

A inoculação do feijoeiro no Brasil

Alternativas para aumentar a produtividade utilizando
microrganismos promotores do crescimento vegetal



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

DOCUMENTOS 384

A inoculação do feijoeiro no Brasil

**Alternativas para aumentar a produtividade utilizando
microrganismos promotores do crescimento vegetal**

*Lucas Gabriel Ferreira Coelho
Catharine Abreu Bomfim
Ieda de Carvalho Mendes
Helson Mario Martins do Vale
Fábio Bueno dos Reis Junior*

Exemplar desta publicação disponível gratuitamente no
link: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília / Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970, Planaltina, DF
Fone: (61) 3388-9898
embrapa.br/cerrados
embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações da Unidade

Presidente
Lineu Neiva Rodrigues

Secretária-executiva
Alessandra Duarte de Oliveira

Secretária
Alessandra Silva Gelape Faleiro

Membros
*Alessandra Silva Gelape Faleiro;
Alexandre Specht; Edson Eyji Sano;
Fábio Gelape Faleiro; Gustavo José Braga;
Jussara Flores de Oliveira Arbues;
Kleberon Worsley Souza;
Maria Madalena Rinaldi;
Shirley da Luz Soares Araujo*

Supervisão editorial e revisão de texto
Jussara Flores de Oliveira Arbues

Normalização bibliográfica
Shirley da Luz Soares Araújo

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Leila Sandra Gomes Alencar

Fotos da capa
*Fabiano Bastos
Fábio Bueno*

Impressão e acabamento
Alexandre Moreira Veloso

1ª edição

1ª impressão (2021): tiragem 30 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).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Cerrados

158 A inoculação do feijoeiro no Brasil: alternativas para aumentar a
produtividade utilizando microrganismos promotores do crescimento
vegetal / Lucas Gabriel Ferreira Coelho ... [et al.]. – Planaltina, DF :
Embrapa Cerrados, 2021.

47 p. (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, ISSN
online 2176-5081, 384).

1. Feijão. 2. Fixação de nitrogênio. 3. Rizóbio. I. Coelho, Lucas
Gabriel Ferreira. II. Embrapa Cerrados. III. Série.

CDD (21 ed.) 635.652

Autores

Lucas Gabriel Ferreira Coelho

Biólogo, mestrando no programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana pela Universidade de Brasília, bolsista da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Catharine Abreu Bomfim

Biotecnóloga, doutoranda em Biologia Microbiana pela Universidade de Brasília, bolsista da Embrapa Cerrados, Brasília, DF

Ieda de Carvalho Mendes

Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Ciência do Solo, pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Helson Mario Martins do Vale

Licenciado em Ciências Agrícolas, doutor em Microbiologia Agrícola, professor da Universidade de Brasília, Brasília, DF

Fábio Bueno dos Reis Junior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do Solo, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF

Apresentação

O Brasil está entre os maiores produtores e consumidores mundiais de feijão, esse alimento que faz parte da dieta de diversos países e é considerado uma fonte de proteínas, fibras e minerais de baixo custo. Pertencente à família das leguminosas, o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é capaz de interagir com bactérias do solo, popularmente conhecidas como rizóbios, capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Neste documento, são abordados, inicialmente, aspectos relacionados à simbiose do feijoeiro com rizóbios, destacando as principais espécies capazes de nodular essa cultura e realizar a FBN. Em seguida, é discutido o potencial para promoção de crescimento e ganhos de produtividade, provenientes da inoculação com estirpes selecionadas pela pesquisa, o que pode resultar na melhoria dos aspectos econômicos e na diminuição dos impactos ambientais negativos associados ao uso de fertilizantes químicos nitrogenados. Por fim, são apresentadas as principais estratégias de inoculação surgidas nos últimos anos, como a co-inoculação com outras rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, que trazem benefícios para a cultura e podem aumentar a eficiência da FBN, com impactos positivos sobre a produtividade do feijoeiro.

Sebastião Pedro da Silva Neto
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução.....	9
Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro	11
Fatores que influenciam a FBN no feijoeiro	15
Competição com rizóbios nativos do solo	16
Eficiência da FBN influenciada pela região de cultivo e cultivar utilizada	18
Senescência precoce dos nódulos.....	20
Fatores abióticos	21
Fatores bióticos	23
Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal.....	24
Alternativas para aumentar a eficiência da inoculação	26
Coinoculação.....	27
Métodos de inoculação	30
Uso de metabólitos secundários microbianos	33
Considerações finais	35
Referências	36

Introdução

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais consumidas no mundo e é a base alimentar de vários países, principalmente os em desenvolvimentos e emergentes, por ser uma fonte proteica de baixo custo e possuir alta concentração de carboidratos e aminoácidos essenciais (Costa et al., 2006; Hayat et al., 2014; Rezende et al., 2018). A maior parte da produção mundial de feijão se concentra na Ásia e nas Américas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor, com produção anual de 3 milhões de toneladas de grãos, atrás apenas da Índia e Myanmar, com 3,8 milhões e 3,2 milhões de toneladas por ano, respectivamente (FAO, 2019). O feijão no Brasil é cultivado em três safras distintas (safra das águas, safra da seca e safrinha) e faz parte dos sistemas de produção de pequenos, médios e grandes produtores, esses últimos em escala empresarial altamente tecnológica. As regiões que mais produzem feijão no Brasil são: Sul, Sudeste e Centro-Oeste, com destaque para os estados do Paraná, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso (CONAB, 2020).

Pertencente à família das Fabaceae (ou Leguminosae), o feijoeiro é capaz de realizar simbiose com bactérias comumente chamadas de rizóbios, que fixam o nitrogênio atmosférico (N_2) e o disponibiliza na forma amoniacal para as plantas. As bactérias conhecidas como mais eficientes na interação com o feijoeiro pertencem ao gênero *Rhizobium* como *Rhizobium tropici*, *R. etli*, *R. freirei*, *R. phaseoli*, entre outras (Martinez-Romero et al., 1991; Segovia et al., 1993; Dall'Agnol et al., 2013; Mercante et al., 2017). Além das bactérias do gênero *Rhizobium*, o feijoeiro é capaz de interagir com bactérias pertencentes a outros gêneros, tais como *Bradyrhizobium* e *Paraburkholderia*, em níveis variáveis de eficiência (Michiels et al., 1998; Dall'Agnol et al., 2017).

Estirpes de rizóbios competitivas, geneticamente estáveis, tolerantes a solos ácidos e a altas temperaturas, têm sido selecionadas, principalmente dentro do gênero *Rhizobium*, com melhor eficiência da FBN no feijoeiro. Como resultado, estirpes como *R. tropici* SEMIA 4077 (= CIAT 899) e SEMIA 4088 (= H 12) e *R. freirei* SEMIA 4080 (= PRF 81) foram selecionadas e são autorizadas para a produção de inoculantes para a cultura do feijoeiro no Brasil (Brasil, 2011). A inoculação dessas bactérias no cultivo do feijoeiro resulta em produtividades que podem ser superiores a 4 mil quilogramas de grãos por hectare (Hungria et al., 2013; Andraus et al., 2016; Peres et al., 2016; Barros

et al., 2018; Steiner et al., 2019). No entanto, a inoculação dessa cultura com as estirpes comerciais tem gerado resultados variáveis. As causas principais dessa variação estão associados à grande diversidade de rizóbios nativos altamente competitivos presentes nos solos brasileiros (Vargas et al., 2000; Ferreira et al., 2013).

Outros fatores como a baixa especificidade hospedeira, a senescência precoce dos nódulos (Michiels et al., 1998; Silva et al., 2019), e a susceptibilidade da cultura a estresses bióticos e abióticos, como pragas, solos ácidos e altas temperaturas, contribuem para diminuir a eficiência da FBN e, consequentemente, a reduzir a capacidade produtiva da cultura. As inconsistências nas respostas à inoculação do feijoeiro, somadas à alta demanda de nitrogênio pela cultura, faz com que o uso de fertilizantes químicos nitrogenados seja indispensável em algumas regiões para garantir altos níveis de produção de grãos. Para aumentar a eficiência do processo biológico e diminuir o uso de fertilizantes nitrogenados, novas estratégias de inoculação têm sido desenvolvidas.

A coinoculação da bactéria simbiote do feijoeiro com outras bactérias associativas, promotoras do crescimento vegetal, é uma das alternativas que vem sendo cada vez mais adotada pelos produtores brasileiros. A rizobactéria *Azospirillum brasilense* tem tido destaque devido à sua capacidade em produzir reguladores de crescimento vegetal, principalmente ácido indolacético, o qual promove o crescimento radicular e o ganho em biomassa, além de aumentar a tolerância a estresses bióticos e abióticos, com efeitos positivos em plantas mais susceptíveis a estresses, como o feijoeiro (Okumura et al., 2013; Fukami et al., 2017, 2018a, 2018c). A coinoculação do feijoeiro com *R. tropici* e *A. brasilense* tem demonstrado aumento no número e na massa seca de nódulos, na biomassa seca de raiz e na parte aérea e no rendimento de grãos, que pode ser até 26% superior ao controle inoculado apenas com *Rhizobium* spp. e 5% superior ao controle nitrogenado com 80 kg N/ha (Remans et al., 2008; Hungria et al., 2013; Peres et al., 2016; Souza; Ferreira, 2017; Steiner et al., 2019).

Diferentes modos de inoculação, como o que ocorre no sulco de cultivo e até mesmo foliar, em diferentes fases de desenvolvimento, também têm sido propostos. Em trabalhos com soja e milho, essas alternativas têm demonstrado ganhos significativos de produtividade, em relação à inoculação exclu-

sivamente via sementes (Hungria et al., 2015a, 2015b; Fukami et al., 2016; Moretti et al., 2018). Puente et al. (2018) destacam, por exemplo, que a inoculação suplementar via foliar com *A. brasilense* em soja pode resultar em ganhos de produtividade, que, provavelmente, estão relacionados à síntese de reguladores de crescimento vegetal.

Além da inoculação com rizobactérias associativas e novos modos de inoculação, o uso de moléculas do metabolismo secundário de bactérias promotoras do crescimento vegetal tem mostrado resultados promissores em termos de produtividade. A inoculação de plantas de soja e milho com extratos metabólicos de rizóbios, contendo compostos secundários como exopolissacarídeos (EPS), lipoquitooligossacarídeos (LCOs) e reguladores do crescimento vegetal, pode favorecer o estabelecimento das interações planta-microrganismos, além de promover o crescimento vegetal (Marks et al., 2013, 2015).

Novas alternativas e estratégias para a inoculação do feijoeiro permitem vislumbrar um cenário propício para a diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados e dos impactos ambientais e econômicos causados pelo uso excessivo deste insumo. Esse documento tem como objetivo abordar os resultados de pesquisa sobre a inoculação do feijoeiro com bactérias do gênero *Rhizobium* spp. no Brasil, além de recentes estratégias de inoculação promissoras para aumentar a nodulação e a produtividade e, conseqüentemente, a diminuição do uso de fertilizantes químicos nitrogenados na cultura.

Fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro

Grande parte das plantas da família Fabaceae (ou Leguminosae), popularmente conhecidas como leguminosas, possuem a capacidade de interagir, por meio de uma relação simbiótica mutualística, com um grupo de bactérias Gram-negativas, pertencentes às classes Alphaproteobacteria e Betaproteobacteria, nominadas de modo geral como rizóbios (Haag et al., 2012). Por meio do complexo enzimático nitrogenase, as bactérias diazotróficas (fixadoras de nitrogênio atmosférico) são capazes de reduzir o N_2 atmosférico à amônia (NH_3), sendo, em seguida, convertida em íon amônio (NH_4^+), a principal fonte de nitrogênio assimilável pelas plantas. O processo de fixação biológica ocorre em estruturas especializadas nas raízes denominadas nódulos, em que o hospedeiro fornece proteção e fotoassimilados em troca do nitrogênio fixado (Ferguson et al., 2010; Haag et al., 2012).

Uma importante característica do feijoeiro é a capacidade de realizar simbiose com bactérias pertencentes a diversos gêneros do grupo dos rizóbios. As principais espécies nodulantes eficientes do feijoeiro pertencem ao gênero *Rhizobium*, sendo elas: *Rhizobium etli* (Segovia et al., 1993), *R. tropici* (Martinez-Romero et al., 1991), *R. phaseoli* (Ramírez-Babena et al., 2008), *R. paranaense* (Dall'agnol et al., 2014), *R. freirei* (Dall'agnol et al., 2013), *R. gallicum* (Amarger et al., 1997) e *R. leguminosarum* (Grange et al., 2007). Todas essas espécies já foram isoladas de solos brasileiros, com exceção de *R. gallicum* (van Berkum et al., 1996; Amarger et al., 1997; Grange et al., 2007). A espécie *R. etli*, juntamente com *R. leguminosarum* e *R. tropici*, são as mais comuns em solos brasileiros (Pinto et al., 2007; Grange; Hungria, 2004), com a espécie *R. tropici* apresentando a maior estabilidade genética, mantendo suas propriedades simbióticas mesmo sob condições de estresse (Mostasso et al., 2002; Pinto et al., 2007). Além da alta estabilidade genética, as bactérias *R. tropici* são capazes de tolerar condições de baixo pH e temperaturas mais elevadas, o que torna essa espécie altamente competitiva com os rizóbios nativos. Essas características fazem com que essa espécie seja recomendada para inoculação do feijoeiro em condições de solos tropicais e subtropicais, como os encontrados no Brasil (Martínez-Romero et al., 1991; Hungria et al., 2000; Grange et al., 2007).

Além dessas espécies, outras bactérias do gênero *Rhizobium* também são simbiontes primárias do feijoeiro e identificadas em diferentes continentes, como *R. lusitanum* (Valverde et al., 2006), *R. multihospitium* (Han et al., 2008), *R. mesoamericanum* (López-López et al., 2012), *R. leucaenae* (Ribeiro et al., 2012), *R. ecuadorensis* (Ribeiro et al., 2015), *R. vallis* (Wang et al., 2011), *R. radiobacter*, *R. acidisoli*, *R. pusense* e *R. miluonense* (Oliveira-Franceschini et al., 2017), *R. aethiopicum* (Aserse et al., 2017), *R. azibense* (Mnasri et al., 2014), *R. chutanense* (Huo et al., 2019), *R. esperanzae* (Cordeiro et al., 2017), *R. hidalgonense* (Yan et al., 2017).

Todavia, o feijoeiro também é capaz de realizar simbiose e fixar nitrogênio em taxas variáveis de eficiência, com bactérias pertencentes a outros gêneros. Por isso, o feijoeiro é considerado um hospedeiro não específico (promíscuo), ou seja, de baixa especificidade hospedeira. Alguns exemplos dessas bactérias são: *Mesorhizobium loti*, *M. plurifarum*, *Azorhizobium caulinodans*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium meliloti*, *Paraburkholderia nodosa*,

P. tuberum e *P. sabiae*, *Cupriavidus necator* (Michiels et al., 1998; Cardoso et al., 2012; Dall'Agnol et al., 2017). Apesar de, em alguns casos, terem sido isoladas de outros hospedeiros, essas espécies foram capazes de nodular o feijoeiro em experimentos com condições controladas.

As três estirpes autorizadas para uso em formulações de inoculantes para o feijoeiro no Brasil, SEMIA 4077 (= CIAT 899), SEMIA 4088 (= H 12) e (PRF 81) (Brasil, 2011), foram selecionadas pela sua estabilidade de interação e maior eficiência de FBN em solos brasileiros. Em estudos conduzidos no estado do Paraná, em solos com baixos teores de N, a inoculação com as espécies *R. tropici* CIAT 899 e *R. freirei* PRF 81, em cultivos do feijoeiro, resultou em ganhos superiores a 2,5 mil quilogramas de grãos por hectare sem adição de N-fertilizantes (Hungria et al., 2000; Hungria et al., 2003). Juntamente com a estirpe de *R. tropici* CIAT 899, a estirpe de *R. freirei* PRF 81 (antes identificada como *R. tropici*) também obteve resultados superiores no desenvolvimento vegetal e na produtividade do feijoeiro em solos tropicais, o que pode estar associado à alta tolerância a acidez e altas temperaturas do solo e por serem geneticamente mais estáveis que outras bactérias do gênero *Rhizobium* associadas ao feijoeiro, como *R. leguminosarum* (Martinez-Romero et al., 1991; Hungria et al., 2000; Dall'agnol et al., 2013).

Estudos conduzidos na região Centro-Oeste indicam que a inoculação do feijoeiro e a suplementação com 40 kg de N/ha em cobertura, permitem atingir produtividades superiores a 2,5 mil quilogramas de grãos por hectare em cultivos no bioma Cerrado e 3 mil quilogramas por hectare no bioma Mata Atlântica (Brito et al., 2015; Barros et al., 2013, 2017). Essa dose de N aplicada em cobertura parece não prejudicar a nodulação das plantas. Em outro estudo, Pelegrin et al. (2009) demonstraram, em cultivo no Mato Grosso do Sul, que a inoculação foi equivalente a uma adubação de 80 kg N/ha e um acréscimo de 20 kg N/ha na semeadura associado com a inoculação com *R. tropici* CIAT 899 foi suficiente para a obtenção de uma produtividade de 3.339 kg de grãos/ha, equivalente à adubação com 160 kg N/ha.

No entanto, a depender da cultivar e das condições edafoclimáticas, os resultados da inoculação dessas estirpes podem ser variáveis (Barros et al., 2018; Andraus et al., 2016), fazendo com que, na maioria dos cultivos, ainda se utilize uma suplementação com fertilizantes nitrogenados para se obter maiores níveis de produtividade.

Embora várias pesquisas realizadas no Brasil tenham demonstrado respostas expressivas à inoculação do feijoeiro em condições de campo, o nível de adoção dessa tecnologia, especialmente entre os agricultores familiares, é baixo. Na safra 2006/2007 (feijão das águas), a inoculação do feijoeiro foi testada em onze propriedades de assentados da reforma agrária, em Unaí, MG (Mendes et al., 2007). Em média, em relação ao tratamento controle (sem inoculação e sem nitrogênio mineral), a produtividade do feijoeiro inoculado aumentou em 209 kg de grãos/ha (mais de 3 sacas) para a cultivar Requite (grupo do feijão carioca) e em 128 kg de grãos/ha (2 sacas) para a cultivar Diamante Negro (grupo do feijão preto). Na cultivar Requite o rendimento obtido com 120 kg de ureia/ha (858 kg de grãos/ha) foi semelhante ao obtido somente com a inoculação (875 kg de grãos/ha). Já na cultivar Diamante Negro, o rendimento obtido com a ureia (934 kg de grãos/ha) foi maior. Entretanto, é importante destacar que o custo do adubo nitrogenado na safra 2006/2007 foi de R\$ 90,00/ha, enquanto o custo do inoculante foi de R\$ 6,00/ha. Para o pequeno agricultor, essa diferença de preço é muito significativa, principalmente, em se tratando do cultivo do feijão das águas, quando fatores climáticos podem afetar o desempenho da cultura. Em alguns casos, o ganho com a inoculação pode ser menor que o ganho com o fertilizante nitrogenado, mas, como o inoculante custa menos, o risco associado ao seu uso também é reduzido, principalmente, nos casos em que as chances de ocorrer quebras de produção por fatores adversos são elevadas.

Com base nos resultados promissores do uso de inoculantes comerciais em cultivos do feijoeiro e, principalmente, na possibilidade de redução dos custos de produção, a venda desse insumo biológico aumentou 85% entre 2009 e 2013, atingindo mais de 477 mil doses comercializadas em 2013 (ANPIL, 2018). Infelizmente, apesar do pico de mais 600 mil doses comercializadas em 2017, as vendas de inoculantes para o feijoeiro tenderam a diminuir após 2013, chegando a apenas 279 mil doses comercializadas em 2018 (ANPIL, 2018). Considerando a área de cultivo do feijoeiro no Brasil, em 2018, menos de 10% da área cultivada foi inoculada (Figura 1). A diminuição da comercialização de inoculantes para o feijoeiro pode estar relacionada à diminuição da área cultivada e aos resultados variáveis de produtividade, obtidos nas diferentes regiões do Brasil, bem como ao aumento do preço do grão no mercado, o que permite maior investimento em fertilizantes nitrogenados.

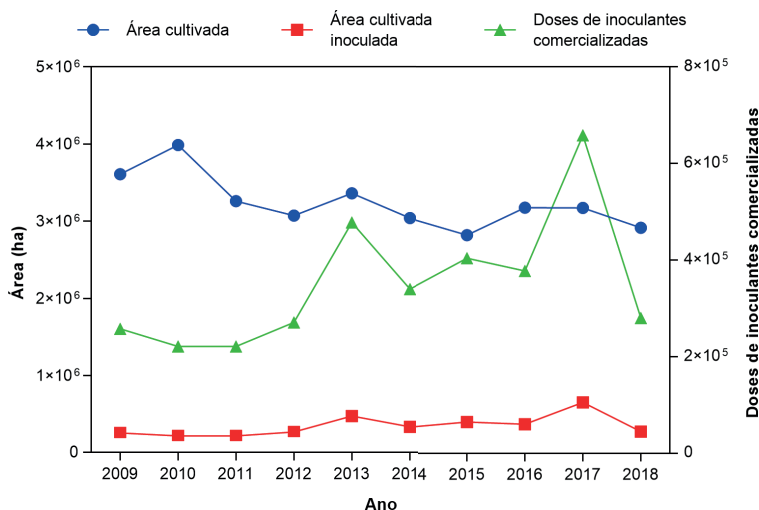


Figura 1. Área de cultivo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (azul), doses comercializadas de inoculantes para o feijoeiro no Brasil (verde) entre 2009 a 2018, segundo dados da CONAB (2020) e ANPII (2018). Em vermelho, a estimativa da área cultivada que foi inoculada, considerando a recomendação de uma dose do inoculante por hectare.

Todos os exemplos dos benefícios da inoculação do feijoeiro citados acima, contribuem para se acreditar na possibilidade de exclusão total ou parcial do uso de fertilizantes nitrogenados aplicado na cultura, sem comprometer os ganhos em produtividade, diminuindo os custos de produção e os impactos ambientais associados ao uso desse insumo (Hungria et al., 2000; Vargas et al., 2000; Hungria et al., 2003; Hungria et al., 2013). Porém, apesar do potencial da FBN no feijoeiro, os resultados em campo ainda não são consistentes o bastante para se recomendar a substituição total dos N-fertilizantes. Fatores relacionados ao genótipo de planta, ao nível de interação *Rhizobium*-planta e ao ambiente de cultivo, incluindo práticas de manejo, são decisivas para o aumento da eficiência da FBN no feijoeiro e serão abordados a seguir.

Fatores que influenciam a FBN no feijoeiro

Os resultados variáveis da inoculação com *Rhizobium* spp. no feijoeiro são consequências de diversos fatores inerentes à planta hospedeira, à bactéria simbiote, à microbiota do solo e outras interações bióticas e condições abióticas, que podem diminuir a eficiência da FBN e afetar a produtividade da cultura (Tabela 1).

Tabela 1. Principais fatores que influenciam a eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro.

	Fator que influencia a eficiência da FBN	Referência
Quanto ao hospedeiro	Liberação de flavonoides capazes de atrair diferentes rizóbios no processo de formação dos nódulos	Hungria et al. (1992); Hungria et al. (1991)
	Senescência precoce dos nódulos	Luqueño et al. (2008); Schumpp; Deakin (2010).
	Interação genotípica entre hospedeiro e simbiote	Andraus et al. (2016); Pereira et al. (2015)
Quanto às bactérias simbiontes	Diferenças na eficiência de FBN, baseado na especificidade da interação	Martínez-Romero (2003); Michiels et al. (1998)
Quanto à microbiota do solo	Rizóbios nativos capazes de nodular e/ou fixar nitrogênio, altamente competitivos no processo de nodulação	Costa et al. (2018); Cardoso et al. (2012); Vargas et al. (2000); Michiels et al. (1998)
Fatores abióticos	Características do solo, déficit hídrico, umidade e temperatura.	Divito; Sadras (2014); Graham (1981); Weria et al. (2013); Ramos et al. (2003)
Fatores bióticos	Incidência de pragas e doenças	Rodríguez De Luque; Creamer (2014); Singh; Schwartz (2010)

Competição com rizóbios nativos do solo

A presença de rizóbios nativos, altamente competitivos, porém com baixa capacidade fixadora, é a principal causa da baixa eficiência da FBN associada ao feijoeiro no Brasil. Como relatado anteriormente, diversos gêneros e espécies de rizóbios são capazes de interagir com o feijoeiro formando nódulos e/ou fixando nitrogênio em taxas variáveis de eficiência (Michiels et al., 1998; Cardoso et al., 2012).

A capacidade do feijoeiro de se associar a diversos rizóbios é resultado da sua capacidade em reconhecer uma grande variedade de fatores de nodulação produzidos por essas bactérias que, por sua vez, são estimuladas pela grande variedade de flavonoides e outros compostos sinalizadores, produzidos pela planta. Essa promiscuidade aumenta a competição entre a bactéria

inoculada e os rizóbios nativos do solo, o que reflete na baixa eficiência de fixação de nitrogênio devido à formação de nódulos que não fixam N_2 atmosférico tão eficientemente quanto os formados pelas estirpes selecionadas e empregadas na fabricação dos inoculantes (Michiels et al., 1998; Del Cerro et al., 2015).

A maioria dos solos brasileiros possui elevada e diversificada população nativa de rizóbios. Como exemplo, mesmo após mais de 3 anos sem cultivo de feijoeiro (Hungria et al., 2000) ou até 40 anos sob pastagens (Araujo, 1994), podem ser encontradas, nos solos, populações abundantes de rizóbios compatíveis com o feijoeiro. Exceções são encontradas em situações específicas, por exemplo, em áreas inundáveis, após alagamento, em que as respostas à inoculação podem resultar em incrementos expressivos no rendimento (Vargas et al., 1994), chegando a 1.776 kg/ha a mais em relação ao tratamento não inoculado (Mendes et al., 1994).

Ausências de respostas à inoculação foram observadas na década de 1980, por Pereira et al. (1984) e Ramos e Boddey (1987). Entretanto, sob condições irrigadas, em um Gleissolo húmico de várzea, sem populações nativas de rizóbio, Mendes et al. (1994) reportaram ganhos de até 1,5 mil quilograma por hectare em relação à testemunha não inoculada em cultivares responsivas à nodulação, semelhante aos ganhos obtidos com 100 kg de N/ha.

Em experimento realizado por Vargas et al. (2000), foi observado que, em solo em que existia uma população estabelecida de rizóbios, a inoculação com estirpes comerciais não teve efeito em relação ao controle não inoculado, quanto ao número e massa de nódulos, sendo que a população encontrada nos nódulos era composta por até 90% de rizóbios nativos. Fonseca et al. (2013) também observaram que, em locais com alta população de rizóbios nativos no solo, o número de nódulos não diferiu dos tratamentos inoculados com as estirpes comerciais. Essa variável deve ser analisada de forma cuidadosa, visto que muitos nódulos formados por rizóbios nativos possuem tamanho reduzido e não fixam nitrogênio de forma eficiente. Áreas com histórico de cultivo de feijoeiro podem favorecer o estabelecimento da população de rizóbios nativos no solo, o que pode reduzir os efeitos positivos da inoculação com estirpes comerciais selecionadas, resultando em produtividades mais baixas e na necessidade de suplementação com adubação nitrogenada mineral (Brito et al., 2015).

Os rizóbios nativos podem ser mais adaptados aos ambientes das lavouras do que as bactérias comercializadas como inoculantes (Hungria et al., 2003; Ferreira et al., 2013; Brito et al., 2015). Por esse motivo, a eficiência da FBN pode ser comprometida, visto que a maioria dos nódulos formados pode conter rizóbios nativos ineficientes. No entanto, é importante salientar que o uso de estirpes selecionadas e cultivares responsivos, associados a boas práticas de inoculação, podem gerar respostas positivas.

Mercante et al. (2006), por exemplo, avaliaram as respostas de quatro cultivares de feijoeiro comum à adubação nitrogenada, aplicada em diferentes doses, em comparação à inoculação com estirpes de rizóbio recomendadas comercialmente no Brasil. As cultivares avaliadas pertencem a três grupos comerciais distintos: Carioca (BRS Pontal e BRS Requinte), Rosinha (BRS Vereda) e Roxinho (BRS Timbó). O uso de inoculante promoveu aumentos significativos na nodulação e no rendimento de grãos das cultivares de feijoeiro, mesmo em solo contendo populações elevadas de rizóbios nativos. Além disso, as produtividades obtidas com a inoculação de rizóbios selecionados nas diferentes cultivares mostraram-se superiores àquelas correspondentes aos tratamentos com aplicação de doses de até 80 kg de N/ha.

Eficiência da FBN influenciada pela região de cultivo e cultivar utilizada

Estudos sobre inoculação no feijoeiro têm buscado espécies/estirpes mais tolerantes às condições ambientais e mais eficientes na simbiose, porém, poucos estudos têm focado na seleção de cultivares que apresentam melhor interação com as bactérias simbiotes. Diferentes cultivares do feijoeiro apresentam resultados variáveis quando inoculadas com *Rhizobium* spp. e quando fertilizadas com fertilizante mineral nitrogenado, em diferentes regiões do Brasil.

Pereira et al. (2015), em experimentos conduzidos em quatro regiões do estado de Goiás, obtiveram produtividades entre 1.176 kg/ha a 2.920 kg/ha e 840 kg/ha a 2.535 kg/ha quando fertilizado com N mineral e inoculado com *R. freirei* PRF 81, respectivamente, com respostas variáveis de acordo com a cultivar. As cinco melhores cultivares, que responderam de forma semelhante

às duas fontes de N quanto à produtividade foram BRS Pontal, CNFC 10762, CNFC10763, IPR Juriti e CNFC 10721.

Andraus et al. (2016) avaliaram 22 cultivares inoculadas com as estirpes comerciais recomendadas para o feijoeiro. As cultivares BRS Agreste, BRS Estilo, BRS Pontal, BRS MG Tesouro, BRS Vereda e IPR Tangará obtiveram as maiores produtividades, variando de 2.134 kg/ha a 2.741 kg/ha. Além disso, essas cultivares apresentaram melhor desempenho com relação ao número de nódulos, biomassa seca da parte aérea e acúmulo de N nas folhas.

Fonseca et al. (2013) demonstraram que as variáveis como número e massa de nódulos, biomassa seca da parte aérea, teor de N nas folhas e grãos e produtividade variaram tanto de acordo com o ambiente de cultivo (Uberaba e Patos de Minas- MG), quanto com a cultivar utilizada, quando inoculadas com *Rhizobium* spp. Todas as variáveis diferiram nos dois ambientes de cultivo, sendo as cultivares Madrepérola, Ouro Negro e Ouro Vermelho as que apresentaram melhor desempenho. A cultivar Ouro Negro apresentou maior produtividade nos dois locais de cultivo.

Em diferentes locais de cultivo, normalmente, os tratamentos com adubação nitrogenada apresentam produtividade mais estável, enquanto nos tratamentos inoculados com *Rhizobium* spp. esses resultados são mais variáveis (Andraus et al., 2016; Barros et al., 2013, 2017; Brito et al., 2015; Pelegrin et al., 2009; Fonseca et al., 2013). As melhores respostas dos experimentos conduzidos com nitrogênio mineral podem ser devidas aos programas de melhoramento genético do feijoeiro, que utilizam adubação nitrogenada como fonte de N, sem considerar as interações com as bactérias simbiotes (Pereira et al., 2015). Cultivares que apresentam maior ramificação da parte aérea e maior área foliar, além daquelas que apresentam uma resposta melhor e mais rápida aos estímulos que dão início à formação dos nódulos, geralmente, demonstram maior eficiência de FBN por meio da nodulação precoce, aumento da quantidade e massa seca dos nódulos, maior acúmulo de N nas folhas e, conseqüentemente, maiores produtividades (Chaverra; Graham, 1992; Luqueño et al., 2008; Andraus et al., 2016). Segundo Chaverra e Graham (1992), cultivares que apresentam nódulos ativos, após o período de florescimento e início do enchimento dos grãos, apresentam maiores rendimentos de grãos.

Senescência precoce dos nódulos

A senescência precoce dos nódulos no feijoeiro é outro fator que influencia na FBN e na produtividade da cultura. A depender da cultivar, esse processo se inicia por volta de 35-40 dias após o plantio, com senescência total após 65-70 dias, período em que a planta está na fase entre o florescimento e início do enchimento dos grãos (Fernández-Luqueño et al., 2008; Luqueño et al., 2008; Vikman; Vessey, 1993). Cultivares com diferentes ciclos de crescimento respondem de formas variadas aos processos de nodulação e FBN. Segundo Andraus et al. (2016), cultivares de ciclo precoce e semi-precoce, quando inoculadas com estirpes comerciais de *R. tropici*, mantêm nódulos ativos entre 19 a 47 dias após a emergência, três dias a mais que cultivares com ciclo de vida regular como BRS Estilo e Pérola. Nas cultivares com ciclo de vida regular, os nódulos ativos foram observados entre 20 a 45 dias após a emergência, atingindo o número máximo de nódulos ativos (60%) durante os estágios de desenvolvimento V4 a R5, estabilizando-se no estágio R6, até que no estágio R7 se inicia o processo de senescência, atingindo a senescência total no estágio R8 para todas as cultivares avaliadas (Andraus et al., 2016).

Por outro lado, genótipos do feijoeiro e estirpes eficientes podem ser selecionadas para senescência tardia e nodulação precoce. Barradas et al., (1989) avaliaram a senescência tardia e a nodulação precoce em 20 genótipos do feijoeiro eficientes na fixação de N_2 , inoculadas com uma mistura selecionada de *Rhizobium* spp., incluindo H-20, H-24, CNPAF 126, CNPAF 233+234, CIAT 899 e CFN 299. Essas estirpes se destacaram pelo maior período de atividade nos nódulos, além de uma melhor nodulação inicial em todas as cultivares avaliadas. Aos 45 dias após a emergência (período inicial de enchimento dos grãos), todas as cultivares apresentaram boa nodulação, porém, no período médio de enchimento dos grãos (52 dias após a emergência), constatou-se um aceleração na senescência dos nódulos, com as cultivares Carioca e Negro Argel apresentando maior período de fixação.

De acordo com Luqueño et al. (2008), quanto maior o tempo de permanência dos nódulos ativos nas raízes, maior a produtividade do feijoeiro. Portanto, técnicas que visam aumentar a permanência de nódulos ativos ou induzir a formação de novos nódulos devem ser estudadas para aumentar a contribuição da FBN e, consequentemente, a produtividade dessa cultura.

Fatores abióticos

Os fatores edafoclimáticos envolvem aspectos relacionados às características do solo e do clima. A fertilidade do solo influencia diretamente o desenvolvimento dos nódulos e os processos envolvidos na FBN, principalmente os teores disponíveis dos nutrientes P, K, S, Mo, Mg, Co, Fe, Mn, entre outros. Além de serem essenciais ao desenvolvimento do hospedeiro, esses macro e micronutrientes estão envolvidos na formação e funcionamento dos nódulos, como cofatores enzimáticos ou como parte estrutural das principais enzimas e proteínas envolvidas no processo de FBN, como, por exemplo, o complexo enzimático dinitrogenase, a leghemoglobina e a nitrato redutase (Divito; Sadras, 2014; Graham, 1981; Weria et al., 2013).

Por outro lado, a presença de nitrogênio mineral em excesso pode prejudicar o estabelecimento da relação simbiótica do feijoeiro com os rizóbios e diminuir a eficiência da FBN (Vargas et al., 2000). Os efeitos negativos das altas concentrações de nitrogênio no solo estão mais relacionados com a nodulação, diminuindo o número e a massa dos nódulos, principalmente quando o fornecimento de N for superior a 60 kg/ha (Vargas et al., 2000; Brito et al., 2015; Soares et al., 2016). O estímulo para iniciar o processo de nodulação no feijoeiro é dependente do teor de N mineral no solo e o aumento da disponibilidade desse nutriente pode inibir a formação e o crescimento dos nódulos (Steiner et al., 2019). A nível molecular, o nitrato no solo pode induzir a produção de um peptídeo que inibe fatores de transcrição relacionados com a ativação de genes responsáveis pela nodulação da raiz (Puppo et al., 2005; Ferguson et al., 2010).

Avaliando o efeito da fertilização mineral nitrogenada, suplementada com inoculação com *Rhizobium* sp. no feijoeiro, Pelegrin et al. (2009) observaram redução de 41% e 79% no número de nódulos quando realizada a aplicação em cobertura de 40 kg e 160 kg de N/ha, respectivamente. Nesse mesmo estudo, além de parâmetros agrônômicos, foram realizadas avaliações econômicas que mostraram que a inoculação com a suplementação de apenas 20 kg de N/ha propiciou um acréscimo na renda líquida equivalente à aplicação de 160 kg de N/ha (Pelegrin et al., 2009).

Em estudo conduzido por Barros et al. (2017), foi observado que a adubação nitrogenada com 60 kg de N/ha (20 kg/ha na semeadura + 40 kg/ha em co-

bertura) associada com a inoculação com *R. tropici* não inibiu a nodulação e proporcionou alto rendimento de grão (cerca de 2,5 mil quilogramas por hectare). Esse estudo evidencia que altos rendimentos podem ser obtidos combinando a inoculação com estirpes elite e doses mais baixas de N-fertilizante do que as usualmente empregadas.

Características comuns em solos tropicais, a acidez e a alta temperatura são fatores que podem afetar negativamente a eficiência da FBN. Esses fatores podem inibir o crescimento populacional bacteriano, diminuir a colonização da rizosfera e inibir a formação de nódulos eficientes (Ferreira et al., 2012; Hungria; Franco, 1993).

O pH ideal do solo para o crescimento dos rizóbios varia de 6,0 a 7,0, sendo a nodulação comprometida em solos com pH abaixo de 5,5 (Bordeleau; Prévost, 1994; Graham et al., 1994). Isolados de *Rhizobium* spp. obtidos de solos ácidos têm crescimento satisfatório em pH mais baixo e, mesmo em solos com altas concentrações de alumínio, promovem o crescimento vegetal por meio de aumentos da biomassa da parte aérea, da nodulação, do teor de N nas folhas e, principalmente, ganhos de produtividade (Ferreira et al., 2012; Oliveira et al., 2017). A estirpe de *R. tropici* CIAT 899 é um dos exemplos de bactérias nodulantes do feijoeiro resistente à acidez e alta temperatura do solo, sendo mais adaptada aos solos tropicais (Martinez-Romero et al., 1991).

Geralmente, a temperatura ótima para os rizóbios realizarem FBN em interação com o feijoeiro varia de 25 °C a 30 °C (Alexandre; Oliveira, 2013). Porém, estirpes tolerantes a altas temperaturas, selecionadas em solos tropicais para nodular o feijoeiro, demonstraram capacidade de nodulação em temperaturas variando de 35 °C a 38 °C, além de acumular a mesma quantidade de N nas folhas que o controle nitrogenado (Hungria; Franco, 1993; Hungria et al., 1993). A estirpe de *R. tropici* CIAT 899 apresenta eficiência de fixação de N₂ em altas temperaturas (40 °C) e é recomendada para os cultivos do feijoeiro em regiões tropicais e subtropicais (Hungria et al., 1993; Martinez-Romero et al., 1991). No entanto, temperaturas do solo superiores a 38 °C podem diminuir a atividade da enzima nitrogenase, levar a formação de nódulos ineficientes na fixação de N₂ e induzir a rápida senescência dos nódulos em outras estirpes de *Rhizobium* spp. (Hungria; Franco, 1993).

O estresse causado pelo déficit hídrico e salinidade afetam tanto o hospedeiro quanto a simbiose com rizóbios. Solos de textura argilosa possuem poros

menores que favorecem a retenção de água e tornam o ambiente mais favorável para o crescimento dos rizóbios. Sob restrição hídrica ou em condições de alta salinidade, a permeabilidade de oxigênio para os nódulos diminui e ocorre um aumento da concentração de hormônios relacionados ao estresse como o ácido abscísico (Graham, 1981; Mohammadi et al., 2012). De acordo com Ramos et al. (2003), o estresse hídrico no feijoeiro leva à diminuição na atividade da nitrogenase, a danos na membrana dos bacteróides e a senescência dos nódulos, o que diminuiu drasticamente a eficiência da FBN.

Fatores bióticos

Fatores bióticos, como a presença de pragas e doenças, afetam drasticamente o feijoeiro, podendo comprometer de 20% a 100% da produção (Singh; Schwartz, 2010). O feijoeiro é susceptível a diversas doenças, principalmente em condições de alta umidade, causadas majoritariamente por fungos e bactérias, sendo as principais: mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*), mancha angular [*Pseudocercospora griseola* (sin. *Phaeoisariopsis griseola*)], antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e mancha marrom bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) (Singh; Schwartz, 2010; Rodríguez De Luque; Creamer, 2014). Por existirem poucas cultivares resistentes a esses microrganismos fitopatogênicos, os programas de melhoramento têm focado na busca por cultivares com múltiplas resistências, além de outros estudos que focam na indução de resistência e tolerância aos fitopatógenos, utilizando microrganismos promotores do crescimento vegetal (Fukami et al., 2017; Kumar et al., 2011). A redução da capacidade fotossintética das plantas, quando atacadas por pragas e doenças, pode resultar em prejuízos à simbiose, com promoção da senescência de nódulos e consequente diminuição da FBN (Bano; Iqbal, 2016). De maneira direta, insetos e nematoides também podem afetar a formação, o desenvolvimento e funcionamento dos nódulos (Bano; Iqbal, 2016). Por exemplo, larvas do gorgulho *Sitona* spp. podem se alimentar de nódulos radiculares em leguminosas, com impacto negativo sobre a FBN, levando à diminuição do rendimento (Skøt et al., 1994). Larvas de vaquinhas, como a *Cerotoma arcuata* e a *Diabrotica speciosa*, também costumam se alimentar de raízes e nódulos do feijoeiro (Teixeira; Franco, 2007; Silva, 2013) (Figura 2).



Foto: José Roberto Rodrigues Peres

Figura 2. Nódulo de feijoeiro sendo atacado por larva de vaquinha (*Diabrotica* sp.).

Rizobactérias promotoras do crescimento vegetal

Os rizóbios são considerados promotores do crescimento vegetal, pois, por meio de vários mecanismos, sendo o principal deles a FBN, promovem o desenvolvimento das plantas (Aserse et al., 2019). Assim como os rizóbios, uma grande diversidade de bactérias que habitam a região da rizosfera e o interior da planta (endofíticas) são capazes de promover o crescimento vegetal, por meio de diferentes mecanismos diretos e indiretos (Figura 3). Essas bactérias são denominadas de Rizobactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (RPCV) (Vessey, 2003) são capazes de aumentar a disponibilização de nutrientes (FBN, solubilização de nutrientes e produção de sideróforos), produzir reguladores de crescimento vegetal (ácido indolacético, giberilinas e citocininas), agir como agentes de biocontrole contra pragas e fitopatógenos e aumentar a tolerância aos estresses abióticos (Compant et al., 2010; Hayat et al., 2010; Jha; Saraf, 2015; Gupta et al., 2015).

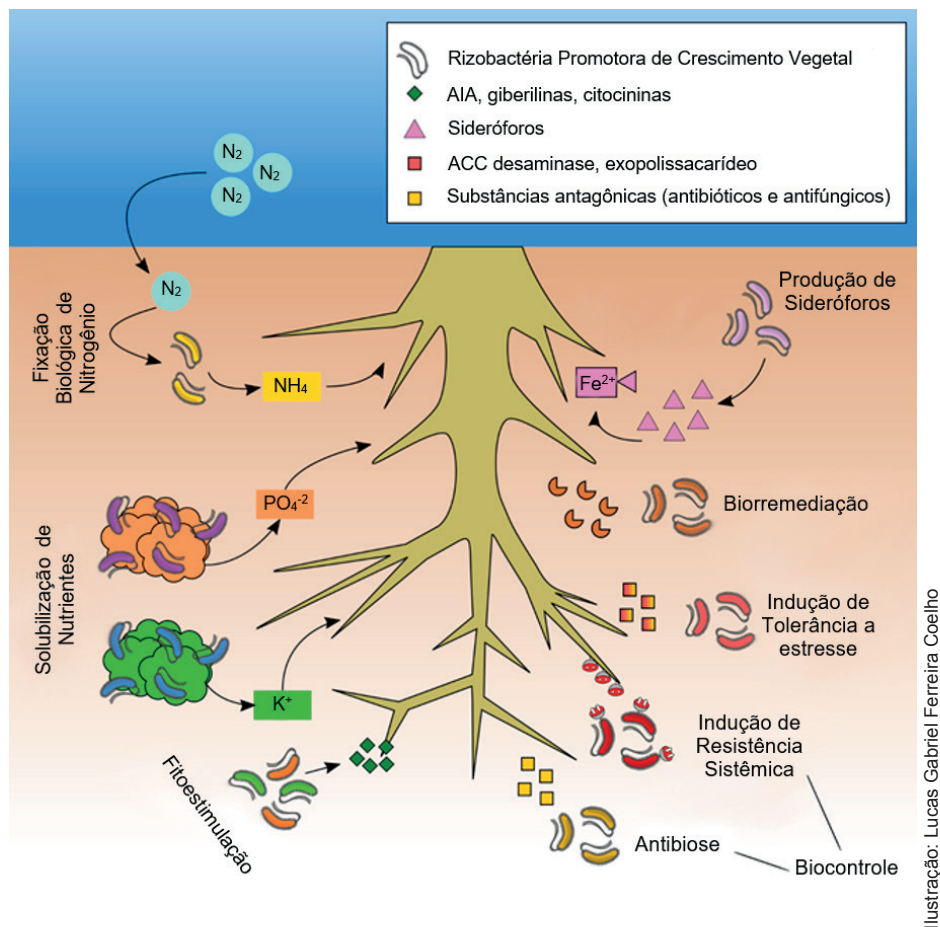


Figura 3. Mecanismos de promoção do crescimento vegetal por rizobactérias, que envolvem a disponibilização de nutrientes, produção de reguladores de crescimento, indução de tolerância a estresses ambientais e indução de resistência contra patógenos.

Diversas espécies de RPCV, associativas (incluindo as endofíticas) ou de vida livre, são recomendadas e comercializadas como inoculantes para diferentes culturas agrícolas, como o arroz, a cana-de-açúcar, o milho, o trigo, entre outras. Bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Azobacter*, *Glucanacetobacter*, *Serratia* e *Azospirillum* são bastante estudadas devido às suas características promotoras do crescimento vegetal, capazes de aumentar a produtividade das

culturas agrícolas, além de serem potenciais ativos biotecnológicos que podem gerar insumos mais sustentáveis e menos onerosos, em relação ao uso de agroquímicos, como os fertilizantes e pesticidas (Vejan et al., 2016; Meena et al., 2017). Uma das RPCV mais estudadas no Brasil e no mundo é a *Azospirillum brasilense*, principalmente devido a sua capacidade de fixar nitrogênio da atmosfera e produzir uma grande variedade de reguladores de crescimento vegetal (Fukami et al., 2018c; Cassán et al., 2020). Além disso, essa bactéria é capaz de promover tolerância a estresses hídrico e salino, além de induzir resistência contra fitopatógenos (Vurukonda et al., 2016; Fukami et al., 2017, 2018b).

Devido a essas características de promoção de crescimento, estirpes de *A. brasilense* foram selecionadas para uso como inoculantes pela Embrapa Soja, sendo as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 recomendadas para gramíneas como arroz, milho e trigo, desde 2011 (Hungria, 2011).

Na Instrução Normativa SDA N° 13, de março de 2011, encontra-se a lista dos microrganismos autorizados e recomendados para formulações de inoculantes no Brasil, sendo um total de 110 microrganismos promotores do crescimento vegetal (98 rizóbios e 12 outras RPCV). Os inoculantes contendo bactérias do grupo dos rizóbios são autorizados, de acordo com a espécie, para leguminosas de grãos, leguminosas forrageiras de clima temperado e tropical, leguminosas para adubação verde e leguminosas arbóreas. Já as outras RPCV constam de uma lista diferente e são recomendados para produção de arroz, milho, trigo e eucalipto (Brasil, 2011). Porém, essa lista se encontra desatualizada, visto que existem outros microrganismos disponíveis no mercado atualmente, como as estirpes de *Bacillus subtilis* (B2084) e *B. megaterium* (B119), recomendados para a formulação de inoculantes voltados para a cultura do milho, com o objetivo de solubilização de fosfatos e melhoria da eficiência nutricional das plantas (Paiva et al., 2020).

Alternativas para aumentar a eficiência da inoculação

Atualmente, as pesquisas para aumentar a eficiência de FBN e a produtividade do feijoeiro têm focado em três vertentes principais: (a) na busca por

novas estirpes que apresentam maior eficiência simbiótica, maior competitividade e estabilidade genética (Mercante et al., 2017; Moreira et al., 2017); (b) na busca por cultivares do feijoeiro que respondem melhor à interação com esses simbiontes (Fonseca et al., 2013; Andraus et al., 2016); (c) no desenvolvimento de novas estratégias de inoculação.

Exemplos de novas estratégias para uso e aplicação de inoculantes são: (a) o emprego de mais de um microrganismo promotor de crescimento vegetal (coinoculação) (Groppa et al., 1998; Hungria et al., 2015b; Fukami et al., 2018a); (b) o desenvolvimento de diferentes modos de inoculação (via sementes, via sulco de plantio, foliar, etc.) (Hungria et al., 2015a; Fukami et al., 2016) e inoculação suplementar em diferentes fases do desenvolvimento vegetal (Moretti et al., 2018); (c) o uso de moléculas do metabolismo secundário microbiano envolvidas nos processos de comunicação planta-bactéria (Kidaj et al., 2012; Marks et al., 2013, 2015).

Coinoculação

A ideia de combinar duas ou mais estirpes ou espécies de microrganismos nas práticas de inoculação é baseada na exploração de seus diferentes modos de ação como a FBN, a produção de reguladores de crescimento, a solubilização de fosfatos e a ação de biocontrole, influenciando positivamente o desenvolvimento vegetal e refletindo, principalmente, na produtividade das culturas agrícolas (Ahemad; Kibret, 2014; Santos et al., 2019). Nas condições brasileiras, com o feijoeiro, a inoculação convencional de *R. tropici* pode reduzir o uso de fertilizante nitrogenado, e quando inoculadas junto com outras bactérias promotoras de crescimento, os ganhos em nodulação, biomassa da parte aérea e raízes, e produtividade podem ser ainda maiores (Hungria et al., 2003; Steiner et al., 2019).

Apesar de ainda não ser uma estratégia utilizada pelos agricultores, estudos recentes têm mostrado que, além dos efeitos diretos no desenvolvimento e na produtividade, a coinoculação com outras bactérias capazes de nodular o feijoeiro, como *Bradyrhizobium diazoefficiens* e *B. elkanii*, podem estimular a bactéria *R. tropici* a obter uma maior eficiência no processo de nodulação e fixação de nitrogênio, e ainda estimular a formação precoce dos nódulos no desenvolvimento da cultura (Jesus et al., 2018; Carvalho et al., 2020). Segundo

Jesus et al. (2018) e Carvalho et al. (2020), as bactérias *B. diazoefficiens* e *B. elkanii* induzem a formação do nódulo, mas não se diferenciam em bacteróides, a forma ativa para fixação de nitrogênio pelas bactérias. No entanto, a coinoculação com *R. tropici* leva à ocupação desses nódulos por bactérias eficientes em fixar N no feijoeiro.

Outros estudos já saíram do papel e estão sendo aplicados no campo. No Brasil, desde o ano de 2016, a coinoculação de rizóbios com bactérias da espécie *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, é recomendada aos produtores das culturas da soja e do feijoeiro (Hungria et al., 2013). A coinoculação do feijoeiro com estirpes de *R. tropici* e *A. brasilense* em solos brasileiros resulta em aumentos significativos no desenvolvimento da planta, com ênfase no aumento da biomassa seca das raízes e da parte aérea e aumento no número de nódulos, em relação ao controle inoculado apenas com rizóbios (Burdman et al., 1997; Souza; Ferreira, 2017; Hungria et al., 2013; Peres et al., 2016; Steiner et al., 2019), mostrando ganhos que podem chegar até 26% em relação ao controle inoculado apenas com *Rhizobium* spp. (Tabela 2).

Em experimentos conduzidos na região do Cerrado, a coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* garantiu aumento de 26% e 5% em relação à inoculação padrão (apenas com *Rhizobium* spp.) e ao controle nitrogenado (80 kg de N/ha), respectivamente (Souza; Ferreira, 2017). As análises econômicas desses experimentos demonstraram que a receita líquida da coinoculação no feijoeiro com *Rhizobium tropici* mais três doses de *Azospirillum brasilense*, via foliar nos estágios de desenvolvimento V2/V3, foi 29% e 41% superior à adubação nitrogenada nos estados de Goiás e Minas Gerais, respectivamente (Ferreira, 2018).

O sucesso da coinoculação de bactérias do gênero *Rhizobium* e *Azospirillum* no feijoeiro pode estar relacionado, principalmente, à produção de reguladores de crescimento, em especial o AIA, pela bactéria *A. brasilense*. Essas substâncias são capazes de modificar a arquitetura das raízes, induzindo a formação de raízes secundárias e pelos radiculares, aumentando o tamanho e volume radicular, o que permite maior área de absorção de nutrientes e água, e maior área para formação dos nódulos. Além disso, a inoculação com *A. brasilense* pode prolongar a exsudação de flavonoides e aumentar a síntese dos fatores de nodulação no feijoeiro, possibilitando a formação de mais nódulos (Dardanelli et al., 2008).

Tabela 2. Ganhos relativos em produtividade do feijoeiro coinoculado com *Rhizobium* spp. e *Azospirillum brasilense* comparado com o controle fertilizante nitrogenado (FN) e controle inoculado (CI) apenas com *Rhizobium* spp.

Cultivar	Estado	Microorganismo	Estirpe	Fertilizante nitrogenado	Ganho em produtividade em relação ao FN*	Ganho em produtividade em relação ao CI	Referência
IPR-Colibri	Paraná	<i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	SEMIA 4080 Ab-V5 e Ab-V6	80 kg/ha	0,87%	14,50%	Hungria et al. (2013)
Pérola	Mato Grosso do Sul	<i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	SEMIA 4080 Ab-V5 e Ab-V6	40 kg/ha	-9,40%	1,60%	Peres et al. (2016)
Pérola	Goiás/Minas Gerais	<i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	SEMIA 4077 Ab-V5 e Ab-V6	80 kg/ha	5%	26%	Souza; Ferreira (2017)
Pérola	Mato Grosso do Sul	<i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	SEMIA 4077 Ab-V5 e Ab-V6	-	-	5,57%	Steiner et al. (2019)

Métodos de inoculação

A fim de atenuarmos problemas envolvidos com a inoculação via sementes, como a incompatibilidade com produtos químicos, diferentes estratégias têm sido testadas para garantir uma resposta mais adequada aos inoculantes, melhorando o desenvolvimento e aumentando a produtividade das culturas agrícolas.

Em um estudo em que foram conduzidos sete experimentos, em três solos previamente cultivados com soja inoculada e quatro solos em que a cultura foi semeada pela primeira vez, Campo et al. (2010) compararam o efeito da inoculação via sementes e via sulco de semeadura. De maneira geral, nas áreas com populações estabelecidas de *Bradyrhizobium*, os agroquímicos aplicados no tratamento das sementes não afetaram a nodulação, mas também não aumentaram a produtividade da soja. Por outro lado, onde a soja foi semeada pela primeira vez, o tratamento das sementes com agroquímicos diminuiu a nodulação de plantas quando o *Bradyrhizobium* foi aplicado via sementes. Em contrapartida, quando a inoculação foi realizada no sulco de semeadura, os efeitos negativos do tratamento de sementes com agroquímicos foram minimizados. A inoculação via sulco de semeadura mostrou-se uma alternativa viável para a soja, principalmente em sementes tratadas com agroquímicos e atualmente essa é uma prática adotada por muitos produtores.

Segundo Oliveira et al. (2019), a inoculação do feijoeiro via sulco de semeadura resultou em maior produtividade (1.975 kg/ha) quando comparada com a inoculação via sementes (1.563 kg/ha) e significativamente semelhante à produtividade obtida com a adubação mineral de 80 kg de N/ha (1.979 kg/ha). A inoculação via sulco de semeadura é recomendada quando as sementes de feijão forem tratadas com fungicidas, visto que estes agroquímicos podem comprometer a sobrevivência das bactérias inoculadas e prejudicar o estabelecimento da simbiose entre rizóbios e o feijoeiro (Cardillo et al., 2019). Esse efeito já foi descrito para a estirpe CIAT 899 (SEMIA 4077) de *R. tropici*, tanto no momento do contato da bactéria com os fungicidas, quanto 24 horas após a aplicação do inoculante, prejudicando, principalmente, o crescimento das células bacterianas (Araujo; Araujo, 2006).

Em experimentos de coinoculação da soja e do feijoeiro, Hungria et al. (2013) observaram melhores resultados quando os rizóbios foram inoculados via

sementes e a *A. brasilense* via sulco de semeadura, quando comparados à inoculação de ambos os produtos apenas nas sementes.

Zilli et al. (2008) avaliaram a inoculação de *Bradyrhizobium* em soja, via pulverização em cobertura, 18 dias após a emergência das plantas. A inoculação em cobertura aumentou a nodulação e a matéria seca das plantas e apresentou produtividade de grãos e acúmulo de nitrogênio igual ao tratamento com fertilizante nitrogenado (200 kg de N/ha) e foi superior ao controle não inoculado e sem N mineral. No entanto, plantas que receberam a inoculação em cobertura tiveram produtividade inferior às plantas que foram inoculadas via sementes, ou seja, a inoculação padrão. Os autores concluíram que a inoculação por pulverização em cobertura não deve substituir a inoculação tradicional nas sementes. Entretanto, o método se mostrou viável para ser utilizado em situações de emergência, quando ocorrer falha na nodulação, por problemas na inoculação das sementes ou condições ambientais adversas.

Buscando alternativas de inoculação, Fukami et al. (2016) demonstraram diferentes respostas quando plantas de milho e trigo foram inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, nas sementes, no sulco durante a semeadura, e via pulverização nas folhas e na superfície do solo (entre os estágios de desenvolvimento V2 e V3). A inoculação via pulverização foliar apresentou melhor desempenho na maioria dos parâmetros avaliados, como a biomassa seca da parte aérea e das raízes, tamanho da planta, número de perfilhos e acúmulo de N na parte aérea. A inoculação no sulco de semeadura ou na superfície do solo também foi positiva em relação ao controle.

Em estudos sobre coinoculação, a inoculação em cobertura de *Azospirillum brasilense* também tem gerado resultados interessantes. Segundo Puente et al. (2018, 2019), a coinoculação da soja com *Bradyrhizobium japonicum* E109 (via semente) associada a inoculação com *A. brasilense* (no estágio V3), resultou em aumento de 20% no número de nódulos na raiz primária e 29% do número de nódulos nas raízes secundárias, além do incremento da biomassa da raiz e parte aérea, maior área radicular e, principalmente, aumento na produtividade (>4,5 mil quilogramas por hectare). Na Argentina, a inoculação de soja com *B. japonicum* E109 nas sementes e posterior aplicação via pulverização foliar de *A. brasilense* AZ39, no estágio V3 de desenvolvimento, resultou em plantas 12% maiores que o controle, aumento de 31% no comprimento das raízes, maior biomassa seca de raízes e parte aérea,

maior formação de nódulos (principalmente nas raízes secundárias), maior teor de nitrogênio e proteínas nos grãos e maior rendimento de grãos (Puentes et al., 2018, 2019). A inoculação em cobertura com *A. brasilense* aumentou a nodulação em estágios tardios da planta, favorecendo o aumento da qualidade nutritiva dos grãos e aumento da produtividade.

No feijoeiro, a inoculação com *R. tropici* CIAT 889 via sementes associada a inoculação foliar de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 resultou em ganhos significativos na biomassa de raízes e parte aérea e aumento da nodulação, com ganhos de produtividade até 26% superiores em relação ao controle inoculado apenas com *R. tropici* e 5% superior ao controle com fertilizante nitrogenado (80 kg de N/ha) (Souza; Ferreira, 2017). Em outro estudo, ganhos em número e massa seca de nódulos, biomassa de raízes e parte aérea, e produtividade de grãos foram observados no feijoeiro quando inoculado com *R. tropici* CIAT 899 via sementes e *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 via foliar no estágio V3/V4 de desenvolvimento, obtendo um aumento de até 5% de produtividade comparado com o controle inoculado apenas com *Rhizobium* spp. (Steiner et al., 2019).

Outra nova alternativa seria a inoculação suplementar, baseada na ideia de inocular a mesma bactéria em diferentes estágios de desenvolvimento da cultura. A fim de compreender os efeitos da inoculação suplementar em diferentes fases do ciclo de vida da soja, Moretti et al. (2018) apresentaram resultados de um estudo em que a inoculação suplementar com *Bradyrhizobium* spp., nas fases vegetativas V1, V3, V6 e nas fases reprodutivas R1 e R3, além da inoculação nas sementes, foi capaz de aumentar significativamente a nodulação das plantas, permitindo o desenvolvimento de novos nódulos funcionais para sustentar o aumento da demanda de N nos últimos estágios do ciclo de crescimento, especialmente durante o enchimento das vagens. Em resposta ao aumento da nodulação, ganhos de rendimento de grãos de até 7% foram observados, em relação à inoculação somente na semeadura. Zago et al. (2018) relataram resultados semelhantes, em que plantas que receberam inoculação suplementar em V4 apresentaram maior número e massa seca de nódulos, maior massa seca de raízes e parte aérea e maior produtividade (3.540 kg/ha) que plantas inoculadas apenas na semeadura (3.330 kg/ha).

Esses resultados indicam que as raízes da soja foram capazes de formar novos nódulos em resposta às inoculações suplementares tardias, promovendo maior FBN e maior rendimento de grãos. Assim como para a soja, a inoculação suplementar tardia também poderia trazer ganhos para o feijoeiro. Nessa cultura a FBN sofre uma queda acentuada logo após o início da floração, com redução na massa de nódulos radiculares, resultante da senescência precoce dos mesmos. Por outro lado, de acordo com Hungria et al. (1985), 60% do N mineral total acumulado pelo feijoeiro durante o ciclo, são absorvidos entre os estágios de florescimento e meados do estágio de enchimento dos grãos. Portanto, seria interessante que a FBN estivesse estabelecida e plenamente funcional até as fases mais avançadas da cultura.

Uso de metabólitos secundários microbianos

Apesar do sucesso em termos de sustentabilidade e produtividade na agricultura, o uso de células bacterianas e fúngicas ainda representa em torno de 5% dos produtos disponíveis no mercado mundial, usados para suprimento de nutrientes e controle de pragas e doenças (Arora; Mishra, 2016). No entanto, esse cenário pode mudar em um futuro próximo, visto o interesse cada vez maior pela pesquisa e uso de insumos biológicos na agricultura. Diante dessa realidade, novos inoculantes têm surgido, como aqueles que agregam metabólitos produzidos pelos microrganismos promotores de crescimento vegetal, que incluem moléculas responsáveis pela comunicação e formação da simbiose entre plantas e microrganismos. Resultados promissores já têm sido alcançados com essa nova tecnologia.

Diversos estudos têm sido realizados com a aplicação exógena de lipoquioligosacarídeo (LCOs) em leguminosas resultando no aumento do número de nódulos e concentração de nitrogênio na parte aérea, assim como maior expansão da área radicular (Macchiavelli; Brelles-Mariño, 2004; Kidaj et al., 2012). Em plantas não leguminosas é relatada a tolerância à elevação de temperatura e o aumento da superfície radicular (Schwinghamer et al., 2016). A adição dessas moléculas juntamente com o inoculante aumenta a competitividade simbiótica e pode beneficiar o recrutamento de rizóbios do solo para aumento da eficiência da nodulação (Kidaj et al., 2012).

Em milho, a inoculação com *A. brasilense* via sementes ou pulverização foliar, somada à aplicação do extrato metabólico extraído da bactéria *R. tropici*

CIAT 899, resultou em aumento na biomassa seca da planta, no teor de nitrogênio nas folhas e nos grãos, além de um incremento de 11,4% na produtividade de grãos ou 614 kg/ha (Marks et al., 2013, 2015). Também na cultura do milho, Fukami et al. (2017) observaram um aumento de 143% e 72% no teor de clorofila e biomassa seca da parte aérea, respectivamente, quando inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 associadas a aplicação suplementar do extrato metabólico dessas duas cepas. Esses efeitos em não leguminosas podem estar relacionados com a capacidade dessas moléculas em ativar a divisão celular, estimular desenvolvimento radicular, aumentar taxa fotossintética, facilitar colonização, produzir biofilmes, proteção contra fitopatógenos e estresses abióticos, entre outros (Arora; Mishra, 2016; Marks et al., 2015).

Em soja, a inoculação com *B. japonicum* e *B. diazoefficiens* (via sementes) associada à aplicação de metabólitos secundários (extraídos de *B. diazoefficiens* USDA 110 e *R. tropici* CIAT 899) via sementes mais *A. brasilense* (via foliar) resultou no aumento de 26%, 22%, 15,4% e 6%, no número e massa seca dos nódulos, biomassa seca das raízes e biomassa seca da parte aérea, respectivamente, quando comparadas com a inoculação padrão apenas com *Bradyrhizobium* spp. via sementes (Moretti et al., 2020a). Esse mesmo consórcio de inoculação proporcionou aumentos de 1,6%, 28,5% e 19,7% no diâmetro, comprimento e volume das raízes (Moretti et al., 2020b). Em relação à produtividade, a inoculação combinada de *Bradyrhizobium* spp. com metabólitos secundários e *A. brasilense* (foliar) resultou em aumento superior a 11%, com acréscimo de mais de 485 kg/ha de grãos em relação ao controle inoculado apenas com *Bradyrhizobium* spp. (Moretti et al., 2020a, 2020b).

Espera-se que os efeitos observados em outras culturas sejam confirmados também no feijoeiro.

Considerações finais

Apesar dos obstáculos a serem considerados para aumentar a eficácia da FBN no feijoeiro, o uso das estirpes comercializadas para inoculação dessa cultura tem demonstrado resultados satisfatórios tanto em termos de desenvolvimento vegetal, quanto em produtividade, superando 4 mil quilogramas por hectare de grãos. Utilizando diferentes estratégias de inoculação, o uso de inoculantes pode ser responsável pela exclusão ou diminuição do uso

de fertilizantes nitrogenados sintéticos, diminuindo os impactos ambientais e econômicos gerados pelo uso excessivo destes insumos. A identificação de estirpes geneticamente estáveis, altamente competitivas e resistentes a estresses bióticos e abióticos, juntamente com o desenvolvimento de cultivares com maior especificidade de interação com as bactérias, e o desenvolvimento de novos métodos de inoculação são os principais focos de pesquisa para aumentar a eficiência da FBN e, conseqüentemente, obter melhorias na produção de feijão no Brasil.

Alguns dos diferentes métodos de inoculação citados nesse documento já fazem parte da realidade do agricultor brasileiro, como a inoculação no sulco e a coinoculação de *Rhizobium* spp. e *Azospirillum brasilense*. Outras alternativas consideradas promissoras estão sendo testadas pela pesquisa, ou estão em estágios iniciais de adoção pelo setor produtivo. Espera-se que esse conjunto de novidades possa vir a ajudar os produtores a superar a instabilidade das respostas à inoculação, favorecendo o aumento no número de nódulos, o aumento do período de permanência dos nódulos ativos na planta e, como consequência, promovendo aumento da FBN e da produtividade do feijoeiro.

Referências

- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.
- ALEXANDRE, A.; OLIVEIRA, S. Response to temperature stress in rhizobia. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 219-228, 2013.
- AMARGER, N.; MACHERET, V.; LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov., from *Phaseolus vulgaris* nodules. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 47, n. 4, p. 996-1006, 1997.
- ANDRAUS, M. P.; CARDOSO, A. A.; FERREIRA, E. P. B. Differences in nodulation and grain yield on common bean cultivars with different growth cycles. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n. 9, p. 1148-1161, 2016.
- ARAUJO, 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.
- ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijão. In: ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. (ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 91-120. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 44).

ARORA, N. K.; MISHRA, J. Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture. **Applied Soil Ecology**, v. 107, p. 405-407, 2016.

ASERSE, A. A.; WOYKE, T.; KYRPIDES, N. C.; WHITMAN, W. B.; LINDSTRÖM, K. Draft genome sequence of type strain HBR26T and description of *Rhizobium aethiopicum* sp. nov. **Standards in Genomic Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1-16, 2017.

ASERSE, A. A.; MARKOS, D.; GETACHEW, G.; YLI-HALLA, M.; LINDSTRÖM, K. Rhizobial inoculation improves drought tolerance, biomass and grain yields of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* L.) at Halaba and Boricha in Southern Ethiopia. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 66, n. 4, p. 1-14, 2019.

ANPII. 2018. Disponível em: <http://www.anpii.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 24 jun. 2020.

BANO, S. A.; IQBAL, S. M. Biological nitrogen fixation to improve plant growth and productivity. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 4, n. 4, p. 596-599, 2016.

BARRADAS, C. A.; BODDEY, L. H.; HUNGRIA, M. Seleção de cultivares de feijão e estirpe de *Rhizobium* para nodulação precoce e senescência tardia dos nódulos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 13, p. 169-179, 1989.

BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.; MAGALHÃES, W. B.; PIMENTEL, C. Growth and yield of common bean as affected by seed inoculation with rhizobium and nitrogen fertilization. **Experimental Agriculture**, v. 54, n. 1, p. 16-30, 2018.

BARROS, R. L. N.; OLIVEIRA, L. B.; MAGALHÃES, W. B.; MÉDICI, L. O.; PIMENTEL, C. Interação entre inoculação com rizóbio e adubação nitrogenada de plantio na produtividade do feijoeiro nas épocas da seca e das águas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 4, p. 1443-1450, 2013.

BARROS, R. L. N.; MACEDO, D. C.; LIMA, G. R.; PIMENTEL, C. Interaction of biological nitrogen fixation and fertilization: effects on growth and yield of common bean in the dry season. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 32, p. 2555-2565, 2017.

BORDELEAU, L. M.; PRÉVOST, D. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. **Plant and Soil**, v. 161, p. 115-125, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Insumos agrícolas**: legislações. 2011. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacoes>. Acesso em: 14 jun. 2020.

BRITO, L. F.; PACHECO, R. S.; FILHO, B. F. S.; FERREIRA, E. P. B.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A. P. Resposta do feijoeiro comum à inoculação com rizóbio e suplementação com nitrogênio mineral em dois biomas Brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 4, p. 981-992, 2015.

BURDMAN, S.; KIGEL, J.; OKON, Y. Effects of Azospirillum brasilense on nodulation and growth of common bean (*P. vulgaris* L.). **Science**, v. 29, n. 516, p. 923-929, 1997.

CAMPO, R. J.; ARAÚJO, R. S.; MOSTASSO, F. L.; HUNGRIA, M. In-furrow inoculation of soybean as alternative to fungicide and micronutrient seed treatment. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 1103-1112, 2010.

CARDOSO, J. D.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S. Polyphasic approach for the characterization of rhizobial symbionts effective in fixing N_2 with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 5, p. 2035-2049, 2012.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; CARLAN, C. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E.; ZORITA, M. D.; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, n. 4, p. 461-479, 2020.

CHAVERRA, M. H.; GRAHAM, P. H. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. **Crop Science**, v. 32, n. 6, p. 1432-1436, 1992.

CONAB. **Custo de produção**. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/custos-de-producao-dashboard>. Acesso em: 14 jun. 2020.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CORDEIRO, A. B.; RIBEIRO, R. A.; HELENE, L. C. F.; HUNGRIA, M. *Rhizobium esperanzae* sp. nov., a N_2 -fixing root symbiont of *Phaseolus vulgaris* from Mexican soils. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 3937-3945, 2017.

COSTA, G. E. A.; QUEIROZ-MONICI, K. L.; REIS, S. M. P. M.; OLIVEIRA, A. C. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. **Food Chemistry**, v. 94, n. 3, p. 327-330, 2006.

COSTA, M. R.; CHIBEBA, A. M.; MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M. Polyphasic characterization of rhizobia microsymbionts of common bean [*Phaseolus vulgaris* (L.)] isolated in Mato Grosso do Sul, a hotspot of Brazilian biodiversity. **Symbiosis**, v. 76, n. 2, p. 163-176, 2018.

CARDILLO, B. E. S.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; MARTINS, F. A. D.; RUFINI, M.; SILVA, J. S.; NETO, G. G. F.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Nodulation and yields of common bean are not affected either by fungicides or by the method of inoculation. **Agronomy Journal**, v. 111, n. 2, p. 694-701, 2019.

CARVALHO, R. H.; JESUS, E. C.; FAVERO, V. O.; STRALIOTTO, R.; ARAÚJO, A. P. The co-inoculation of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* increases the early nodulation and development of common beans. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, p. 860-864, 2020.

DALL'AGNOL, R. F.; RIBEIRO, R. A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; ROGEL, M. A.; DELAMUTA, J. R. M.; ANDRADE, D. S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. *Rhizobium freirei* sp. nov., a symbiont of *Phaseolus vulgaris* that is very effective at fixing nitrogen. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, p. 4167-4173, 2013.

DALL'AGNOL, R. F.; RIBEIRO, R. A.; DELAMUTA, J. R. M.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; ROGEL, M. A.; ANDRADE, D. S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. *Rhizobium paranaense* sp. nov., An effective N_2 -fixing symbiont of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with broad geographical distribution in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, p. 3222-3229, 2014.

DALL'AGNOL, R. F.; BOURNAUD, C.; FARIA, S. M.; BÉNA, G.; MOULIN, L.; HUNGRIA, M. Genetic diversity of symbiotic *Paraburkholderia* species isolated from nodules of *Mimosa pudica*

(L.) and *Phaseolus vulgaris* (L.) grown in soils of the Brazilian Atlantic Forest (Mata Atlântica). **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 4, p. 1-15, 2017.

DARDANELLI, M. S.; CÓRDOBA, F. J. F.; ESPUNY, M. R.; CARVAJAL, M. A. R.; DÍAZ, M. E. S.; SERRANO, A. M. G.; OKON, Y.; MEGÍAS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 11, p. 2713-2721, 2008.

DEL CERRO, P.; ROLLA-SANTOS, A. A. P.; GOMES, D. F.; MARKS, B. B.; ESPUNY, M. R.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; SORIA-DÁIZ, M. E.; NAKATANI, A. S.; HUNGRIA, M.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M. Opening the "black box" of nodD3, nodD4 and nodD5 genes of *Rhizobium tropici* strain CIAT 899. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2015.

DIVITO, G. A.; SADRAS, V. O. How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis. **Field Crops Research**, v. 156, p. 161-171, 2014.

EL-NAHRAWY, S.; OMARA, A. Effectiveness of co-inoculation with *Pseudomonas koreensis* and rhizobia on growth, nodulation and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Microbiology Research Journal International**, v. 21, n. 6, p. 1-16, 2017.

FERGUSON, B. J.; INDRASUMUNAR, A.; HAYASHI, S.; LIN, M.; LIN, Y.; REID, D. E.; GRESSHOF, P. M. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52, n. 1, p. 61-76, 2010.

FERNÁNDEZ-LUQUEÑO, F.; DENDOOVEN, L.; MUNIVE, A.; CORLAY-CHEE, L.; SERRANO-COVARRUBIAS, L. M.; ESPINOSA-VICTORIA, D. Micro-morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodules undergoing senescence. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 545-552, 2008.

FERREIRA, E. P. B. Desempenho agrônômico e economicidade do feijão-comum inoculado com *Rhizobium* e *Azospirillum*. In: OLIVEIRA, L. F. C.; SILVEIRA, P. M.; OLIVEIRA, M. G. C.; FARIA, A. L. D. (ed.). **Embrapa GTEC Feijão 6 toneladas: ciclo 2011 a 2017**. 2. ed. [S.l.]: Syngenta, 2018. p. 47-48.

FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; ARAÚJO, J. L. S.; JÚNIOR, P. I. F.; ARAÚJO, A. P. Contribuições para melhoria da eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro comum no Brasil. In: ARAÚJO, A. P.; ALVES, B. J. R. (ed.). **Tópicos em Ciências do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2013. Cap. 7. p. 380.

FERREIRA, P. A. A.; BOMFETI, C. A.; SOARES, B. L.; MOREIRA, F. M. S. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from Amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 1947-1959, 2012.

FONSECA, G. G.; OLIVEIRA, D. P.; SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; TEIXEIRA, C. M.; MARTINS, F. A. D.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Resposta de cultivares de feijoeiro-comum à inoculação das sementes com duas estirpes de rizóbio. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1778-1787, 2013.

FAO. FAOSTAT. **Fertilizer by nutriente**. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RFN>. Acesso em: 18 jun. 2020.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

FUKAMI, J.; OSA, C.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of maize with *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici* as a strategy to mitigate salinity stress. **Functional Plant Biology**, v. 45, n. 3, p. 328-339, 2018a.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; OSA, C.; VALDERRAMA-FERNÁNDEZ, R.; NOGUEIRA, M. A.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Antioxidant activity and induction of mechanisms of resistance to stresses related to the inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Archives of Microbiology**, v. 200, n. 8, p. 1191-1203, 2018b.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2018c.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, 2017.

GRAHAM, P. H.; DRAEGER, K. J.; FERREY, M. L.; CONROY, M. J.; HAMMER, B. E.; MARTINEZ, E.; AARONS, S. R.; QUINTO, C. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 198-207, 1994.

GRAHAM, P. H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: A review. **Field Crops Research**, v. 4, n. C, p. 93-112, 1981.

GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P. H.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 867-876, 2007.

GROPPIA, M. D.; ZAWOZNIK, M. S.; TOMARO, M. L. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. **European Journal of Soil Biology**, v. 34, n. 2, p. 75-80, 1998.

HAAG, A. F.; ARNOLD, M. F. F.; MYKA, K. K.; KERSCHER, B.; DALL'ANGELO, S.; ZANDA, M.; MERGAERT, P.; FERGUSON, G. P. Molecular insights into bacteroid development during *Rhizobium*-legume symbiosis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, p. 364-383, 2012.

HAN, T. X.; WANG, E. T.; WU, L. J.; CHEN, W. F.; GU, J. G.; GU, C. T.; TIAN, C. F.; CHEN, W. X. *Rhizobium multihospitium* sp. nov., isolated from multiple legume species native of Xinjiang, China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 7, p. 1693-1699, 2008.

HAYAT, I.; AHMAD, A.; MASUD, T.; AHMED, A.; BASHIT, S. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 5, p. 580-592, 2014.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 2, p. 88-93, 2003.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBANZA, A.; GUTTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGÍAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1515-1528, 2000.

HUNGRIA, M.; FRANCO, A. A. Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation by *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, v. 149, n. 1, p. 95-102, 1993.

HUNGRIA, M.; FRANCO, A. A.; SPRENT, J. I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. **Plant and Soil**, v. 149, p. 103-109, 1993.

HUNGRIA, M.; JOSEPH, C. M.; PHILLIPS, D. A. Anthocyanidins and flavonols, major nod gene inducers from seeds of a black-seeded common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Physiology**, v. 97, n. 2, p. 751-758, 1991.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 23, p. 2329-2338, 2015a.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 6, p. 811-817, 2015b.

HUNGRIA, M.; JOHNSTON, A. W.; PHILLIPS, D. A. Effects of flavonoids released naturally from bean (*Phaseolus vulgaris*) on nodD-regulated gene transcription in *Rhizobium leguminosarum* bv. phaeoli. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 5, n. 3, p. 199-203, 1992.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P.; VICTORIA, R. L. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro; II. Absorção e translocação do N mineral e do N₂ fixado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 9, p. 202-209, 1985.

HUO, Y.; TONG, W.; WANG, J.; WANG, F.; BAI, W.; WANG, E.; SHI, P.; CHEN, W.; WEI, G. *Rhizobium chutanense* sp. nov., isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* in China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 2049-2056, 2019.

JESUS, E. C.; LEITE, R. A.; BASTOS, R. A.; ARAGÃO, O. O. S.; ARAÚJO, A. P. Co-inoculation of *Bradyrhizobium* stimulates the symbiosis efficiency of *Rhizobium* with common bean. **Plant and Soil**, v. 425, n. 1-2, p. 201-215, 2018.

JHA, C. K.; SARAF, M. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **Agricultural Research and Development**, v. 5, n. 2, p. 108-119, 2015.

KIDAJ, D.; WIELBO, J.; SKORUPSKA, A. Nod factors stimulate seed germination and promote growth and nodulation of pea and vetch under competitive conditions. **Microbiological Research**, v. 167, n. 3, p. 144-150, 2012.

KUMAR, H.; DUBEY, R. C.; MAHESHWARI, D. K. Effect of plant growth promoting rhizobia on seed germination, growth promotion and suppression of Fusarium wilt of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). **Crop Protection**, v. 30, n. 11, p. 1396-1403, 2011.

LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ROGEL-HERNÁNDEZ, M. A.; BAROIS, I.; CEBALLOS, A. I. O.; MARTÍNEZ, J.; ORMEÑO-ORILLO, E.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. *Rhizobium grahamii* sp. nov., from nodules of *Dalea leporina*, *Leucaena leucocephala* and *Clitoria ternatea*, and *Rhizobium mesoamericanum* sp. nov., from nodules of *Phaseolus vulgaris*, siratro, cowpea and *Mimosa pudica*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 2264-2271, 2012.

LUQUEÑO, F. F.; VICTORIA, D. E.; MUNIVE, A.; CHEE, L. C.; COVARRUBIAS, L. M. S. Nodule senescence and biomass components in common bean cultivars. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 31, n. 3, p. 195-201, 2008.

MACCHIAVELLI, R. E.; BRELLES-MARIÑO, G. Nod factor-treated *Medicago truncatula* roots and seeds show an increased number of nodules when inoculated with a limiting population of *Sinorhizobium meliloti*. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 2635-2640, 2004.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. **AMB Express**, v. 3, p. 1-10, 2013.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2015.

MARTÍNEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: Overview and perspectives. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 11-23, 2003.

MARTINEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.; GRAHAM, P.; PARDO, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, n. 3, p. 417-426, 1991.

MEENA, V. S.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P.; KUMAR, A.; AERON, A.; MISHRA, P. K.; BISHT, J. K.; PATTANAYAK, A.; NAVEED, M.; DOTANIYA, M. L. Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: A review. **Ecological Engineering**, v. 107, p. 8-32, 2017.

MENDES, I. C.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R.; VARGAS, M. A. T. Eficiência fixadora de estirpes de rizóbio em duas cultivares de feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, n. 3, p. 421-426, 1994.

MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. S.; MORAES, C. B.; HUNGRIA, M. **Inoculação do feijoeiro em Unai, MG**: cartilha para o produtor rural. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 16 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 175).

MERCANTE, F. M.; OTSUBO, A. A.; BRITO, O. R. New native rhizobia strains for inoculation of common bean in the Brazilian savanna. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, p. 1-11, 2017.

MERCANTE, F. M.; OTSUBO, A. A.; LAMAS, F. M. Inoculação de *Rhizobium tropici* e aplicação de adubo nitrogenado na cultura do feijoeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito, MS. **A busca das raízes**: anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82). 1 CD-ROM. FERTBIO.

MICHELIS, J.; DOMBRECHT, B.; VERMEIREN, N.; XI, C.; LUYTEN, E.; VANDERLEYDEN, J. *Phaseolus vulgaris* is a non-selective host for nodulation. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 26, n. 3, p. 193-205, 1998.

MNASRI, B.; LIU, T. Y.; SAIDI, S.; CHEN, W. F.; CHEN, W. X.; ZHANG, X. X.; MHAMDI, R. *Rhizobium azibense* sp. nov., a nitrogen fixing bacterium isolated from root-nodules of *Phaseolus vulgaris*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. part 5, p. 1501-1506, 2014.

MOHAMMADI, K.; SOHRABI, Y.; HEIDARI, G.; KHALESRO, S.; MAJIDI, M. Effective factors on biological nitrogen fixation. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 12, p. 1782-1788, 2012.

MOREIRA, L. P.; OLIVEIRA, A. P. S.; FERREIRA, E. P. de B. Nodulation, contribution of biological N₂ fixation, and productivity of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with rhizobia isolates. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 6, p. 644-651, 2017.

MORETTI, L. G.; CRUSCIOL, C. A. C.; BOSSOLANI, J. W.; MOMESSO, L.; GARCIA, A.; KURAMAE, E. E.; HUNGRIA, M. Bacterial Consortium and Microbial Metabolites Increase Grain Quality and Soybean Yield. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, p. 1923-1934, 2020a.

MORETTI, L. G.; CRUSCIOL, C. A. C.; KURAMAE, E. E.; BOSSOLANI, J. W.; MOREIRA, A.; COSTA, N. R.; ALVES, C. J.; PASCOALOTO, I. M.; RONDINA, A. B. L.; HUNGRIA, M. Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 1, p. 418-428, 2020b.

MORETTI, L. G.; LAZARINI, E.; BOSSOLANI, J. W.; PARENTE, T. L.; CAIONI, S.; ARAUJO, M. R. S.; HUNGRIA, M. Can additional inoculations increase soybean nodulation and grain yield? **Agronomy Journal**, v. 110, n. 2, p. 715-721, 2018.

MOSTASSO, L.; MOTASSO, F. L.; DIAS, B. G.; VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, v. 73, n. 2-3, p. 121-132, 2002.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; DALLACORT, R.; ALBUQUERQUE, A. N.; LOBATO, A. K. S.; GUEDES, E. M. S.; NETO, C. F. O.; CONCEIÇÃO, H. E. O.; ALVES, G. A. R. *Azospirillum*: A new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 11, n. 1, p. 1142-1146, 2013.

OLIVEIRA-FRANCESQUINI, J. P.; HUNGRIA, M.; SAVI, D. C.; GLIENKE, C.; ALUIZIO, R.; KAVA, V.; GALLI-TERASAWA, L. V. Differential colonization by bioprospected rhizobial bacteria associated with common bean in different cropping systems. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 63, n. 8, p. 682-689, 2017.

OLIVEIRA, D. P.; FIGUEIREDO, M. A.; SOARES, B. L.; TEIXEIRA, O. H. S.; MARTINS, F. A. D.; RUFINI, M.; CHAIN, C. P.; REIS, R. P.; MORAIS, A. R.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B. Acid tolerant *Rhizobium* strains contribute to increasing the yield and profitability of common bean in tropical soils. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 17, n. 4, p. 922-934, 2017.

OLIVEIRA, D. P.; PEREIRA, T. A.; RUFINI, M.; MARTINS, F. A. D.; JUNIOR, C. L. S.; BAPTISTA, M. V. B. D. G.; SILVA, J. S.; OLIVEIRA, P. A. C.; ARAGÃO, O. O. S.; ANDRANDE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Liquid inoculation with rhizobia in the planting furrow of common bean under no-till is feasible under different soil and climatic conditions. **Crop Science**, v. 59, n. 5, p. 2178-2184, 2019.

PAIVA, C. A. O.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; COTA, L. V.; SANTOS, F. C. dos; SOUSA, S. M. de; LANA, U. G. de P.; OLIVEIRA, M. C.; MATTOS, B. B.; ALVES, V. M. C.; RIBEIRO, V. P.; VASCO JUNIOR, R. **Recomendação agrônômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. 18 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 260).

PELEGRIN, R.; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

PEREIRA, H. S.; MELO, L. C.; FARIA, L. C.; FERREIRA, E. P. B.; MERCANTE, F. M.; WENDLAND, A.; SOUZA, T. L. P. O. Linhagens elite de feijoeiro-comum cultivadas com fertilização nitrogenada e inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2168-2173, 2015.

PEREIRA, P. A. A.; ARAUJO, R. S.; ROCHA, R. E. M.; STEINMETZ, S. Capacidade dos genótipos de feijoeiro de fixar N_2 atmosférico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, p. 811-815, 1984.

PERES, A. R.; RODRIGUES, R. A. F.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C. Co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* in common beans grown under two irrigation depths. **Revista Ceres**, v. 63, n. 2, p. 198-207, 2016.

PINTO, G. S. P.; HUMGRIA, M.; MERCANTE, F. M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N_2 with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1851-1864, 2007.

PUENTE, M. L.; ZAWOZNIK, M.; SABANDO, M. L.; PEREZ, G.; GUALPA, J. L.; CARLETTI, S. M.; CASSÁN, F. D. Improvement of soybean grain nutritional quality under foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Az39. **Symbiosis**, v. 77, n. 1, p. 41-47, 2019.

PUENTE, M. L.; GUALPA, J. L.; LOPEZ, G. A.; MOLINA, R. M.; CARLETTI, S. M.; CASSÁN, F. D. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model. **Symbiosis**, v. 76, n. 1, p. 41-49, 2018.

PUPPO, A.; GROTEN, K.; BASTIAN, F.; CARZANIGA, R.; SOUSSI, M.; LUCAS, M. M.; FELIPE, M. R.; HARRISON, J.; VANACKER, H.; FOYER, C. H. Legume nodule senescence: Roles for redox and hormone signalling in the orchestration of the natural aging process. **New Phytologist**, v. 165, n. 3, p. 683-701, 2005.

RAMÍREZ-BABENA, M. H.; GARCÍA-FRAILE, P.; PEIX, A.; VALVERDE, A.; RIVAS, R.; IGUAL, J. M.; MATEOS, P. F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, E. Revision of the taxonomic

status of the species *Rhizobium leguminosarum* (Frank 1879) Frank 1889AL, *Rhizobium phaseoli* Dangeard 1926AL and *Rhizobium trifolii* Dangeard 1926AL. *R. trifolii* is a later synonym of *R. leguminosarum*. Reclassification of the strain. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 2484-2490, 2008.

RAMOS, M. L. G.; PARSONS, R.; SPRENTE, J. I.; JAMES, E. K. Effect of water stress on nitrogen fixation and nodule structure of common bean. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 339-347, 2003.

RAMOS, M. L. G.; BODDEY, R. M. Yield and nodulation of *Phaseolus vulgaris* and the competitiveness of an introduced *Rhizobium* strain: effects of lime, mulch and repeated cropping. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 19, p. 171-177, 1987.

REMANS, R.; RAMAEKERS, L.; SCHELKENS, S.; HERNANDEZ, G.; GARCIA, A.; REYES, J. L.; MENDEZ, N.; TOSCANO, V.; MULLING, M.; GALVEZ, L.; VANDERLEYDEN, J. Effect of *Rhizobium-Azospirillum* coinoculation on nitrogen fixation and yield of two contrasting *Phaseolus vulgaris* L. genotypes cultivated across different environments in Cuba. **Plant and Soil**, v. 312, n. 1-2, p. 25-37, 2008.

REZENDE, A. A.; PACHECO, M. T. B.; SILVA, V. S. N.; FERREIRA, T. A. P. C. Nutritional and protein quality of dry Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 421-427, 2018.

RIBEIRO, R. A.; ROGEL, M. A.; LÓPEZ-LÓPEZ, A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; BARCELLOS, F. G.; MARTÍNEZ, J.; THOMPSON, F. L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Reclassification of *Rhizobium tropici* type A strains as *Rhizobium leucaenae* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1179-1184, 2012.

RIBEIRO, R. A.; MARTINS, T. B.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; DELAMUTA, J. R. M.; ROGEL, M. A.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. *Rhizobium ecuadorensis* sp. nov., an indigenous N₂-fixing symbiont of the Ecuadorian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genetic pool. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 3162-3169, 2015.

RODRÍGUEZ DE LUQUE, J. J.; CREAMER, B. Major constraints and trends for common bean production and commercialization: establishing priorities for future research. **Agronomía Colombiana**, v. 32, n. 3, p. 423-431, 2014.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, n. 1, 2019.

SCHUMPP, O.; DEAKIN, W. J. How inefficient rhizobia prolong their existence within nodules. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 4, p. 189-195, 2010.

SCHWINGHAMER, T.; SOULEIMANOV, A.; DUTILEUL, P.; SMITH, D. L. A micromolar concentration of lipo-chitooligosaccharide (Nod Bj V [C18:1, MeFuc]) regulates the emergence and seed productivity of rapid cycling canola (*Brassica napus* [L.]) plants. **Plant Signal Behavior**, v. 11, p. 1-4, 2016.

SEGOVIA, L.; YOUNG, J. P. W.; MARTINEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 43, n. 2, p. 374-377, 1993.

GUPTA, G.; PARIHAR, S. S.; AHIRWAR, N. K.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2015.

SILVA, H. A. P.; CAETANO, V. S.; PESSOA, D. D. V.; PACHECO, R. S.; SIMOES-ARAÚJO, J. L. Molecular and biochemical changes of aging-induced nodules senescence in common bean. **Symbiosis**, v. 79, n. 1, p. 33-48, 2019.

SILVA, I. H. L. **Tratamento de sementes de feijão (cv. pérola) com inseticidas sistêmicos no manejo da vaquinha (Coleóptera: Chrysomelidae)**. 2013. 36 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2013.

SINGH, S. P.; SCHWARTZ, H. F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v. 50, n. 6, p. 2199-2223, 2010.

SKØT, L.; TIMMS, E.; MYTTON, L. R. The effect of toxin-producing *Rhizobium* strains, on larvae of *Sitona flavescens* feeding on legume roots and nodules. **Plant and Soil**, v. 163, p. 141-150, 1994.

SOARES, B. L.; FERREIRA, P. A. A.; RUFINI, M.; MARTINS, F. A. D.; OLIVEIRA, D. P.; REIS, R. P.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. Agronomic and economic efficiency of common-bean inoculation with rhizobia and mineral nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. 1-13, 2016.

SOUZA, J. E. B.; FERREIRA, E. P. de B. Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 237, p. 250-257, 2017.

STAJKOVIĆ, O.; DELIC, D.; JOSIC, D.; KUZMANOVIC, D.; RASULIC, N.; KNEZEVIC-VUKCEVIC, J. Improvement of common bean growth by co-inoculation with *Rhizobium* and plant growth-promoting bacteria. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 16, n. 1, p. 5919-5926, 2011.

STEINER, F.; FERREIRA, H. C. P.; ZUFFO, A. M. Can co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* increase common bean nodulation and grain yield? **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 81-98, 2019.

TEIXEIRA, M.; FRANCO, A. A. Infestação por larvas de *Ceratomyia arcuata* (Olivier) (Coleoptera: Chrysomelidae) em nódulos de feijoeiro em cultivo com cobertura morta ou em consórcio com milho ou com caupi. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1529-1535, 2007.

VALVERDE, A.; IGUAL, J. M.; PEIX, A.; CERVANTES, E.; VELÁZQUEZ, E. *Rhizobium lusitanum* sp. nov. a bacterium that nodulates *Phaseolus vulgaris*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, n. 11, p. 2631-2637, 2006.

VAN BERKUM, P.; BEYENE, D.; EARDLY, B. D. Phylogenetic relationships among *Rhizobium* species nodulating the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 46, n. 1, p. 240-244, 1996.

VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C.; PERES, J. R. R. **Fixação Biológica de nitrogênio em solos de Cerrados**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1994. 83 p.

VARGAS, M. A. T.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M. Response of field-grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertilization in two cerrados soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 32, n. 3, p. 228-233, 2000.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; BOYCE, A. N. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 1-17, 2016.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

VIKMAN, P. Å.; VESSEY, J. K. Ontogenetic changes in root nodule subpopulations of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): III. Nodule formation, growth and degradation. **Journal of Experimental Botany**, v. 44, n. 3, p. 579-586, 1993.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016.

WANG, F.; WANG, E. T.; WU, L. J.; SUI, X. H.; JR. Y. L.; CHEN, W. X. *Rhizobium vallis* sp. nov., isolated from nodules of three leguminous species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, n. 11, p. 2582-2588, 2011.

WERIA, W.; YAGHOUB, R.; ALLAHVERDIPOOR, K. H.; Role of some of mineral nutrients in biological nitrogen fixation. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 2, n. 4, p. 77-84, 2013.

YAN, J.; YAN, H.; LIU, L. X.; CHEN, W. F.; ZHANG, X. X.; VERÁSTEGUI-VALDÉS, M. M.; WANG, E. T.; HAN, X. Z. *Rhizobium hidalgonense* sp. nov., a nodule endophytic bacterium of *Phaseolus vulgaris* in acid soil. **Archives of Microbiology**, v. 199, n. 1, p. 97-104, 2017.

ZAGO, L. F.; LIMA, C. R.; CRUZ, R. M. S.; ALBERTON, O. Inoculação de diferentes doses de *Bradyrhizobium* por cobertura e seu efeito na cultura da soja. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 21, n. 2, p. 65-69, 2018.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; MARSON, B. F.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Inoculação de *Bradyrhizobium* em soja por pulverização em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 4, p. 541-544, 2008.



Cerrados

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL