

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Matheus Martins Ferreira

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DA SOJA PELO MANEJO DE
GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO**

Santa Maria, RS

2019

Matheus Martins Ferreira

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DA SOJA PELO MANEJO DE GLYPHOSATE E DA
CO-INOCULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS
2019

Ferreira, Matheus Martins
DESEMPENHO AGRONÔMICO DA SOJA PELO MANEJO DE
GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO / Matheus Martins
Ferreira.- 2019.
46 p.; 30 cm

Orientador: Thomas Newton Martin
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2019

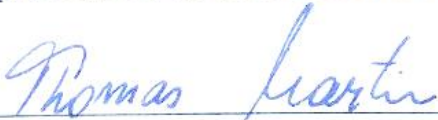
1. Controle químico 2. Bactérias diazotróficas 3.
Fixação biológica 4. Glycine max L. I. Newton Martin,
Thomas II. Título.

Matheus Martins Ferreira

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DA SOJA PELO MANEJO DE
GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

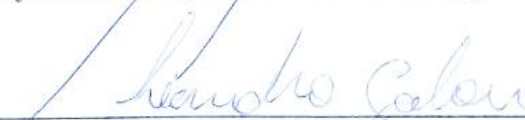
Aprovado em 28 de fevereiro de 2019:



Dr. Thomas Newton Martin, (UFSM) (Presidente/orientador)



Dr. Sylvio Henrique Bidel Dornelles, (UFSM)



Dr. Leandro Galon, (UFFS)

Santa Maria, RS, Brasil

2019

DEDICO

Dedico este trabalho aos meus amados pais, José Caetano Soares Ferreira (*in memoriam*) e Maria das Graças Martins Ferreira, maiores incentivadores e fontes inesgotáveis de apoio, amor e compreensão, e aos meus irmãos Marcelo Martins Ferreira e Maycon Martins Ferreira. Dedico a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste curso.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de todas as coisas, sempre ao nosso lado dando-nos a sabedoria para realização de nossos projetos.

Ao Prof. Dr. Thomas Newton Martin pela orientação e pelo apoio para que eu realizasse o curso de Pós Graduação.

Aos demais professores, minha gratidão a todos que estão contribuindo na minha formação profissional.

A Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, e ao Programa de Pós Graduação em Agronomia pela oportunidade de realização deste curso.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Giovane Matias Burg (Burguesia), Guilherme Almeida (Borracha), Esequiel Jardim, Glauber Fipke, Jessica Stecca, Evandro Ademir Deak, Dionatas Rodrigues e Marlo Bison.

A todos os colegas do grupo de pesquisa de manejo em grande culturas de coxilha.

A turma do Resort da Beti, Cilon (Pai de todos), Letícia (Minha namorada), Fernanda (Tibola), Isabel (Bebel), Leonardo (Leozeira) e Wendel (Paulista)

A todos os colegas de curso pelo convívio e pelos momentos de amizade.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa.

A CAPES pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

RESUMO

DESEMPENHO AGRONÔMICO DA SOJA PELO MANEJO DE GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO

AUTOR: Matheus Martins Ferreira

ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

A produção economicamente viável da soja é dependente da eficiência da fixação biológica de nitrogênio. Objetivou-se com essa pesquisa avaliar o manejo do glyphosate e da co-inoculação no desempenho agronômico da soja. Foram realizados três experimentos, sendo dois a campo e um em casa de vegetação. Os experimentos no campo foram feitos em blocos ao acaso, distribuído em um fatorial 3x5, com quatro repetições em duas épocas de semeadura. O primeiro fator foi constituído por três combinações de inoculação: (i) co-inoculação; (ii) inoculação; (iii) sem inoculação. O segundo fator foi composto por uma testemunha e quatro formas de manejo das plantas daninhas com o herbicida glyphosate: (i) - testemunha capinada sem aplicação de glyphosate, (ii) - uma aplicação em pós-emergência, (iii) - dessecação 10 dias antes da semeadura + uma aplicação em pós-emergência, (iv) - duas aplicações em pós-emergência, (v) - dessecação 10 dias antes da semeadura + duas aplicações em pós-emergência. O experimento em casa de vegetação foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, distribuído em um fatorial 2x5, com quatro repetições. O primeiro fator foi composto por duas combinações de inoculação: (i) co-inoculação e (ii) inoculação. O segundo fator foi composto por quatro sais de glyphosate: (i) sal de isopropilamina, (ii) sal de amônio, (iii) sal de potássio, (iv) sal de Di-amônio e (v) uma testemunha sem aplicação de glyphosate. No campo foram avaliados o número e massa dos nódulos por planta, produtividade de grãos e a massa de 1000 grãos. Na casa de vegetação foram avaliados o número e massa dos nódulos por planta, a massa seca da parte aérea e raiz e a fitotoxicidade do herbicida. Os manejos com o glyphosate reduziram os nódulos da soja, porém sem efeito na produtividade da cultura. A co-inoculação não aumentou a nodulação e a produtividade da soja nas condições de campo, entretanto, aumentou a nodulação em ambiente controlado.

Palavras-chave: Controle químico. Bactérias diazotróficas. Fixação biológica. *Glycine max* L.

ABSTRACT

AGRONOMIC PERFORMANCE OF SOYBEAN BY THE MANAGEMENT OF GLYPHOSATE AND CO-INOCULATION

AUTHOR: Matheus Martins Ferreira

ADVISOR: Thomas Newton Martin

The economically viable production of soybean is dependent on the efficiency of biological nitrogen fixation. The objective of this research was to evaluate the management of glyphosate and co-inoculation in soybean agronomic performance. Three experiments were carried out, two in the field and one in greenhouse. The experiments in the field were done in randomized blocks distributed in a 3x5 factorial with four replications in two sowing seasons. The first factor consisted of three inoculation combinations: (i) co-inoculation; (ii) inoculation; (iii) without inoculation. The second factor was composed of a control and four forms of weed management with the herbicide glyphosate: (i) - weed control without application of glyphosate, (ii) - a post-emergence application, (iii) - desiccation 10 days (v) - desiccation 10 days before sowing + two post-emergence applications, (iv) - two post-emergence applications. The greenhouse experiment was conducted in a completely randomized design distributed in a 2x5 factorial with four replicates. The first factor was composed of two inoculation combinations: (i) co-inoculation, (ii) inoculation. The second factor was composed of four glyphosate salts: (i) isopropylamine salt, (ii) ammonium salt, (iii) potassium salt, (iv) Di-ammonium salt and (v) a control without application of glyphosate. In the field were evaluated the number and mass of the nodules per plant, grain yield and the mass of 1000 grains. In the greenhouse were evaluated the number and mass of the nodules per plant, the dry weight of shoot and root and the herbicide phytotoxicity. Managements with glyphosate reduced soybean nodules, but with no effect on crop yield. Co-inoculation did not increase nodulation and soybean yield under field conditions, however, increased nodulation in a controlled environment.

Keywords: Chemical control. Diazotrophic bacteria. Biological fixation. *Glycine max* L.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 1- | Análise físico-químicas do solo da área do primeiro e segundo experimento. Santa Maria, RS, 2017..... | 20 |
| Tabela 2- | Resumo da análise de variância para verificação dos fatores tipos de inoculação e aplicações de glyphosate sobre as variáveis número de nódulos planta ⁻¹ (NN), massa seca de nódulos planta ⁻¹ (MSN), massa de mil grão (MMG) e produtividade de grãos (PG) de soja..... | 24 |
| Tabela 3- | Média do número de nódulos (NN, planta ⁻¹), massa seca de nódulos (MSN, g planta ⁻¹) e produtividade de grãos (PG, kg ha ⁻¹) de soja em função dos tipos de inoculação e aplicações de glyphosate em dois experimentos na safra 2017/18..... | 25 |
| Tabela 4- | Resumo da análise de variância para verificação dos fatores tipos de inoculação e sais de glyphosate sobre as variáveis número de nódulos planta ⁻¹ (NN), massa seca de nódulos planta ⁻¹ (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA) massa seca de raiz (MSR) e fitotoxicidade (FT) de soja..... | 29 |
| Tabela 5- | Média do número de nódulos (NN, planta ⁻¹), massa seca de nódulos (MSN, g planta ⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA, g planta ⁻¹), massa seca da raiz (MSR, g planta ⁻¹) e fitotoxicidade (FT, %) de soja em função dos tipos de inoculação e sais de glyphosate..... | 30 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Precipitação pluviométrica e temperatura durante a condução dos experimentos. Santa Maria, RS, safra 2017/18. *Flechas vermelhas = semeadura do primeiro e segundo experimento..... 22

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 10 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 3 ARTIGO - NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE SOJA PELO MANEJO DE GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO | 16 |
| RESUMO | 16 |
| ABSTRACT | 17 |
| INTRODUÇÃO | 18 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 20 |
| <i>Experimento em campo</i> | 20 |
| <i>Experimento em casa de vegetação</i> | 22 |
| <i>Análise estatística</i> | 23 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 24 |
| <i>Experimento em campo</i> | 24 |
| <i>Experimento em casa de vegetação</i> | 29 |
| CONCLUSÕES | 32 |
| REFERÊNCIAS..... | 32 |
| 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 39 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 40 |

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é a principal cultura produtora de grãos cultivada no Brasil. Com a expansão anual da área semeada (CONAB, 2018) e o lançamento de cultivares com maior potencial genético (DE FELIPE; GERDE; ROTUNDO, 2016), o país aumentou sua produção, alcançando 119 milhões de toneladas, tornando-se o segundo maior produtor mundial do grão (CONAB, 2018). A possibilidade do cultivo da soja sem aplicação de nitrogênio (N) mineral fez com que cultura se destacasse como fonte de proteína de origem vegetal de baixo custo (FAO, 2013).

A simbiose realizada entre a soja e bactérias fixadoras de N é o principal processo que supre a necessidade da planta por esse nutriente (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013). Nesse sentido, o uso de microrganismos visando otimizar o aproveitamento dos recursos do ambiente pela planta de soja, possibilitando que as cultivares expressem seu potencial produtivo é importante no sistema produtivo, principalmente os dependentes de fertilizantes químicos. A utilização de bactérias fixadoras de N foi um avanço importante no cultivo da soja, pois foi possível obter produtividades elevadas sem a aplicação externa de N, proporcionando ganhos econômicos e ambientais. No entanto, com o lançamento de cultivares de soja com maior potencial genético, que demandam maiores quantidades de N, há a necessidade de buscar alternativas para suprir a necessidade da planta. A utilização de combinações de diferentes bactérias que interagem sinergicamente está se tornando uma técnica promissora para atender a demanda da cultura.

A co-inoculação em soja, que é uma associação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense* mostrou ter grande potencial, promovendo aumento na produtividade da cultura (BRACCINI et al., 2016). Os incrementos variam entre 6,4 a 20% na produtividade de grãos de soja quando utilizada a co-inoculação com *Bradyrhizobium japonicum* e *A. brasilense* comparativamente com *B. japonicum* isolado (FIPKE et al., 2016; FERRI et al., 2017). No entanto, alguns trabalhos não evidenciaram ganho em produtividade devido a co-inoculação (BÁRBARO et al., 2009; ZUFFO et al., 2015).

A ausência de resposta da soja a co-inoculação pode estar relacionada a fatores de manejo do solo, da cultura e da própria co-inoculação, os quais podem alterar a dinâmica entre as duas bactérias e na interação com a planta. Dentre os fatores de manejo da cultura, o uso de agrotóxicos é citado como prejudicial às bactérias diazotróficas, sendo que os fungicidas (COSTA et al., 2013) e alguns herbicidas (PROCÓPIO et al., 2011) são os mais relatados. No caso dos herbicidas na cultura da soja, esses podem diminuir a eficiência das bactérias diazotróficas, uma vez que, microrganismos como o *Bradyrhizobium* pode ter processos essenciais para seu crescimento e desenvolvimento inibidos (DE MARÍA et al., 2006).

Um dos herbicidas amplamente utilizado no manejo de plantas daninhas na pós-emergência da soja é o glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine], devido ao grande número de cultivares resistente a essa molécula. Na maioria das lavouras é realizada duas aplicações de glyphosate, uma em pré-semeadura (dessecação) e outra em pós-emergência da cultura, mas pode ocorrer uma terceira (ULGUIM et al., 2013) ou até uma quarta aplicação durante o ciclo da cultura (SERRA et al., 2011), quando as aplicações anteriores não são eficientes no controle das plantas daninhas. Essas aplicações sequenciais de glyphosate durante o período de cultivo podem prejudicar as bactérias e diminuir a nodulação da soja (CHAGAS JUNIOR et al., 2013), sendo que, aplicações nos estádios iniciais de desenvolvimento (V2) apresentam maior potencial de redução (SANTOS et al., 2007a).

O glyphosate quando aplicado sobre a cultura da soja é absorvido rapidamente e, por apresentar mobilidade no floema, pode ser translocado junto com os fotoassimilados até as raízes, causando intoxicação das bactérias, reduzindo a nodulação (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004) e o crescimento do *A. brasilense* (PROCÓPIO et al., 2011). No entanto, o efeito tóxico do glyphosate pode variar em função do tipo de sal de glyphosate (HATZIO; PENNER, 1985) e dos demais ingredientes inertes presentes nas formulações comerciais (SANTOS et al., 2003).

Dentre os sais de glyphosate utilizados destacam-se o sal de isopropilamina, sal de amônio e sal de potássio (SANTOS et al., 2007b). Esses sais podem apresentar taxas de absorção e translocação diferenciadas na planta (LI et al., 2005; SANTOS et al., 2007b; MESCHEDÉ et al., 2015), o que também pode apresentar efeitos distintos sobre as bactérias dependendo do tipo do glyphosate utilizado (REIS et al., 2014). Segundo Santos et al. (2004) e Santos et al. (2007a), o Roundup Transorb que em sua formulação contém o sal de isopropilamina apresenta maior intoxicação das estirpes de *Bradyrhizobium* em relação aos outras formulações contendo outros sais. Portanto, dependendo do manejo com o glyphosate, a simbiose e a associação podem ficar comprometidas.

A presença dos microrganismos em uma área é afetada principalmente pelo seu manejo (IZQUIERDO; NÜSSLEIN, 2015). Nesse caso, tratando-se dos efeitos que os herbicidas a base de glyphosate podem surtir sobre os microrganismos diazotróficos é fundamental a procura do manejo que cause menor impacto. Com isso, a co-inoculação pode se tornar mais eficiente, atendendo a necessidade da planta por N e aumentando seu crescimento. Assim, as bactérias contribuem para a sustentabilidade do sistema produtivo, garantindo que a soja expresse seu potencial genético.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A área cultivada com a cultura da soja na safra 2017/18 no Brasil foi de 35 milhões de hectares, um aumento de 1,2 milhões de hectares em relação à safra anterior, atingindo 119,3 milhões de toneladas (CONAB, 2018). Os complexos de soja (grão, farelo e óleo) possuem grande importância nas cadeias agroindustriais no mundo, sendo utilizados na alimentação humana e animal (SOUZA et al., 2010).

Em função da grande demanda de soja e seus derivados para a alimentação mundial, muitas pesquisas foram direcionadas para aumentar a produção. Essa maior procura pelo grão levou a pesquisa a priorizar o desenvolvimento de cultivares de soja com maior potencial genético, o que consequentemente elevou a necessidade de nitrogênio (N) pelas plantas. Com isso, os estudos relacionadas à melhoria do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) pelas bactérias diazotróficas passaram a ter destaque no cenário agrícola (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

O N é um nutriente essencial para as plantas, pois faz parte da estrutura de vários compostos celulares como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos (TAIZ; ZEIGER, 2013). A soja necessita de grande quantidade de N, cerca de 80 kg para cada tonelada de grãos produzidos (em média 65 kg de N nos grãos e 15 kg de N na parte vegetativa), portanto, para uma produção média de 3 mil kg de grãos, a soja precisa absorver 240 kg de N, porém, considerando a eficiência da adubação mineral de 50%, necessita dobrar a quantidade a ser aplicada. No entanto, todo esse N pode ser fornecido por microrganismos que realizam a fixação biológica de N_2 , em solos com condições ótimas de fertilidade (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Dentre os microrganismos fixadores de N_2 , destacam-se um grupo de bactérias denominadas vulgarmente de “rizóbio” que possuem capacidade de nodular as raízes de plantas do grupo das leguminosas (SOMASEGARAN; HOBEN, 1985). Essas bactérias são gram-negativas, aeróbicas obrigatórias sem endosporos. Os gêneros de rizóbio podem ser diferenciados por meio de suas características culturais e morfológicas em meio 79 (extrato de levedura, manitol, sais e ágar), sendo que, as estirpes que apresentam crescimento lento, 7 a 13 horas e alcalinização do meio de cultivo são classificadas como *Bradyrhizobium* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Esse gênero de bactérias são os que auxiliam na nutrição da soja, por meio da fixação de N_2 atmosférico.

O *B. japonicum* é a espécie de bactéria recomendada para inoculação em soja no Brasil. A simbiose entre essa bactérias e a soja resulta na redução do N_2 a NH_3 nos nódulos radiculares, por meio da ação da enzima nitrogenase. Estima-se que esse processo de fixação biológica pode contribuir com mais de 300 kg ha^{-1} de N, além de liberar de 20 a 30 kg ha^{-1} de N para cultura subsequente (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; HUNGRIA; MENDES, 2015),

proporcionando uma economia de US\$ 7 bilhões ano⁻¹ no Brasil (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

Com a introdução de cultivares de soja mais produtivas, as bactérias precisam apresentar taxas mais elevadas de fixação de N₂ para que a demanda da planta por N seja totalmente suprida (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). Muitos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de melhorar o processo de fixação biológica, visando atingir altas produtividades sem a entrada de insumos externos. Nesse sentido, o uso de bactérias promotoras do crescimento está sendo empregado, pois apresentam sinergismos com bactérias que realizam a fixação simbiótica de N₂ (CATTELAN, 1999; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013), como no caso das utilizadas na cultura da soja (JUGE et al., 2012).

Dentre as bactérias promotoras do crescimento, as do gênero *Azospirillum* apresentam destaque. Essas bactérias de vida livre podem ser encontradas em diversos solos, associadas às raízes de gramíneas como trigo, arroz, milho e espécies forrageiras, além de outras plantas (DÖBEREINER; DAY, 1976). O *Azospirillum* proporciona um maior crescimento vegetal devido a sua capacidade de produzir hormônios do crescimento como auxinas, giberelinas e citocininas (HARTMAN; ZIMMER, 1994). Além disso, há um fornecimento de N₂ fixado assimbioticamente, da solubilização de fosfatos minerais e o controle de organismos fitopatogênicos por meio da produção de sideróforos, antibiótico, ácido cianídrico, *b*-1,3-glucanase e quitinases por essas bactérias (CATTELAN, 1999). Todos esses benefícios associados contribuem para diminuição dos estresses bióticos e abióticos enfrentados pelas culturas (FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018).

Os estudos com *A. brasilense* vem sendo realizados há muitos anos (DÖBEREINER; DAY, 1976), mas foi somente em 2009 que o primeiro inoculante contendo estirpes de *A. brasilense* foi lançado comercialmente (HUNGRIA, 2010), e mais recentemente inoculado junto com o *B. japonicum* na soja, objetivando incrementar os componentes de produtividade da cultura. A co-inoculação como é chamada a inoculação conjunta dessas duas bactérias apresentou em diversas pesquisas resultados positivos para a soja (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013; FIPKE et al., 2016; FERRI et al., 2017), do qual, os aumentos foram de até 20% na produtividade de grãos. No entanto, há uma variação grande nos resultados, sendo que, em alguns trabalhos não foram verificados resposta da co-inoculação na produtividade da soja (BÁRBARO et al., 2009; ZUFFO et al., 2015).

Os microrganismos diazotróficos são influenciados pelas modificações do meio, portanto, qualquer fator que provoque variações pode alterar a resposta desses microrganismos à associação com as plantas. Os fatores como os atributos físico-químicos do solo, umidade, temperatura, pH, matéria orgânica (BUCKLEY; SCHMITD, 2001) e principalmente o manejo, comumente alteram

a presença dos microrganismos (ORR et al., 2011; IZQUIERDO; NÜSSLEIN, 2015). Na cultura da soja, o manejo com a utilização de agrotóxicos pode ser um fator de alteração, influenciando a população de bactérias no solo e podendo acarretar em uma ineficiência da co-inoculação.

O glyphosate é um dos herbicidas mais utilizado no manejo de plantas daninhas na soja. O herbicida possui rápida translocação das folhas até a raiz, rizomas e meristemas apicais, apresentando amplo espectro de controle de plantas daninhas (FADIN et al., 2018). A inibição da atividade da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) pelo glyphosate acaba interferindo na biossíntese dos aminoácidos aromáticos essenciais tirosina, fenilalanina e triptofano nas plantas suscetíveis (FISCHER et al., 1986). Sem esses aminoácidos a planta não consegue sintetizar proteínas necessárias para processos vitais, resultando na sua morte (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). A planta de soja apresenta resistência ao glyphosate, no entanto, aproximadamente 45% das cultivares cultivadas no Brasil podem ser afetadas pelo herbicida (ZABIOLE et al., 2010).

Em microrganismos, os efeitos do glyphosate ainda não são bem esclarecidos. O herbicida é rapidamente adsorvido as partículas do solo (TONI; DIMAS; ZAIA, 2006), apresentando meia vida de apenas 32 dias, permanecendo inativo até sua total degradação e servindo como fonte de energia e fósforo para os microrganismos. Portanto, quando utilizado em doses recomendadas, o glyphosate não causa danos sobre os microrganismos do solo (GIESY; DOBSON; SOLOMON, 2000). No entanto, algumas bactérias podem responder negativamente a presença dessa molécula (COX, 2004; ANDRIGHETTI et al., 2014). Isso ocorre pois a molécula do glyphosate inibe a enzima EPSPs nas bactérias (BUSSE et al., 2001; DE MARÍA et al., 2006).

Por ser um herbicida aplicado na pós-emergência da soja e apresentar mobilidade no floema, a molécula do glyphosate pode ser transportada junto com os fotoassimilados até os nódulos (HERNANDEZ; GARCIA-PLAZAOLA; BECERRIL, 1999; ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004; SERRA et al., 2011). Assim, o constante uso do glyphosate tanto em pré-semeadura como na pós-emergência da soja geneticamente modificada (SANTOS et al., 2007), aumenta a presença dessa molécula no ambiente (SIQUEIRA et al., 2004) e conseqüentemente o contanto com as bactérias. Com isso, os efeitos do glyphosate sobre os microrganismos diazotróficos e na fixação biológica de N₂ vem sendo estudados por diversos autores (KING; PURCELL; VORIES, 2001; MALTY et al., 2006; PROCÓPIO et al., 2011; REIS et al., 2014; HUNGRIA et al., 2014), os quais encontraram diferentes respostas sobre estes microrganismos a ação desse herbicida.

Os efeitos do glyphosate sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio na soja podem variar em função da estirpe estudada, da dose utilizada, das condições experimentais (MOORMAN et al., 1992; JACQUES et al., 2010), da quantidade de aplicações (ANDRÉA et al., 2003; CHAGAS JUNIOR et al., 2013), do tipo de sal de glyphosate (REIS et al., 2014) e dos demais inertes

(SANTOS et al., 2003). O tipo de sal e os demais agentes químicos utilizados nos produtos comerciais podem surtir efeitos diferenciados sobre as bactérias utilizadas na soja. Santos et al. (2004) observaram diferentes respostas no crescimento de *Bradyrhizobium* quando foram submetidos a diferentes formulações comerciais do glyphosate. Segundo Santos et al. (2007a) a aplicação de glyphosate utilizando o produto comercial Roundup Transorb (sal de isopropilamina) em V2 foi mais prejudicial à nodulação da soja em comparação a formulação contendo o sal de potássio.

Dependendo do sal utilizado, a molécula de glyphosate pode acumular nos nódulos em diferentes quantidades (REDDY; ZABLOTOWICZ, 2003). Esse efeito entre os sais pode estar relacionado as diferentes taxas de absorção e translocação na planta (LI et al., 2005; SANTOS et al., 2007b; MESCHEDE et al., 2015). Nesse caso, fica evidente a necessidade de avaliar o sal que cause menor impacto à nodulação, pois diversos produtos contendo os diferentes sais são comercializados. Essa prática de manejo simples pode ser tornar importante na cultura da soja, pois a escolha correta do tipo de sal de glyphosate, aliado as formas de aplicação em pré-semeadura e pós-emergência podem contribuir para um boa nodulação e desempenho da cultura.

3 ARTIGO - NODULAÇÃO E PRODUTIVIDADE DE SOJA PELO MANEJO DE GLYPHOSATE E DA CO-INOCULAÇÃO

RESUMO – a produção economicamente viável da soja é dependente da eficiência da fixação biológica de nitrogênio. Objetivou-se com essa pesquisa verificar a nodulação e a produtividade da soja em função da co-inoculação e manejos com o glyphosate. Os experimentos foram realizados em campo, em duas épocas de semeadura na safra 2017/18 e em casa de vegetação no ano agrícola de 2018. Nos experimentos em campo, o primeiro fator foi constituído por três combinações de inoculação: (i) sem inoculação; (ii) inoculação; (iii) co-inoculação; e o segundo fator por quatro aplicações de glyphosate e uma testemunha: (i) - dessecação 10 dias antes da semeadura + uma aplicação em pós-emergência no estádio, (ii) - dessecação 10 dias antes da semeadura + duas aplicações em pós-emergência (iii) - uma aplicação em pós-emergência, (iv) - duas aplicações em pós-emergência, (v) - testemunha capinada sem aplicação de glyphosate. Foram avaliados o número e massa dos nódulos por planta, produtividade de grãos, massa de 1000 grãos. O experimento em casa de vegetação foi composto por duas combinações de inoculação, (i) inoculação; (ii) co-inoculação; e o segundo fator por quatro sais de glyphosate e uma testemunha; (i) - sal de isopropilamina; (ii) - sal de di-amônio; (iii) - sal de amônio; (iv) - sal de potássio; (v) - testemunha sem aplicação de glyphosate. Foram avaliados o número e massa dos nódulos por planta, massa seca da parte aérea e da raiz e fitotoxicidade. A co-inoculação não aumentou a nodulação e a produtividade da soja em campo, no entanto, aumentou a nodulação em ambiente controlado. Os manejos com o glyphosate reduziram os nódulos da soja, porém sem efeito na produtividade da cultura.

Palavras-chave: Controle químico. Bactérias diazotróficos. Fixação biológica. *Glycine max* L.

NODULATION AND YIELD OF SOYBEAN BY THE MANAGEMENT OF GLYPHOSATE AND CO-INOCULATION

ABSTRACT - the economically viable production of soybean is dependent on the efficiency of biological nitrogen fixation. The objective of this research was to verify nodulation and yield of soybeans as a function of co-inoculation and management with glyphosate. The experiments were carried out in the field, in two sowing seasons in the 2017/18 crop and in greenhouse in the agricultural year of 2018. In the field experiments, the first factor consisted of three inoculation combinations: (i) without inoculation; (ii) inoculation; (iii) co-inoculation; and the second factor for four applications of glyphosate and one control: (i) - desiccation 10 days before sowing + a post-emergence application at the stage, (ii) - desiccation 10 days before sowing + two post-emergence applications (iii) - a post-emergence application, (iv) - two post-emergence applications, (v) - weed control without application of glyphosate. The number and mass of nodules per plant, grain yield, and mass of 1000 grains were evaluated. The greenhouse experiment consisted of two inoculation combinations, (i) inoculation; (ii) co-inoculation; and the second factor by four glyphosate salts and one control; (i) isopropylamine salt; (ii) di-ammonium salt; (iii) - ammonium salt; (iv) potassium salt; (v) - control without application of glyphosate. The number and mass of the nodules per plant, dry mass of shoot and root and phytotoxicity were evaluated. Co-inoculation did not increase nodulation and soybean yield in the field, however, increased nodulation in a controlled environment. The glyphosate managements reduced soybean nodules, but without effect on crop yield.

Keywords: Chemical control. Diazotrophic bacteria. Biological fixation. *Glycine max* L.

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é uma cultura que necessita de grande quantidade de nitrogênio (N), cerca de 80 kg de N para cada tonelada de grãos produzidos (HUNGRIA; MENDES, 2015). Nessa ótica, se considerar a produtividade média de 3.394 kg ha⁻¹, área cultivada de 35 milhões de hectares e uma produção de 119,3 milhões de toneladas de grãos no Brasil na última safra (CONAB, 2018), a quantidade de N extraída anualmente pela cultura é muito elevada. No entanto, quase todo o N absorvido pela soja é fornecido por meio de bactérias, via fixação biológica de N (FBN) (HUNGRIA; MENDES, 2015), proporcionando uma economia de US\$ 7 bilhões ano⁻¹ (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013) e minimizando o impacto ambiental que poderia ser causado pela adição a longo prazo de grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados (GEISSELER; SCOW, 2014).

As bactérias do gênero *Bradyrhizobium* são capazes de nodular as raízes das plantas de soja, convertendo o nitrogênio atmosférico (N₂) à nitrogênio amoniacal (NH₃). Esse processo contribui com um aporte de mais de 300 kg ha⁻¹ de N, além de liberar de 20 a 30 kg ha⁻¹ de N para cultura subsequente (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). No entanto, com o ganho genético médio de 43 kg ha⁻¹ ano⁻¹ com a introdução de novas cultivares (DE FELIPE; GERDE; ROTUNDO, 2016) e em ambientes de alta produtividade (LA MENZA et al., 2017), que consequentemente requerem maiores quantidades de N para a cultura, a fixação biológica pode ser insuficiente. Com isso, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de aumentar a eficiência do processo de fixação biológica de nitrogênio, principalmente utilizando a inoculação em conjunto das bactérias do gênero *Bradyrhizobium* com o *Azospirillum brasilense*, a qual é conhecida como co-inoculação.

Na co-inoculação, o *A. brasilense* por meio da produção de hormônios como a auxina atua aumentando a interação planta-bactéria, induzindo as mesmas a produzirem mais flavonóides que atuam como sinais para a ativação de genes da nodulação nas bactérias (DARDANELLI et al., 2008; STAR et al., 2012; PEUNTE et al., 2017) e estimulando o maior crescimento das raízes (RADWAN; MOHAMED, REIS, 2004). Com isso, a co-inoculação vem apresentando resultados positivos, do qual foram verificados aumentos de 6,4 a 20 % na produtividade de grãos (FIPKE et al., 2016; FERRI et al., 2017), sendo esses resultados atribuídos a maior nodulação e crescimento das raízes da soja. No entanto, há pesquisas que não encontraram eficiência do método na nodulação e produtividade da soja (BÁRBARO et al., 2009; ZUFFO et al., 2015), evidenciando que essa técnica necessita de mais avaliações, tendo em vista os diversos fatores que afetam a dinâmica das bactérias no solo e com a planta.

As populações de microrganismos são dependentes de fatores como os atributos físico-químicos, umidade, temperatura, pH e matéria orgânica do solo (BUCKLEY; SCHMITD, 2001).

O manejo realizado pode influenciar esses fatores e acabar por alterar a presença dos microrganismos na área (ORR et al., 2011; IZQUIERDO; NÜSSLEIN, 2015). Algumas práticas de manejo na cultura da soja podem estar associados à manutenção da população das bactérias diazotróficas no solo e na interação dessas com a planta. Práticas como a aplicação de alguns tipos de herbicidas geralmente causam efeitos sobre as bactérias, principalmente as diazotróficas na cultura da soja, tais como as do gênero *Bradyrhizobium* e o *A. brasilense* (PROCÓPIO et al., 2011; REIS et al., 2014).

Atualmente, um dos herbicidas mais utilizados no controle de plantas daninhas em pré-mergulho e pós-emergência da soja GM é o glyphosate (ULGUIM et al., 2013). Esse herbicida possui alta mobilidade no floema, translocando das folhas até a raiz, rizomas e meristemas apicais, apresentando amplo espectro de controle em diversas plantas daninhas (FADIN et al., 2018). O seu mecanismo de ação consiste na inibição da atividade da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) e seu modo de ação é dado pela interferência na biossíntese dos aminoácidos aromáticos essenciais tirosina, fenilalanina e triptofano nas plantas suscetíveis (FISCHER et al., 1986), sem os quais ocorre a morte da planta pela deficiente síntese de proteínas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A molécula de glyphosate é fortemente adsorvida nas partículas do solo por um processo denominado troca de ligantes (TONI; DE SANTANA; ZAIA, 2006), apresentando meia vida de apenas 32 dias, permanecendo inativo até que seja realizada sua total degradação por microrganismos específicos presentes no solo, que utilizam a molécula como fonte de energia e fósforo (GIESY; DOBSON; SOLOMON, 2000). No entanto, como esse herbicida também é aplicado em pós-emergência da soja, as bactérias fixadoras de nitrogênio presentes nos nódulos podem ser afetadas (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004; SERRA et al., 2011), visto que, o glyphosate pode chegar até as raízes e inibir a enzima EPSPs das bactérias nos nódulos (BUSSE et al., 2001; DE MARÍA et al., 2006),

Os efeitos do glyphosate nas bactérias diazotróficas podem variar em função do tipo de sal presente na formulação (REIS et al., 2014) e dos demais ingredientes inertes (SANTOS et al., 2003). Além disso, mais aplicações durante o ciclo da cultura podem maximizar os efeitos negativos na nodulação da soja (ANDRÉA et al., 2003; CHAGAS JUNIOR et al., 2013), pois aumenta-se o contato das bactérias com o herbicida. Portanto, como durante o cultivo da soja pode ocorrer várias aplicações de glyphosate (SERRA et al., 2011; ULGUIM et al., 2013) e diferentes saís são comercializados, é importante verificar o quanto essas aplicações podem interferir na nas bactérias e na produtividade da soja, assim visando definir o manejo que cause o menor impacto.

Com isso, objetivou-se com essa pesquisa verificar a nodulação e produtividade da soja em função da co-inoculação e manejos com glyphosate.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento em campo

Na safra 2017/18 foram conduzidos dois experimentos em épocas de semeadura diferentes. O local do experimento pertence ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, localizado nas coordenadas geográficas, 29°42' de latitude sul, 53°42' de longitude oeste e 116 m de altitude. O solo da área é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico (EMBRAPA, 2013), correspondente a Ultisol de acordo com a classificação do Soil Taxonomy (SOIL SURVEY STAFF, 2014). O clima da região, conforme a classificação de Köppen é do tipo Cfa, subtropical de clima temperado chuvoso (PEEL et al., 2007). No mês mais quente a temperatura média é de 24,8°C e no mês mais frio é de 14,1°C (HELDWEIN; BURIOL; STRECK, 2009). O resultado das características físico-químicas do solo das áreas dos dois experimentos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Análise físico-químicas do solo da área do primeiro e segundo experimento. Santa Maria, RS, 2017.

| Primeiro experimento | | | | | | | | | | |
|----------------------|-----|-------------------|--------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|---|------------------|------------------|
| Camada (cm) | pH | MO -----%----- | Argila | P -----mg dm ³ ----- | K -----mg dm ³ ----- | S -----mg dm ³ ----- | Ca ---cmol _c dm ³ -- | Mg ---cmol _c dm ³ -- | m -----%----- | V -----%----- |
| 0 - 10 | 6,7 | 2,1 | 21,0 | 21,4 | 52,0 | 20,9 | 7,7 | 3,0 | 0,0 | 84,4 |
| 10 - 20 | 5,8 | 1,7 | 28,0 | 25,2 | 32,0 | 12,1 | 6,2 | 2,5 | 0,0 | 69,1 |
| Segundo experimento | | | | | | | | | | |
| Camada (cm) | pH | MO -----%----- | Argila | P -----mg dm ³ ----- | K -----mg dm ³ ----- | S -----mg dm ³ ----- | Ca ---cmol _c dm ³ -- | Mg ---cmol _c dm ³ -- | m -----%----- | V -----%----- |
| 0 - 10 | 5,7 | 2,0 | 21,0 | 35,9 | 60,0 | 6,5 | 5,8 | 2,0 | 0,0 | 67,0 |
| 10 - 20 | 4,9 | 1,4 | 28,0 | 7,6 | 28,0 | 5,8 | 3,8 | 1,5 | 14,3 | 32,8 |

No inverno de 2017, a área do primeiro experimento foi cultivada com nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e a do segundo experimento com trigo (*Triticum aestivum* L.). O primeiro e o segundo experimento foram semeados em 30/10/17 e 15/12/17, respectivamente. O delineamento experimental para os dois experimentos foi em blocos ao acaso, com os tratamentos distribuídos em um fatorial 3x5, com quatro repetições. O primeiro fator foi composto por três combinações de inoculação: i - sem inoculação, ii – inoculação (*Bradyrhizobium japonicum*), iii - co-inoculação (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*). O segundo fator foi constituído por aplicações de glyphosate: (i) - dessecação 10 dias antes da semeadura + uma aplicação em pós-emergência no estádio, (ii) - dessecação 10 dias antes da semeadura + duas aplicações em pós-

emergência (iii) - uma aplicação em pós-emergência, (iv) - duas aplicações em pós-emergência, (v) - testemunha capinada sem aplicação de glyphosate. A cultivar de soja utilizada foi NS 5959 IPRO, de crescimento indeterminado. Os manejos da cultura como a densidade de plantas, adubação e calagem, controle de doença e insetos foram realizados de acordo com as recomendações para a cultura (OLIVEIRA; ROSA, 2014).

Nos tratamentos com inoculação, as sementes foram misturadas ao inoculante contendo as estirpes *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA5079 e SEMIA5080 na concentração de 5×10^9 UFC mL⁻¹). Nos tratamentos com co-inoculação, as sementes foram misturadas com os inoculantes contendo as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA5079 e SEMIA5080 na concentração de 5×10^9 UFC mL⁻¹) e as estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6, na concentração 2×10^8 UFC mL⁻¹).

Para as dessecações e as aplicações em pós-emergência foi utilizado uma formulação de glyphosate contendo 370 g e.a. L⁻¹ sal de di-amônio. A dose utilizada foi de 2,92 L ha⁻¹ do produto comercial, equivalente a 1.080 g e.a. ha⁻¹. As aplicações foram realizadas sobre a parte aérea das plantas com auxílio de um pulverizador costal elétrico, equipado de barra com quatro pontas de pulverização tipo leque (XR 100.015), regulado à 200 kPa de pressão e 200 L ha⁻¹ de volume de calda.

Cada unidade experimental foi composta por 7,75 m x 2,25 m, totalizando 17,4 m². Aos dez dias antes da semeadura de cada um dos experimentos foi realizada a dessecação das parcelas dos tratamentos “iii” e “v” com o herbicida glyphosate. Posteriormente foi realizada a semeadura com auxílio de semeadora de plantio direto, ajustada para o espaçamento entre fileiras de 0,45 m e 30 sementes m². No estádio V2-V3 foi feita a primeira aplicação do glyphosate em pós-emergência nos tratamentos “ii”, “iii”, “iv” e “v” e no estádio V6 foi feita a segunda aplicação em pós-emergência nos tratamentos “iv” e “v”.

No estádio R2 foi realizada a coleta das plantas para quantificação do número de nódulos, massa de nódulos e de solo para quantificação da população de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum brasilense*.

Para avaliação do número e massa de nódulos foram coletadas quatro plantas por parcela. As plantas foram escolhidas ao acaso, sendo retiradas com pá de corte e separada raiz da parte aérea. As raízes foram lavadas com água corrente e os nódulos destacados para contagem com auxílio de uma peneira com malha de 2 mm. A massa seca dos nódulos foi obtida por meio de secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, por 72 h (BRANDELERO; PEIXOTO; RALISCH, 2009).

Após a maturação fisiológica (estádio R8), uma área útil de 6 m² foi colhida para avaliação da produtividade de grãos e massa de 1000 grãos. Para a determinação da produtividade de grãos

foram colhidos e trilhados todas as plantas da área útil de cada unidade experimental e realizada a pesagem por meio de balança analítica, descontando-se o conteúdo de água (base 13%). A massa de 1000 grãos foi realizada com o mesmo material provindo da avaliação de produtividade de grãos. Foram realizadas oito contagens de 100 grãos, determinando-se pela média das pesagens destas oito sub amostras, multiplicado por 10.

A precipitação foi bem distribuída durante a condução dos experimentos, tendo apresentando um pequeno déficit na primeira semana de janeiro, a qual coincidiu com os estádios iniciais da soja da segunda época de semeadura. Outro déficit leve ocorreu na primeira semana de março (Figura 1).

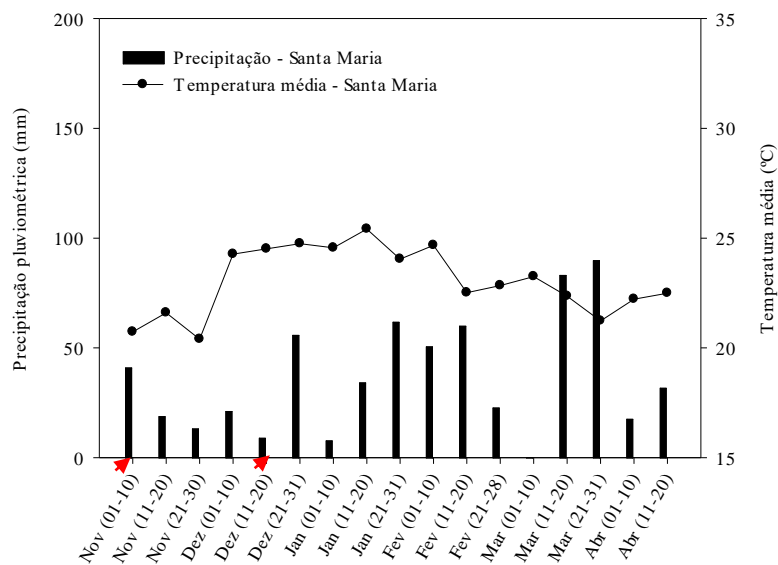


Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperatura durante a condução dos experimentos. Santa Maria, RS, safra 2017/18. *Flechas vermelhas = semeadura do primeiro e segundo experimento.

Experimento em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no ano agrícola de 2018. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x5 com quatro repetições. O primeiro fator foi composto por duas combinações de inoculação, (i) - inoculação (*Bradyrhizobium japonicum*) e (ii) co-inoculação (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*). O segundo fator foi composto por quatro sais de glyphosate (i) - sal de isopropilamina, (ii) - sal de di-amônio, (iii) - sal de amônio, (iv) - sal de potássio e (v) - testemunha sem aplicação de glyphosate. No total foram 40 unidades experimentais (40 vasos de 8 L).

O solo utilizado no experimento apresentou as seguintes características físico-químicas: Argila = 15%; pH (H₂O) = 4,5; M.O = 1,4%; P = 38,7 mg dm⁻³; K = 84 mg dm⁻³; Ca = 2,1 cmol_c

dm^{-3} ; $\text{Mg} = 0,6 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{H} + \text{Al} = 9,7 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{CTC} = 12,6 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{V} = 23,2\%$. O solo também possuía uma população naturalizada de *Bradyrhizobium* de $1,0 \times 10^5 \text{ UFC g}^{-1}$ de solo e *Azospirillum* de $1,1 \times 10^5 \text{ NNP g}^{-1}$ de solo.

Por ocasião da semeadura, nos tratamentos com co-inoculação, as sementes foram misturas com os inoculantes contendo as estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* (SEMIA5079 e SEMIA5080 na concentração de $5 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$) e contendo as estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6 na concentração $2 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$). No tratamento apenas com inoculação, as sementes foram misturadas ao inoculante contendo as estirpes (SEMIA5079 e SEMIA5080 na concentração de $5 \times 10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$). A semeadura foi realizada colocando oito sementes da cultivar NS 5959 IPRO por vaso, sendo que após a emergência foi feito o desbaste deixando apenas uma planta por vaso.

Quando as plantas de soja atingiram o estágio V3 foi realizada a aplicação dos sais de glyphosate. Os herbicidas foram aplicados com auxílio de um pulverizador costal elétrico, equipado com uma ponta do tipo leque (XR 100.015), regulado à 200 kPa de pressão e regulado para 200 L ha^{-1} de volume de calda. A dose utilizada foi correspondente a $1080 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ de glyphosate.

Aos sete dias após a aplicação dos sais foi realizada a avaliação da fitotoxicidade na soja. Foi feita observação visual para verificação dos sintomas de fitotoxicidade, sendo que para isso foram atribuídas notas em porcentagem, conforme a escala de Frans et al. (1986), sendo que, zero ausência de sintomas e 100% morte das plantas.

No estágio R2, foi realizada a avaliação do número e massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz. A parte aérea foi cortada a 2 cm do nível do solo e as raízes foram retirados dos vasos, sendo lavadas para retirada do solo aderido. Os nódulos presentes nas raízes foram destacados para contagem e posteriormente foram levados juntamente com a parte aérea a as raízes para estufa de circulação forçada de ar, a $65 \text{ }^\circ\text{C}$, por 72 h, para determinação da massa seca (BRANDELERO; PEIXOTO; RALISCH, 2009). Após a secagem, as amostras foram pesadas em balança semi analítica para quantificação da massa seca.

Análise estatística

Os dados provenientes das variáveis resposta dos experimentos foram submetidos à análise de variância e quando constatado efeito significativo foi realizado o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Sisvar® (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento em campo

Os tipos de inoculação afetaram significativamente o número de nódulos e a produtividade de grãos no primeiro experimento. No segundo experimento, os tipos de inoculação afetaram apenas o número e massa seca de nódulos. As aplicações de glyphosate afetaram significativamente o número e massa seca dos nódulos apenas no primeiro experimento, sendo que no segundo experimento não houve efeito significativo para nenhuma das variáveis. Não houve interação significativa dos fatores para as variáveis estudadas em ambos os experimentos, indicando que não há mudança no comportamento dos tipos de inoculação quando altera as aplicações de glyphosate para a cultivar NS5959 IPRO nas condições avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para verificação dos fatores tipos de inoculação e aplicações de glyphosate sobre as variáveis número de nódulos planta⁻¹ (NN), massa seca de nódulos planta⁻¹ (MSN), massa de mil grão (MMG) e produtividade de grãos (PG) de soja.

| Fontes de Variação | GL | Primeiro experimento | | | |
|---------------------|----|-----------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|
| | | Quadrado | Méio | | |
| | | NN | MSN | MMG | PG |
| Inoculação (I) | 2 | 2024,63* | 0,002 ^{ns} | 163,44 ^{ns} | 1303505,72* |
| Aplicações (G) | 4 | 3364,21** | 0,019** | 164,90 ^{ns} | 79239,90 ^{ns} |
| I x G | 8 | 124,45 ^{ns} | 0,002 ^{ns} | 84,49 ^{ns} | 93441,87 ^{ns} |
| Bloco | 3 | 7609,53** | 0,005 ^{ns} | 297,08 ^{ns} | 198341,62 ^{ns} |
| Erro | 42 | 403,39 | 0,002 | 136,47 | 258285,06 |
| CV (%) | - | 19,82 | 20,04 | 5,65 | 9,98 |
| Segundo experimento | | | | | |
| Inoculação (I) | 2 | 2537,33* | 0,015* | 135,81 ^{ns} | 278415,1 ^{ns} |
| Aplicações (G) | 4 | 1108,80 ^{ns} | 0,006 ^{ns} | 55,99 ^{ns} | 154026,8 ^{ns} |
| I x G | 8 | 324,90 ^{ns} | 0,002 ^{ns} | 55,92 ^{ns} | 66524,2 ^{ns} |
| Bloco | 3 | 78,42 ^{ns} | 0,003 ^{ns} | 1012,02** | 987399,7** |
| Erro | 42 | 666,46 | 0,003 | 44,83 | 86657,3 |
| CV (%) | - | 24,12 | 26,86 | 3,14 | 6,15 |

** , * e ^{ns} , significativo a 1, 5% e não significativo respectivamente, pelo teste F.

O número de nódulos por planta para a co-inoculação não diferiu da testemunha, sendo significativamente inferior a inoculação no primeiro e no segundo experimento. Por outro lado, no segundo experimento a massa seca de nódulos por planta para a co-inoculação foi maior do que a testemunha e igual aos tratamentos com inoculação. Para a produtividade de grãos, a co-inoculação foi o tratamento que proporcionou a menor produtividade, sendo que esta resposta foi observada apenas no primeiro experimento. Nas aplicações de glyphosate, os efeitos foram observados

somente no primeira experimento, em que a testemunha sem aplicação apresentou o maior número e massa seca de nódulos por planta (Tabela 3).

Tabela 3. Média do número de nódulos (NN, planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN, g planta⁻¹) e produtividade de grãos (PG, kg ha⁻¹) de soja em função dos tipos de inoculação e aplicações de glyphosate em dois experimentos na safra 2017/18.

| Tipos de inoculação | Primeiro experimento | | | Segundo experimento | | |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|---------|---------------------|--------|---------|
| | NN | MSN | PG | NN | MSN | PG |
| Testemunha | 94 b ¹ | 0,21 a ^{ns} | 5.317 a | 105 b | 0,18 b | 4.670 a |
| Inoculação | 113 a | 0,23 a | 5.143 a | 119 a | 0,22 a | 4.785 a |
| Co-inoculação | 98 b | 0,22 a | 4.815 b | 97 b | 0,23 a | 4.906 a |
| Aplicações de glyphosate | | | | | | |
| Testemunha | 129 a | 0,29 a | 5.000 a | 98 a | 0,20 a | 4.930 a |
| V2 | 101 b | 0,23 b | 5.171 a | 119 a | 0,23 a | 4.835 a |
| D + V2 | 88 b | 0,19 b | 5.008 a | 102 a | 0,19 a | 4.835 a |
| V2 + V6 | 101 b | 0,21 b | 5.136 a | 116 a | 0,24 a | 4.743 a |
| D + V2 + V6 | 88 b | 0,19 b | 5.145 a | 100 a | 0,20 a | 4.625 a |

*D= dessecação 10 dias antes da semeadura. ¹Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em áreas com histórico de inoculação em soja, em geral, a população de *Bradyrhizobium* no solo é elevada, podendo chegar a 10⁶ bactérias por g de solo (HUNGRIA; MENDES, 2015). Na área dos experimentos, a qual possuía histórico de inoculação foi observada uma população *Bradyrhizobium* elevada em todos os tratamentos, sendo que na testemunha que não recebeu inoculante, a população foi de 4,3 x 10⁶ UFC g solo⁻¹. Com isso, observou-se uma nodulação elevada nas raízes da soja mesmo para a testemunha na nos dois experimentos, do qual foi de 94 e 105 nódulos planta⁻¹ e uma massa seca de nódulos de 210 e 180 mg planta⁻¹, respectivamente. Os valores encontrados foram superiores aos citados por Hungria; Campo; Mendes (2007), em que uma planta de soja bem nodulada deve apresentar no período do florescimento um número de 15 a 30 nódulos ou uma massa seca de nódulos de 100 a 200 mg. No entanto, quando a população naturalizada se encontra em um nível metabólico baixo, há a necessidade de um tempo maior para a nodulação (HUNGRIA; MENDES, 2015), sendo que isso pode ser melhorado com a utilização de inoculante.

A inoculação proporcionou incrementos de 20,4 e 13,3% no número de nódulos em relação à testemunha no primeiro e segundo experimento, respectivamente. Com o aumento do potencial genético das cultivares anualmente (DE FELIPE; GERDE; ROTUNDO, 2016), o aumento do número de nódulos no período do florescimento também se faz necessário para sustentar a demanda

por N e garantir altas produtividades das cultivares. O maior número de nódulos para a inoculação se deve a maior eficiência das bactérias provenientes do inoculante, em nodular o sistema radicular da soja, visto que, além da maior atividade fisiológica dessas bactérias em relação às já estabelecidas, o inoculante fornece uma elevada população de bactérias próxima às raízes (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2014). Além disso, com a inoculação ocorre maior nodulação na área da coroa, fator que contribui para o estabelecimento de plantas mais vigorosas (HUNGRIA; MENDES, 2015).

O aumento na nodulação com a inoculação, no entanto, não refletiu em maiores produtividades de soja, visto que, a produtividade para testemunha sem inoculação no primeiro e segundo experimento foi estatisticamente igual ao tratamento inoculado. Esse resultado pode ser devido a área apresentar população elevada de *Bradyrhizobium*, de modo que, mesmo não recebendo inoculante, as plantas de soja apresentaram número de nódulos elevado (Tabela 3). Em um solo com população naturalizada de *Bradyrhizobium* de $2,871 \times 10^4$ UFC g⁻¹ solo, Luca; Hungria (2014) observaram boa nodulação das plantas de soja no tratamento controle, de maneira que, não constataram diferença no número e massa seca de nódulos entre o tratamento controle e o inoculado na densidade de 320.000 plantas. Segundo Hungria; Campo; Mendes (2007), as bactérias naturalizadas possuem capacidade de nodular as raízes e fixar nitrogênio, sendo que, quando o nitrogênio fixado for suficiente para atender a demanda da planta, a inoculação pode não resultar em incrementos na produtividade da cultura. No entanto, em diversas pesquisas foi observado que a re-inoculação anual pode resultar em incrementos de até a 8% na produtividade da soja (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013; HUNGRIA; MENDES, 2015).

A redução do número de nódulos por planta nos dois experimento e sem aumento significativo para a massa seca de nódulos com a co-inoculação não era esperado, uma vez que, o *A. brasilense* apresenta sinergismo com o *Bradyrhizobium* (JUGE et al., 2012), aumentando (FERRI et al., 2017) e antecipando a nodulação da soja (CHIBEBA et al., 2015) e outras leguminosas (BURDMAN; KIGEL; OKON, 1997; MASSOUD et al., 2009). Segundo Radwan; Mohamed; Reis (2004), as plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentam maior produção de pêlos radiculares, o que deveria resultar em maior nodulação, tendo em vista que, a formação dos nódulos é iniciada a partir dos pêlos da raiz. No entanto, o momento da nodulação pode ser interferida pela concentração de ácido indol acético (AIA) produzido pelo *A. brasilense*, visto que, esse hormônio possui papel de destaque na sinalização e comunicação entre a planta e o *Bradyrhizobium* (DARDANELLI et al., 2008; STAR et al., 2012; PEUNTE et al., 2017).

As substâncias produzidas por *Azospirillum* são capazes de ultrapassar a parede celular e serem reconhecidas pela membrana das células das plantas, acarretando em uma série de mudanças metabólicas e morfológicas (BASHAN; HOLGUIN, 1997). Contudo, as alterações provocadas

pelo *A. brasilense* nas raízes das plantas que realizam simbiose podem favorecer ou não a nodulação. Em concentrações elevadas o *Azospirillum* pode causar inibição do crescimento e alongamento das raízes das plantas pela produção excessiva de AIA, afetando também a formação e crescimento dos nódulos (YAHALOM et al., 1991). Em soja, Hungria; Nogueira; Araujo (2013) não encontraram benefícios a nodulação com a co-inoculação quando foi utilizado doses de *A. brasilense* no sulco acima de $2,5 \times 10^5$ células semente⁻¹. Nos experimentos, a concentração de *A. brasilense* utilizada na co-inoculação foi de $2,1 \times 10^5$ células semente⁻¹, além de uma população naturalizada de 3×10^3 NMP g⁻¹ solo, no entanto, o *A. brasilense* pode ter encontrado condições favoráveis ao seu desenvolvimento, aumentando sua população e acabando por competir com *Bradyrhizobium*, afetando a formação dos nódulos.

A redução da produtividade de grãos de soja no primeiro experimento e sem ganho produtivo no segundo experimento com a co-inoculação discordam dos encontrados na literatura, a qual diversos autores verificaram aumentos de 6,4 a 20% (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013; BRACCINI et al., 2016; FIPKE et al., 2016; FERRI et al., 2017; NOGUEIRA et al., 2018). No entanto, como verificado no segundo experimento, algumas pesquisas também não observaram ganhos significativos em produtividade com a co-inoculação (BÁRBARO et al., 2009; ZUFFO et al., 2015). Em ação de transferência de tecnologia de inoculação e co-inoculação no estado do Paraná foram observados aumentos de produtividade em 88% das unidades avaliadas, por outro lado, também foram observados resultados ligeiramente negativos com a co-inoculação (NOGUEIRA et al., 2018).

O resultado negativo para o primeiro experimento pode estar relacionado ao tipo de manejo em que a área foi submetida antes da semeadura da soja, tais como as diferentes plantas de cobertura utilizadas nos dois experimentos. Dependendo do tipo de manejo da área, a população de microrganismos no solo pode ser alterada (IZQUIERDO; NÜSSLEIN, 2015). No primeiro experimento, a soja foi cultivada sob palhada de nabo forrageiro, uma cultura que disponibiliza mais rapidamente maiores quantidades de N em relação as gramíneas. Uma maior disponibilidade de N, principalmente na forma de amônio pode estimular uma maior produção de AIA pelo *Azospirillum* (RADWAN; MOHAMED, REIS, 2004), do qual pode prejudicar as raízes em altas concentrações, afetando o desempenho da planta (YAHALOM et al., 1991). Portugal et al. (2017) observaram redução da produtividade de milho, quando a cultura foi inoculada com *A. brasilense* e semeada sob palhada de crotalaria juncea e guandu. Gittiet et al. (2012) verificaram redução no número de panículas de arroz quando a cultura foi inoculada com *A. brasilense* e cultivada em sucessão a crotalaria. Segundo os autores, a crotalaria pode ter proporcionado ambiente favorável ao desenvolvimento das bactérias e maior síntese de auxina.

A redução da nodulação da soja com as aplicações de glyphosate no primeiro experimento corroboram com outros resultados encontrados na literatura (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004; SERRA et al., 2011). Esses autores citam a inibição da enzima EPSPs das bactérias pelo glyphosate como causa da redução da nodulação. De María et al. (2006) verificaram que o glyphosate é rapidamente translocado das folhas até os nódulos, causando a inibição da enzima EPSPs e provocando uma desregulação na via do ácido chiquímico. Segundo os autores, essa perda de controle no fluxo de chiquimato pode causar a redução do suprimento de malato para os bacteroides e limitação na atividade da nitrogenase, visto que, o acúmulo de ácido chiquímico provoca a inibição da phosphoenolpiruvate carboxylase, a qual é enzima chave no metabolismo do carbono, sendo responsável também por suprir os bacteroides com fontes de energia. No entanto, mesmo sendo inferior para os tratamentos que receberam glyphosate, o número e massa seca de nódulos foram elevados, evidenciando que o efeito do herbicida pode ser transitório.

No segundo experimento, a amostragem dos nódulos no estágio R1 foi aos 35 dias após a primeira aplicação do glyphosate em pós-emergência, cerca de 13 dias a menos em relação a amostragem da primeira época. Segundo Chagas Junior et al. (2013), dependendo do período da coleta pode se obter resultados diferentes para o número de nódulos após as aplicações do glyphosate. Os autores verificam um estímulo no número de nódulos da soja em duas formulações de glyphosate aos 30 dias após a aplicação e redução aos 45 dias em relação a testemunha, e que aos 60 dias após a aplicação não houve diferença. Nos resultados (Tabela 3), mesmo não apresentando diferença significativa é possível observar valores mais altos para o número de nódulos no segundo experimento nas aplicações do herbicida. A resposta da primeira época distinta da segunda época parece seguir o que foi evidenciando por Chagas Junior et al. (2013), em que a amostragem dos nódulos próximo aos 45 dias após a aplicação do glyphosate tende a ter efeito negativo do herbicida e amostragens mais precoces, aos 30 dias após a aplicação, o efeito é estimulante.

O glyphosate não alterou a produtividade de grãos da soja em ambos os experimentos, resposta que pode estar relacionada ao baixo efeito que o herbicida causou na nodulação. Os resultados encontrados na literatura a respeito do efeito do glyphosate sobre a produtividade da soja são variados. No primeiro experimento, os resultados verificados na pesquisa foram similares aos encontrados por Reis et al. (2014), a qual a redução do número de nódulos da soja na presença de algumas formulações de glyphosate não foi suficiente para afetar a produtividade, uma vez que, a massa seca de nódulos se manteve. Já no segundo experimento os resultados corroboraram com os encontrados por Correia; Durigan (2007), a qual não observaram redução no número de nódulos e produtividade de grãos de soja com a aplicação de oito formulações de glyphosate. Em determinadas condições observa-se que glyphosate estimula o desenvolvimento da soja e promove

aumentos na produtividade de grãos (SILVA et al., 2018). No entanto, em condições estressante para as plantas como o déficit hídrico, a resposta da nodulação e produtividade da cultura com a aplicação do herbicida pode ser negativa (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2007). Além disso, em estádios menos favoráveis a aplicação do glyphosate como nos iniciais da soja, VE e VC, há um maior potencial de redução da produtividade (BELFRY; SHROPSHIRE; SIKKEMA, 2015) e aplicações no estágio V2 podem ser mais prejudiciais para a nodulação (SANTOS et al., 2007a).

A cultura da soja respondeu de forma distinta entre as épocas de semeadura para os tipos de inoculação e os diferentes manejos com o glyphosate, evidenciando que outros fatores estão associados, principalmente com relação a co-inoculação. Um dos fatores foi o manejo da área na entressafra com a utilização de diferentes coberturas vegetais, que deve ser estudado em pesquisas posteriores.

Experimento em casa de vegetação

Houve interação dos fatores para o número de nódulos, evidenciando que para essa variável ocorreu mudança no comportamento dos sais de glyphosate quando variou o tipo de inoculação. Os tipos de inoculação afetaram significativamente a massa seca da parte aérea e a massa seca de raiz. Os sais de glyphosate afetaram a massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e a fitotoxicidade (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo da análise de variância para verificação dos fatores tipos de inoculação e sais de glyphosate sobre as variáveis número de nódulos planta⁻¹ (NN), massa seca de nódulos planta⁻¹ (MSN), massa seca da parte aérea (MSPA) massa seca de raiz (MSR) e fitotoxicidade (FT) de soja.

| Fontes de Variação | GL | Quadrado Médio | | | | |
|--------------------|----|----------------|----------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | | NN | MSN | MSPA | MSR | FT |
| Inoculação (I) | 1 | 3404,0** | 0,0002 ^{ns} | 5,2** | 8,52* | 0,01 ^{ns} |
| Glyphosate (G) | 4 | 5219,7** | 0,01** | 3,0** | 2,5 ^{ns} | 2,3** |
| I x G | 4 | 2364,2** | 0,002 ^{ns} | 1,4 ^{ns} | 1,7 ^{ns} | 0,2 ^{ns} |
| Erro | 30 | 307,1 | 0,002 | 0,7 | 1,8 | 0,13 |
| CV (%) | - | 22,8 | 47,6 | 9,8 | 28,9 | 29,0 |

** , * , e ^{ns} , significativo a 1, 5% e não significativo respectivamente, pelo teste F.

O número de nódulos por planta não foi alterado pelos sais de glyphosate nos tratamentos com inoculação (*B. japonicum*), por outro lado, nos tratamentos com co-inoculação (*B. japonicum* + *A. brasilense*) a testemunha apresentou maior número de nódulos e o sal de amônio proporcionou o menor número. Quando comparado os tipos de inoculação dentro da aplicação dos sais, a co-inoculação aumentou o número de nódulos para a testemunha sem aplicação e para glyphosate sal

potássio. Para os demais sais de glyphosate, o número de nódulos não diferiu entre a inoculação padrão e a co-inoculação. Nesse caso, os sais de isopropilamina, di-amônio e amônio podem ter sido mais tóxicos para as bactérias, assim não se observou aumento na nodulação com a co-inoculação. A massa seca de nódulos foi maior para a testemunha sem aplicação dos sais de glyphosate, sendo que, não houve diferença entre os sais. A maior massa seca da parte aérea foi encontrada na testemunha sem aplicação e no sal di-amônio. A co-inoculação aumentou a massa seca da parte aérea e de raiz em relação a inoculação padrão. Os sais di-amônio e amônio causaram maior fitotoxicidade nas plantas de soja (Tabela 5).

Tabela 5. Média do número de nódulos (NN, planta⁻¹), massa seca de nódulos (MSN, g planta⁻¹), massa seca da parte aérea (MSPA, g planta⁻¹), massa seca da raiz (MSR, g planta⁻¹) e fitotoxicidade (FT, %) de soja em função dos tipos de inoculação e sais de glyphosate.

| Sais de glyphosate | NN | | MSN g | MSPA g | MSR g | FT % |
|--------------------|--------------------|---------------|----------|-----------|----------|---------|
| | Inoculação | Co-inoculação | | | | |
| Isopropilamina | 66 aA ¹ | 67 bA | 0,05 b | 7,7 b | 4,5 a | 0,8 b |
| Potássio | 45 aB | 78 bA | 0,06 b | 7,9 b | 4,3 a | 0,0 b |
| Di-amônio | 73 aA | 81 bA | 0,08 b | 9,1 a | 4,0 a | 1,1 a |
| Amônio | 67 aA | 47 cA | 0,08 b | 8,1 b | 4,8 a | 1,9 a |
| Testemunha | 85 aB | 155 aA | 0,15 a | 8,7 a | 5,5 a | 0,0 b |
| Tipo de inoculação | | | | | | |
| Inoculação | - | - | 0,08 a | 7,9 b | 4,2 b | 0,7 a |
| Co-inoculação | - | - | 0,09 a | 8,7 a | 5,1 a | 0,8 a |

¹Médias seguidas por mesma letra minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

O aumento do número de nódulos com a co-inoculação pode ter sido devido ao aumento do sistema radicular das plantas, explicado pela maior massa seca de raiz (Tabela 5). A massa seca de raiz da soja possui uma correlação positiva com a nodulação (CHIBEBA et al., 2015), pois uma maior quantidade de raízes proporciona mais pontos de infecção, e conseqüentemente, maior número de nódulos. É possível que esses benefícios sejam proporcionados principalmente pelo AIA produzido pelo *Azospirillum*, que além de influenciar no aumento do crescimento das plantas (CASSÁN; VANDERLEYDEN; SPAEPEN, 2014), está relacionado com o maior estímulo a comunicação entre a planta e as bactérias no processo de nodulação (STAR et al., 2012, PEUNTE et al., 2017).

Em estufa, Chibeba et al. (2015) encontraram resultados positivos no número de nódulos de soja com a co-inoculação. Os mesmo autores também verificaram antecipação da nodulação, o que é importante, visto que, esse fator pode contribuir para um rápido estabelecimento das plantas. Já em estudo a campo e co-inoculando no sulco, Ferri et al. (2017) verificaram maior número de

nódulos nas plantas de soja em comparação a inoculação apenas com *Bradyrhizobium*. Além disso, foi verificado que a co-inoculação aumentou a produtividade de grãos da cultura.

No presente estudo, a co-inoculação não aumentou o número de nódulos em todos os sais de glyphosate testados (Tabela 5). Além da testemunha sem aplicação dos herbicidas, apenas o sal potássio proporcionou aumento no número de nódulos em relação a inoculação padrão. Porém, vale ressaltar que em relação à testemunha co-inoculada todos os sais avaliados reduziu o número de nódulos nas plantas, sendo que o sal amônio foi que mais diminuiu.

A redução da nodulação na presença do glyphosate pode ser devido a inibição da enzima EPSPs das bactérias (SERRA et al., 2011). No entanto, os resultados evidenciaram a possibilidade de alguns sais causarem maior toxicidade as bactérias. Reis et al. (2014), avaliando seis formulações de glyphosate, sendo duas contendo o sal de isopropilamina, duas com sal de potássio e duas com sal de amônio, verificaram variação entre os sais e entre a formulação com o mesmo sal quanto ao efeito no número de nódulos nas plantas de soja. Santos et al. (2004) e Santos et al. (2007a) verificaram que o herbicida Zapp Qi (sal potássio) apresentou menor toxicidade para as estirpes de *Bradyrhizobium* em relação a formulações contendo os sais de isopropilamina e amônio. Resultados semelhantes foram observados para o sal potássio quando este foi comparado dentro dos tipos de inoculação.

A variação no efeito dos sais de glyphosate pode estar relacionada a quantidade de herbicida que é absorvida e que chega até as raízes e nódulos da soja. Santos et al. (2007b), avaliando diferentes formulações na absorção e translocação de glyphosate em soja transgênica, observaram que o Roundup Transorb (Sal de isopropilamina) apresentou maior percentual da molécula de glyphosate nas raízes e nos nódulos da soja. Reddy; Zablutowicz, (2003) observaram que os sais de isopropilamina e di-amônio acumularam nos nódulos em concentrações bem mais elevadas do que sal de trimetilsulfônico. Segundo Meschede et al. (2015), em algumas plantas o glyphosate sal de isopropilamina pode apresentar maior eficiência quanto a absorção e translocação.

A massa seca de nódulos que é uma das variáveis mais adequadas para avaliar o potencial de fixação biológica (DE SOUZA et al., 2008) foi reduzida drasticamente pelos sais de glyphosate. No entanto, a planta possui capacidade para modular essa variável, por isso, mesmo havendo redução do número de nódulos, a formação de nódulos mais pesados pode contribuir para que o crescimento e a produtividade não seja afetada. Isso foi verificado por Reis et al. (2014), no qual diferentes formulações de glyphosate reduziram o número de nódulos, porém não afetou a massa seca de nódulos, e conseqüentemente não influenciou a massa seca da parte aérea e a produtividade de grãos.

O aumento da massa seca da parte aérea com a co-inoculação (Tabela 5) pode estar relacionado com o maior aporte de nitrogênio e o aumento da absorção de água e nutrientes

ocasionado pelo maior número de nódulos e sistema radicular, respectivamente, os quais são recursos necessários para a planta desenvolver mais parte aérea. Esse maior acúmulo de massa seca da parte aérea é importante pois está diretamente relacionada com o enchimento dos grãos (PROCÓPIO et al., 2013).

No experimento, o sal di-amônio mesmo apresentando menor número e massa seca de nódulos em relação a testemunha não reduziu a massa seca da parte aérea, demonstrando que para esse herbicida, o potencial da planta não foi afetado. No entanto, Santos et al. (2007c) cita que a aplicação de glyphosate em pós-emergência da soja pode diminuir o crescimento e a massa seca das plantas. Mas de acordo com os resultados obtidos, dependendo do sal de glyphosate utilizado, os efeitos tanto para a nodulação quanto para crescimento das plantas de soja podem ser minimizados.

CONCLUSÕES

A co-inoculação não aumentou a nodulação e a produtividade da soja nas condições de campo. Já em ambiente controlado foi possível verificar aumento da nodulação.

Os manejos com o glyphosate reduziram os nódulos da cultivar de soja NS 5959 IPRO, porém não afetam a produtividade da cultura.

REFERÊNCIAS

ANDRÉA, M. M. D. et al. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 11, p. 1329-1335, 2003.

BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.

BELFRY, K. D.; SHROPSHIRE, C.; SIKKEMA, P. H. Evaluation of Delayed Glyphosate Burndown in No-Till Soybean. **Agricultural Sciences**, v. 6, n. 03, p. 346-351, 2015.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*–plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BRANDELERO, E. M.; PEIXOTO, C. P.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 581-588, 2009.

BRACCINI, A. L. et al. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.

BURDMAN, S.; KIGEL, J.; OKON, Y. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 923-929, 1997.

BUSSE, M. D. et al. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1777-1789, 2001.

CASSÁN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 2, p. 440-459, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento as safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, v. 6, n. 2, 2018. 134p. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em 19 de novembro de 2018.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C. Seletividade de diferentes herbicidas à base de glyphosate a soja RR. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 375-379, 2007.

CHAGAS JUNIOR, F. et al. Nodulation and mycorrhization of transgenic soybean after glyphosate application. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3675-3682, 2013.

CHIBEBA, A. M. et al. Co-inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* promotes early nodulation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 10, p. 1641, 2015.

DARDANELLI, M. S. et al. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 11, p. 2713-2721, 2008.

DE FELIPE, M.; GERDE, J. A.; ROTUNDO, J. L. Soybean genetic gain in maturity groups III to V in Argentina from 1980 to 2015. **Crop Science**, v. 56, n. 6, p. 3066-3077, 2016.

DE MARÍA, N. et al. New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: Role of shikimate accumulation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2621–2628, 2006.

DE SOUZA, R. A. et al. Avaliação qualitativa e quantitativa da microbiota do solo e da fixação biológica do nitrogênio pela soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 71-82, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2013. 353p.

FADIN, D. A. et al. Absorption and translocation of glyphosate in *Spermacoce verticillata* and alternative herbicide control. **Weed research**, v. 58, n. 5, p. 389-396, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERRI, G. C. et al. Effects of associated co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with *Azospirillum brasilense* on soybean yield and growth. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, n. 1, p. 6-11, 2017.

FIPKE, G. M. et al. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 5, p. 522-533, 2016.

FISCHER, R. S. et al. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in eubacteria. **Journal of bacteriology**, v. 168, n. 3, p. 1147-1154, 1986.

FRANS, R. et al. **Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices**. In: CAMPER, N. D. (Ed.). Research methods in weed Science. 3.ed. Champaign: Usa Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-46.

GEISSELER, D.; SCOW, K. M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms—A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 75, p. 54-63, 2014.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. **Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide**. In: Reviews of environmental contamination and toxicology. Springer, New York, NY, 2000. p. 35-120.

GITTI, D. D. C. et al. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio direto. **Bragantia**, v. 71, n. 4, p. 509-517, 2012.

HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. **Ciência e Ambiente**, v. 38, n. 1, p. 43-58, 2009.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. **Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis?**. In: DE BRUIJN, F. J. Biological nitrogen fixation. 1. ed. v.2, p.1009-1024, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Documentos, 283).

IZQUIERDO, J. A.; NÜSSLEIN, K. Variation in diazotrophic community structure in forest soils reflects land use history. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 80, p. 1-8, 2015.

JACQUES, R. J. S. et al. Sensitivity of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate. **Revista Ceres**, v. 57, n. 1, p. 28-33, 2010.

JUGE, C. et al. Growth and biochemical responses of soybean to double and triple microbial associations with *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* and *arbuscular mycorrhizae*. **Applied soil ecology**, v. 61, p. 147-157, 2012.

LA MENZA, N. C. et al. Is soybean yield limited by nitrogen supply?. **Field Crops Research**, v. 213, p. 204-212, 2017.

LUCA, M. J. de.; HUNGRIA, M. Plant densities and modulation of symbiotic nitrogen fixation in soybean. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 3, p. 181-187, 2014.

MESCHEDE, D. K. et al. Absorption and translocation tolerance of glyphosate. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4738-4747, 2015.

MASSOUD, O. N. et al. Field response of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to N₂-fixers *Bacillus circulans* and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation through accelerating rock phosphate and feldspar weathering. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, p. 844-852, 2009.

MOORMAN, T. et al. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 289-293, 1992.

NOGUEIRA, M. A. et al. **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja na safra 2017/18 no estado do Paraná.** Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2018.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Boas práticas de inoculação em soja. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: **Reunião de pesquisa da soja da Região Sul, 40.**, Pelotas, 2014. Atas e Resumos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014.

OLIVEIRA, A. C. B.; ROSA, A. P. S. A. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016.** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 124p. (Documentos, 382).

ORR, C. H. et al. Diversity and activity of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 3, p. 911-919, 2011.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v. 11, n. 2, p. 1633-1644, 2007.

PORTUGAL, J. R. et al. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho no Cerrado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 4, p. 639, 2017.

PROCÓPIO, S. O. et al. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-deaçúcar à bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 1079-1089, 2011.

PROCÓPIO, S. O. et al. Plantio cruzado na cultura da soja utilizando uma cultivar de hábito de crescimento indeterminado. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 56, n. 4, p.319-325, 2013.

PUENTE, M. L. et al. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model. **Symbiosis**, v. 76, n. 1, p. 41-49, 2017.

REIS, M. R. et al. Mycorrhizal colonization, nodulation and yield of roundup ready soybeans after applying different formulations glyphosate. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 563-569, 2014.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 987-994, 2004.

REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Science**, v. 51, n. 4, p. 496-502, 2003.

SANTOS, J. B. et al. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja roundup ready. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 165-171, 2007a.

SANTOS, J. B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2004.

SANTOS, J. B. et al. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007b.

SANTOS, J. B. et al. Época de dessecação anterior à semeadura sobre o desenvolvimento da soja resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 869-875, 2007c.

SERRA, A. P. et al. Influência do glifosato na eficiência nutricional do nitrogênio, manganês, ferro, cobre e zinco em soja resistente ao glifosato. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p.77-84, 2011.

SILVA, M. S. et al. Glyphosate stimulates the accumulation of N-compounds, grain yield and seed vigor in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 2, p. 157, 2018.

SOIL SURVEY STAFF. **Keys to Soil Taxonomy by Soil Survey Staff Twelfth Edition**. U.S. Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, Washington, D.C., USA, 2014. 362p.

STAR, L. et al. The *Vicia sativa* spp. *nigra* - *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* symbiotic interaction is improved by *Azospirillum brasilense*. **Plant Soil**, v. 356, p. 165-174, 2012.

TAIZ L, ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TONI, L. R. M.; DE SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 829, 2006.

ULGUIM, A. R. et al. Manejo de capim pé-de-galinha em lavouras de soja transgênica resistente ao glifosato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 17-24, 2013.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, n. 3, p. 825-831, 2004.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean. **Crop Protection**, v. 26, n. 3, p. 370-376, 2007.

ZUFFO, A. M. et al. Co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.

YAHALOM, E. et al. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Cd and *Rhizobium* on the root morphology of burr medic (*Medicago polymorpha* L.). **Israel Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p. 155-164, 1991.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, a co-inoculação não proporcionou aumento das características de interesse da soja (nodulação e produtividade) em campo. Houve diferenças entre os dois experimentos, sendo que o primeiro apresentou resultados negativos para a co-inoculação, o que levantou novas hipóteses a respeito do manejo dessa técnica. Em condições controladas, a co-inoculação aumentou as características estudadas da soja, evidenciando que a essa técnica possui potencial para incrementar o desempenho da cultura.

As aplicações de glyphosate foram capazes de reduzir os nódulos da soja, mostrando que mesmo em doses recomendadas para a cultura as bactérias são afetadas negativamente. No entanto foi possível observar que dependendo do sal de glyphosate utilizado aliado com a co-inoculação, o impacto do herbicida sobre a nodulação pode ser minimizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRÉA, M. M. D. et al. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 11, p. 1329-1335, 2003.
- ANDRIGHETTI, M. S. et al. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p.1643-1653, 2014.
- BÁRBARO, I. M. et al. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2009.
- BRACCINI, A. L. et al. Co-inoculação e modos de aplicação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na nodulação das plantas e rendimento da cultura da soja. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 1, p. 27-35, 2016.
- BRANDELERO, E. M.; PEIXOTO, C. P.; RALISCH, R. Nodulação de cultivares de soja e seus efeitos no rendimento de grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 581-588, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p.
- BUCKLEY, D. H.; SCHMIDT, T. M. The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation. **Microbial ecology**, v. 42, n. 1, p. 11-21, 2001.
- BUSSE, M. D. et al. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 1777-1789, 2001.
- CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas a bactérias promotoras do crescimento vegetal**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36 p. (Documentos, 139).
- CHAGAS JUNIOR, F. et al. Nodulation and mycorrhization of transgenic soybean after glyphosate application. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3675-3682, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento as safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, v. 6, n. 2, 2018. 134p. Disponível em. < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em 19 de novembro de 2018.

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

COX, C. Glyphosate. **Journal of Pesticide Reform**, v. 24, n. 4, p.10-15, 2004.

DE FELIPE, M.; GERDE, J. A.; ROTUNDO, J. L. Soybean genetic gain in maturity groups III to V in Argentina from 1980 to 2015. **Crop Science**, v. 56, n. 6, p. 3066-3077, 2016.

DE MARÍA, N. et al. New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: Role of shikimate accumulation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 7, p. 2621–2628, 2006.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 60p.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON, W. E.; NYMAN, C. T. (Ed.). **Nitrogen Fixation**. Pullman: Washington State University, 1976. v. 2. p. 518-538.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2013. 353p.

FADIN, D. A. et al. Absorption and translocation of glyphosate in *Spermacoce verticillata* and alternative herbicide control. **Weed research**, v. 58, n. 5, p. 389-396, 2018.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Final 2011 Data and Preliminary 2012 Data for 5 Major Commodity Aggregates**. 2013. Disponível em:< <http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 25 de novembro de 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERRI, G. C. et al. Effects of associated co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* with *Azospirillum brasilense* on soybean yield and growth. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, n. 1, p. 6-11, 2017.

FISCHER, R. S. et al. Comparative action of glyphosate as a trigger of energy drain in eubacteria. **Journal of bacteriology**, v. 168, n. 3, p. 1147-1154, 1986.

FIPKE, G. M. et al. Co-inoculation with diazotrophic bacteria in soybeans associated to urea topdressing. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 5, p. 522-533, 2016.

FRANS, R. et al. **Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices**. In: CAMPER, N. D. (Ed.). Research methods in weed Science. 3.ed. Champaign: Usa Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-46.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 73, 2018.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. **Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide**. In: Reviews of environmental contamination and toxicology. Springer, New York, NY, 2000. p. 35-120.

HARTAMAN, A.; ZIMMER, W. **Physiology of *Azospirillum***. In: OKON, Y. (Ed.). *Azospirillum* Plant Associations. Boca Raton: Critical Reviews in Plant Science, 1994. p. 15-39.

HATZIO, K. K.; PENNER, D. **Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants**. Reviews of weed science, v. 1, 1985. p. 1-63

HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. **Ciência e Ambiente**, v. 38, n. 1, p. 43-58, 2009.

HERNANDEZ, A.; GARCIA-PLAZAOLA, J. I.; BECERRIL, J. M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 7, p. 2920-2925, 1990.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

HUNGRIA, M. et al. Effects of the glyphosate-resistance gene and herbicides on soybean: Field trials monitoring biological nitrogen fixation and yield. **Field Crops Research**, v. 158, p. 43-54, 2014.

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. **Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis?**. In: DE BRUIJN, F. J. Biological nitrogen fixation. 1.ed. v.2, p.1009-1024, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Documentos, 283).

IZQUIERDO, J. A.; NÜSSLEIN, K. Variation in diazotrophic community structure in forest soils reflects land use history. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 80, p. 1-8, 2015.

JACQUES, R. J. S. et al. Sensitivity of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate. **Revista Ceres**, v. 57, n. 1, p. 28-33, 2010.

JUGE, C. et al. Growth and biochemical responses of soybean to double and triple microbial associations with *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* and *arbuscular mycorrhizae*. **Applied soil ecology**, v. 61, p. 147-157, 2012.

KING, C. A.; PURCELL, L. C.; VORIES, E. D. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. **Agronomy Journal**, v. 93, n. 1, p. 179-186, 2001.

LI, J. et al. Influence of formulation and glyphosate salt on absorption and translocation in three annual weeds. **Weed science**, v. 53, n. 2, p. 153-159, 2005.

LUCA, M. J. de.; HUNGRIA, M. Plant densities and modulation of symbiotic nitrogen fixation in soybean. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 3, p. 181-187, 2014.

MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; SOUZA MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.

MESCHEDE, D. K. et al. Absorption and translocation tolerance of glyphosate. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4738-4747, 2015.

MOORMAN, T. et al. Production of hydroxybenzoic acids by *Bradyrhizobium japonicum* strains after treatment with glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 289-293, 1992.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia dos solos**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 626p.

NOGUEIRA, Marco Antonio; HUNGRIA, Mariangela. Boas práticas de inoculação em soja. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: **Reunião de pesquisa da soja da Região Sul, 40.**, Pelotas, 2014. Atas e Resumos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014.

OLIVEIRA, A. C. B.; ROSA, A. P. S. A. **Indicações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, safras 2014/2015 e 2015/2016**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 124p. (Documentos, 382).

ORR, C. H. et al. Diversity and activity of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in organic and conventionally managed soils. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 3, p. 911-919, 2011.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Science**, v. 11, n. 2, p. 1633-1644, 2007.

- PROCÓPIO, S. O. et al. Toxicidade de herbicidas utilizados na cultura da cana-deaçúcar à bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 1079-1089, 2011.
- REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate-resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. **Weed Science**, v. 51, n. 4, p. 496-502, 2003.
- REIS, M. R. et al. Mycorrhizal colonization, nodulation and yield of roundup ready soybeans after applying different formulations glyphosate. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 563-569, 2014.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. (Ed.). **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina, PR: Edição dos autores, 2011. 697 p.
- RICHTER, G. L. et al. Estimativa da área de folhas de cultivares antigas e modernas de soja por método não destrutivo. **Bragantia**, v. 73, n. 4, p. 416-425, 2014.
- SANTOS, J. B. et al. Avaliação de formulações de glyphosate sobre soja roundup ready. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 165-171, 2007a.
- SANTOS, J. B. et al. Comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium* sp. sob efeito de componentes do glyphosate potássico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 2, p. 201-206, 2003b.
- SANTOS, J. B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 293-299, 2004.
- SANTOS, J. B. et al. Efeito de formulações na absorção e translocação do glyphosate em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.
- SERRA, A. P. et al. Influência do glifosato na eficiência nutricional do nitrogênio, manganês, ferro, cobre e zinco em soja resistente ao glifosato. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p.77-84, 2011.
- SIQUEIRA, J. O. et al. Interferências no agrossistema e riscos ambientais de culturas transgênicas tolerantes a herbicidas e protegidas contra insetos. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v. 21, n. 1, p.11-81, 2004.

SOMASEGARAN, P.; HOBEN, H. J. **Methods in legume-*Rhizobium* technology**. Paia: University of Hawaii Niftal Project and Mircen, Department of Agronomy and Soil Science, Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 1985. 365p.

SOUZA, M. O. et al. O complexo de soja: Aspectos descritivos e previsões. **Pesquisa Operacional para o desenvolvimento**, v. 2, n. 1, p. 1- 86, 2010.

TAIZ L, ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solos, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p.

ULGUIM, A. R. et al. Manejo de capim pé-de-galinha em lavouras de soja transgênica resistente ao glifosato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 17-24, 2013.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**, v.44, p.176–180, 2010.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, n. 3, p. 825-831, 2004.

ZUFFO, A. M. et al. Co-inoculação de *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 87-93, 2015.

YAHALOM, E. et al. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Cd and *Rhizobium* on the root morphology of burr medic (*Medicago polymorpha* L.). **Israel Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p. 155-164, 1991.