

Efeito de fungicidas na sobrevivência de *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 e Semia 5079) e na nodulação da soja

César Júnior Bueno^{1*}, Maurício Conrado Meyer² e Nilton Luiz de Souza³

¹FCA, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil. ²Embrapa Soja, Campo Exp. Balsas, C.P. 131, 65800-000, Balsas, Maranhão, Brasil. ³Departamento de Produção Vegetal, FCA/Unesp, Faz. Exp. Lageado, C.P. 237, 18603-970, Botucatu, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: cjm Bueno@zipmail.com.br

RESUMO. Avaliou-se o efeito de fungicidas na sobrevivência da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* Semia 5019 e Semia 5079 e na nodulação em plantas de soja. Comparou-se, *in vitro*, a capacidade de multiplicação das bactérias em meio líquido YMA com duas concentrações dos fungicidas benomyl, carbendazim, carboxin+thiram, difenoconazole, thiabendazole+thiram, tiofanato metílico, captan, thiram, tolylfluanid, metalaxyl, fludioxonil+metalaxyl-m, carbendazim+thiram. A sobrevivência da bactéria foi medida por plaqueamento de diluições seriadas. Para ensaio em casa-de-vegetação, sementes da cv. 'Embrapa 48' foram tratadas com os fungicidas thiabendazole+thiram, metalaxyl, thiram, difenoconazole+thiram, carbendazim+thiram, fludioxonil+metalaxyl-m, tiofanato metílico+tolylfluanid, thiabendazole e captan. Utilizou-se o inoculante turfoso na proporção de 10 g/kg de sementes. Avaliou-se o número total de nódulos e na raiz principal. Constatou-se redução superior a 10% em relação à testemunha, na multiplicação de *B. japonicum* em meio com thiram, carbendazim, carboxin+thiram e carbendazim+thiram. Não se observou redução significativa de nodulação com os fungicidas testados, sendo que apenas para o fungicida captan o número de nódulos foi estatisticamente igual ao da testemunha não inoculada.

Palavras-chave: inoculante, fungicida, sobrevivência, nodulação.

ABSTRACT. Effect of fungicides on survival of *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 and Semia 5079) and soybeans nodulation. The effect of fungicides on survival of *Bradyrhizobium japonicum* Semia 5019 and Semia 5079 and nodulation on soybean plants was evaluated in Brazil. The capacity of multiplication of bacteria in YMA liquid mean with two concentrations of benomyl, carbendazim, carboxin+thiram, difenoconazole, thiabendazole+thiram, thiophanate-methyl, carbendazim+thiram fungicides was compared *in vitro*. Survival of bacteria was measured by transferring of serial dilution in YMA mean. In greenhouse, seeds (cv. "Embrapa 48") were treated with thiabendazole+thiram, metalaxyl, thiram, difenoconazole+thiram, carbendazim+thiram, fludioxonil+metalaxyl-m, thiophanate-methyl+tolylfluanid, thiabendazole and captan fungicides. Inoculant containing both bacteria strains was inoculated in a proportion of 10 g/Kg of seeds. Nodulation in soybean plants was measured counting the total number of nodules and those on the main root. Reduction over 10% was observed in relation to control in multiplication of *B. japonicum* in means containing thiram, carbendazim, carboxin+thiram and carbendazim+thiram. Tested fungicides did not affect nodulation. Only captan fungicide reduced the number of nodules in the main root when compared to control (not inoculated).

Key words: inoculum, fungicides, survival, nodulation.

Introdução

A inoculação de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* em sementes de soja proporcionou considerável redução no custo de produção dessa cultura pela eliminação da necessidade de adubação nitrogenada, evitando, também, efeitos negativos ao

meio ambiente, devido ao processo de lixiviação de formas nitrogenadas, poluindo rios e lagos, e, por desnitrificação, afetando a camada de ozônio (De-Polli e Franco, 1985; Campo e Hungria, 2000; Embrapa, 2001).

O tratamento de sementes com fungicidas é uma importante prática para evitar a disseminação de

fitopatógenos e a infecção prematura das plantas, assim como uma garantia adicional para a emergência das plântulas em condições adversas de semeadura, reduzindo os índices de perdas (Embrapa Soja, 2001; Henning *et al.*, 1997; Yorinori, 1997).

É essencial, para a instalação da cultura, uma boa taxa de germinação das sementes e o suprimento adequado de nutrientes, conseqüentemente, diversos produtos químicos vêm sendo adicionados às sementes de soja no plantio para o controle de doenças causadas por fitopatógenos de solo e plantas daninhas (Campo e Hungria, 2000; Ostiz *et al.*, 1989; Revellin *et al.*, 1993). No entanto, há informações controvertidas a respeito do uso desses produtos químicos quanto à compatibilidade com os inoculantes de *Bradyrhizobium* (Diatloff, 1986; Singh e Agarwal, 1993; Andrés *et al.*, 1998). Andrés *et al.* (1998) verificaram a ação do fungicida thiram em diferentes estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* resistentes ao fungicida. Os resultados obtidos mostraram que alguns isolados mantiveram, com o uso do fungicida, a capacidade de nodular e, ainda, foram eficientes simbioticamente enquanto outros isolados perderam o estímulo para nodular.

Os fungicidas Quinolate Pro (carbendazim e óxido de cobre), Vitavax 200 FF (carboxin e thiram) e Monceren (pencycuron), segundo Revellin *et al.*, 1993, tiveram um pequeno ou nenhum efeito sobre a sobrevivência de *B. japonicum* e na nodulação e produção de soja, enquanto que os produtos Germipro UFB (carbendazim e iprodione), Apron 35J (metalaxyl) e Tachigaren (hymexazol) diminuíram a sobrevivência da bactéria, a nodulação e a produção de soja. Ridomil e Bavistin foram compatíveis com *B. japonicum* na sobrevivência e na nodulação em soja, enquanto que o fungicida thiram foi tóxico para a bactéria nos parâmetros avaliados em um trabalho feito por Singh e Lodha (1997).

Em outros trabalhos, não se observou ação dos fungicidas sobre a bactéria *B. japonicum*. Gupta *et al.* (1988) concluíram que o tratamento de sementes de soja com thiram e difolatan são efetivos na redução de doenças causadas por fungos de solo e os produtos não interferem na nodulação em soja.

Já no trabalho de Campo e Hungria (2000), a maioria das combinações de fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de soja possuíam ação inibitória na nodulação da bactéria em plantas de soja, reduzindo a fixação biológica de nitrogênio.

No presente trabalho, procurou-se verificar o efeito de fungicidas utilizados para tratamento de sementes de soja no Brasil na sobrevivência do

rizóbio e nodulação em plantas de soja, utilizando *Bradyrhizobium japonicum* estirpes Semia 5019 e 5079.

Material e métodos

Experimento 1

Avaliação *in vitro* do efeito de fungicidas sobre a multiplicação de *Bradyrhizobium japonicum* estirpes Semia 5019 e Semia 5079.

Este experimento foi conduzido no Departamento de Produção Vegetal (DPV), Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA)/Unesp-Botucatu, Estado de São Paulo.

As bactérias foram cultivadas, em separado, no meio de cultura líquido YMA (Vincent, 1970), sob condições de temperatura ambiente de laboratório (26°C), em frascos de 250 ml de capacidade, durante 7 dias no escuro.

Os fungicidas avaliados e suas respectivas concentrações no meio de cultura constam na Tabela 1.

Tabela 1. Fungicidas e suas respectivas concentrações, avaliados quanto ao efeito no desenvolvimento *in vitro* de *Bradyrhizobium japonicum*, estirpes Semia 5019 e 5079

Fungicidas	Concentrações (mg ou µL/L)
Ingrediente Ativo	C1 e C2 ¹
Benomyl	60 mg e 180 mg
Carbendazim	60 µL e 180 µL
carboxin + thiram	250 µL e 750 µL
Difenoconazole	33 µL e 99 µL
Thiabendazole + thiram	200 µL e 600 µL
tiofanato metílico	100 µL e 300 µL
Captan	120 mg e 360 mg
Thiram	140 µL e 420 µL
Tolylfluaniid	100 mg e 300 mg
Metalaxyl	330 µL e 990 µL
fludioxonil + metalaxyl m	100 µL e 300 µL
Carbendazim + thiram	60 µL + 140 µL e 180 µL + 420 µL
Testemunha (água destilada)	200µL e 600µL

¹C2 (3 vezes a dosagem C1)

A repicagem das bactérias foi feita transferindo-se alíquotas de 5 ml da cultura inicial com concentração conhecida (Semia 5019 = $6,2 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (UFC) e Semia 5079 = 2×10^7 UFC) para os frascos com os tratamentos. Cada frasco dos tratamentos continha 50ml de meio de cultura com os fungicidas nas suas respectivas concentrações. Os frascos foram colocados em estufa BOD a 26°C por 7 dias no escuro. Diariamente, efetuou-se agitação manual dos frascos para promover a aeração, favorecendo o crescimento das bactérias.

A avaliação dos tratamentos foi realizada na fase exponencial de crescimento das bactérias (cerca de 7 dias após a repicagem), através de plaqueamento em meio YMA sólido com diluições seriadas em água

destilada (10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7}). Determinou-se, em cada tratamento, o número de unidades formadoras de colônias (UFC) viáveis por mL pelo método de contagem direta. Registrou-se, também, o pH das soluções estoque de fungicidas e dos meios de cultura + fungicidas, após 7 dias de crescimento da bactéria em cada tratamento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições por diluição seriada de cada frasco dos tratamentos.

Experimento 2

Avaliação do efeito de fungicidas sobre a nodulação da soja.

Este experimento foi desenvolvido em casa-de-vegetação no DPV-FCA-Unesp/Botucatu-SP, utilizando vasos plásticos com capacidade de 2 litros.

Utilizou-se um Latossolo Vermelho Escuro – Textura Média, corrigido com calcário dolomítico, em quantidade necessária para elevação da saturação de bases para 70%. Foi realizada adubação potássica e fosfatada conforme recomendação para a cultura (Embrapa Soja, 2001). A cultivar utilizada foi a Embrapa 48. Os fungicidas testados constam na Tabela 2.

Tabela 2. Fungicidas e suas respectivas doses, avaliados quanto ao efeito sobre a nodulação em soja

Fungicidas	Dose (p.c./100kg de semente)
Ingrediente Ativo	
Thiabendazole + thiram	200 mL/100 kg
Metalaxyl	330 mL/100 kg
Thiram	140 mL/100 kg
difenoconazole + thiram	33 + 140 mL/100 kg
Carbendazim + thiram	60 + 140 g/100 kg
fludioxonil + metalaxyl m	100 mL/100 kg
tiofanato metílico + tolylfluaniid	100 mL + 100 g/100 kg
Thiabendazole	25 g/100 kg
Captan	120 g/100 kg
testemunha inoculada	-
testemunha não-inoculada	-

O tratamento das sementes foi efetuado individualmente em sacos plásticos, colocando 100 g de semente, 0,6 mL de solução de sacarose à 10% e os fungicidas nas suas respectivas doses, seguidos de uma agitação para homogeneizar os produtos nas sementes. Após o tratamento das sementes, procedeu-se à inoculação das bactérias com 1 g do inoculante turfoso, contendo as estirpes Semia 5019 e Semia 5079.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com 9 repetições, sendo cada parcela constituída por um vaso com duas plantas.

No estágio de florescimento, avaliaram-se as plantas mediante a contagem dos nódulos da raiz principal e total (raiz principal + secundárias).

Resultados e discussão

Para a estirpe Semia 5019, no teste *in vitro*, analisando a concentração C1, observou-se que os fungicidas thiram e carbendazim causaram maior redução na multiplicação dessa bactéria (Tabela 3), sendo esse diferencial de 12% e 14%, respectivamente em relação ao tratamento testemunha. Essas reduções em nada referem-se ao pH das culturas bacterianas já que não ocorreram diferenças nos tratamentos desses fungicidas em relação aos demais (Tabelas 4 e 5). Por outro lado, os fungicidas thiabendazole+thiram, aparentemente, estimularam o desenvolvimento do rizóbio, sendo inclusive superior à testemunha. O efeito pode ter sido causado pelo próprio fungicida que inibiu o crescimento dessa bactéria. Para os demais fungicidas, ainda analisando essa estirpe e a concentração C1, não se constatou diferença estatística em relação ao tratamento testemunha.

Tabela 3. Avaliação do efeito *in vitro* de fungicidas sobre o desenvolvimento de *Bradyrhizobium japonicum* Semia 5019

Tratamentos	UFC/mL (transformadas em Log ₁₀)		Índice de eficiência em relação à testemunha (%)	
	C1	C2	C1	C2
benomyl	8,39 EFG*	8,23 ² D*	94	92
Carbendazim	7,70 H	9,27 B	86	104
carboxin + thiram	8,24 FG	0 ¹ F	92	0
difenoconazole	8,68 CD	9,37 B	97	105
thiabendazole + thiram	10,22 A	10,23 A	115	114
tiofanato metílico	8,51 CDE	9,29 B	95	104
Captan	8,44 DEFG	8,76 D	95	98
Thiram	7,83 H	6,84 E	88	77
Tolylfluaniid	8,45 EF	8,76 CD	95	98
Metalaxyl	8,22 G	9,08 BC	92	102
fludioxonil + metalaxyl m	8,31 EFG	9,12 BC	93	102
Carbendazim + thiram	8,73 BC	6,68 E	98	75
Testemunha	8,92 B	8,94 BC	100	100

¹Na diluição 10^{-5} não houve crescimento. Valores precisam ser testados da diluição 10^{-4} até o concentrado; ²Valores > 0 que constam na tabela foram medidos somente nas diluições 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} ; * Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade

Na concentração C2, verificou-se novamente a ação do fungicida thiram sobre a bactéria (Semia 5019) e mais a redução causada pela combinação carbendazim+thiram. No entanto, essa redução foi de 23% e 25%, em relação ao tratamento testemunha. Já o fungicida carboxin+thiram, na concentração C2, não se constatou nenhum crescimento na diluição 10^{-5} , o que comprova uma redução significativa na multiplicação dessa bactéria. Novamente, na concentração C2, os demais fungicidas não tiveram grande efeito sobre essa bactéria, ainda que estatisticamente alguns tenham diferido da testemunha. Nas duas concentrações utilizadas, cabe ressaltar a alta ação benéfica do fungicida thiabendazole+thiram sobre a Semia 5019

e a alta relação com o pH do meio de cultura evidenciado nas duas concentrações (Tabela 6).

Para a estirpe Semia 5079, na concentração C1 (Tabela 4), observou-se redução na multiplicação da bactéria na presença dos fungicidas tiofanato metílico, carbendazim+thiram e carboxin+thiram da ordem de 9%, 14% e 14%, respectivamente. A redução de 14% da população dessa bactéria na presença de carboxin+thiram corrobora com os dados obtidos por Revellin *et al.* (1993) que notaram um pequeno efeito desses fungicidas na sobrevivência de um isolado de *B. japonicum*. Com o fungicida thiram na concentração C1, não se observou nenhum crescimento na diluição 10^{-5} , causando uma redução significativa dessa bactéria em relação ao tratamento testemunha. Ainda nessa concentração, não se constatou ação sobre a bactéria para os demais fungicidas. Para a concentração C2, foi observada redução na multiplicação pelos fungicidas carbendazim, benomyl e thiram (11%, 16% e 18% de redução, respectivamente). Já com os fungicidas carboxin+thiram, captan e carbendazim+thiram, observou-se a não-formação de colônias na diluição 10^{-5} . Para os demais fungicidas, na concentração C2, não se verificou a ação sobre essa bactéria. Novamente, observou-se a ação benéfica do fungicida thiabendazole+thiram e a alta relação com o pH do meio de cultura para a bactéria *B. japonicum* Semia 5019. Os fungicidas que não causaram efeito sobre a multiplicação das bactérias também não acidificaram o meio. Para alguns produtos, a multiplicação da bactéria foi superior ao tratamento testemunha.

Com exceção do benomyl, não foi observada alteração significativa de pH em função da presença dos fungicidas, podendo-se inferir que a acidificação do meio é provocada pela própria bactéria (Tabela 5). Foi constatada maior acidificação do meio pela Semia 5079 do que pela Semia 5019 (Tabela 5).

Tabela 4. Valores de pH medido nas soluções estoque de fungicidas

Fungicidas	Diluição em água destilada	pH (KCl 3M)
Benomyl	1g:65,66 mL	7,48
Carbendazim	1 mL:65,66 mL	6,59
Carboxin+thiram	1 mL:15 mL	7,39
difenoconazole	1 mL:120 mL	6,94
Thiabendazole+thiram	1 mL:19 mL	7,14
Tiofanato metílico	1 mL:39 mL	6,87
Captan	1 g:32,33 mL	6,59
Thiram	1 mL:27,57 mL	6,96
Tolylfluamid	1 g:39 mL	6,34
Metalaxyl	1 mL:11,12 mL	4,70
fludioxonil+metalaxyl m	1 mL:39 mL	6,70
Carbendazim+thiram	1 mL:65,66 mL e 1 mL:27,57 mL	6,97
testemunha (água destilada)	-	7,97

Tabela 5. Valores de pH das culturas bacterianas após 7 dias de crescimento, das estirpes Semia 5019 e Semia 5079

Tratamentos	pH da cultura (em KCl 3M)			
	Semia 5019		Semia 5079	
	C1	C2	C1	C2
Benomyl	7,22	5,64	5,62	5,42
Carbendazim	7,19	7,41	6,15	6,40
Carboxin+thiram	6,74	6,97	6,88	6,87
difenoconazole	7,46	7,54	6,20	6,17
Thiabendazole+thiram	7,63	7,97	7,60	7,94
tiofanato metílico	7,39	7,54	6,10	6,16
Captan	7,32	6,92	6,46	6,22
Thiram	7,45	7,64	6,82	6,91
Tolylfluamid	7,33	7,54	7,01	7,43
Metalaxyl	7,26	7,48	6,38	6,47
fludioxonil+metalaxyl m	7,37	7,52	6,69	6,49
Carbendazim+thiram	7,51	7,47	6,82	6,93
Testemunha	7,49	7,53	6,31	6,34

Tabela 6. Avaliação do efeito *in vitro* de fungicidas sobre o desenvolvimento de *Bradyrhizobium japonicum* Semia 5079

Tratamentos	UFC/mL (transformadas em Log ₁₀)		Índice de eficiência em relação à testemunha (%)	
	C1	C2	C1	C2
Benomyl	7,76 C*	6,57 ² E*	103	84
Carbendazim	7,47 C	7,02 D	99	89
carboxin+thiram	6,45 D	0 ¹ F	86	0
Difenoconazole	7,65 C	7,72 C	101	98
Thiabendazole+thiram	10,17 A	8,70 A	135	111
tiofanato metílico	6,87 D	8,14 B	91	104
Captan	7,77 C	0 F	103	0
Thiram	0 E	6,45 E	0	82
Tolylfluamid	8,41 B	8,79 A	112	112
Metalaxyl	7,53 C	8,58 A	100	109
fludioxonil+metalaxyl m	7,53 C	8,07 BC	100	103
Carbendazim+thiram	6,45 D	0 F	86	0
Testemunha	7,54 C	7,86 BC	100	100

¹Na diluição 10^{-5} não houve crescimento. Valores precisam ser testados da diluição 10^{-4} até o concentrado; ²Valores > 0 que constam na tabela foram medidos somente nas diluições 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} ; * Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade

Utilizando a concentração C1 para analisar os dados obtidos no teste *in vitro*, o fungicida thiram, isoladamente ou em combinação com outros produtos, causou redução na multiplicação das duas estirpes de *B. japonicum*. Resultado semelhante foi observado por Singh e Lodha (1997).

Na avaliação do efeito de fungicidas sobre a nodulação, observou-se ação de redução apenas pelo fungicida captan (Tabela 7). No entanto, essa ação foi pequena, ao ponto de não causar prejuízo significativo na fixação biológica de nitrogênio. A redução de nódulos em plantas de soja foi observada por Andrés *et al.* (1998), que utilizaram o fungicida thiram e por Revellin *et al.* (1993) pelos fungicidas Germipro UFB, Apron 35J e Tachigaren. Já Campo e Hungria (2000) observaram a redução na nodulação em soja causada pela maioria das combinações de fungicidas recomendados para tratamento de sementes de soja. Os dados obtidos nesse experimento não evidenciaram nenhuma

redução na nodulação em plantas de soja pelos fungicidas testados.

Tabela 7. Efeito dos fungicidas sobre a nodulação da soja, em casa-de-vegetação

Tratamentos	Nº. de nódulos/planta	
	Raiz principal	Total ¹
thiabendazole + thiram	11 A*	19
Metalaxyl	10 A	18
Thiram	11 A	20
difenoconazole + thiram	13 A	22
Carbendazim + thiram	11 A	23
Fludioxonil + metalaxyl m	15 A	23
tiofanato metílico + tolylfluand	8 A	15
thiabendazole	11 A	19
captan	7 AB	16
testemunha inoculada	8 A	20
testemunha não inoculada	3 B	15

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ¹Total = (nódulos da raiz principal + raízes secundárias)

Não se observou uma ação benéfica isolada sobre a nodulação pelo fungicida thiabendazole+thiram como no teste *in vitro*. Apesar de não haver diferença estatística entre os demais tratamentos, cabe ressaltar a ação benéfica dos fungicidas fludioxonil+metalaxyl e difenoconazole+thiram na nodulação em soja pelas estirpes Semia 5019 e 5079. Outro fato notado é a relação direta entre os experimentos para os fungicidas thiabendazole + thiram, metalaxyl, fludioxonil + metalaxyl e captan.

Cabe, ainda, salientar que, a não-redução dos nódulos das plantas de soja em alguns tratamentos, a produção de nódulos superior ao tratamento testemunha foram devidas à ação dos produtos químicos sobre fitopatógenos de solo, a antagonismo das bactérias e à não-interferência desses no pH da solução do solo, o que propiciaram um ambiente adequado ao desenvolvimento das bactérias.

Referências

ANDRÉS, J.A. *et al.* Survival and symbiotic properties of *Bradyrhizobium japonicum* in the presence of thiram: isolation of fungicide resistant strains. *Biol. Fertil. Soil.*, Berlin, v.26, n. 2, p. 141-145, 1998.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. *Compatibilidade de uso de inoculantes e fungicidas no tratamento de sementes de soja*. Londrina: Embrapa-Soja - (Circular Técnica, 26), 2000.

DE-POLLI, H.; FRANCO, A.A. *Inoculação de sementes de leguminosas*. Seropédica: Embrapa-UAPNPBS - Circular Técnica n. 1, 2000.

DIATLOFF, A. Compatibility of systemic and non-systemic fungicides with *Rhizobium japonicum* applied to soybean seed. *Soil. Biol. Biochem.*, New York, v. 18, p. 121-122, 1986.

EMBRAPA SOJA. *Tecnologia de produção de soja – região central do Brasil – 2001/2002*. Londrina: Embrapa Soja - (Embrapa Soja. Documentos, 167), 2001.

GUPTA, S.B. *et al.* Effect of pre and post inoculation seed treatment with fungicides on nodulation and grain yield of soybean. *Legume-Res.*, Sadar, v.11, n.4, p.167-172, 1988.

HENNING, A.A. *et al.* Tratamento com fungicidas, aplicação de micronutrientes e inoculação de sementes de soja. *Embrapa CNPSo – Comunicado Técnico n. 58*, Londrina, 7p., 1997.

OSTIZ, S.B. *et al.* Efeito de alguns agrotóxicos na sobrevivência e na atividade respiratória de *Rhizobium leguminosarum* e *Bradyrhizobium japonicum*. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v.24, n.6, p.663-667, 1989.

SINGH, B.P.; AGARWAL, V.K. Effect of fungicidal seed treatment and *Rhizobium* inoculation on nodulation in soybean. *Seed Res.*, New Delhi, v.21, n.1, p.63-65, 1993.

SINGH, J.; LODHA, P.C. Compatibility of chemical seed protectants with *Bradyrhizobium japonicum* and their effect on symbiotic nodulation in soybean. *J. Mycol. Plant Pathol.*, Udaipur, v.7, n.2, p.148-151, 1997.

REVELLIN, C. *et al.* Effect of some fungicide seed treatments on the survival of *Bradyrhizobium japonicum* and on the nodulation and yield of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Biol. Fertil. Soil.*, Berlin, v.16, n.3, p.211-214, 1993.

VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. In: *IBP Handbook*. Oxford: Blackwell. 1970. p.3-4.

YORINORI, J.T. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) – Controle de doenças. In: VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). *Controle de doenças de plantas*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p.953-1024.

Received on September 12, 2002.

Accepted on January 27, 2003.