



Tempo de contato e de combinações de fungicidas, aditivo e inoculante sobre a sobrevivência de rizóbios e nodulação da soja¹

*Contact time and combinations of fungicides, additives and inoculants
on the survival of rhizobia and soybean nodulation*

**Francisco de Alcântara Neto*², Leandro Pereira Pacheco³, Ademir Sérgio Ferreira de Araújo⁴,
Fabiano André Petter⁵, Fernandes Antônio de Almeida⁶, José de Anchieta Alves de Albuquerque⁷**

Resumo - Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do tempo de contato e de combinações de fungicidas, aditivo e inoculante, no tratamento da semente, na sobrevivência de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e nodulação da soja. Realizou-se ensaios em laboratório para verificar a sobrevivência de bradirrizóbios, e em casa de vegetação para avaliar a formação de nódulos na raiz de plantas de soja. Em laboratório o delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 9 x 3, onde o fator A correspondeu a nove combinações de fungicidas, aditivo e inoculante: T1= inoculante; T2= fludioxonil + metalaxil-M + inoculante; T3= fludioxonil + metalaxil-M + inoculante + aditivo; T4= difenoconazole + inoculante; T5= difenoconazole + inoculante + aditivo; T6= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + inoculante; T7= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + inoculante + aditivo; T8= carbendazim + inoculante e T9= carbendazim + inoculante + aditivo, e o fator B, a três períodos (4, 24 e 48 h) após o tratamento das sementes. Em casa de vegetação o delineamento foi em blocos casualizados, com sete repetições. Conclui-se sobre a sobrevivência de bradirrizóbios e nodulação da soja que: O tempo de contato de 4 h apresenta melhor resultado; Independentemente do uso do aditivo celular, o uso de piraclostrobina + tiofanato metílico+ fipronil apresenta menor efeito deletério; Os maiores efeitos deletérios foram observados para fungicidas à base de difenoconazole e carbendazim; O uso do aditivo associado com fungicida à base de difenoconazole contribui para o aumento.

Palavras-chave - Fixação biológica de nitrogênio. *Glycine max*. Tratamento de sementes.

Abstract - The aim of this study was to evaluate the contact time and the combinations of fungicides, additives and inoculants in the seeds treatment, on the survival of N fixers bacterial and soybean nodulation. The assessments were done in the laboratory to verify the bradyrhizobia survival, and in the greenhouse to evaluate the soybean nodulation. In laboratory, the experimental design was completely arranged with three replicates, in a factorial scheme 9 x 3, where factor A corresponded to nine combinations of fungicides, additives and inoculants: T1= inoculant; T2= fludioxonil + metalaxil-M + inoculant; T3= fludioxonil + metalaxil-M + inoculant + additive; T4= difenoconazole + inoculant; T5= difenoconazole + inoculant + additive; T6= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + inoculant; T7= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + inoculant + additive; T8= carbendazim + inoculant and T9= carbendazim + inoculant + additive, and factor B, the three periods after seeds treatment (4, 24 and 48 h). In the greenhouse, the experimental design was in randomized blocks with seven replicates. The results on bradyrhizobia survival and soybean nodulation showed that: The contact time of 4 h showed the best results, independent of additive use; the use of piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil showed the lesser harmful effect; the highest harmful effect were found to the fungicides difenoconazole and carbendazim; the use of additive associated with fungicides difenoconazole contributed to the increase.

Key words - Biological nitrogen fixation. *Glycine max*. Seed treatment.

*Autor correspondente

Enviado para publicação em 08/11/2013 e aprovado em 03/04/2014

¹Projeto de Pesquisa desenvolvido na Universidade Federal do Piauí, com auxílio financeiro do CNPq

²Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia/CCA, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, fneto@ufpi.edu.br

³Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Mato Grosso, Rondonópolis, Mato Grosso, leandropacheco@gmail.com

⁴Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Agrícola e Solos, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina, Piauí, asfaruaj@yahoo.com.br

⁵Professor Adjunto do Departamento de Agronomia/ICAA, Universidade Federal do Mato Grosso, Sinop, Mato Grosso, petter@ufmt.br

⁶Professor Adjunto do Departamento de Engenharias/CPCE, Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, fernandes@ufpi.edu.br

⁷Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia/CCA, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, anchietaufr@gmail.com

Introdução

No Brasil, de modo geral, o cultivo da soja é realizado sem uso de fertilizantes nitrogenados, uma vez que praticamente todo o nitrogênio necessário ao metabolismo da planta é disponibilizado pelo processo da fixação biológica, realizado por bactérias diazotróficas localizadas em nódulos radiculares, as quais utilizam como substrato, o N₂ atmosférico. De acordo com Zilli *et al.* (2010) esta é a fonte mais viável de nitrogênio para a soja, considerando os aspectos econômicos e ambientais.

Embora em áreas tradicionais de cultivo com soja a população de rizóbios estabelecida no solo seja elevada, resultados de pesquisa têm mostrado incrementos significativos no rendimento de grãos da soja quando se realiza a inoculação todos os anos (CAMPO *et al.*, 2010). O processo de fixação biológica do nitrogênio é realizado entre certas leguminosas e bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que, embora também presentes no solo, estão contidas em inoculantes biológicos que são colocados em contato com as sementes pelo processo de inoculação. Isto possibilita que, após a germinação e desenvolvimento da plântula, ocorra a infecção e a formação de nódulos nas raízes, por onde as plantas obtêm o N indispensável ao seu desenvolvimento (VIEIRA NETO *et al.*, 2008).

Em muitos casos, além do inoculante, as sementes também recebem tratamento com fungicida, que visa evitar a disseminação de fitopatógenos e reduzir os índices de perdas no campo. Entretanto, Pereira *et al.* (2007) relataram que algumas combinações de fungicidas indicadas para tratamento de sementes de soja podem ser tóxicas às bactérias fixadoras de nitrogênio, podendo ocasionar reduções na nodulação e no rendimento de grãos.

Normalmente, a aplicação de fungicidas tem sido realizada antes da inoculação para diminuir os efeitos tóxicos sobre as células de bradirrizóbios. Mas, ainda ocorrem algumas incompatibilidades dos microrganismos simbioses com alguns fungicidas, sugerindo a necessidade de encontrar técnicas de utilização destes produtos no tratamento de sementes de soja sem comprometer a sobrevivência da bactéria e, consequentemente, a nodulação (ARAÚJO; ARAÚJO, 2006; PEREIRA *et al.*, 2007).

Recentemente, aditivos compostos por lipídeos e oligossacarídeos têm sido vendidos no mercado visando proteger as células bacterianas inoculadas às sementes de soja. Portanto, pressupõem-se que o uso de aditivo proteja os bradirrizóbios da ação de fungicidas utilizados em tratamentos de sementes de soja, possibilitando inocular as sementes imediatamente após o tratamento, mesmo quando a semeadura for realizada após algumas horas.

Considerando o exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do tempo de contato e de diferentes combinações de fungicida, aditivo e inoculante, aplicados as sementes, na sobrevivência de bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico e produção de nódulos no sistema radicular de plantas de soja cultivadas em ambiente protegido.

Material e métodos

O trabalho foi realizado, em 2011, no *Campus* Universitário “Professora Cinobelina Elvas” da Universidade Federal do Piauí em duas etapas. Na primeira etapa foi conduzido um ensaio em laboratório com o objetivo de avaliar a sobrevivência do bradirrizóbio nas sementes em diferentes períodos após a inoculação. Na segunda etapa foi conduzido um ensaio em casa de vegetação, para verificar a nodulação a partir das sementes tratadas com combinações de fungicidas, inoculante e aditivo.

A metodologia utilizada para análise da sobrevivência das bactérias na semente se baseou em diluições seriadas e contagem em placas (TORTORA *et al.*, 2005). Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições, com os tratamentos arranjos em esquema fatorial 9 x 3, em que o fator A consistiu de nove tipos de combinação de fungicidas, aditivo e inoculante aplicados às sementes de soja da cultivar convencional MSoy 9350, sendo: T1=Inoculante; T2= fludioxonil + metalaxil-M + Inoculante; T3= fludioxonil + metalaxil-M + Inoculante + Aditivo; T4= difenoconazole + Inoculante; T5= difenoconazole + Inoculante + Aditivo; T6= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoculante; T7= piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoculante + aditivo; T8= carbendazim + inoculante e T9= carbendazim + inoculante + aditivo e, o fator B, três períodos de contato após aplicação do fator A, sendo: 4, 24 e 48 h.

Foram utilizados quatro fungicidas sistêmicos comerciais, dose para 100 kg de sementes: Maxin XL® (fludioxonil + metalaxil-M) na dose de 100 mL, Spectro® (difenoconazole) na dose de 33,4 mL, Standak Top® (piraclostrobina + tiofanato metílico+ fipronil) na dose de 100 mL e Protreat® (carbendazim) de 150 mL. O inoculante líquido (Nitragin) foi usado na dose de 150 mL por 5 kg de sementes contendo as estirpes SEMIA 5079 (*Bradyrhizobium japonicum*) e SEMIA 5019 (*Bradyrhizobium elkanii*), com garantia de concentração de 1,5 x 10⁹ UFC mL⁻¹ e o aditivo Optimize power® com ação osmoprotetora, composto do Power A e Power B na dose de 35 mL por 50 kg de sementes cada. As dosagens foram definidas conforme recomendações técnicas dos

fabricantes dos produtos. Para cada unidade experimental utilizou-se 500 g de sementes de soja e na homogeneização foi utilizado um becker de vidro esterilizado para cada tratamento.

Foram colocadas cem sementes de soja de cada tratamento, em Erlenmeyers contendo 100 mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%), adicionado de 0,01% de Tween 80. A mistura foi agitada por 20 minutos, sendo considerada diluição 10^0 , a partir da qual foram realizadas diluições seriadas até 10^{-5} . Aliquotas de 0,1 mL de cada uma das cinco diluições foram espalhadas com alça de Drigalski sobre o meio de cultura 79 (FRED; WAKSMAN, 1928) com extrato de levedura, manitol, azul de Bromotimol e pH ajustado em 6,9, em placas de Petri, em três repetições. Após um período de absorção das aliquotas inoculadas (aproximadamente 10 minutos), as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C, por 7 a 12 dias.

A avaliação do crescimento bacteriano foi realizada a partir do sexto dia após a inoculação, contando-se as unidades formadoras de colônias (UFC) nas placas de Petri, utilizando-se os resultados entre 30 a 300 colônias para o cálculo do número de UFC por semente.

Os dados da recuperação de células foram transformados pela raiz quadrada de $X + 0,5$, submetidos à análise de variância. Quando significativa, as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com o auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

Os mesmos tratamentos testados no ensaio anterior foram utilizados nos ensaios de casa de vegetação, adicionando-se mais um tratamento (T_{10}), o qual consistiu de substrato esterilizado para semeio da soja sem uso de fungicidas e inoculante. Este tratamento serviu de testemunha negativa com vistas a garantir que o substrato de cultivo não tivesse contaminação com bradirrizóbio. De cada unidade experimental, foi realizada a semeadura em três períodos de tempo: 4, 24 e 48 h após o tratamento das sementes, por meio do método de Burton modificado (BURTON, 1978), que avalia a efetividade de um inoculante nas condições de uso recomendadas, levando em consideração a porcentagem de plantas noduladas. O método avalia a nodulação que ocorre em cilindro imaginário, de dimensões 2,5 x 2,5 cm, na coroa da raiz da planta. Dentro da área desse cilindro imaginário, que inclui tanto raízes primárias quanto secundárias, o resultado é considerado positivo quando possui três ou mais nódulos bem desenvolvidos, e negativo quando o número de nódulos é menor que três.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com sete repetições. Para cada tratamento foram instaladas sete bandejas, contendo seis copos plásticos de 400 mL com substrato esterilizado da mistura

areia e vermiculita na proporção 1:1 (v:v), sendo semeadas três sementes por copo a 1,5 cm de profundidade que, após a emergência, foram desbastadas para uma plântula por copo. Aos vinte e cinco dias após a emergência, as plantas foram retiradas dos copos e acondicionadas, separadamente, em sacos de papel e levadas ao laboratório para avaliação do número e massa dos nódulos secos. O número de nódulos foi determinado pela contagem visual dos nódulos presentes nas raízes dentro de cada saco de papel e a massa determinada pela pesagem dos nódulos, depois de colocados para secar à temperatura ambiente por 24 h.

Os resultados do número e massa seca dos nódulos foram submetidos à análise de variância. Quando significativa, as diferenças foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

Resultados e discussão

Na comparação entre as unidades experimentais dentro do tempo de 4h após, observou-se que nas sementes tratadas com difeconazole + inoculante (T4) e com carbendazim + inoculante (T8) a menor sobrevivência de bactérias, com efeito tóxico mais pronunciado no tratamento em que se utilizou difeconazole (T4), onde a resposta deletéria foi observada desde o início do tratamento (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com aqueles descritos por Campo *et al.* (2009), os quais relatam que muitos fungicidas podem causar morte de até 100% das células bacterianas inoculadas às sementes de soja. Segundo Denardin *et al.* (2005), alguns fungicidas apresentam baixa toxicidade e outros não afetam a sobrevivência de bradirrizóbios.

Após 24 h do tratamento das sementes observou-se, em todos os casos, que houve redução no número de colônias formadas comparativamente ao tempo de 4 h. O mesmo comportamento foi observado 48 h após o tratamento das sementes (Tabela 1).

A redução das unidades formadoras de colônias será mais ou menos pronunciada em função das características físico-químicas dos princípios ativos empregados em algumas formulações desses agroquímicos (DENARDIN *et al.*, 2005).

Avaliando-se o efeito do tempo após a aplicação dos produtos e do inoculante, dentro de cada unidade experimental (Tabela 1), observou-se que o tratamento utilizando o fludioxonil + metalaxil-M (T3) resultou em queda acentuada da população de rizóbios com o tempo. Estes resultados corroboram com aqueles encontrados por Pereira *et al.* (2009) e Santos *et al.* (2013), onde

Tabela 1 - Número de UFC (unidades formadoras de colônia) por semente após tratamento em cada tempo de avaliação (4, 24 e 48 h após o tratamento), após sete dias de incubação

Tratamentos	UFC Semente ⁻¹		
	4h	24h	48h
1- Inoculante (Inoc)	156.667 Aa	136.667 Aa	126.668 Aa
2- Fludioxonil + metalaxil-M + Inoc.	140.000 Aa	127.000 Aa	116.668 Aa
3- Fludioxonil + metalaxil-M + Inoc. + Aditivo	156.667 Aa	109.998 Ba	60.000 Cb
4- Difenconazole + Inoc.	3.350 Ac	3.350 Ac	3.350 Ac
5- Difenconazole + Inoc. + Aditivo	156.600 Aa	96.665 Bb	3.300 Cc
6- Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoc.	153.333 Aa	13.6667 Aa	123.333 Aa
7- Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoc + Aditivo	141.667 Aa	114.000 Aa	107.000 Aa
8- Carbendazim + Inoc.	95.000 Ab	64.000 Bb	53.300 Bb
9- Carbendazim + Inoc. + Aditivo	140.000 Aa	123.300 Aa	127.000 Aa

CV (%) 10,02. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott 5% de probabilidade.

verificaram redução na população de rizóbios e no número de nódulos quando as sementes foram tratadas com fludioxonil + metalaxil-M. Segundo Campo *et al.* (2009), alguns fungicidas comprometem a simbiose por afetar a sinalização rizóbio-planta.

O tratamento com difenoconazole (T4) apresentou efeito deletério e pronunciado na sobrevivência dos rizóbios nos três períodos de contato. Quando empregado aditivo celular ao difenoconazole e inoculante (T5) o número de rizóbios nas sementes se manteve similar à testemunha após 4 h, reduzindo-os significativamente após 24 e 48 h.

A Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoculante (T6) parece ter menor efeito tóxico sobre os rizóbios (Tabela 1), mantendo-se o número de células bacterianas com 4, 24 e 48 h após o tratamento das sementes. O uso de aditivo à piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + inoculante (T7) diminuiu o número de colônias formadas em relação a mesma combinação sem uso de aditivo (T6).

De alguma forma o uso do aditivo quando associado a alguns princípios ativos, acabam contribuindo no aumento da toxicidade do fungicida sobre a população de rizóbio. Tais resultados são semelhantes aos observados entre combinações com Fludioxonil + metalaxil-M + Inoculante (T2) e com Fludioxonil + metalaxil-M + Inoculante + Aditivo (T3), onde houve redução do número de células bacterianas (Tabela 1).

Estes resultados indicam que os princípios ativos e/ou os solventes envolvidos nas formulações dos fungicidas podem ser prejudiciais ao bradimirizóbio e que

o uso do aditivo celular, em alguns casos, pode ou não promover maior sobrevivência das bactérias na semente por determinado tempo.

Observando-se os resultados obtidos na combinação que se usou carbendazim e inoculante (T8) e aqueles onde se adicionou o aditivo (T9), este promoveu maior sobrevivência dos rizóbios nos tempos de contato avaliados (Tabela 1).

Os resultados deste trabalho são corroborados por alguns trabalhos realizados com difenoconazole e carbendazim + thiram, os quais também encontraram efeitos deletérios destes sobre a sobrevivência dos rizóbios em soja (BUENO *et al.*, 2003) e feijão-caupi (ARAÚJO; ARAÚJO, 2006).

Resultados semelhantes foram observados por Zilli *et al.* (2009) que avaliaram, em condição de campo, o uso de fungicidas carbendazim e thiram em sementes de soja e encontraram reduções no número e na massa seca dos nódulos.

Observou-se que após 4 h os tratamentos com fungicidas, em sua maioria, apresentaram redução na nodulação em comparação com a testemunha inoculada (Tabela 2). Após 24 e 48 h da inoculação houve redução no número e na massa seca dos nódulos em todos os tratamentos, provavelmente em virtude da diminuição na sobrevivência do bradimirizóbio após estes períodos. Este resultado sugere que o tempo necessário entre a inoculação e a semeadura da soja não deve ultrapassar a 4 h.

Campo *et al.* (2009) avaliaram diferentes fungicidas sobre a sobrevivência do bradimirizóbio em sementes de soja e observaram reduções superiores a 60% no número

Tabela 2 - Número e massa seca de nódulos após tratamento de sementes de soja com fungicidas, aditivo e inoculante

Tratamentos	Número de Nódulos			Massa seca de nódulos (mg por planta)		
	4 h	24 h	48 h	4 h	24 h	48 h
1- Inoculante (Inoc)	16,3 aA	11,2 aB	8,2 bC	18,5 bA	17,3 aA	12,4 aB
2- Fludioxonil + metalaxil-M + Inoc.	9,3 bA	8,2 aA	7,6 bAB	15,0 cA	10,4 bB	10,7 aAB
3- Fludioxonil + metalaxil-M + Inoc. + Aditivo	15,8 aA	8,0 aB	7,4 bB	28,5 aA	8,7 bB	8,2 bB
4- Difenconazole + Inoc.	6,3 bA	8,1 aA	8,3 bA	8,9 dA	8,8 bA	8,5 bA
5- Difenconazole + Inoc. + Aditivo	18,4 aA	9,8 aB	7,4 bC	20,7 bA	16,4 aB	12,2 aC
6- Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoc.	15,6 aA	10,6 aB	9,7 aB	17,5 bA	14,4 aB	12,2 aC
7- Piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil + Inoc + Aditivo	16,1 aA	10,4 aB	9,4 aB	18,0 bA	17,0 aA	12,5 aB
8- Carbendazim + Inoc.	8,6 bA	8,1 aA	9,4 aA	11,3 dA	9,4 bA	8,9 bA
9- Carbendazim + Inoc. + Aditivo	15,4 aA	11,0 aB	12,1 aB	18,2 bA	14,3 aB	13,5 aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Skott-Knott 5% de probabilidade.

de células com uso dos fungicidas difenaconazole e carbendazim + thiram, após 2 e 24 h da inoculação. Entretanto, após 48 h da inoculação, a sobrevivência das bactérias diminuiu em todos os tratamentos, indicando que a semeadura deve ocorrer em até 24 h após a inoculação. Resultado semelhante foi observado por Araújo e Araújo (2006) que observaram diminuição da sobrevivência do bradirrizóbio em sementes de feijão-caupi após 24 h do contato do inoculante com o fungicida.

Os valores do número de nódulos observados (Tabela 2) nos tratamentos com aditivo celular estão dentro da faixa adequada para fornecimento de N à planta de soja que é de 15 e 30 nódulos por planta (CAMPO *et al.*, 2009).

Conclusões

O tempo de contato de 4 h apresenta melhor resultado de sobrevivência de bradirrizóbios e nodulação da soja, com as combinações de fungicidas, aditivo e inoculante;

Independentemente do uso do aditivo celular, o produto à base de piraclostrobina + tiofanato metílico+ fipronil apresenta menor efeito deletério sobre a sobrevivência do bradirrizóbio e nodulação da soja;

Os maiores efeitos deletérios foram observados para os fungicidas à base de difenoconazole e carbendazim;

O uso do aditivo associado com o fungicida à base de difenoconazole contribui para aumentar a sobrevivência do bradirrizóbio inoculado e a nodulação da soja.

Literatura científica citada

- ARAÚJO, A. S. F.; ARAUJO, R. S. Sobrevivência e nodulação do *Rhizobium tropici* em sementes de feijão tratadas com fungicidas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 973-976, 2006.
- BUENO, C. J.; MEYER, M. C.; SOUZA, N. L. Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 e Semia 5079) e na nodulação da soja. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 1, p. 231-235, 2003.
- BURTON, J. C. Monitoring Quality in Legume Inoculants and Preinoculated Seed. The Nitragin Co., Milwaukee, 1978. p. 308-325.
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and Bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, n. 1, p. 154-163, 2009.
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; MOSTASSO, F. L.; HUNGRIA, M. In-furrow inoculation of soybeans as alternative for fungicides and micronutrients seed treatment and inoculation. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1103-1112, 2010.
- DENARDIN, N. D.; GRAFF, A. R. G.; TRENTIN, A. C.; SBALCHEIRO, C. C. Ação de fungicidas sobre a inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium jonicum*. **Fitopatologia Brasileira**. Suplemento. v. 31, p. 166, 2005.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: versão 4.2. Lavras: UFLA, 2003.
- FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. Laboratory manual of general microbiology. New York: McGraw-Hill Book, 1928. 143 p.
- PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; OLIVEIRA, G. E.; ROSA, M. C. M.; COSTA NETO, J. Tratamento fungicida via pelliculização e inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, n. 3, p. 433-440, 2009.

PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E.; BOTELHO, F. J. E.; OLIVEIRA, G. E.; TRENTINI, P. Desempenho de sementes de soja tratadas com fungicidas e peliculizadas durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p. 656-665, 2007.

SANTOS, P. F.; ANDRADE SILVA, R.; COSTA, A. A.; CANTELLI, D. A. V.; MARTINS, M. C. Efeito do tratamento de sementes na nodulação e crescimento inicial da cultura da soja. **Cultivando o saber**, v. 6, n. 4, p. 96-108, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

VIEIRA NETO, S. A.; PIRES, F. R.; MENEZES, C. C. E.; MENEZES, J. F. S.; SILVA, A. G.; SILVA, G. P.; ASSIS, R. L. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p.861-870, 2008.

ZILLI, J. E.; RIBEIRO, K. H.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 4, p. 917-923, 2009.

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