

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 14

Fixação de Nitrogênio pela Soja em Sistemas de Cultivo Contínuo e Rotacionado com Pecuária nos Cerrados

Cesar Heraclides Behling Miranda
Manuel Claudio Motta Macedo

Campo Grande, MS
2001

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 368 2064

Fax: (67) 368 2180

<http://www.cnpgc.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpgc.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Cacilda Borges do Valle*

Secretário-Executivo: *Osni Corrêa de Souza*

Membros: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Ezequiel*

Rodrigues do Valle, José Raul Valério, Manuel Cláudio Motta

Macedo, Maria Antonia Martins de Ulhôa Cintra, Ténisson

Waldow de Souza, Valéria Pacheco Batista Euclides

Supervisor editorial: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

Revisor de texto: *Lúcia Helena Paula do Canto*

Normalização bibliográfica: *Maria Antonia M. de Ulhôa Cintra*

Capa: *Paulo Roberto Duarte Paes*

Foto de capa: *Arquivo Embrapa Gado de Corte*

Editoração eletrônica: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

1^a edição

1^a impressão (2001): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Gado de Corte.

Miranda, Cesar Heraclides Behling.

Fixação de nitrogênio pela soja em sistemas de cultivo contínuo e rotacionado com pecuária nos cerrados / Cesar Heraclides Behling Miranda, Manuel Claudio Motta Macedo. -- Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001.

29 p. ; 21 cm. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1516-5809 ; 14).

ISBN 85-297-0140-2

1. Solo - Preparo. 2. Soja - Fixação de nitrogênio. 3. Sistema de cultivo. 4. Pecuária. 5. Cerrado. I. Macedo, Manuel Claudio Motta. II. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). III. Título. IV. Série.

CDD 572.545 (21. ed.)

© Embrapa 2001

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Descrição do local e dos tratamentos	9
Colheitas	10
Análises	11
Resultados	12
Crescimento vegetativo	12
Enchimento de grãos	13
Maturação dos grãos	14
Colheita final de grãos	18
Discussão	19
Produção de matéria seca	19
Fixação de N ₂	19
Balanço de N	22
Conclusões	23
Referências Bibliográficas	24

Fixação de Nitrogênio pela Soja em Sistemas de Cultivo Contínuo e Rotacionado com Pecuária nos Cerrados

Cesar Heraclides Behling Miranda¹

Manuel Claudio Motta Macedo²

Resumo

Quantificou-se a contribuição da fixação biológica de N₂ (FBN) na cultura da soja em um Latossolo Vermelho-Escuro, utilizando-se a técnica da abundância natural do isótopo ¹⁵N. Foram estudados cinco tratamentos: 1) soja de primeiro ano em solo cultivado por quatro anos com *Brachiaria decumbens*, sob pastejo, e preparado mecanicamente (arado, grade pesada e niveladora); 2) mesmas condições anteriores, mas com plantio direto da soja; 3) soja em cultivo contínuo por cinco anos, como cultura de verão, sem plantio de milheto no outono/inverno, e solo preparado de forma convencional (arado, grade pesada e niveladora); 4) soja com cultivo contínuo por cinco anos, com cultivo de outono/inverno de milheto (*Pennisetum atropurpureum*) e preparo de solo conservacionista (arado de disco, aiveca e subsolador); 5) mesmas condições anteriores, mas com plantio direto. Amostras de plantas foram coletadas no estádio vegetativo, enchimento de grãos, na maturação, e na colheita final de grãos. Em cada coleta analisaram-se as produções de matéria seca (MS) e teores de N e ¹⁵N. As produções de MS e N total acumulado foram semelhantes no estádio vegetativo, mas as plantas no plantio direto mostraram taxas de FBN acima de 50%, enquanto que as de plantio convencional estavam abaixo de 40%. No enchimento de grãos, as produções de MS, N total e as taxas de FBN

¹ Eng.-Agr., Ph.D., CREA Nº 782/D, Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS. Correio eletrônico: miranda@cnpq.embrapa.br

² Eng.-Agr., Ph.D., CREA Nº 31.309/D, Embrapa Gado de Corte. Correio eletrônico: macedo@cnpq.embrapa.br

(entre 60% e 68%) foram semelhantes em todos os sistemas de preparo do solo. Na maturação dos grãos, o preparo de solo convencional resultou numa maior produção de MS do que no plantio direto. Os grãos apresentaram a maior parte do N fixado (66% a 82%), ficando entre 51% e 68% para a parte aérea e entre 15% e 32% para as raízes. No balanço do N total obtido por FBN e o que foi alocado aos grãos, obtiveram-se valores indicativos de que a maior parte do N fixado seria retirada do sistema na colheita de grãos, o que foi confirmado na colheita final. A soja de plantio direto mostrou um balanço ligeiramente mais positivo do que a soja de plantio convencional. Como a soja é pouco dependente do N do solo, usando eficientemente o N de fixação, este seria pouparado como resíduo para uso de culturas subseqüentes, o que explicaria o efeito benéfico imediato observado na prática em sistemas produtivos de rotação de cultura entre soja e cereais ou pastagem. No entanto, os resultados obtidos indicam que a soja, que tem um índice de colheita alto (proporção do N total nos grãos em relação ao N total da planta), não contribui significativamente para aumento dos teores de N total do solo capazes de beneficiar por longo tempo as culturas em sucessão.

Termos para indexação: abundância natural de ^{15}N , *Bradyrhizobium*, *Glycyne max*, isótopos, plantio direto, preparo do solo, sustentabilidade.

Nitrogen Fixation of Soybean under Single Cropping or Rotation with Husbandry in the Cerrados

Abstract

*The contribution of biological nitrogen fixation (BNF) to soybean growing in a dark red latossol (Ultisol) of the Brazilian cerrados was quantified using the ^{15}N natural abundance technique. Treatments encompassed soybean cropped for the first year in an area that was a pasture previously, either with 1) conventional soil preparation or 2) no tillage; or in an area that has been cropped with soybean during the previous four years, with a winter fallow or with pearl millet (*Pennisetum atropurpureum*) as a winter crop, with soil tilled either 3) conventionally, 4) mulch-tillage, or 5) no-tillage. The standing biomass of plants was collected during the vegetative growth stage, grain filling stage, ripening and grains at the final harvest. Tillage did not have a significant effect on plant dry matter production or N yield during the vegetative stages. However, no-tilled soybean, either as 1st or 5th year crop, showed a higher rate of N_2 fixation (above 50%) than conventionally tilled soybean (below 40%). During the grain filling stage all treatments showed similar rates of N_2 fixation (between 60 and 68%), plant production and total N yield. A larger proportion of N from N_2 fixation was allocated to the grains (66 to 82%) than to the standing biomass (51 to 68%) while roots retained the lowest amounts of fixed N_2 (15 to 32%). The N balance indicated that the grain harvest would take most of the fixed N away from the system. Continuous cropping of soybean under no-tillage seems to minimize such negative balance of N. As soybean is partially independent of soil N, relying mostly on N from biological fixation, such soil N may be left to be used for further cropping, which may explain the initial benefit observed in the*

field in crop rotation systems of soybean, cereals or pastures. Even though, it seems unlikely that commercial soybean with a high N harvest index contribute significantly to improvements of the soil N fertility of this Cerrados soil.

Key words: *Bradyrhizobium, Glycine max, isotopos, natural abundance of ^{15}N , no-tillage, soil preparation, savanna, sustainability.*

Introdução

Um dos grandes problemas atuais da região dos Cerrados é a degradação das pastagens (Macedo, 2001). A utilização do cultivo da soja, por um ou mais anos, como forma de recuperação ou renovação de pastagens degradadas, tem sido uma das alternativas de se obter um retorno mais rápido do investimento e melhorar a fertilidade do solo (Kichel & Miranda, 2001; Macedo et al., 2001). Pensa-se, também, que a pastagem plantada posteriormente ao cultivo da soja irá se beneficiar dos nutrientes remanescentes do resíduo da soja, como P, K e outros e, especialmente do N, obtido por meio da fixação biológica.

Dentre os vários sistemas de cultivo e preparo de solo, o plantio direto de soja tem sido praticado por causa das conhecidas vantagens desse sistema, tais como aumentos dos teores de matéria orgânica (Larney et al., 1997; Bayer et al., 2000), ciclagem de N (Power & Peterson, 1998) e melhoria de propriedades físicas e biológicas do solo (Wander & Bolero, 1999; Ferreira et al., 2000). Melhorias na aeração, manutenção da umidade e melhor regulagem da temperatura do solo também são observados em sistemas sob plantio direto, o que pode beneficiar a fixação de N₂ pela soja (Hungria & Vargas, 2000).

Existem muitos relatos na literatura concernentes à fixação de N₂ em soja, mas os efeitos dos sistemas de preparo do solo na simbiose das bactérias fixadoras ainda não foram bem explorados. Rennie et al. (1988), por exemplo, descrevem um estudo conduzido na Tailândia em que se verificaram aumentos na produção e fixação de N₂ em soja sob plantio direto comparado ao tradicional de preparo de solo em um determinado local. Noutro local, entretanto, aqueles autores não encontraram qualquer diferença entre os tratamentos, concluindo que variações nas disponibilidades de N mineral do solo nos dois locais podem ter influenciado a produção e teores de fixação mais do que o sistema de preparo do solo e de plantio. Hughes & Herridge (1989) observaram que, mesmo tendo uma taxa de fixação de N₂ menor, a soja sob plantio convencional produziu mais do que sob

plantio direto, em um estudo na Austrália. Wheatley et al. (1995) verificaram maiores taxas de fixação de N₂ em soja em um sistema de produção conservacionista do que num convencional, mas a produção de grãos foi semelhante nos dois sistemas.

O objetivo do experimento aqui descrito foi investigar os efeitos de sistemas de preparo do solo na fixação de N₂ em soja, em sistemas contínuos de plantio de soja e em sistemas integrados de rotação com lavoura e pecuária, em um solo da região dos Cerrados.

Para medir a fixação de N₂, utilizou a técnica da abundância natural do isótopo ¹⁵N. Essa técnica já foi usada com sucesso para se determinar fixação de N₂ em soja, sendo os resultados comparáveis aos obtidos com outras técnicas, tais quais: o do balanço de N (Wada et al., 1986), da diluição isotópica do ¹⁵N (Rennie et al., 1982), ou o da variação nos conteúdos de ureídeos no xilema (Bergersen et al., 1989).

Material e Métodos

Descrição do local e dos tratamentos

Amostras de planta e solo foram coletadas em cinco diferentes tratamentos dentre os vários de um experimento de integração lavoura e pecuária, de longa duração, estabelecido em um Latossolo Vermelho-Escuro, argiloso e distrófico, em Campo Grande, MS. Em meados de 1976/77 foi desmatada uma área com vegetação de cerrado, estabelecendo-se, na estação chuvosa de 1978, um experimento de avaliação de forrageiras sob pastejo contínuo com as espécies *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola* e *Brachiaria ruziensis*, sem qualquer fertilização. O experimento foi conduzido até 1987, sendo daí em diante os piquetes pastejados aleatoriamente, sem qualquer controle experimental. No início dos anos 1990, essas pastagens já se encontravam em estádio avançado de degradação. Em 1993/94, estabeleceu-se um experimento de integração lavoura e pecuária, no qual estão sendo comparados tratamentos de cultivo contínuo de pastagens e lavouras versus sistemas integrados e rotacionados de lavoura e pecuária. Os diversos tratamentos incluem diferentes sistemas de plantio e preparo de solo, de fertilização e espécies vegetais. As parcelas possuem área total de 0,7 ha, quando pastejadas e em sistemas integrados e rotacionados com pastagens, e de 1.300 m², quando em lavoura contínua, sem pastejo animal. O delineamento é de blocos ao acaso, com quatro

repetições. Mais detalhes acerca do experimento são apresentados por Macedo et al. (2001).

Para este trabalho, foram feitas amostragens de solo e planta na cultura da soja cultivar Conquista plantada no verão de 1997/98, nos seguintes tratamentos:

- **LCCV** - soja cultivada continuamente desde 1993 (cinco anos agrícolas), em plantio convencional, com preparo de solo anual de grade e sem cultivo de outono-inverno de milheto.
- **LCCS** - soja cultivada continuamente desde 1993, em um sistema conservacionista de preparo de solo (aração, gradagem, subsolagem), e com plantio de milheto (*Pennisetum atropurpureum*), no outono-inverno. O milheto é cortado e incorporado ao solo quando das operações de preparo de solo para plantio.
- **LCPD** - soja cultivada continuamente desde 1993, em plantio direto, com milheto cultivado no outono-inverno, sendo este cortado e deixado sobre o solo antes do plantio da soja.
- **P4-L4-CV** - soja de primeiro ano, cultivada em área de pastagem de *B. decumbens* pelos últimos quatro anos (adubada em 1993/94). O solo foi preparado convencionalmente (aração e gradagem) antes do plantio da soja.
- **P4-L4-PD** – soja de primeiro ano, cultivada em área de pastagem de *B. decumbens* pelos últimos quatro anos (adubada em 1993/94). A pastagem foi dessecada com herbicida e a soja semeada em sistema de plantio direto.

Colheitas

Durante o estádio vegetativo das plantas, colheram-se quatro amostras de plantas inteiras contidas em um metro linear, por repetição, em 22 de dezembro de 1997 e 19 de janeiro de 1998. Em 3 de março de 1998, durante o estádio de enchimento de grãos, fez-se nova colheita e, em 20 de março de 1998, durante o amadurecimento dos grãos, efetuou-se a última colheita, com amostras de plantas inteiras e também de raízes. Estas foram amostradas até 20 cm de profundidade, em uma área de 1 m². Os grãos foram colhidos mecanicamente em 10 de abril de 1998, fazendo-se uma amostra composta de repetição, oriundas de três subamostras tomadas na parcela.

Como planta controle e não fixadora de N₂ foi usado *Panicum maximum* cv. Tanzânia, cultivado em parcelas adjacentes, nas quais tinha sido plantada anteriormente soja nos últimos quatro anos, com e sem plantio de milheto no outono-inverno. Na colheita de 20 de março de 1998, também foram coletadas amostras de plantas de soja de uma cultivar controle não nodulante T201, que havia sido plantada numa subparcela de soja de cultivo convencional. Os grãos da cultivar não nodulante foram colhidos em separado por ocasião da colheita final.

Em cada coleta, as plantas foram cortadas rente ao solo, secas a 65°C por 72h (mesmo procedimento para raízes e grãos), pesadas e moídas para análises.

Análises

O N total das frações de planta e seus enriquecimentos naturais em ¹⁵N (expressos com a notação $\delta^{15}\text{N}$) foram analisados diretamente em um auto-analisador CN acoplado a um espectrômetro de massa modelo 20-20 (Europa Scientific, Crewe, UK).

Para as amostras efetuadas durante a fase vegetativa, o $\delta^{15}\text{N}$ de *P. maximum* controle, cultivado em solo anteriormente sem cultivo de outono-inverno de milheto pós-soja, foi utilizado como referência para as parcelas cultivadas com soja sob plantio convencional. Igualmente, o $\delta^{15}\text{N}$ de *P. maximum*, crescendo em parcelas que tiveram cultivo de outono-inverno de milheto, pós-soja, foi usado como referência para as amostras de soja cultivada sob plantio direto, bem como para a soja crescendo após pastagem, uma vez que não se tinha um controle mais apropriado. Para as colheitas durante a fase de enchimento de grãos, o $\delta^{15}\text{N}$ da soja não nodulante (6,05 $\delta^{15}\text{N}$) foi usado como ponto de referência. Finalmente, o $\delta^{15}\text{N}$ dos grãos da soja não nodulante (5,92 $\delta^{15}\text{N}$) foi utilizado como referência para as amostras de grãos de soja em todos os tratamentos para determinação das taxas de fixação de N₂. Os cálculos foram feitos como descrito por Amarger et al. (1979).

Como ocorrem algumas discriminações físicas entre os isótopos ¹⁴N e ¹⁵N durante o processo de redução do N₂, emprega-se nos cálculos um fator de correção denominado β , que é o $\delta^{15}\text{N}$ que a planta fixadora apresenta quando em completa dependência de fixação. Neste trabalho foi usado um valor β de -1,3 $\delta^{15}\text{N}$, baseado nos resultados de Shearer et al. (1980), Bergersen et al. (1988) e Yoneyama et al. (1986a, 1986b), para os cálculos das amostras de planta e grãos. Um valor β de -0,70 $\delta^{15}\text{N}$ foi usado para os cálculos das raízes, tomado das mesmas fontes.

Resultados

Crescimento vegetativo

O peso da matéria seca das plantas e o conteúdo em N total não foram influenciados significativamente pelo sistema de preparo do solo na fase de crescimento vegetativo (Tabela 1). Entretanto, este teve um efeito significativo ($P < 0,05$) no $\delta^{15}\text{N}$ das plantas (Tabela 1). Em todos os tratamentos, o $\delta^{15}\text{N}$ da soja foi menor do que o de *P. maximum*, indicando uma ativa fixação de N_2 . A soja em plantio direto, tanto no plantio de primeiro ano, como no de quinto ano, mostrou um $\delta^{15}\text{N}$ mais baixo do que a soja em plantio convencional. Esse resultado indica que a soja sob plantio direto teve taxas de fixação de N_2 mais altas e mais precocemente do que a soja em plantio convencional. As taxas de fixação de N_2 nessa fase ficaram aquém das necessidades nutricionais das plantas, as quais tiveram que obter a maioria da sua demanda de N da reserva mineral do solo (Tabela 2).

Tabela 1. Peso da matéria seca total, N total (kg/ha), e $\delta^{15}\text{N}$ da soja de primeiro ou de quinto ano de cultivo durante o estádio vegetativo de crescimento, em diferentes sistemas de plantio.

Soja	Peso seco kg/ha		N total %		$\delta^{15}\text{N}$ %	
	19/12	8/1	19/12	8/1	19/12	8/1
1º ano - P4-L4-CV	89	564	3	16	3,49	2,30
1º ano - P4-L4-PD	87	663	3	17	1,39	1,95
5º ano - LCCV	65	591	3	19	2,52	2,27
5º ano - LCCS	100	794	3	22	3,40	3,38
5º ano - LCPD	144	703	5	19	1,54	1,79
DMS (5%)	ns	ns	ns	ns	0,98	0,09
<i>P. maximum</i> (após soja e milheto)					5,07	4,92
<i>P. maximum</i> (após soja sem milheto)					5,23	5,79

Tabela 2. Taxas de fixação de N_2 (%NF) e conteúdos totais de N obtidos de fixação simbiótica (NDFF) ou do solo (NDFS) (kg/ha), em amostras de plantas de soja de primeiro ou de quinto ano de cultivo, durante o estádio vegetativo de crescimento, em diferentes sistemas de plantio.

Soja	% NF		NDFF		NDFS	
	19/12	8/1	19/12	8/1	19/12	8/1
1º ano - P4-L4-CV	25	44	1	7	2	9
1º ano - P4-L4-PD	58	49	2	8	1	9
5º ano - LCCV	40	44	1	1	2	9
5º ano - LCCS	28	34	1	7	2	15
5º ano - LCPD	56	57	3	11	2	8
DMS (5%)			ns	ns	ns	ns

Enchimento de grãos

Neste estádio de crescimento, a soja em todos os tratamentos mostrou produções similares de matéria seca, N total, $\delta^{15}\text{N}$, taxas de fixação e N derivado de fixação ou do solo. Independente do sistema de preparo do solo, com o crescimento as plantas passaram a obter mais N da fixação simbiótica do que do solo, com maiores taxas de fixação de N_2 do que nos estádios de crescimento anteriores (Tabela 3).

Tabela 3. Peso da matéria seca (MS, em kg/ha), N total (kg/ha), $\delta^{15}\text{N}$, taxas de fixação de N_2 (%NF) e N derivado de fixação (NDFF) ou do solo (NDFS) (kg/ha) em amostras de plantas de soja de primeiro ou de quinto ano, na fase de enchimento dos grãos, e $\delta^{15}\text{N}$ de *P. maximum* e soja não nodulante.

<i>Soja</i>	<i>MS</i>	<i>N total</i>	$\delta^{15}\text{N}$	% <i>NF</i>	<i>NDFF</i>	<i>NDFS</i>
1º ano - P4-L4-CV	2.360	54	1,21	65	39	20
1º ano - P4-L4-PD	1.980	52	1,00	68	35	17
5º ano - LCCV	2.332	70	1,63	60	42	28
5º ano - LCCS	2.454	72	1,39	60	41	31
5º ano - LCPD	1.755	53	1,04	65	34	20
LSD ($P < 0,05$)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>P. maximum</i> (após soja e milheto)			5,96			
<i>P. maximum</i> (após soja sem milheto)			6,53			
Soja não nodulante T201			6,05			

Maturação dos grãos

Verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,01$) na produção de matéria seca da parte aérea das plantas e das raízes de soja nessa colheita, mas não houve diferenças para produção de grãos (Tabela 4). A soja cultivada continuamente em plantio convencional produziu as maiores quantidades de matéria seca.

Também mostrou uma boa produção de grãos, com menor produção de raízes. Já a soja de primeiro ano, em plantio convencional após pastagem, embora com grande produção de raízes, obteve menor produção de matéria seca da parte aérea. A soja de primeiro ano, sob plantio direto após pastagem, também obteve grande produção de raízes em comparação à soja de cinco anos, cultivada continuamente sob plantio direto. Tal resultado, que mostra o oposto do que aconteceu nos tratamentos equivalentes de cinco anos de cultivo contínuo, indica um forte efeito do cultivo anterior de *Brachiaria decumbens* na produção de matéria seca. Entretanto, esse efeito não foi observado nos teores de N total (Tabela 5), os quais foram similares em todos os tratamentos.

Tabela 4. Peso da matéria seca e N total (kg/ha) em diferentes partes da planta de soja, na fase de maturação, em cultivo de primeiro ou de quinto ano sob diferentes sistemas de preparo do solo.

Soja	Matéria seca (kg/ha)			N Total (kg/ha)		
	Biomassa	Raízes	Grãos	Biomassa	Raízes	Grãos
1º ano - P4-L4-CV	1.647	4.362	2.077	44	32	126
1º ano - P4-L4-PD	1.414	5.505	1.853	39	37	112
5º ano - LCCV	2.063	3.291	2.200	38	25	138
5º ano - LCCS	1.471	2.660	2.156	30	19	138
5º ano - LCPD	1.749	3.145	2.200	43	22	132
DMS (5%)	477	1.051	ns	ns	11	ns

Tabela 5. $\delta^{15}\text{N}$ e taxas de fixação de N_2 (%) na biomassa da parte aérea, nas raízes e nos grãos de soja na fase de maturação.

Soja	$\delta^{15}\text{N}$			N_2 fixado (%)		
	Biomassa	Raízes	Grãos	Biomassa	Raízes	Grãos
1º ano - P4-L4-CV	1,21	4,99	0,18	66	15	80
1º ano - P4-L4-PD	1,09	4,01	0,17	68	28	66
5º ano - LCCV	2,34	3,85	0,74	51	30	72
5º ano - LCCS	1,40	4,19	0,76	63	25	72
5º ano - LCPD	1,41	3,71	0,04	63	32	82
DMS (5%)	0,29	0,33	0,17	11	4	23

O $\delta^{15}\text{N}$ das raízes de soja, em todos os tratamentos, foi maior do que o da parte aérea, o qual foi igualmente maior do que os teores observados nos grãos (Tabela 5). Essas diferenças demonstram que houve maiores proporções de N_2 fixado nos grãos (66% a 82% do total fixado) do que na biomassa das plantas (51% a 68% do total fixado), as quais, por sua vez, foram maiores do que o N_2 fixado presente nas raízes (15% a 32% do total fixado). Nesse aspecto, também se verificou um efeito do cultivo anterior, uma vez que a soja em plantio convencional de cinco anos obteve uma biomassa da parte aérea maior do que a soja convencional de primeiro ano. Os efeitos do sistema de preparo do solo também foram marcantes, principalmente na soja sob plantio direto, mostrando um menor $\delta^{15}\text{N}$ da biomassa da parte aérea e dos grãos do que a soja de plantio convencional, tanto no primeiro como no quinto ano de cultivo.

A estimativa do N total alocado à biomassa da parte aérea (30 a 44 kg de N/ha), obtida por meio de fixação de N_2 , foi de 17 a 29 kg/ha (Tabela 6). Essas quantidades são maiores do que as obtidas do solo, que variaram de 13 a 19 kg/ha. As raízes continham entre 19 e 37 kg de N/ha, a maioria dos quais obtidos do solo (entre 14 e 27 kg/ha), oriundas da fixação estimou-se de 5 e 10 kg de N/ha. Os grãos apresentaram quantidades totais de N maiores do que as outras partes das plantas (entre 112 e 138 kg de N/ha), a maioria provinda da fixação do N_2 (74 a 108 kg/ha). Tal resultado permite concluir que a maior parte do N_2 fixado é exportada da área quando da colheita dos grãos.

Efetuando-se um balanço do N no sistema, verifica-se um balanço ligeiramente negativo (Tabela 7), isto é, mais N seria exportado do sistema na colheita de grãos do que o efetivamente ganho por meio de fixação de N_2 . Tratamentos com soja plantada continuamente no sistema convencional de preparo de solo, com ou sem cultivo de outono-inverno, mostraram uma tendência de perdas maiores do que a soja cultivada continuamente sob plantio direto. Entretanto, para o cultivo de primeiro ano observou-se o contrário, isto é, a soja plantada no sistema convencional teve um balanço de N mais positivo do que a soja em plantio direto.

Tabela 6. Nitrogênio total obtido de fixação ou proveniente do solo (kg/ha) nas diferentes partes da planta da soja na fase de maturação.

Soja	N de fixação (kg/ha)			N do solo (kg/ha)		
	Biomassa	Raízes	Grãos	Biomassa	Raízes	Grãos
1º ano - P4-L4-CV	29	5	101	15	27	39
1º ano - P4-L4-PD	26	10	74	13	26	38
5º ano - LCCV	19	8	99	19	17	24
5º ano - LCCS	19	5	99	19	14	26
5º ano - LCPD	27	7	108	16	15	38
DMS (5%)	27	3	23	5	8	9

Tabela 7. Balanço do N (kg/ha) na cultura da soja, em cultivo de primeiro ou de quinto ano sob diferentes sistemas de preparo do solo.

Soja	N do sistema obtido por meio da FBN	N exportado nos grãos	Balanço
1º ano - P4-L4-CV	134	126	12
1º ano - P4-L4-PD	110	112	-2
5º ano - LCCV	126	138	-12
5º ano - LCCS	123	138	-15
5º ano - LCPD	134	126	8

Colheita final de grãos

Verificou-se um aumento substancial no peso dos grãos obtidos na amostragem do estádio de maturação e o da colheita final (Tabela 8). A soja em cultivo contínuo de cinco anos produziu significativamente mais ($P < 0,05$) do que a soja de primeiro ano, independente do sistema de preparo de solo. Isto se deve, principalmente, ao efeito residual da adubação anual, pois na soja de primeiro ano o efeito da adubação residual foi só o da adubação efetuada em 1993/94. Verificaram-se, também, efeitos significativos no conteúdo de N total dos grãos na colheita final, em comparação aos apresentados na amostragem da maturação dos grãos (Tabela 6). A proporção de N total, oriundo do solo nos grãos, permaneceu mais ou menos a mesma, sugerindo uma translocação maior do N fixado simbioticamente de outras partes da planta para os grãos.

Tabela 8. Peso de grãos de soja (kg/ha), $\delta^{15}\text{N}$, taxas de fixação de N_2 (%NF), N total (kg/ha), N derivado de fixação total (NDFF) ou do solo (NDFS) (kg/ha) em soja de cultivo de primeiro ou de quinto ano sob diferentes sistemas de preparo do solo.

Soja	Peso	$\delta^{15}\text{N}$	% NF	N total	NDFF	NDFS
1 ^o ano - P4-L4-CV	2.493	0,69	80	172	126	46
1 ^o ano - P4-L4-PD	2.077	0,75	72	189	92	54
5 ^o ano - LCCV	2.683	-0,14	73	172	124	28
5 ^o ano - LCCS	2.961	0,13	72	157	135	33
5 ^o ano - LCPD	2.800	0,76	84	180	143	37
DMS (5%)		0,45	6	32	25	14

Discussão

Produção de matéria seca

O sistema de preparo do solo não influenciou significativamente ($P > 0,05$) a produção de biomassa e de N total tanto no estádio vegetativo (Tabela 1) como no de enchimento de grãos (Tabela 3). Os efeitos de cultivo anterior e da adubação residual foram maiores do que os dos sistemas do preparo de solo, uma vez que se verificou uma tendência das áreas de cultivo contínuo acumularem mais N total do que as áreas de primeiro ano de cultivo. Tal efeito também foi sentido na produção de matéria seca na fase de maturação, mas sem reflexo na produção de N total (Tabela 4).

Uma das causas para essas diferenças de produção poderia ser explicada pela produção de raízes das plantas de primeiro ano (Tabela 4). O pronunciado aumento observado em comparação ao cultivo contínuo de cinco anos, sugere que os resíduos deixados pela pastagem anteriormente cultivada na área (especificamente raízes), com uma alta relação C:N, estimula o crescimento da biomassa microbiana do solo, o que causa a imobilização de N e de outros nutrientes. Com isso as plantas precisariam de um sistema radicular mais extenso, para explorar um volume maior de solo. Esse efeito é parcialmente revertido quando o solo é preparado no sistema convencional, refletindo uma maior produção de grãos no primeiro ano (Tabela 4).

Embora não tenha afetado a produção de grãos no estádio de crescimento, essa divisão de energia da planta tem um efeito significativo na produção final de grãos (Tabela 8). Os dois sistemas de preparo de solo no cultivo de primeiro ano, embora com produção de grãos maior no plantio direto, mostraram uma produção de grãos final significativamente ($P > 0,05$) menor do que os cultivos contínuos de cinco anos. Resultados similares foram descritos por Hussain et al. (1999).

Fixação de N₂

O $\delta^{15}\text{N}$ de *P. maximum* cv. Tanzânia, cultivado em área anteriormente plantada com soja, em plantio direto e convencional, foi sempre maior do que o da soja dos tratamentos testados (Tabelas 1 e 3), e foi aproximado ao medido na cultivar não nodulante de soja T201 (Tabela 3). Com isso, pode-se pressupor que *P. maximum* foi uma referência efetiva para a fase inicial de crescimento da soja. O $\delta^{15}\text{N}$ não foi constante nas colheitas seqüenciais, o que pode indicar

variações na disponibilidade de amônio e nitrato no solo, o que faria com que o N mineral do solo apresentasse ^{15}N com valores de delta diferentes durante o período, como já foi demonstrado por Pate et al. (1994). Este também foi influenciado pelo cultivo anterior da área, uma vez que foi maior em área de soja cultivada anteriormente com milheto no outono-inverno, do que em área em que a soja foi cultivada sem plantio de milheto. Tais variações são evidências de que ambas as áreas tinham teores de N mineral diferentes no período, reforçando a necessidade de se estimarem as taxas de fixação de N_2 com uma planta controle não fixadora crescendo em área com o mesmo histórico de cultivo.

Verificou-se um declínio gradual do $\delta^{15}\text{N}$ da soja nos diferentes tratamentos da primeira para a segunda amostragem durante o estádio de crescimento vegetativo (Tabela 1) e durante o enchimento de grãos (Tabela 3), indicando uma contínua diluição do ^{15}N que as plantas estavam absorvendo do N mineral do solo pela entrada de N menos enriquecido em ^{15}N , pela fixação do N_2 atmosférico. O $\delta^{15}\text{N}$ da soja sob plantio direto foi significativamente ($P < 0,05$) menor do que o da soja sob plantio convencional na primeira amostragem, indicando que a simbiose foi estabelecida mais cedo nesse tratamento (Tabela 1). As taxas estimadas de fixação de N_2 indicam que as plantas de plantio direto obtiveram mais do que 50% das suas necessidades em N por meio de fixação durante o estádio vegetativo, enquanto que as plantas sob plantio convencional obtiveram menos do que 40% (Tabela 2). No enchimento de grãos, essas diferenças se minimizaram, mas os tratamentos com plantio direto ainda mostraram uma leve tendência para taxas mais altas de fixação (Tabela 3).

Tais diferenças em taxas de fixação de N_2 entre os diferentes tratamentos podem ser explicadas como uma resposta às diferentes disponibilidades de N mineral do solo. No solo preparado mecanicamente (plantio convencional), os níveis de N mineral são em geral maiores, por causa do efeito físico do preparo sobre a matéria orgânica, com aumento dos sítios de exposição ao ataque microbiano e subsequente mineralização. No plantio direto, o solo não é muito trabalhado e o efeito de mineralização é menor, como demonstrado por Doran et al. (1998). Foram efetuadas paralelamente medidas, a cada 14 dias, do N mineral do solo até 20 cm de profundidade entre dezembro de 1997 e fevereiro de 1998, mas não se verificou qualquer alteração significativa nesse sentido, especialmente porque os valores obtidos eram muitos baixos. Entretanto, observações feitas por Kanda et al. (2000), anteriormente ao plantio, indicaram que havia até três vezes mais nitrato nos primeiros 20 cm de profundidade nas áreas plantadas

com soja de cinco anos, no preparo convencional do que no plantio direto. Uma disponibilidade maior de N mineral diminuiria as necessidades de fixação simbótica da soja sob plantio convencional durante a fase inicial, uma vez que se sabe que teores mais elevados de N mineral afetam inversamente a fixação de N₂ (Bergersen et al., 1989; Brockwell et al., 1989; Cowie et al., 1990). Também tem sido demonstrado que a soja, cultivada em condições que levem à imobilização do N mineral, aumenta sua dependência na fixação de N₂ (Heckman & Kluchinski, 1995). À medida que a estação de crescimento progride e os efeitos iniciais de preparo do solo diminuem, os níveis de N mineral do solo também se igualam, fazendo com que o nível de dependência na fixação de N₂ se normalize de acordo com o potencial da cultivar de soja utilizada. Deve-se considerar que a mesma cultivar ('Conquista') foi usada em todos os tratamentos e inoculada com o mesmo tipo de *Bradyrhizobium*, o que minimizaria também qualquer efeito de preparo do solo na população da bactéria fixadora. De forma geral, as taxas de fixação de N₂ estimadas são semelhantes àquelas expressas comumente para soja, como as descritas por Bergersen et al. (1992a).

Essas explicações para as diferenças nas taxas de fixação são confirmadas pelos conteúdos totais de N obtidos pelas plantas, tanto de fixação como do solo (Tabela 3). Nos tratamentos com preparo de solo convencional, o N derivado do solo foi maior do que o N de fixação nas colheitas iniciais, com o inverso ocorrendo nos tratamentos sem preparo do solo. Já na colheita durante o enchimento de grãos, o N obtido de fixação foi, aproximadamente, duas vezes mais alto do que o N obtido do solo.

Uma proporção maior do N₂ fixado foi alocada aos grãos quando comparada às outras partes da planta durante o enchimento de grãos (Tabela 6). O plantio direto de primeiro ano mostrou um certo atraso na translocação de N para os grãos em comparação aos demais tratamentos. Muito embora esse tratamento tivesse uma maior taxa de fixação, ele mostrou uma menor produção até esse estádio de crescimento. Isto pode ser por descompasso entre as necessidades da planta e a disponibilidade de outros nutrientes essenciais, tais como P e K. À medida que a biomassa do solo aumenta no solo sem preparo em função dos resíduos deixados pela pastagem, como foi discutido anteriormente, poderia aumentar também a imobilização desses nutrientes. Com isso, a planta necessitaria dispensar mais energia para construir um sistema radicular mais extenso e explorar o solo mais eficientemente. Como visto na Tabela 4, as plantas nesse tratamento efetivamente mostraram uma maior produção de raízes.

Balanço de N

O balanço do N que a soja adquiriu por meio da fixação de N₂ até a maturação dos grãos (medidos nas raízes, biomassa aérea e grãos) e o N que eventualmente será exportado do sistema pela colheita de grãos, indica que não houve ganho significativo de N no sistema como um todo, principalmente o que é deixado nos resíduos (Tabela 7). As pequenas variações, positivas e negativas, não são suficientes para caracterizar um efeito significativo, em curto prazo, do sistema de preparo do solo. Se medidos apropriadamente na colheita final de grãos os valores seriam seguramente todos negativos, uma vez que a maior parte do N₂ fixado pelas plantas foi transferida para os grãos (Tabela 8), como discutido antes. Balanços negativos são comuns em soja (Herridge & Holland, 1992; Peoples et al., 1995; Sisworo et al., 1990; Toomsan et al., 1995). Nem mesmo incluindo-se os conteúdos totais de N das raízes, haveria uma alteração do quadro, uma vez que a maior parte do N das raízes foi originado do solo e não da fixação (Tabela 6).

Há que se considerar que a cultivar “Conquista” de soja, como qualquer outra usada no sistema produtivo, foi selecionada para produção de grãos, e não de biomassa. Daí que seu índice de colheita (proporção de N nos grãos em relação à produção total de N) é alto. Para se aumentar a eficiência nesse caso, as taxas de fixação deveriam ser de pelo menos 90% (Giller et al., 1994). Taxas nesse nível são difíceis de se conseguir com as variedades comerciais, muito embora exista potencial genético para tal na cultura da soja (Herridge & Rose, 2000). Assim, pode-se concluir que cultivares de soja como estas não irão acrescentar N ao sistema em curto prazo. O maior benefício aparente reside no fato de que elas estão produzindo sem utilizarem grandes quantidades de N do solo, que poderá ser economizado para cultivos subseqüentes, como demonstrado por Herridge et al. (1995), o chamado *sparring effect*. É possível também que exista uma contribuição não diretamente medida, que ocorre pelo N derivado ou perdido na decomposição das raízes, nódulos e por raízes finas que não são devidamente colhidos (Unkovich & Pate, 2000). Outro aspecto igualmente importante seria aquele por causa de uma relação C:N mais favorável nos resíduos de soja, os quais são mais prontamente mineralizáveis do que a matéria orgânica residente do solo, causando a falsa impressão de que o solo foi melhorado. Bergersen et al. (1992b) demonstraram que esse efeito dura até pelo menos um ano após o cultivo da soja. Em consequência, uma pastagem plantada após uma cultivar de soja com tais características será logo deficiente em N, muito embora possa ter um crescimento inicial mais favorecido.

Baseado na literatura, existem outras espécies de leguminosas que são mais efetivas na reciclagem de N, tais como amendoim ou caupi, as quais produzem grãos com um índice de colheita menor (Toomsan et al., 1994). Entretanto, o mercado na região dos Cerrados é mais importante para a cultura da soja. É necessário que o desenvolvimento de novas cultivares de soja levem em consideração esse aspecto do índice de colheita e tenha uma visão mais abrangente do sistema de produção, principalmente se o objetivo for levar em conta o balanço do nitrogênio e seus efeitos residuais aos cultivos subseqüentes. Tem sido demonstrado que o sistema de plantio direto, a exemplo dos resultados observados neste trabalho, em longo prazo, apresenta um balanço mais positivo do N, quando comparado ao sistema de preparo convencional. O saldo positivo, no entanto, a exemplo do já discutido, não é suficiente para longos períodos de exploração de culturas em sucessão. A utilização da cultura da soja como forma de elevar a fertilidade do solo, e amortizar parte dos custos efetuados na recuperação de pastagens pela venda de grãos, é uma excelente alternativa para os produtores que têm pastagens degradadas. Entretanto, os aspectos do balanço do N com relação às novas cultivares de soja precisam ser observados como forma de ampliar a sustentabilidade dos sistemas agropecuários nos Cerrados.

Conclusões

Não se verificaram aumentos significativos na produção de biomassa e na acumulação de N quando se compararam sistemas de preparo do solo convencional e plantio direto, na cultivar de soja Conquista, em um Latossolo Vermelho-Escuro, argiloso e distrófico dos Cerrados.

Houve efeito de sistema de preparo do solo nas taxas de fixação de N₂ apenas nos estádios iniciais de crescimento, e maiores no plantio direto do que no sistema convencional.

O balanço do N do cultivo da soja, levando-se em consideração o N obtido pela fixação e o exportado nos grãos, indica que não restariam quantidades significativas de N para as culturas em sucessão como resultado da fixação de N₂ pela soja, independente do preparo de solo.

Referências Bibliográficas

- AMARGER, N.; MARIOTTI, A.; MARIOTTI, F.; DURR, J. C.; BOURGUIGNON, C.; LAGACHERIE, B. Estimate of symbiotically fixed nitrogen in field grown soybeans using variations in ^{15}N natural abundance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 52, n. 2, p. 269-280, 1979.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; AMADO, T. J. C.; MARTIN-NETO, L.; FERNANDES, S. V. Organic matter storage in a sandy clay loam Acrisol affected by tillage and cropping systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 54, n. 1/2, p. 101-109, 2000.
- BERGERSEN, F. J.; PEOPLES, M. B.; TURNER, G. L. Isotopic discriminations during the accumulation of nitrogen by soybeans. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 15, n. 3, p. 407-420, 1988.
- BERGERSEN, F. J.; BROCKWELL, J.; GAULT, R. R.; MORTHORPE, L. J.; PEOPLES, M. B.; TURNER, G. L. Effects of available soil nitrogen and rates of inoculation on nitrogen fixation by irrigated soybean and evaluation of d^{15}N methods for measurements. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 40, n. 4, p. 736-780, 1989.
- BERGERSEN, F. J.; TURNER, G. L.; PEOPLES, M. B.; GAULT, R. R.; MORTHORPE, L. J.; BROCKWELL, J. Nitrogen fixation during vegetative and reproductive growth of irrigated soybeans in the field: application of d^{15}N methods. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 43, n. 1, p. 145-153, 1992a.
- BERGERSEN, F. J.; TURNER, G. L.; GAULT, R. R.; PEOPLES, M. B.; MORTHORPE, L. J.; BROCKWELL, J. Contribution of nitrogen in soybeans crop residues to subsequent crops and to soils. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 43, n. 1, p. 155-169, 1992b.
- BROCKWELL, J.; GAULT, R. R.; MORTHORPE, L. J.; PEOPLES, M. B.; TURNER, G. L.; BERGERSEN, F. J. Effects of nitrogen status and rate of inoculation on the establishment of population of *Bradyrhizobium japonicum* and on nodulation of soybeans. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 40, n. 4, p. 753-762, 1989.

COWIE, A. L.; JESSOP, R. S.; MacLEOD, D. A. Effect of soil nitrate on the growth and nodulation of winter crop legumes. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 30, n. 5, p. 651-654, 1990.

DORAN, J. W.; ELLIOTT, E. T.; PAUSTIAN, K. Soil microbial activity, nitrogen cycling, and long-term changes in organic carbon pools as related to fallow tillage management. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 49, n. 1/2, p. 3-18, 1998.

FERREIRA, M. C.; ANDRADE, D. D.; CHUEIRE, L. M. D.; TAKEMURA, S. M.; HUNGRIA, M. Tillage method and crop rotation effects on the population sizes and diversity of bradyrhizobia nodulating soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 627-637, 2000.

GILLER, K. E.; McDONAGH, J. F.; CADISCH, G. Can biological nitrogen fixation sustain agriculture in the tropics? In: SYERS, J. K.; RIMMER, D. L. ed. **Soil science and sustainable land management in the tropics**. Wallingford: CABI, 1994. p. 173-191.

HECKMAN, J. R.; KLUCHINSKI, D. Soybean nodulation and dinitrogen fixation on soil amended with plant residues. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 20, p. 284-288, 1995.

HERRIDGE, D. F.; HOLLAND, J. F. Production of summer crops in northern New South Wales. 1. Effect of tillage and double cropping on growth, grain and N yield of six crops. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 43, n. 1, p. 105-122, 1992.

HERRIDGE, D. F.; ROSE, I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 4/5, p. 229-248, 2000.

HERRIDGE, D. F.; ROUGHLEY, R. J.; BROCKWELL, J. Effect of Rhizobia and soil nitrate on the establishment and functioning of the soybean symbiosis in the field. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 35, n. 2, p. 149-161, 1984.

HERRIDGE, D. F.; MARCELLOS, H.; FELTON, W. L.; TURNER, G. L.; PEOPLES, M. B. Chickpea increases soil-N fertility in cereal systems through nitrate sparring and N₂ fixation. **Soil Biology and Chemistry**, Oxford, v. 27, n. 4/5, p. 545-551, 1995.

HUGHES, J. F.; HERRIDGE, D. F. Effect of tillage practices on yield, nodulation and nitrogen fixation of soybean in the north-coastal New South Wales. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 29, n. 5, p. 671-677, 1989.

HUSSAIN, I.; OLSON, K. R.; EBELHAR, S. A. Impact of tillage and no-till on production of maize and soybean on an eroded Illinois silt loam soil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 52, n. 2/3, p. 37-49, 1999.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors affecting N fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p. 151-164, 2000.

KANDA, K.; TAKAHASHI, M.; MIRANDA, C. H. B. Nitrogen cycling in agropastoral systems. In: INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON AGROPASTORAL SYSTEMS IN SOUTH AMERICA, 2000, Campo Grande. [Proceedings...]. Campo Grande: JIRCAS/Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 75-83. (JIRCAS Workshop Report, 19).

KICHEL, A. N.; MIRANDA, C. H. B. On-farm trial of agropastoral systems. In: INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON AGROPASTORAL SYSTEMS IN SOUTH AMERICA, 2000, Campo Grande. [Proceedings...] Campo Grande: JIRCAS/Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 51-56. (JIRCAS Workshop Report, 18).

LARNEY, F. J.; BREMER, E.; JANZEN, H. H.; JOHNSTON, A. M.; LINDWALL, C. W. Changes in total, mineralizable and light fraction soil organic matter with cropping and tillage intensities in semi-arid southern Alberta, Canada. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 42, n. 3/4, p. 229-240, 1997.

MACEDO, M. C. M. Degradação de pastagens: conceitos, alternativas e métodos de recuperação. In: CURSO DE PASTAGENS PARA TÉCNICOS DA SEPROD, 2001. Campo Grande, MS. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001, 12 p.

MACEDO, M. C. M.; BONO, J. A. M.; ZIMMER, A. H.; COSTA, F. P.; KANNO, T.; MIRANDA, C. H. B.; KICHEL, A. N.; KANNO, T. Preliminary results of agro-pastoral systems in the Cerrados of Mato Grosso do Sul – Brazil. In: INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON AGROPASTORAL SYSTEMS IN SOUTH AMERICA, 2000, Campo Grande. [Proceedings...] Campo Grande: JIRCAS/Embrapa Gado de Corte, 2001. p. 35-42. (JIRCAS Workshop Report, 19).

PATE, J. S.; UNKOVICH, M. J.; ARMSTRONG, E. L.; SANFORD, P. Selection of reference plants for ^{15}N natural-abundance assessment of N_2 fixation by crop and pasture legumes in South-West Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 45, n. 1, p. 133-147, 1994.

PEOPLES, M. B.; GAULT, R. R.; LEAN, B.; SYKES, J. D.; BROCKWELL, J. Nitrogen fixation by soybean in commercial irrigated crops of central and southern New South Wales. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 4/5, p. 553-561, 1995.

POWER, J. F.; PETERSON, G. A. Nitrogen transformations, utilization, and conservation as affected by fallow tillage method. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 49, n. 1/2, p. 37-47, 1998.

RENNIE, R. J.; DUBETZ, S.; BIKE, J. B.; MUENDEL, H. H. Dinitrogen fixation measured by ^{15}N isotope dilution in two Canadian soybean cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 5, p. 725-730, 1982.

RENNIE, R. J.; RENNIE, D. A.; SIRIPAIBOOL, C.; CHAIWANAKUPT, P.; BOONKERED, N.; SNITWONGSE, P. N_2 fixation in Thai soybeans: effect of tillage and inoculation on ^{15}N -determined N_2 fixation in recommended cultivars and advanced breeding lines. **Plant and Soil**, The Hague, v. 112, n. 2, p. 183-193, 1988.

SISWORO, W. H.; MITROSUHARJO, M. N.; RASJID, H.; MYERS, R. J. K. The relative roles of N fixation, fertilizer, crop residues and soil in supplying N in multiple cropping systems in a humid, tropical upland cropping system. **Plant and Soil**, The Hague, v. 121, n. 1, p. 73-82, 1990.

SHEARER, G.; KOHL, D. H.; HARPER, J. Distribution of ^{15}N among plant parts of nodulating and nonnodulating isolines of soybeans. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 66, n. 1, p. 57-60, 1980.

TOOMSAN, B.; McDONAGH, J. F.; LIMPINUNTANA, V.; GILLER, K. E. Nitrogen fixation by groundnut and soyabean and residual nitrogen benefits to rice farmers field in Northeast Thailand. **Plant and Soil**, The Hague, v. 175, n. 1, p. 45-56, 1995.

UNKOVICH, M. J.; PATE, J. S. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N_2 fixation by annual legumes. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 65, n. 2/3, p. 211-228, 2000.

WADA, E.; IMAIZUMI, R.; KABAYA, Y.; YASUDA, Y.; KANANORI, T.; SAITO, G.; NISHIMUNE, A. Estimation of symbiotically fixed nitrogen in field-grown soybean: an application of natural $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ abundance and low level ^{15}N -tracer technique. **Plant and Soil**, The Hague, v. 93, n. 2, p. 269-286, 1986.

WHEATLEY, D. M.; MacLEOD, D. A.; JESSOP, R. S. Influence of tillage treatments on N_2 fixation of soybean. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 27, n. 4/5, p. 571-574, 1995.

WANDER, M. M.; BOLLERO, G. A. Soil quality assessment of tillage impacts in Illinois. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 63, n. 4, p. 961-971, 1999.

YONEYAMA, Y.; FUJITA, F.; YOSHIDA, T.; MATSUMOTO, T.; KAMBAYASHI, I.; YAZAKI, J. Variation in natural abundance of ^{15}N among plant-parts and in $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ fractionation during N_2 fixation in the legume-Rhizobia symbiotic system. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 27, n. 5, p. 791-799, 1986a.

YONEYAMA, Y.; NAKANO, H.; KUWAHARA, M.; TAKAHASHI, T.;
KAMBAYASHI, I.; ISHIZUKA, J. Natural ^{15}N abundance of field-grown soybean
grains harvested in various locations in Japan and estimate of the fractional
contribution of nitrogen fixation. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 32,
n. 3, p. 443-449, 1986b.