas positivas da cultura da soja ao N mineral somente ocorrerão em condições em que a FBN é prejudicada por algum fator externo, sobretudo os que comprometem a sobrevivência da bactéria após a inoculação, tais como: incompatibilidade com produtos químicos adicionados às sementes, acidez do solo, deficiência de nutrientes como P, Ca, Co e Mo, falta de umidade adequada e altas temperaturas do solo. Quando os procedimentos de boas práticas de inoculação e manejo da fertilidade do solo são adequadamente observados, as possibilidades de respostas da soja em termos de ganho de produtividade pela adubação nitrogenada são ínfimas ou nulas.

Recentemente tem surgido questionamentos se as cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado necessitam de complementação com N mineral devido ao seu maior período de florescimento. Contudo, foi notado nesse estudo que as plantas que receberam N mineral não tiveram incrementos significativos no teor de N e no NTPA, enquanto que as plantas sem N mineral apresentaram teores e acúmulos de N cerca de 20% maiores em relação aos tratamentos que receberam N mineral em cultivares de hábito de crescimento

determinado. Resultado semelhante foi observado também nas cultivares de hábito de crescimento indeterminado, em que as plantas apenas com FBN apresentaram valores mais de 10% maiores em relação às que receberam N mineral.

As plantas com suprimento de N apenas via FBN apresentaram 25% mais carboidratos solúveis nos nódulos, o que evidencia o efeito negativo da adição de N mineral na translocação de fontes energéticas para os nódulos em atividade. Para maior eficiência da fixação de  $N_2$  atmosférico, maiores teores de nitrogênio na parte aérea da planta, dentro de certos limites, possibilitam maiores taxas fotossintética e, conseqüentemente, maior suprimento de carboidratos aos nódulos (KASCHUK et al., 2010). Neste trabalho, a adição de N mineral também levou a prejuízos à FBN pela diminuição dos teores de carboidratos nos nódulos, o que pode levar a falhas no metabolismo do C, com comprometimento no fornecimento de substratos de C, como o malato, principal fonte de energia usada pelos bacteroides (KASCHUK et al., 2010). Assim, a adição de N mineral em qualquer fase de desenvolvimento da soja estaria comprometendo não apenas o metabolismo de N, mas também de C nos nódulos, sendo essas atividades essenciais ao funcionamento do processo de FBN.

Além dos prejuízos à FBN, a utilização de N mineral na cultura da soja representa maior risco ambiental e para a saúde humana (PEOPLES et al., 2004). Carvalho (2009) relata que o aumento das aplicações de fertilizantes nitrogenados tem sido indicado como um dos responsáveis pela emissão de óxido nitroso para a atmosfera, contribuindo para o aumento do efeito estufa, além de aumentar os riscos de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por nitrato, o qual é prejudicial não apenas ao ambiente, mas também à saúde humana.

Em suma, a FBN deve continuar a ser a prática mais ambientalmente e economicamente viável de fornecimento de N à soja, de modo a contribuir para a sustentabilidade do sistema de produção da cultura e assegurando sua competitividade no mercado internacional.

## 8. CONCLUSÕES

A adição de N mineral às cultivares de soja, independente do seu hábito de crescimento e da época de aplicação, causou efeitos negativos nos atributos relacionados à FBN, indicando que essa prática compromete a eficiência da FBN na cultura de soja;

Os efeitos negativos do N mineral aos atributos relacionados à FBN são mais evidentes quando aplicado na semeadura. Entretanto, com a aplicação em cobertura, os efeitos negativos também são perceptíveis. A pior condição foi observada quando o N mineral foi aplicado na semeadura e também em cobertura;

A adição de N mineral não aumentou a concentração e o acúmulo de N na parte aérea de soja aos 52 dias após a emergência, e em vários casos os reduziram em relação às plantas que só receberam inoculação com *Bradyrhizobium*.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Quadros – Exportações do Complexo Soja – 1992 a 2013**. Disponível em: <[http://www.abiove.com.br/exporta\\_br.html](http://www.abiove.com.br/exporta_br.html)>. Acesso em: 27 out. 2012.

ALLOS, H. F.; BARTHOLOMEU, W.W. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. **Soil Science**, v. 87, p. 61-66, 1959.

ANDA – ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Principais indicadores do setor de fertilizantes**. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/estatisticas.aspx>>. Acesso em: dez. 2011.

ANPII – ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES E IMPORTADORES DE INOCULANTES. **Vendas de inoculantes das empresas filiadas à ANPII**. Disponível em: <<http://www.anpii.org.br/estatistica/2/>>. Acesso em: 11 nov. 2012.

ANTÓN, M.R.F. Interacciones microorganismos-suelo-planta en la preservación del medio ambiente y la salud. **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**, v. 70, p. 743-776, 2004.

ARATANI, R.G.; LAZARINI, E.; MARQUES, R.R.; BACKES, C. Adubação nitrogenada em soja na implantação do sistema plantio direto. **Bioscience Journal**, v. 24, p. 31-38, 2008.

ARAÚJO, A.S.F.; CARVALHO, E.M.S. Fixação biológica de nitrogênio em fabaceae. **Comunicado Técnico**, v. 11, p. 1-4, 2006.

ARGENTA, G.; DA SILVA, P.R.F.; BORTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M.L. Relação entre o teor de clorofila extraível e leitura do clorofilômetro na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 158-167, 2001.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science Technology**, v. 11, p. 557-574, 2001.

BERGAMIN, A.C.; VENTUROSU, L.R.; VALADÃO JÚNIOR, D.D.; CARON, B.O.; SCHMIDT, D.; SEMAN, O.B.; LIMA, W.A.; OLIVEIRA, W.B.; CONUS, L.A.; BARROS, L.S. **Resposta de cultivares de soja à inoculação de sementes e adubação nitrogenada em Rolim de Moura – RO**. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, Londrina, p. 32, 2007.

BERGENSEN, F.J. **Root nodules of legumes, structure and functions**. Botanical research studies. p. 164, 1982.

BERNARD, R.L. Two genes affecting stem termination in soybean. **Crop Science**, v. 12, p. 235-239, 1972.

BLACK, R.J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectiva. In: CÂMARA, G. M. S. (Ed.). **Soja: tecnologia de produção II**. Piracicaba: ESALQ, p. 1-18, 2000.

BODDEY, R.M.; PEREIRA, J.A.R.; HUNGRIA, M.; THOMAS, R.J.; NEVES, M.C.P. Methods for the study of nitrogen assimilation and transport in grain legumes. **MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 3, p. 3-22, 1987.

BODDEY, L.H.; HUNGRIA, M. Phenotypic grouping of Brazilian *Bradyrhizobium* strains which nodulate soybean. **Biology and Fertility of Soils**, v. 25, p. 407-415, 1997.

BOTTOMLEY, P.J.; MYROLD, D.D. Biological N inputs. In: PAUL, E. A. (Ed.). **Soil microbiology, ecology and biochemistry**. 3ª ed. Oxford: Academic Press, 2007. p. 365-388, 2007.

BRENCIC, A.; WINANS, S.C. Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. **Microbial and Molecular Biology Reviews**, v. 69, p. 155-194, 2005.

BROCKWELL, J.; GAULT, R.R.; HERRIDGE, D.F.; MORTHORPE, L.J.; ROUGHLEY, R.J. Studies on alternative means of legume inoculation: microbial and agronomic appraisals of commercial procedures for inoculating soybeans with *Bradyrhizobium japonicum*. **Australian Journal of agricultural Research**, v.39, p. 965-972, 1988.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. Mimeo series n<sup>o</sup> 282. University of Purdue, West Lafayette, 26p. 1972.

BURRIS, R.H. Advances in biological nitrogen fixation. **Journal of Industrial of Microbiology & Biotecnology**, v. 22, p. 381-393, 1999.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 32 p., 2000.

CAMPOS, B.H.C. Dose de inoculante turfoso para soja em plantio direto. **Ciência Rural**, v. 29, p. 423-426, 1999.

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**, v. 30, p. 69-76, 2006.

CARVALHO, G.D. Agricultura e aquecimento global: efeitos e mitigação. **Enciclopédia Biosfera**, v. 5, n. 8, 2009.

CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Community Science Plant**, v. 6, p. 71-80, 1975.

CHUNG, G.; SINGH, R.J. Broadening the genetic base of soybean: A multidisciplinary approach. **Plant Science**, v. 27, n. 5, p. 295-341, 2008.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Série histórica relativa às safras 1976/77 a 2010/11 - Soja**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina\\_objcmsconteudos=2#A\\_objcmsconteudos](http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos)>. Acesso em: dez. 2011a.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: décimo primeiro levantamento, agosto 2011**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11\\_08\\_09\\_11\\_44\\_03\\_boletim\\_agosto-2011..pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_08_09_11_44_03_boletim_agosto-2011..pdf)>. Acesso em: dez. 2011b.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos – safra 2012/2013 – primeiro levantamento**. Brasília: Conab, 2012.

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

CRISPINO, C.C.; FRANCHINI, J.C.; MORAES, J.Z.; SIBALDELLE, R.N.R.; LOUREIRO, M.F.; SANTOS, E.N.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Adubação nitrogenada na cultura de soja**. (Embrapa Soja. Comunicado Técnico, 75), 6p., 2001.

DALL'AGNOL, A. The impact of soybeans on the Brazilian economy. **AGJacto**, n.2, p.16-17, 2000.

DEAKER, R.; ROUGHLEY, R.; KENNEDY, I. Legume seed inoculation technology. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1275-1288, 2004.

DÖBEREINER, J.; ARRUDA, N.B. Interrelações entre variedades e nutrição na nodulação e simbiose da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 475-487, 1967.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil 2012 e 2013**. Londrina: Embrapa Soja, 261p., 2011.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil 2004 - A soja no Brasil**. Disponível em: <[www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm](http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm)> Acesso em: dez. 2011.

EMBRAPA. **Tecnologia de produção de soja - região central do Brasil - 2009/2010**. Londrina: Embrapa Soja, 262p., 2008.

EPSTEIN, E. Plants and inorganic nutrients. In: Hopkins, W.G. **Introduction to plant physiology**. 2 ed. New York, p. 61-67, 1999.

FELKER, P. Microdetermination of nitrogen in seed protein extratscs. **Analytical Chemistry**, v. 49, p. 1080, 1977.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; RORH, T.G.; OLIVEIRA, P.J.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. Polymers as carrier for rizhobial inoculant formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1184-1190, 2009.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p. 36-41, 2008.

FIGUEIREDO, M.V.B.; VILAR, J.J.; BURITY, H.A.; FRANÇA, F.P. Alleviation of water stress effects in cowpea by *Bradyrhizobium* spp. inoculation. **Plant Soil**, v. 207, p. 67-75, 1999.

FRED, E.B.; BALDWIN, I.L.; McCOY, E. **Root nodule bacteria of leguminous plants**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1932.

GERAHTY, N.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; JOSHI, P.A.; GRESSHOFF, P.M. Anatomical analysis of nodule development in soybean reveals an additional autoregulatory control point. **Plant Science**, v. 85, p. 1-7, 1992.

HAISSIG, B.E.; DICKSON, R.E. Starch measurement in plant tissue using enzymatic hydrolysis. **Plant Physiology**, v. 47, p. 151-157, 1979.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.R. **Soil fertility and fertilizers, an introduction to nutrient management**, p. 515, 1999.

HERRIDGE, D.F.; PEOPLES, M.B. Ureide assay for measuring nitrogen- fixation by nodulated soybean calibrated by <sup>15</sup>N methods. **Plant Physiology**, v. 93, p. 495, 1990.

HOMEM DE MELO, F. **Quase final da safra de grãos 2010/2011. E a Crise?** Informações FIPE, agosto de 2011. Disponível em: <[http://www.fipe.org.br/publicacoes/downloads/bif/2011/8\\_9-11-fern.pdf](http://www.fipe.org.br/publicacoes/downloads/bif/2011/8_9-11-fern.pdf)>. Acesso em: nov. 2011.

HUNGRIA, M. Metabolismo do carbono e do nitrogênio nos nódulos. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: Embrapa – SPI, p. 247-283, 1994a.

HUNGRIA, M. Sinais moleculares envolvidos na nodulação das leguminosas por rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, n. 3, p. 339-364, 1994b.

HUNGRIA, M.; BOHRER, T.R.J. Variability on nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivars. **Biology and Fertility of Soils**, n. 31, p. 45-52, 2000.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors impacting N<sub>2</sub> fixation in legumes grown in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p. 151-164, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.; CHUEIRE, L.; GRANGE, L.; MEGÍAS, M. Symbiotic effectiveness of fast-growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brasil.

**Biology and Fertility of Soils**, v.33, n.5, p.387-394, 2001.

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 Publishers, v. 4, p. 25-42, 2005.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K. (Ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston: Studium Press, LLC, p. 43-93, 2006.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; CRISPINO, C.C.; MORAES, J.Z.; SIBALDELLI, R.N.R.; MENDES, I.C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N<sub>2</sub> fixation and of N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

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

KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; LEFFELAAR P.A.; GILLER, K.E.; KUYPER, T.W. Differences in photosynthetic behaviour and leaf senescence of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] dependent on N<sub>2</sub> fixation or nitrate supply. **Plant Biology**, v. 12, p. 60–69, 2010.

KING, C.A.; PURCELL, A. Inhibition of N<sub>2</sub> fixation in soybean is associated with elevated ureides and amino acids. **Plant Physiology**, v. 137, p. 1389-1396, 2005.

KUYKENDALL, L.D.; SAXENA, B.; DEVINE, T.E.; UDELL, S.E. Genetic diversity in *Bradyrhizobium japonicum*, Jordan, 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 501-505, 1992.

LAZZAROTTO, J. J.; HIRAKURI, M. H. **Evolução e perspectivas de desempenho econômico associadas com a produção de soja nos contextos mundial brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, p. 46, 2011.

LOUREIRO, M.F.; SANTOS, E.N.; HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. **Efeito da reinoculação e da adubação nitrogenada no rendimento da soja em Mato Grosso**. Londrina: Embrapa Soja, 4p., 2001.

LUPWAYI, N.Z.; RICE, W.A.; CLAYTON, G.W. Rhizobial inoculants for legume crops. **Journal of Crop Improvement**, v. 15, p. 289-321, 2005.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. **Resposta da soja à adubação nitrogenada na semeadura, em sistema de plantio direto e convencional na Região do Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, v.12, 15p., 2000.

MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Soybean response to starter nitrogen and *Bradyrhizobium* inoculation on a Cerrado Oxisol under no-tillage and conventional tillage systems. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 81-87, 2003.

MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; HUNGRIA, M. SOUSA, D.M.G.; CAMPO, R.J. Adubação nitrogenada suplementar tardia em soja cultivada em latossolos do cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1053-1060, 2008.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 5 ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 849 p., 2001.

MITCHELL H.T. Microdetermination of nitrogen in plant tissues. **Journal Assesment Agricultural Chemistry**, v.55, p.1-3, 1972.

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

MULLER, L. Taxonomia e morfologia. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C., ed. **A Soja no Brasil**. 1ª ed. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, p. 65-108, 1981.

MUELLER, C. C. Dinâmica, condicionantes e impactos sócio-ambientais da evolução da fronteira agrícola no Brasil. **Instituto Sociedade, População e Natureza**, n. 7, 1992.

MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K.; BISSELING, T. Symbiotic nitrogen fixation. **The Plant Cell**, v. 7, p. 869-885, 1995.

NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. Diversity and adaptability of soyben and cowpea rhizobia in tropical soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, p. 889-895, 1997.

OU-LEE, T. M.; SETTER, T. L. Enzyme activities of starch and sucrose pathways and growth of apical and basal maize kernels. **Plant Physiology**, v. 79, p. 848-851, 1985.

PARENTE, R.C.P. **Aspectos da análise de resíduos**. Dissertação (Mestrado em agronomia) - ESALQ/USP, Piracicaba. 118.p, 1984.

PEOPLES, M.B.; BOYER, E.W.; GOULDING, K.W.T.; HEFFER, P.; OCHWOH, V.A.; VANLAUWE, B.; WOOD, S.; YAGI, K.; VAN CLEEMPUT, O. Pathways of nitrogen loss and their impacts on human health and the environment. In: MOSIER, A.; SYERS, J. K.; FRENEY, J. R. (Ed.). **Agriculture and the nitrogen cycle**:

assessing the impacts of fertilizer use on food production and the environment. Washington DC: Island Press, p. 53-69, 2004.

PICCOLO, M.C. **Biogeoquímica do nitrogênio em ecossistemas tropicais**. Piracicaba: CENA/USP. 2005.

PINTO, F.G.S.; HUNGRIA, M.; MERCANTE, F.M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N<sub>2</sub> with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, p. 1851-1864, 2007.

POLIDORO, J.C. **O molibdênio na nutrição nitrogenada e na fixação biológica de nitrogênio atmosférico associada à cultura de cana-de-açúcar**. Tese (Doutorado em Agronomia) - UFRRJ, Seropédica, RJ, 2001.

QUATTARA, S.; WEAVER, D.B. Effect of growth habit on yield components of late-planted soybean. **Crop Science**, v. 35, p. 411-415, 1995.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.E.; EICHHOR, S.E. **Plant biology**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 307-311, 2001.

RIBEIRO JÚNIOR, W.Q.; FRANCO, A.A.; LOPES, E.S. Eficiência de estirpes de *Bradyrhizobium* spp., para quatro leguminosas arbóreas e competitividade das estirpes em *Albizia lebbek* em Latossolo ácido. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v. 11, n. 2, p. 275-282, 1987.

RIVAS, R.; MARTENS, M.; DE LAJUDIE, P.; WILLEMS, A. Multilocus sequence analysis of the genus *Bradyrhizobium*. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 32, p. 101-110, 2009.

ROBINSON, S. L.; WILCOX, J. R. Comparison of determinate and indeterminate soybean near-isolines and their response to row spacing and planting date. **Crop Science**, v. 38, p. 1554-1557, 1998.

ROESSING, A.C.; SANCHES, A.C.; MICHELLON, E. **As Perspectivas de Expansão da Soja**. Anais dos Congressos. XLIII Congresso da Sober em Ribeirão Preto. São Paulo, 2005.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: User's Guide**. Version 9.2. Cary: SAS Institute, p. 7869, 2009.

SEARLE, P.L. The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. **Analyst**, v. 109, p. 549-568, 1984.

SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L.L. **Cultura da Soja – I Parte**. 3<sup>o</sup> Reimpressão. Viçosa: UFV, 1996.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C.; REIS, M.S. Melhoramento da Soja. In: BORÉM, A. (2ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, p. 553-604, 2005.

SHAPIRO, S.S; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**. v. 52. p. 591-611, 1965.

SINGH, B.B.; CHAMBLISS, O.L.; SHARMA, R.N.G.; GAMA, S.A.; TRIPLETT, E.W. **Bacteriocin production by *Bradyrhizobium* strains**. In: International Congress on Nitrogen Fixation, 10, Saint-Petersburg, Russia. p. 433. 1995.

SINGLETON, A.B.; KEYSER, H.; SANDE, E. Development and evaluation of liquid inoculants. In: HERRIDGE, D. (Ed.). **Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam**. Canberra: PK Editorial Services, p. 52-66, 2002.

SISLEGIS – SISTEMA DE CONSULTA À LEGISLAÇÃO. **Instrução Normativa N° 13, de 24 de março de 2011**. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 11 nov. 2012.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H.J. **Handbook for rhizobia: methods in legume-rhizobium technology**. New York: Springer-Verlag, 450 p., 1994.

TAÍZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artemed, 719 p., 2004.

TEANEY III, G.B.; FUHRMANN, J.J. Soybean response to nodulation by bradyrhizobia differing in rhizobitoxine phenotype. **Plant and Soil**, v. 145, p. 275-285, 1992.

TIMMERS, A.C.; AURIAC, M.C.; TRUCHET, G. Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium - Medicago* interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. **Development**, v. 126, p. 3617-3628, 1999.

TUKEY, J.W. One degree of freedom for non-additivity. **Biometrics**. v. 5, p. 232-242. 1949.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Production, Supply and Distribuiton Online**. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>>. Acesso em: nov. 2011.

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**, v. 17, p. 1127-1132, 1982.

VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 295-360, 1997.

VENCATO, A.Z. **Anuário Brasileiro da Soja 2010**. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, p. 144, 2010.

VOGELS, G.D.; VAN DER DRIFT, C. Differential analysis of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, v. 33, p. 143-157, 1970.

WANI, S.P.; RUPELA, O.P.; LEE, K.K. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. **Plant Soil**, v. 174, p. 29-49, 1995.

WEBER, C.R. Nodulating and nonnodulating soybean isolines:II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. **Agronomy Journal**, v. 58, p. 46-49, 1966.

WOODWORTH, C. Genetics of the soybean. **Journal American Society Agronomy**, v. 25, p. 36-51, 1933.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A., SILVEIRA JÚNIOR, P. **Sistema de análise estatística - SANEST**, Registro na SEI No. 066060. UFPEL, Pelotas, p. 63, 1982.

## 10. ANEXOS

1. Efeito da adubação com N mineral, no crescimento das plantas (massa da parte aérea seca, MPAS; massa da raiz seca, MRS; e a relação entre MPAS/MRS) em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral em semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento de N				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
----- MRS (g/pl.) -----					
Indeterminado					
(BMX Força)	2,63 ab A <sup>1</sup>	2,98 a A	2,27 bc A	2,57 ab A	2,61
(BMX Potência)	2,53 ab B	2,47 ab B	3,63 a A	3,16 a AB	2,95
(BMX Turbo)	3,06 a A	2,44 ab A	2,48 bc A	2,41 ab A	2,60
(BRS 283)	2,00 b AB	2,11 ab AB	1,67 c B	2,45 ab A	2,06
(BRS 284)	2,55 ab A	1,75 b B	2,49 bc AB	2,26 ab AB	2,26
(Nidera 5909 RR)	2,44 ab AB	2,71 a A	1,85 bc BC	1,66 b C	2,17
(V MAX RR)	2,81 ab A	2,69 a A	2,63 b A	2,72 ab A	2,71
Média	2,58	2,45	2,43	2,46	
ANAVA	Trat. N (N) = ns	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 18,95	
----- MRS (g/pl.) -----					
Determinado					
(BRS 184)	2,25 a A	2,24 ab A	2,17 bc A	2,41 a A	2,27
(BRS 232)	2,61 a A	2,44 ab A	2,76 b A	2,49 a A	2,58
(BRS 317)	2,18 a C	2,90 a BC	3,88 a A	2,93 a B	2,97
(BRS 295 RR)	2,03 a A	2,07 ab A	1,97 bc A	2,30 ab A	2,10
(Embrapa 48)	1,78 a A	1,70 b A	1,61 c A	1,44 c A	1,63
(BRS 255 RR)	1,83 a A	2,12 ab A	1,65 c A	1,55 bc A	1,79
(BRS 294 RR)	2,19 a A	1,88 b A	2,20 bc A	2,26 abc A	2,13
Média	2,13	2,20	2,32	2,20	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 19,89	
----- MPAS (g/pl.) -----					
Indeterminado					
(BMX Força)	7,99 b C	8,41 bcd C	9,77 b B	11,37 a A	9,38
(BMX Potência)	8,20 ab C	9,99 a B	11,58 a A	9,55 bc B	9,83
(BMX Turbo)	9,46 ab A	7,32 d B	8,58 bc AB	7,41 d B	8,19
(BRS 283)	9,20 ab B	9,91 ab AB	9,62 b AB	10,96 ab A	9,92
(BRS 284)	9,74 a AB	9,48 abc AB	8,53 bc B	10,52 ab A	9,57
(Nidera 5909 RR)	8,71 ab B	8,07 cd B	7,50 c B	10,16 ab A	8,61
(V MAX RR)	9,61 ab A	7,91 d B	9,06 b AB	8,02 cd B	8,65
Média	8,99	8,73	9,23	9,71	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 8,95	
----- MPAS (g/pl.) -----					
Determinado					
(BRS 184)	9,20 ab AB	9,30 ab A	7,93 b B	8,14 cd AB	8,64
(BRS 232)	7,40 c B	7,89 bcd AB	8,66 ab AB	9,12 bc A	8,27
(BRS 317)	8,59 abc A	7,06 cd B	8,88 ab A	7,72 cd AB	8,06
(BRS 295 RR)	8,72 abc B	8,31 abc B	9,16 ab AB	10,29 ab A	9,12
(Embrapa 48)	9,48 a A	7,86 bcd B	7,90 b B	9,94 ab A	8,79
(BRS 255 RR)	7,73 bc B	6,73 d B	9,78 a A	7,38 d B	7,90
(BRS 294 RR)	9,10 ab B	9,75 a AB	9,18 ab B	10,69 a A	9,68
Média	8,60	8,13	8,78	9,04	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 9,52	
----- MPAS/MSR (g/pl.) -----					
Indeterminado					
(BMX Força)	3,19 a AB	2,84 c B	4,36 ab A	4,44 bc A	3,71
(BMX Potência)	3,46 a A	4,34 abc A	3,27 b A	3,07 c A	3,53
(BMX Turbo)	3,11 a A	2,99 c A	3,47 b A	3,11 bc A	3,17
(BRS 283)	4,67 a A	4,69 ab A	5,90 a A	4,54 bc A	4,96
(BRS 284)	3,97 a B	5,47 a A	3,97 b B	4,74 b AB	4,54
(Nidera 5909 RR)	3,63 a B	2,99 c B	4,07 b B	6,66 a A	4,34
(V MAX RR)	3,50 a A	3,02 bc A	3,49 b A	2,97 c A	3,24
Média	3,65	3,77	4,08	4,22	
ANAVA	Trat. N (N) = ns	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 22,38	
----- MPAS/MRS (g/pl.) -----					
Determinado					
(BRS 184)	4,10 ab A	4,25 ab A	3,76 bc A	4,42 bc A	4,13
(BRS 232)	2,90 b A	3,25 ab A	3,17 bc A	3,68 bc A	3,25
(BRS 317)	4,06 ab A	2,47 b A	2,36 c A	2,65 c A	2,88
(BRS 295 RR)	4,41 ab A	4,04 ab A	4,86 ab A	4,93 b A	4,56
(Embrapa 48)	5,45 a AB	4,67 ab B	5,37 ab B	7,35 a A	5,71
(BRS 255 RR)	4,25 ab AB	3,16 ab B	6,09 a A	4,81 bc AB	4,58
(BRS 294 RR)	4,25 ab A	5,28 a A	4,70 ab A	4,75 ab A	4,75
Média	4,20	3,87	4,33	4,66	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 27,95	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

2. Efeito da adubação com N mineral, na nodulação (número massa de nódulos secos) em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral na semeadura na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento de N				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
----- Número Nódulos (nód./pl.) -----					
Indeterminado					
(BMX Força)	90,80	69,00	75,80	61,40	74,25 ab
(BMX Potência)	72,40	85,80	90,20	99,40	86,95 a
(BMX Turbo)	58,40	38,80	56,00	38,60	47,95 d
(BRS 283)	65,00	53,80	47,00	49,40	53,80 cd
(BRS 284)	78,60	64,80	64,00	48,60	64,00 bcd
(Nidera 5909 RR)	69,60	75,00	72,60	39,80	64,25 bcd
(V MAX RR)	79,80	62,60	77,20	58,40	69,50 abc
Média	73,51 A	64,25 AB	68,97 AB	56,51 B	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = ns	C.V. (%) 31,51	
----- Número Nódulos (nód./pl.) -----					
Determinado					
(BRS 184)	67,40	55,60	64,80	49,80	59,40 ab
(BRS 232)	70,00	48,80	57,00	45,00	55,20 ab
(BRS 317)	81,60	71,00	69,40	53,60	68,90 a
(BRS 295 RR)	63,20	49,00	49,60	43,20	51,25 ab
(Embrapa 48)	52,20	54,20	51,60	30,00	47,00 b
(BRS 255 RR)	57,00	58,60	61,60	44,00	55,30 ab
(BRS 294 RR)	77,60	49,00	87,60	53,80	67,00 a
Média	67,00 A	55,17 AB	63,08 A	45,63 B	
ANOVA	Trat. N (N) = *	Cultivar (C) = *	N x C = ns	C.V.(%) 33,96	
----- Massa Nódulos (g/pl.) -----					
Indeterminado					
(BMX Força)	0,31 ab A	0,23 a AB	0,19 a BC	0,10 b C	0,21
(BMX Potência)	0,14 c B	0,16 ab B	0,10 a B	0,34 a A	0,18
(BMX Turbo)	0,15 c AB	0,21 ab A	0,13 a AB	0,05 b B	0,13
(BRS 283)	0,18 c A	0,14 ab A	0,11 a A	0,16 b A	0,15
(BRS 284)	0,12 c A	0,09 b A	0,13 a A	0,14 b A	0,12
(Nidera 5909 RR)	0,19 bc A	0,24 a A	0,17 a A	0,06 b B	0,17
(V MAX RR)	0,35 a A	0,16 ab B	0,17 a B	0,07 b B	0,18
Média	0,21	0,18	0,14	0,13	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 38,05	
----- Massa Nódulos (g/pl.) -----					
Determinado					
(BRS 184)	0,33 a A	0,17 a B	0,16 ab B	0,08 ab C	0,18
(BRS 232)	0,23 bc A	0,13 ab B	0,14 abc B	0,13 a B	0,16
(BRS 317)	0,18 cd A	0,18 a A	0,12 abc AB	0,07 ab B	0,14
(BRS 295 RR)	0,14 d A	0,10 ab AB	0,10 bc AB	0,05 ab B	0,10
(Embrapa 48)	0,13 d AB	0,15 a A	0,07 c BC	0,04 b C	0,10
(BRS 255 RR)	0,17 cd A	0,14 ab AB	0,20 a A	0,08 ab B	0,15
(BRS 294 RR)	0,30 ab A	0,06 b B	0,12 abc B	0,07 ab B	0,14
Média	0,21	0,13	0,13	0,07	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V.(%) 33,23	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

3. Efeito da adubação com N mineral no teor de nitrogênio e nitrogênio total da parte aérea (NTPA) em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral em semente na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semente e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento de N				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
Indeterminado	----- Teor de N (g/kg) -----				
(BMX Força)	25,07 c AB	18,34 b C	23,50 d B	26,44 b A	23,34
(BMX Potência)	24,50 c A	19,22 ab B	25,37 bcd A	24,16 c A	23,31
(BMX Turbo)	28,00 b A	18,65 ab C	24,61 cd B	25,22 bc B	24,12
(BRS 283)	30,18 a A	19,10 ab D	27,15 ab B	24,03 c C	25,11
(BRS 284)	24,38 c A	19,39 ab B	25,81 bc A	24,51 bc A	23,52
(Nidera 5909 RR)	25,81 c A	17,74 b B	24,26 cd A	25,36 bc A	23,29
(V MAX RR)	30,82 a A	20,40 a C	28,24 a B	29,93 a AB	27,35
Média	26,96	18,98	25,56	25,67	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 4,67	
Determinado	----- Teor de N (g/kg) -----				
(BRS 184)	28,19 b A	13,71 b C	24,75 bc B	23,96 b B	22,78
(BRS 232)	26,82 bcd A	18,36 a D	24,76 bc B	20,64 c C	22,65
(BRS 317)	31,06 a A	19,69 a D	24,91 bc C	27,83 a B	25,87
(BRS 295 RR)	26,70 bcd AB	18,36 a C	25,22 b B	27,12 a A	24,35
(Embrapa 48)	28,08 bc A	18,05 a C	26,40 b A	23,98 b B	24,13
(BRS 255 RR)	25,98 cd A	18,20 a C	22,79 c B	23,04 b B	22,50
(BRS 294 RR)	25,57 d B	19,88 a C	29,12 a A	24,74 b B	24,83
Média	27,49	18,04 a	25,42	24,54	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 4,73	
Indeterminado	----- NTPA (mg/vaso) -----				
(BMX Força)	198,95 c B	154,70 ab C	229,62 bcd B	300,27 a A	220,86
(BMX Potência)	201,03 c BC	191,66 a C	293,77 a A	230,67 b B	229,28
(BMX Turbo)	264,92 ab A	135,92 b C	211,10 de B	187,23 c B	199,79
(BRS 283)	277,25 a A	188,75 a B	260,33 ab A	263,37 ab A	247,43
(BRS 284)	237,49 bc AB	184,03 a C	219,64 cde B	257,03 b A	224,55
(Nidera 5909 RR)	224,49 c A	143,39 b C	181,95 e B	257,80 b A	201,90
(V MAX RR)	295,56 a A	161,17 ab C	256,15 abc B	239,91 b B	238,20
Média	242,82	165,66	236,08	248,04	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 9,32	
Determinado	----- NTPA (mg/vaso) -----				
(BRS 184)	257,94 a A	127,55 b C	196,14 b B	199,17 cde B	195,20
(BRS 232)	199,07 b A	144,80 b B	214,63 b A	188,43 de A	186,73
(BRS 317)	266,68 a A	138,76 b C	221,28 b B	214,87 cd B	210,40
(BRS 295 RR)	232,14 ab B	152,45 b C	230,86 ab B	278,90 a A	223,59
(Embrapa 48)	266,38 a A	141,70 b C	208,61 b B	237,98 bc AB	213,66
(BRS 255 RR)	200,82 b AB	122,36 b C	222,63 b A	169,82 e B	179,16
(BRS 294 RR)	232,52 ab B	193,60 a C	266,99 a A	263,00 ab AB	239,02
Média	236,51	146,03	223,02	221,74	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 9,92	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

4. Efeito da adubação com N mineral, nos teores de N-nitrato, N-amônio e N-amida, em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral em sementeira na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em sementeira e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
Indeterminado					
	Teor de nitrato (µmol/g)				
(BMX Força)	1,12 b B	0,90 b C	1,41 a A	1,34 a A	1,19
(BMX Potência)	1,30 b A	0,87 b B	1,07 b A	0,96 c AB	1,00
(BMX Turbo)	1,13 b BC	1,41 a A	1,03 bc C	1,24 ab AB	1,20
(BRS 283)	0,71 c B	1,22 a A	1,30 a A	1,23 ab A	1,11
(BRS 284)	1,37 a A	1,27 a A	0,82 cd C	1,08 bc B	1,13
(Nidera 5909 RR)	1,00 b B	1,31 a A	1,24 ab A	1,16 abc AB	1,18
(V MAX RR)	0,72 c B	0,35 c C	0,79 d B	1,12 abc A	0,75
Média	1,03	1,04	1,09	1,16	
ANOVA	Trat N (N) =ns	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 10,47	
Determinado					
	Teor de nitrato (µmol/g)				
(BRS 184)	0,34 d B	0,37 c B	0,68 d A	0,60 e A	0,50
(BRS 232)	0,92 b A	0,57 b BC	0,71 d B	0,52 e C	0,68
(BRS 317)	0,42 d C	0,39 c C	0,62 d B	1,13 a A	0,64
(BRS 295 RR)	1,42 a A	0,88 a BC	0,97 c B	0,79 d C	1,01
(Embrapa 48)	0,62 c C	0,62 b C	1,43 a A	0,95 bc B	0,90
(BRS 255 RR)	0,58 c B	0,86 a A	0,91 c A	0,84 cd A	0,80
(BRS 294 RR)	0,92 b C	0,92 a C	1,25 b A	1,10 ab B	1,05
Média	0,75	0,66	0,85	0,94	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V.(%) 10,50	
Indeterminado					
	Teor de amônio (µmol/g)				
(BMX Força)	2,65 ab B	2,76 b B	2,61 c B	2,98 a A	2,75
(BMX Potência)	2,59 b A	2,72 b A	2,58 c A	2,59 b A	2,62
(BMX Turbo)	1,98 d C	2,19 d B	1,86 d C	2,38 cd A	2,10
(BRS 283)	2,58 b A	2,71 b A	2,60 c A	2,27 d B	2,54
(BRS 284)	2,41 c B	2,47 c B	2,88 b A	2,46 bc B	2,55
(Nidera 5909 RR)	2,60 b BC	2,46 c C	3,09 a A	2,63 b B	2,70
(V MAX RR)	2,81 a B	2,99 a A	2,71 c B	3,07 a A	2,90
Média	2,52	2,61	2,62	2,63	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 3,53	
Determinado					
	Teor de amônio (µmol/g)				
(BRS 184)	2,24 ab C	2,45 b BC	2,97 a A	2,65 bc AB	2,58
(BRS 232)	2,29 ab C	2,39 b C	2,80 a B	3,34 a A	2,71
(BRS 317)	2,62 a B	3,05 a A	3,12 a A	2,97 ab AB	2,94
(BRS 295 RR)	2,40 ab B	3,10 a A	2,89 a A	2,37 c B	2,69
(Embrapa 48)	2,56 ab AB	2,33 b B	2,83 a A	2,70 bc A	2,61
(BRS 255 RR)	2,18 b B	1,53 c C	2,83 a A	2,80 b A	2,34
(BRS 294 RR)	2,39 ab BC	2,31 b C	2,82 a A	2,74 bc AB	2,57
Média	2,39	2,45	2,80	2,90	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = ns	C.V.(%) 8,32	
Indeterminado					
	Teor de amida (µmol/g)				
(BMX Força)	2,93 a A	1,40 ab C	3,08 c A	2,67 b B	2,52
(BMX Potência)	2,16 b B	1,55 ab C	3,19 bc A	2,12 c B	2,25
(BMX Turbo)	2,31 b B	1,52 ab C	3,36 b A	3,44 a A	2,66
(BRS 283)	1,55 c C	1,48 ab C	2,63 d A	2,27 c B	1,98
(BRS 284)	2,31 b B	1,61 a C	3,83 a A	2,35 c B	2,53
(Nidera 5909 RR)	1,44 c C	1,31 b C	2,78 d B	3,30 a A	2,21
(V MAX RR)	2,05 b B	1,49 ab C	2,51 d A	2,10 c B	2,04
Média	1,50	2,10	2,60	3,05	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 6,41	
Determinado					
	Teor de amida (µmol/g)				
(BRS 184)	2,35 c B	0,91 b D	3,28 c A	1,19 d C	1,93
(BRS 232)	3,67 a A	1,02 b C	2,41 d B	3,59 b A	2,67
(BRS 317)	2,81 b A	0,96 b D	1,34 e C	1,56 c B	1,67
(BRS 295 RR)	2,94 b C	0,92 b D	3,72 b B	3,92 a A	2,87
(Embrapa 48)	1,72 d A	0,95 b C	1,33 e B	1,46 c B	1,36
(BRS 255 RR)	1,06 e C	1,69 a B	4,08 a A	1,60 c B	2,11
(BRS 294 RR)	1,87 d C	1,83 a C	2,29 d B	3,59 b A	2,39
Média	2,35	1,30	2,63	2,42	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V.(%) 4,38	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

5. Efeito da adubação com N mineral nos teores de ureídeos (folha e pecíolo) em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral em sementeira na dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em sementeira e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
Indeterminado					
	----- N ureído folha (µmol/g) -----				
(BMX Força)	3,60 a A	1,81 a C	2,70 a B	2,51 ab B	2,65
(BMX Potência)	2,52 d A	1,17 c C	1,80 d B	1,77 c B	1,81
(BMX Turbo)	3,42 bc A	1,48 b C	2,72 a B	2,60 a B	2,51
(BRS 283)	2,66 d A	1,74 a C	2,45 b B	2,33 b B	2,29
(BRS 284)	2,61 d A	1,42 b D	2,18 c B	1,81 c C	2,00
(Nidera 5909 RR)	3,06 c A	1,61 ab D	2,60 ab B	2,32 b C	2,40
(V MAX RR)	3,35 b A	1,79 a C	2,77 a B	2,60 a B	2,63
Média	3,00	1,57	2,46	2,28	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = ns	C.V. (%) 5,29	
Determinado					
	----- N ureído folha (µmol/g) -----				
(BRS 184)	3,08 a A	1,29 cd C	1,53 e B	1,55 c B	1,86
(BRS 232)	3,31 a A	1,67 ab C	2,94 a A	2,59 a B	2,58
(BRS 317)	2,77 b A	1,45 bc D	2,49 bc B	2,19 b C	2,23
(BRS 295 RR)	2,67 b A	1,05 d D	2,34 de B	1,64 c C	1,93
(Embrapa 48)	2,75 b A	1,52 bc C	2,20 d B	1,62 c C	2,02
(BRS 255 RR)	1,80 c A	1,08 d C	1,61 e A	1,37 c B	1,46
(BRS 294 RR)	2,90 ab A	1,84 a C	2,63 b B	2,52 a B	2,48
Média	2,73	1,41	2,25	1,93	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 6,78	
Indeterminado					
	----- N ureído pecíolo (µmol/g) -----				
(BMX Força)	17,97 b A	8,95 f C	17,98 a A	17,05 a B	15,49
(BMX Potência)	17,09 c A	11,90 c D	13,84 e C	14,53 cd B	14,34
(BMX Turbo)	19,87 a A	9,37 ef C	13,68 e B	13,23 e B	14,04
(BRS 283)	17,92 b A	13,06 b D	17,18 b B	16,13 b C	16,07
(BRS 284)	16,56 c A	10,49 d D	15,02 d B	14,15 d C	14,06
(Nidera 5909 RR)	19,98 a A	14,12 a D	17,99 a B	17,39 a C	17,37
(V MAX RR)	18,33 b A	10,03 de D	15,80 c B	15,16 c C	14,83
Média	18,25	11,13	15,93	15,38	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 2,30	
Determinado					
	----- N ureído pecíolo (µmol/g) -----				
(BRS 184)	20,90 a A	15,88 a D	18,90 a B	18,10 ab C	18,44
(BRS 232)	19,68 b A	14,47 b D	18,82 ab B	18,24 a C	17,80
(BRS 317)	18,88 c A	8,66 d D	18,22 b B	17,47 b C	15,81
(BRS 295 RR)	18,92 c A	8,48 d C	16,19 c B	15,94 c B	14,88
(Embrapa 48)	17,63 d A	9,90 c D	12,03 d B	11,43 e C	12,75
(BRS 255 RR)	17,10 d A	8,32 d D	12,65 d B	11,15 e C	12,30
(BRS 294 RR)	17,39 d A	10,19 c D	16,27 c B	14,64 d C	14,62
Média	18,64	10,84	16,15	15,28	
ANOVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 2,19	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.

6. Efeito da adubação com N mineral no teor de carboidratos nos nódulos, em sete cultivares de soja de hábito de crescimento indeterminado e sete cultivares de hábito determinado, inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA 5079) e *B. elkanii* (SEMIA 587). [T1] - sem N-mineral; [T2] - N mineral em semeadura em dose equivalente 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de ureia; [T3] - N mineral em cobertura na dose equivalente a 50 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de nitrato de amônio; [T4] - N mineral em semeadura e em cobertura, dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N. (n = 5)

Hábito (Cultivar)	Tratamento				Média
	[T1]	[T2]	[T3]	[T4]	
Indeterminado	----- Carboidratos (g/kg) -----				
(BMX Força)	50,24 b A	37,08 bcd C	45,47 bcd B	40,35 ab C	43,28
(BMX Potência)	44,96 c A	40,68 b BC	44,05 cd AB	36,90 bc C	41,65
(BMX Turbo)	46,54 bc A	33,64 d C	42,21 cd B	33,37 c C	38,94
(BRS 283)	55,67 a A	40,53 bc C	46,35 bc B	44,56 a BC	46,78
(BRS 284)	59,78 a A	50,22 a B	52,21 a B	38,41 b C	50,15
(Nidera 5909 RR)	44,53 c B	35,79 cd C	49,62 ab A	36,40 bc C	41,59
(V MAX RR)	47,28 bc A	33,10 d C	41,26 d B	38,79 b B	40,11
Média	49,85	38,72	45,88	38,40	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V. (%) 5,93	
	----- Carboidratos (g/kg) -----				
BRS 184	45,67 b A	28,28 d C	34,40 d B	31,73 d BC	35,02
BRS 232	57,06 a A	32,70 c B	31,73 de B	33,18 cd B	38,67
BRS 317	54,75 a A	31,13 cd C	53,47 a A	35,74 abcd B	43,77
BRS 295 RR	54,70 a A	37,40 ab C	45,21 b B	38,65 a C	43,99
Embrapa 48	53,90 a A	39,33 a BC	41,97 bc B	37,31 ab C	43,12
BRS 255 RR	40,47 c A	37,78 a AB	29,87 e C	36,76 abc B	36,22
BRS 294 RR	42,37 bc A	33,36 bc B	40,79 c A	33,34 bcd B	37,47
Média	49,85	34,28	39,64	35,24	
ANAVA	Trat. N (N) = **	Cultivar (C) = **	N x C = **	C.V.(%) 5,38	

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). \*\*, significativo a p≤0,05; ns, não significativo.