

Capítulo 8

Fixação biológica de nitrogênio em adubos verdes

Fábio Martins Mercante (in memoriam)
Mariangela Hungria
Iêda de Carvalho Mendes
Fábio Bueno dos Reis Júnior
Diva Souza Andrade

Introdução

No mundo inteiro, a sustentabilidade agrícola vem sendo prejudicada pela degradação química, física e biológica dos solos. Essa situação, já grave por si só, ganha proporções preocupantes nas regiões tropicais, onde, com frequência, o manejo do solo e das culturas é feito inadequadamente, e os insumos agrícolas, em grande parte importados, são dispendiosos, já que seu preço costuma estar atrelado ao câmbio internacional. Consequentemente, urge adotar medidas que minimizem o impacto sobre a agricultura, diante das perspectivas de intensificação de uso do solo, num panorama de crescente demanda mundial por alimentos. Sabe-se que a disponibilidade de água e dos nutrientes nitrogênio (N) e fósforo (P) é o principal fator a limitar a produção agrícola. Em caso de deficiência, a água é fornecida às culturas por meio de irrigação, enquanto o P é suprido como fertilizante. Existem, porém, diversos microrganismos, como os fungos micorrízicos e as bactérias promotoras do crescimento de planta, que podem incrementar a superfície radicular, o que resulta em maior absorção de P, enquanto outros, como algumas bactérias do gênero *Aspergillus*, são capazes de solubilizar fontes fosfatadas de baixa disponibilidade para as plantas.

O N é um elemento de extrema importância por participar da formação dos ácidos nucleicos e, portanto, da formação das proteínas, e também por ser o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas.

As fontes de fornecimento do N são: a) o solo, principalmente a matéria orgânica; b) o processo de fixação não biológica, resultante de descargas elétricas com o N atmosférico (N_2), que resultam em N-nitrato (NO_3^-), e de reações de combustão e vulcanismo; c) os fertilizantes nitrogenados; e d) o processo de fixação biológica do N_2 (FBN).

O reservatório de N do solo é limitado, particularmente no Brasil, onde seus teores são em geral baixos, e o nutriente é altamente suscetível a perdas pela rápida decomposição da matéria orgânica. A contribuição da fixação não biológica também é modesta, estimada em apenas 10% das entradas totais de N na Terra. Os fertilizantes nitrogenados, quase em sua totalidade resultantes de síntese química, representam a forma assimilada com maior rapidez pelas plantas,

mas, em geral, a um custo bastante elevado (o custo energético para a síntese química de uma tonelada de amônia – NH_3 – pelo processo Haber-Bosch corresponde a cerca de seis barris de petróleo). Estima-se que a produção industrial de NH_3 contribua com aproximadamente 25% da fixação anual global de N. Como agravante ao custo elevado, raramente a eficiência de utilização dos fertilizantes químicos nitrogenados é superior a 50%, e a distribuição, o armazenamento e a aplicação desses fertilizantes nas plantas demandam recursos energéticos adicionais. Finalmente, estima-se que os fertilizantes nitrogenados sejam responsáveis por grande parte das emissões globais de gases de efeito estufa (CO_2 , N_2O e CH_4) e pela poluição de lagos e rios, principalmente por íons NO_3^- .

No processo de FBN, também ocorre a redução do N_2 em NH_3 , mas, nesse caso, o N_2 é catalisado pelo complexo enzimático da nitrogenase, encontrado somente em alguns microrganismos procariotos (denominados “fixadores de N_2 ” ou “diazotróficos”), principalmente microrganismos do domínio *Bacteria* (comumente denominados de bactérias), mas também alguns do domínio *Archaea*. A NH_3 sintetizada é, no ambiente aquoso das células bacterianas, imediatamente transformada em íons de amônio, NH_4^+ . O FBN é a principal via de incorporação do N_2 à biosfera, sendo responsável por cerca de 65% da entrada total de N na Terra (ou 96% da fixação por processos naturais), e é considerada, depois da fotossíntese, o processo biológico mais importante. Em termos quantitativos, estima-se que de 44 milhões a 66 milhões de toneladas métricas de N_2 são fixados por leguminosas de importância agrícola, anualmente, e outros 3 milhões a 5 milhões de toneladas métricas são fixados por leguminosas em ecossistemas naturais (Hungria et al., 1994, 1997, 2001, 2007; Hungria; Newton, 2000; Graham; Vance, 2003; Campo, 2005). Na Tabela 1, comparam-se as vantagens e as desvantagens entre o processo de FBN e o uso de fertilizantes químicos.

As bactérias diazotróficas podem ser classificadas em três grupos, com base na sua relação com a planta hospedeira. As bactérias diazotróficas de vida livre são capazes de fixar N_2 , independentemente de um hospedeiro superior; as endofíticas apresentam uma relação um pouco mais estreita com o hospedeiro; e as simbióticas são dependentes de uma interação íntima com as plantas hospedeiras. As bactérias diazotróficas de vida livre, que, em geral, se localizam na região rizosférica, utilizam a energia disponível no ambiente para fixar N_2 e normalmente não excretam NH_3 . Já as endofíticas localizam-se nos tecidos das raízes, nos colmos e nas folhas das plantas (embora sejam poucos os estudos sobre os mecanismos de liberação do N fixado, sabe-se que a liberação pode ocorrer diretamente ao hospedeiro). Já as simbióticas utilizam a energia dos fotoassimilados fornecidos pela planta e excretam o NH_4^+ produzido diretamente no tecido vegetal. Nos três tipos de associação, a FBN requer condições bastante específicas: ausência de N, baixas tensões de oxigênio (O_2) e presença de molibdênio (Mo) (Postgate, 1982).

Tabela 1. Principais vantagens e desvantagens da utilização de fertilizantes nitrogenados e do processo de fixação biológica do nitrogênio (N₂) com bactérias diazotróficas.

Fertilizantes nitrogenados	
Vantagens	Desvantagens
Disponibilidade imediata para as plantas	Gasto energético elevado necessário para a síntese química de amônia
Custo energético de absorção pela planta inferior ao custo do N obtido pelo processo biológico	Gasto com tecnologia e mão de obra envolvidas na indústria
	Gasto com transporte até o campo e com a aplicação do fertilizante
	Raramente mais do que 50% do fertilizante aplicado é aproveitado pelas plantas (sendo perdido por desnitrificação, nitrificação e lixiviação)
	Poluição de lagos e rios
	Emissão de gases de efeito estufa
Fixação biológica do nitrogênio (FBN)	
Vantagens	Desvantagens
Menor custo para o agricultor	Possibilidade de crescimento mais lento de plantas dependentes da FBN, pois precisam enviar fotoassimilados para o metabolismo das bactérias
Diminuição dos problemas ambientais	Diferenças entre estirpes de bactérias, genótipos de plantas e tipos de associações bactérias-genótipos quanto à capacidade de FBN
Manutenção da fertilidade do solo	Maior suscetibilidade das plantas aos estresses ambientais

Fonte: Adaptado de Hungria et al. (1994).

Fixação biológica do nitrogênio com leguminosas

Leguminosas hospedeiras

Estima-se que a maior contribuição da FBN está na associação simbiótica de bactérias diazotróficas com plantas da família Leguminosae (também denominada Fabaceae), que é uma das maiores famílias descritas, com cerca de 18 mil espécies, classificadas em cerca de 650 gêneros. Essa família representa aproximadamente 8% de todas as plantas que produzem flores, e estão presentes em quase todos os ecossistemas terrestres (Polhill; Raven, 1981; Herendeen et al., 1992). Essa família, para a qual se estima que apenas cerca de 20% de suas espécies tenham sido investigadas quanto à nodulação, é dividida em três subfamílias: Papilionoideae (syn. Faboideae), Mimosoideae e Caesalpinioideae. Na subfamília Papilionoideae, que contém a maioria das legu-

minosas de grãos, forrageiras e adubos verdes de importância econômica, 97% das espécies investigadas formam nódulos, algumas com relevante contribuição da FBN (Tabela 2). As espécies das subfamílias Mimosoideae e Caesalpinioideae são encontradas quase que exclusivamente nos trópicos, e a nodulação ocorre em cerca de 90% e 23% das suas espécies, respectivamente (Allen; Allen, 1981; Faria et al., 1989; Giller, 2001). O Brasil é rico em espécies de leguminosas, que são estimadas em cerca de 1 mil e 300 espécies na Amazônia e 560 no Cerrado. Contudo, apenas uma pequena porcentagem dessas espécies foi investigada quanto à capacidade de FBN.

Tabela 2. Estimativas da contribuição da fixação biológica do N₂ (FBN) em algumas leguminosas da subfamília Papilionoideae de importância agrícola.

Nome vulgar	Nome científico	Contribuição da FBN	
		(% N total da planta)	(kg ha ⁻¹ de N)
Soja	<i>Glycine max</i>	0–95	0–450
Feijão	<i>Phaseolus vulgaris</i>	0–70	0–165
Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i>	22–92	32–206
Grão-de-bico	<i>Cicer arietinum</i>	0–82	0–141
Lentilha	<i>Lens esculenta</i>	28–97	5–191
Ervilha	<i>Pisum sativum</i>	5–95	4–244

Fonte: Adaptado de Unkovich e Pate (2000).

A simbiose pode ser facilmente detectada, pois estruturas especializadas em processo biológico, chamadas “nódulos”, são formadas nas raízes das leguminosas. A formação dos nódulos é um processo complexo, distribuído em várias etapas, que envolve mudanças fisiológicas e morfológicas, tanto na planta hospedeira quanto na bactéria. As mudanças na bactéria visam, principalmente, ao recebimento de fontes de carbono (C) da planta hospedeira, para prover o ATP e o poder redutor (que são necessários para a manutenção das bactérias, a formação e o funcionamento dos nódulos e o processo de FBN), enquanto as mudanças na planta hospedeira visam a assimilar o NH₄⁺ produzido pelas bactérias. Nos nódulos, o NH₄⁺ é incorporado em esqueletos de carbono e transformado em diversas formas de N orgânico, como os ureídeos, os aminoácidos e as amidas.

De modo geral, os nódulos localizam-se nas raízes das plantas (Figuras 1A, 1B e 1D). Há basicamente dois tipos de nódulos: os de crescimento determinado (Figura 1A) e os de crescimento indeterminado (Figura 1B). Além disso, existem associações simbióticas que resultam na formação de nódulos no caule (Figura 1C), como ocorre com algumas espécies dos gêneros *Sesbania*, *Aeschynomene*, *Neptunia* e *Discolobium*. *Parasponia*, da família Ulmaceae, é a única planta não leguminosa conhecida que se associa simbioticamente com rizóbios.

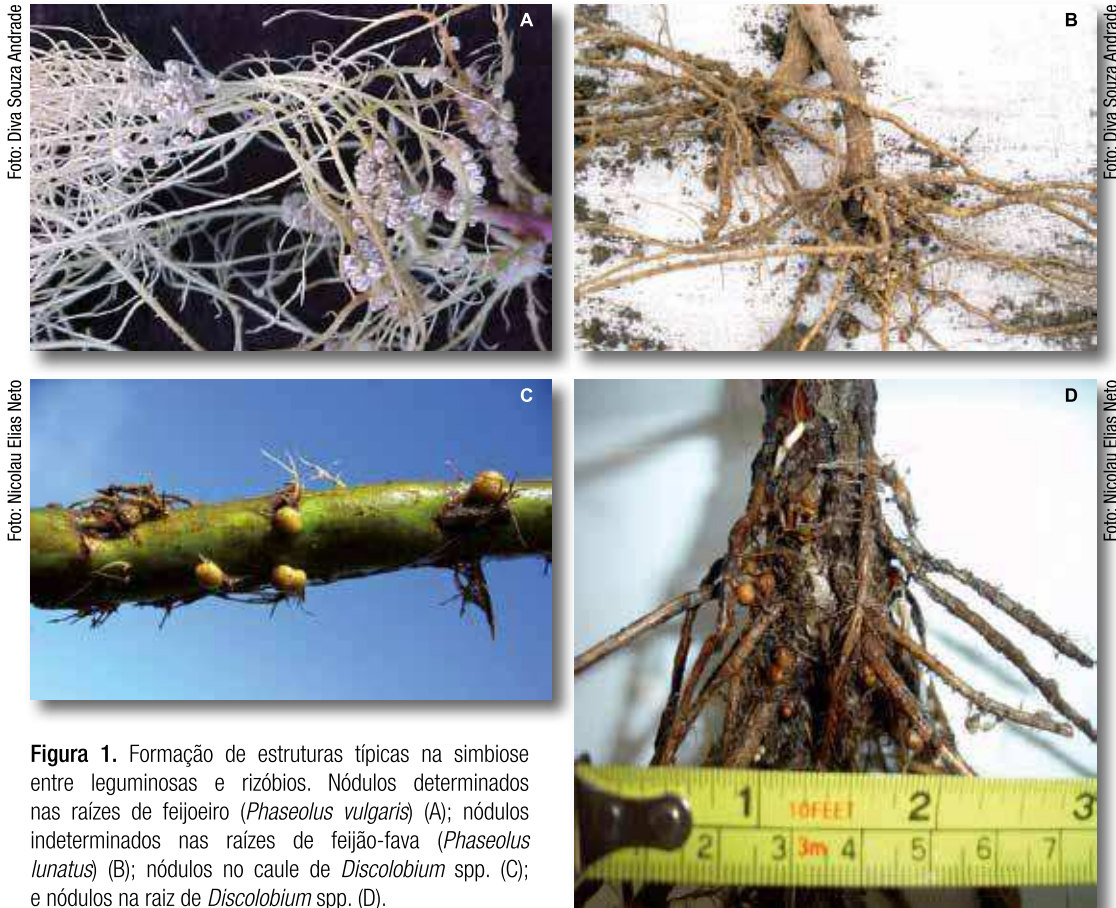


Figura 1. Formação de estruturas típicas na simbiose entre leguminosas e rizóbios. Nódulos determinados nas raízes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) (A); nódulos indeterminados nas raízes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) (B); nódulos no caule de *Discolobium* spp. (C); e nódulos na raiz de *Discolobium* spp. (D).

Bactérias simbióticas

As bactérias diazotróficas capazes de se associarem simbioticamente com plantas da família Leguminosae são chamadas popularmente de “rizóbios”. A História referencia que, em 1886, dois cientistas alemães (Hermann Hellriegel e Hermann Wilfarth) demonstraram que a habilidade das leguminosas em converter o N_2 da atmosfera poderia estar relacionada à presença de protuberâncias (nódulos) nas raízes, onde bactérias estariam presentes. Em 1888, o microbiologista holandês Martinus Beijerinck isolou as bactérias dos nódulos, às quais nomeou de *Bacillus radicola*, e demonstrou que elas apresentavam a habilidade de reinfetar a leguminosa hospedeira e fixar N_2 em simbiose (Hungria; Campo, 2004). Posteriormente, em 1896, O. Kirchner descreveu o gênero *Rhizobium* e, em 1889, Frank definiu o nome *Rhizobium leguminosarum*. Em 1932, Fred e colaboradores descreveram seis espécies de simbiontes pertencentes a esse gênero – *R. japonicum*, *R. leguminosarum*, *R. lupini*, *R. meliloti*, *R. phaseoli* e *R. trifolii* (Fred et al., 1932) – e introduziram o conceito de “inoculação cruzada”, isto é, a relação

entre a bactéria microssimbionte e a planta hospedeira. Assim, por exemplo, *R. japonicum* representaria as bactérias que se localizam nos nódulos da soja (*Glycine max*), *R. phaseoli* as que se localizam nos nódulos do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), e assim por diante.

Na década de 1980 e início da década de 1990, o emprego de técnicas de biologia molecular resultou numa verdadeira revolução na taxonomia das bactérias. Nessa época, alguns estudos passaram a ser conduzidos com os genes RNA ribossomais (RNAr). Os resultados coerentes obtidos pela análise dos genes 16S RNAr resultaram na escolha preferencial dessa molécula para estimar relações filogenéticas entre as bactérias e a sua posição taxonômica (Woese, 1987; Woese et al., 1990; Weisburg et al., 1991; Garrity; Holt, 2001). Nas análises que se seguiram considerando o gene 16S RNAr, foram observadas alterações profundas na taxonomia e na filogenia dos rizóbios. Inicialmente, os rizóbios foram classificados numa única família, a Rhizobiaceae. Posteriormente, os rizóbios foram subdivididos em vários gêneros na ordem Rhizobiales: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Neorhizobium*, *Pararhizobium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium* (= *Ensifer*), todos da classe alfa(α)-proteobactéria (Garrity; Holt, 2001; Willems, 2006; Peix et al., 2015), hoje com mais de 300 espécies descritas. Várias espécies de rizóbios vêm sendo descritas, isoladas de solos, de reatores, de resíduos e de rizosfera de não leguminosas, as quais, aparentemente, não estabelecem simbiose com leguminosas. Finalmente, foi sugerido que espécies de *Agrobacterium*, como as que causam tumores nas raízes das plantas, fossem reclassificadas como *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogene* e *R. rubi* (Young et al., 2001); sabe-se, porém, essa nomenclatura não foi adotada por toda a comunidade científica (Farrand et al., 2003).

A seguir, outras α-proteobactérias pertencentes a gêneros nunca descritos anteriormente foram isoladas de nódulos de leguminosas, incluindo estirpes dos gêneros *Methylobacterium*, *Devosia*, *Ochrobactrum* e *Phyllobacterium* (Willems, 2006; Menna et al., 2009; Ribeiro et al., 2009). Quanto às bactérias pertencentes à espécie *Blastobacter denitrificans*, foi sugerida a sua reclassificação como *Bradyrhizobium denitrificans*. Finalmente, aventou-se a possibilidade de que membros da classe beta(β)-proteobactéria também poderiam formar nódulos e fixar N₂ com leguminosas; essas bactérias passariam a ser conhecidas como “β-rizóbios”. Entre essas bactérias, estão estirpes dos gêneros *Burkholderia* e *Cupriavidus* (neste último caso, previamente classificados nos gêneros *Ralstonia* e *Wautersia*) (Moulin et al., 2001; Willems, 2006). Além de bactérias simbióticas, o gênero *Burkholderia* também abriga outras espécies de bactérias fixadoras de N₂ de vida livre.

Desse modo, em mais de 50 anos de estudos, foram descritas apenas seis espécies de rizóbios (Jordan, 1984). Contudo, principalmente a partir de 2000, com os avanços das técnicas de biologia molecular, dezenas de novas espécies passaram a ser descritas, e há previsão de que muitas deverão ser propostas nos próximos anos. A Tabela 3 apresenta uma lista (que é constantemente alterada) de espécies descritas. A comparação das sequências de genes de fixação do N₂, como o gene *nifH*, que codifica parte do complexo da nitrogenase (o componente da redutase da nitrogenase), indica que, embora esses microrganismos estejam hoje em grupos taxonômicos

muito distintos, a evolução provavelmente ocorreu a partir de um único ancestral fixador de N_2 . Acredita-se que as bactérias diazotróficas adquiriram os genes fixadores de N_2 por transferência horizontal de genes, a partir de um ancestral (Wang; Martinez-Romero, 2000).

Tabela 3. Principais espécies de bactérias simbióticas fixadoras de N_2 e principais plantas hospedeiras⁽¹⁾.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>α</i>-proteobacteria			
<i>Allorhizobium undicola</i>	<i>Neptunia natans</i>	Neptúnia	-
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	Sesbânia	<i>Sesbania</i> sp.
<i>A. doebereineriae</i>	<i>Sesbania virgata</i>	Sesbânia	-
<i>A. oxalatifilum</i>	Resíduos de plantas	-	-
<i>Bradyrhizobium arachidis</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	-
<i>B. canariense</i>	Leguminosas das tribos Genisteeae e Loteae	Leguminosas genistoides	-
<i>B. centrolobii</i>	<i>Centrolobium paraense</i>	-	-
<i>B. cytisi</i>	<i>Cytisus villosus</i>	-	-
<i>B. daqingense</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. denitrificans</i> (= <i>Blastobacter denitrificans</i>)	<i>Aeschynomene indica</i>	Aesquenomene	-
<i>B. diazoefficiens</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. elkanii</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. embrapense</i>	<i>Desmodium heterocarum</i>	Desmódio	-
<i>B. erythrophlei</i>	<i>Erythrophleum fordii</i>	-	-
<i>B. ganzhouense</i>	<i>Acacia melanxylon</i>	-	-
<i>B. guangdongense</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	-
<i>B. huanghuaihaiense</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	<i>Vigna unguiculata</i>
<i>B. icense</i>	<i>Vigna</i>	Caupi	-
<i>B. ingae</i>	<i>Inga laurina</i>	Ingá	-
<i>B. iriomotense</i>	<i>Entada koshunensis</i>	-	-
<i>B. japonicum</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. jicamae</i>	<i>Pachyrhizus erosus</i>	Jacatupé	-
<i>B. kavagense</i>	Leguminosas da Namíbia	-	-
<i>B. lablabi</i>	<i>Lablab purpureus</i>	Lablab	<i>Arachis hypogaea</i>
<i>B. liaoningense</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. lupini</i>	<i>Lupinus</i>	-	-
<i>B. macuxiense</i>	<i>Centrolobium paraense</i>	-	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>B. manausense</i>	<i>Vigna</i>	Caupi	-
<i>B. mercantei</i>	<i>Deguelia costata</i>	-	-
<i>B. neotropiale</i>	<i>Centrolobium paraense</i>	Lupin	-
<i>B. oligotrophicum</i>	<i>Aechynomene indica</i>	-	-
<i>B. ottawaense</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	-
<i>B. pachyrhizi</i>	<i>Pachyrhizus erosus</i>	Jacatupé	-
<i>B. paxillaeri</i>	<i>Phaseolus lunatus</i>	-	-
<i>B. reatamae</i>	<i>Retama spp.</i>	-	-
<i>B. rifense</i>	<i>Cystus villosus</i>	Retama	-
<i>B. stylosanthis</i>	<i>Stylosanthis guianensis</i>	Estisolantes	-
<i>B. subterraneum</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	-
<i>B. tropiciagri</i>	<i>Neonotonia wightii</i>	-	-
<i>B. valentinum</i>	<i>Lupinus</i>	Lupin	-
<i>B. viridifuturi</i>	<i>Centrosema pubescens</i>	Centrosema	-
<i>B. vignae</i>	<i>Vigna</i>	Caupi	<i>Arachis</i>
<i>B. yuanmingense</i>	<i>Lespedeza cuneata</i>	Lespedeza	<i>Vigna unguiculata</i> , <i>Glycyrrhiza uralensis</i>
<i>Bradyrhizobium</i> sp. ⁽²⁾	<i>Vigna unguiculata</i>	Caupi	<i>Ornithopus</i> sp. (serradela), <i>Cicer</i> sp. (grão-de-bico), <i>Macroptilium</i> sp. (siratiro), <i>Arachis hypogaea</i> (amendoim) <i>Leucaena</i> sp. (leucena), <i>Lablab</i> sp. (lablab)
<i>Bradyrhizobium</i> sp. (<i>Parasponia</i>) ⁽³⁾	<i>Parasponia</i>	Paraspônia	-
<i>Bradyrhizobium</i> sp. BTAi1	<i>Aeschynomene indica</i>	Aesquenomene	<i>Aeschynomene</i> spp.
<i>Mesorhizobium abyssinicae</i>	<i>Acaciaa byssinica</i> / <i>A. tortili</i>	-	-
<i>M. acaciae</i>	<i>Acacia melanoxylon</i>	-	-
<i>M. albiziae</i>	<i>Albizia kalkora</i>	-	-
<i>M. alhagi</i>	<i>Alhagi sparsifolia</i>	-	-
<i>M. amorphae</i>	<i>Amorpha fruticosa</i>	Indigoeira bastarda	-
<i>M. australicum</i>	<i>Biserrula pelecinus</i>	-	-
<i>M. calcicola</i>	<i>Sophora</i>	-	-
<i>M. camelthorni</i>	<i>Alhagi sparsifolia</i>	-	-
<i>M. cantuariense</i>	<i>Sophora spp.</i>	-	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>M. caraganae</i>	<i>Caragana microphylla</i>	-	-
<i>M. chacoense</i>	<i>Prosopis alba</i>	Algarobo-branco	-
<i>M. ciceri</i>	<i>Cicer arietinum</i>	Grão-de-bico	-
<i>M. delmotii</i> sv. <i>anthyllidis</i>	<i>Anthyllis vulneraria</i>	-	-
<i>M. erdmanii</i>	<i>Sophora</i>	-	-
<i>M. gobiense</i>	<i>Oxytropis glabra</i>	Leguminosas nativas da China	-
<i>M. hawassense</i>	<i>Astragalus</i>	Astrágalo	-
<i>M. huakuii</i>	<i>Astragalus sinicus</i>	Astrágalo chinês	-
<i>M. jarvisii</i>	<i>Lotus corniculatus</i>	Cornichão	-
<i>M. kowhaii</i>	<i>Sophora</i> spp.	-	-
<i>M. loti</i>	<i>Lotus corniculatus</i>	Cornichão	<i>Lupinus</i> sp. (tremoço), <i>Ornithopus</i> sp. (serradela), <i>Anthyllis</i> sp. (vulnerária)
<i>M. mediterraneum</i>	<i>Cicer arietinum</i>	Grão-de-bico	-
<i>M. metallidurans</i>	<i>Anthyllis vulneraria</i>	-	-
<i>M. muleiense</i>	<i>Cicerarietinum</i>	Grão-de-bico	-
<i>M. newzealandense</i>	<i>Sophora</i> spp.	-	-
<i>M. opportunistum</i>	<i>Biserrula pelegi</i>	-	-
<i>M. plurifarium</i>	<i>Prosopis juliflora</i>	Algaroba/Algarobo	<i>Acacia senegal</i> , <i>A. tortilis</i> , <i>A. nilotica</i> (acácias), <i>Leucaena leucocephala</i> (leucena), <i>Neptunia oleracea</i> (neptúnia)
<i>M. prunedense</i> sv. <i>anthyllidis</i>	<i>Anthyllis vulneraria</i>	-	-
<i>M. qingshengi</i>	<i>Astragalus sinicus</i>	Astrágalo	-
<i>M. robiniae</i>	<i>Robinia pseudoacacia</i>	-	-
<i>M. sangaii</i>	<i>Astragalus luteolus</i>	Astrágalo	-
<i>M. septentrionale</i>	<i>Astragalus adsurgens</i>	Astrágalo	-
<i>M. shangrilense</i>	<i>Caragana bicolor</i>	-	-
<i>M. silamurunense</i>	<i>Astragalus membranaceus</i>	Astrágalo	-
<i>M. shonense</i>	<i>Acacia abyssinica</i>	Leguminosas florestais	-
<i>M. sophorae</i>	<i>Sophora</i> spp.	-	-
<i>M. tamadayense</i>	<i>Anagyris latifolia</i>	-	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>M. tarimense</i>	<i>Lotus frondosus</i>	-	-
<i>M. temperatum</i>	<i>Astragalus adsurgens</i>	Astrágalo	-
<i>M. thiogangeticum</i>	<i>Clitoria ternatea</i>	Clitória	Isolado da rizosfera
<i>M. tianshanense</i>	<i>Glycyrrhiza pallidiflora</i>	Glicirrizza	<i>Sophoa</i> spp., <i>Swainsonia</i> spp., <i>Halimodendron</i> spp., <i>Caragana</i> spp., <i>Glycine max</i>
<i>M. waimense</i>	<i>Sophora</i> spp.	-	-
<i>M. waitakense</i>	<i>Sophora</i> spp.	-	-
<i>Rhizobium acidisoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. aethiopicum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. alamii</i>	-	-	Rizosfera de leguminosas e não leguminosas, <i>Arabidopsis thaliana</i>
<i>R. alkalisoli</i>	<i>Caragana intermedia</i>	Caragana	-
<i>R. altiplani</i>	<i>Mimosa pudica</i>	Mimosa	-
<i>R. azibense</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. calliandrae</i>	<i>Calliandra grandiflora</i>	-	-
<i>R. cauense</i>	Herbáceas	-	-
<i>R. cellulosityticum</i>	<i>Populus alba</i>	-	Liteira de <i>Populus alba</i>
<i>R. daejeonense</i>	<i>Medicago sativa</i>	Alfafa	(Isolado de biorreator)
<i>R. ecuadorensis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. etli</i> bv. <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	Diversas leguminosas (Hernandez-Lucas et al., 1995)
<i>R. etli</i> bv. <i>mimosae</i>	<i>Mimosa affinis</i>	Mimosa	-
<i>R. fabae</i>	<i>Vicia faba</i>	Fava	-
<i>R. freirei</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. galegae</i> bv. <i>officinalis</i>	<i>Galega officinalis</i>	Arruda-de-bode	-
<i>R. galegae</i> bv. <i>orientalis</i>	<i>Galega orientalis</i>	Arruda-de-bode	-
<i>R. gallicum</i> bv. <i>gallicum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. gallicum</i> bv. <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. giardinii</i> bv. <i>giardinii</i> (= <i>Pararhizobium giardinii</i>)	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. giardinii</i> bv. <i>phaseoli</i> (= <i>Pararhizobium giardinii</i>)	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>R. grahamii</i>	<i>Dalea leporina</i>	-	<i>Leucaena leucocephala</i> e <i>Clitoria ternatea</i>
<i>R. hainanense</i>	<i>Desmodium sinuatum</i>	Desmódio	-
<i>R. hangladeshense</i>	<i>Lens</i> sp.	Lentilha	-
<i>R. halophytocola</i>	-	Vegetação de dunas	<i>Vigna unguiculata</i> e <i>Pisum sativum</i>
<i>R. hedsyari</i>	<i>Hedysarum multijugum</i>	-	-
<i>R. helanshanense</i>	<i>Sphaerophysa salsula</i>	-	-
<i>R. herbae</i> (= <i>Pararhizobium herbae</i>)	-	Espécies de leguminosas da China	-
<i>R. huautlense</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	Sesbânia	-
<i>R. indigoferae</i>	<i>Indigofera</i> spp.	Anileira, indigófera	-
<i>R. jaguaris</i>	<i>Calliandra grandiflora</i>	-	-
<i>R. laguerreae</i>	<i>Vicia faba</i>	-	-
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	<i>Trifolium repens</i>	Trevo, trifólio	<i>Trifolium pratense</i> , <i>Trifolium</i> spp.
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	<i>Vicia sativa</i>	Ervilhaca-vulgar	<i>Pisum sativum</i> (ervilha), <i>Lathyrus</i> sp., <i>Lensculinaris</i> (lentilhas)
<i>R. leucaenae</i>	<i>Leucaena</i> sp.	-	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>R. loessense</i>	<i>Astragalus</i> sp., <i>Lespedeza</i> sp.	Astrágalo, lespedeza	-
<i>R. lupini</i>	<i>Lupinus</i>	Tremoço	<i>Ornithopus</i> spp.
<i>R. lusitanum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. mayense</i>	<i>Calliandra grandiflora</i>	-	-
<i>R. mesoamericanum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	<i>Macroptilium</i> <i>atropurpureum</i> , <i>Leucaena</i> spp., <i>Mimosa pudica</i>
<i>R. mesosinicum</i>	<i>Albizia</i> spp.	-	<i>Kummerowia</i> spp. e <i>Dalbergia</i> spp.
<i>R. miluonense</i>	<i>Lespedeza</i> spp.	-	-
<i>R. mongolense</i>	<i>Medicago ruthenica</i>	Luzema, lucerne	-
<i>R. multihospitium</i>	-	-	Leguminosas diversas nativas da China
<i>R. oryzae</i> ⁽³⁾	<i>Oryza alta</i>	-	Feijão, soja

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>R. paknamense</i> ⁽³⁾	<i>Lemna aequinoctialis</i>	-	-
<i>R. paranaense</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. pasquitanensis</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	-
<i>R. phaseoli</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	-
<i>R. pongamiae</i>	<i>Pongamia pinnata</i>	-	-
<i>R. pisi</i>	<i>Pisum sativum</i> , <i>Vicia villosa</i>	Ervilha, ervilhaca	-
<i>R. puerariae</i>	<i>Pueraria candollei</i>	-	-
<i>R. qilianshanense</i> ⁽³⁾	<i>Oxytropis ochrocephala</i>	-	-
<i>R. sphaerophysae</i> (= <i>Pararhizobium sphaerophysae</i>)	<i>Sphaerophysa salsula</i>	-	-
<i>R. sullae</i> (antigo <i>hedysari</i>)	<i>Hedysarum coronarium</i>	Sula	-
<i>R. taibaishanense</i> ⁽³⁾	<i>Kummerowia striata</i>	-	-
<i>R. tibeticum</i>	<i>Trigonella archiducis-nicolai</i>	-	-
<i>R. tropici</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	<i>Leucaena</i> spp., <i>Gliricidia</i> spp. e diversas leguminosas
<i>R. tubonense</i>	<i>Oxytropis glabra</i>	-	-
<i>R. undicola</i> (antigo <i>Allorhizobium undicola</i>)	<i>Neptunia natans</i>	Neptúnia	-
<i>R. vallis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	<i>Mimosa pudica</i> , <i>Indigofera spicata</i>
<i>R. vignae</i>	<i>Vigna</i>	Cowpea	
<i>R. yanglingense</i>	<i>Amphicarpaea trisperma</i> , <i>Coronilla varia</i> , <i>Gueldenstaedtia multiflora</i>	Leguminosas selvagens do norte da China	<i>Galega orientalis</i> , <i>Leucaena leucocephala</i>
<i>Sinorhizobium</i> (syn. <i>Ensifer) abri</i>	<i>Abrus precatorius</i>	-	-
<i>S. abri</i>	<i>Abrus precatorius</i>	-	-
<i>S. americanus</i>	<i>Acacia</i> spp.	Acácia	<i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>S. arboris</i>	<i>Acacia senegal</i>	Goma arábica	<i>Prosopis chilensis</i> (algaroba-chilena)
<i>S. fredii</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	<i>Glycine soja</i> , <i>Vigna unguiculata</i> , <i>Cajanus cajan</i>
<i>S. fredii</i> bv. <i>mediterranense</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	Biovars de <i>S. fredii</i> e <i>S. meliloti</i>

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>S. garamanticus</i>	<i>Lotus arabicus</i>	-	-
<i>S. indiaense</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	Sesbânia	-
<i>S. kostiense</i>	<i>Acacia senegal</i>	Goma arábica	<i>Prosopis chilensis</i> (algaroba-chilena)
<i>S. indiaense</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	Sesbânia	-
<i>S. kummerowiae</i>	<i>Kummerowia stipulacea</i>	Trevo coreano, lespedeza coreana	-
<i>S. medicae</i>	<i>Medicago truncatula</i>	Luzerna anual	-
<i>S. meliloti</i>	<i>Medicago sativa</i>	Alfafa, luzerna perene	-
<i>S. meliloti</i> bv. <i>mediterranense</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijão	Biovares de <i>S. fredii</i> e <i>S. meliloti</i>
<i>S. meliloti</i> bv. <i>medicaginis</i>	<i>Medicago laciniata</i>	-	-
<i>S. meliloti</i> bv. <i>meliloti</i>	<i>Medicago sativa</i>	Alfafa, luzerna perene	-
<i>S. mexicanus</i>	<i>Acacia angustissima</i>	-	-
<i>S. morelense</i>	<i>Leucaena leucocephala</i>	Leucena	-
<i>S. psoroleae</i>	<i>Psoralea corylifolia</i>	-	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>S. saheli</i>	<i>Sesbania</i> spp.	Sesbânia	<i>Acacia seyal</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Neptunia oleracea</i>
<i>S. sesbaniae</i>	<i>Sesbania cannabina</i>	Sesbânia	<i>Phaseolus vulgaris</i>
<i>S. terangae</i> bv. <i>acaciae</i>	<i>Acacia laeta</i>	Acácia	<i>Acacia</i> spp., <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Neptunia oleracea</i>
<i>S. terangae</i> bv. <i>sesbaniae</i>	<i>Sesbania rostrata</i>	Sesbânia	<i>Sesbania</i> spp., <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Neptunia oleracea</i>
<i>S. xinjiangensis</i>	<i>Glycine max</i>	Soja	<i>Glycine soja</i> , <i>Vigna unguiculata</i> , <i>Cajanus cajan</i>
<i>Sinorhizobium</i> NGR234 (<i>S. fredii</i>)	-	-	Mais de 30 gêneros de leguminosas tropicais e temperadas e <i>Parasponia</i> spp.
<i>Microvirgalupini</i>	<i>Lupinus texensis</i>	-	-
<i>M. lotononidis</i>	<i>Listia angolensis</i>	-	-
<i>M. zambiensis</i>	<i>Listia agolensis</i>	-	-
<i>M. vignae</i>	<i>Vigna</i> sp.	Caupi	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>Phyllobacterium brassicacearum</i>	<i>Brassica napus</i>	-	-
<i>P. bourgognense</i>	<i>Astragalus algerianus</i>	Astrágalo	-
<i>P. endophyticum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijoeiro	
<i>P. ifriqiense</i>	<i>Lathyrus numidicus</i>	-	-
<i>P. leguminum</i>	<i>Argyrolobium uniflorum</i>	-	-
<i>P. loti</i>	<i>Lotus corniculatus</i>	Cornichão	-
<i>Othergenera/species</i>			
<i>Aminobacter anthyllidis</i>	<i>Anthyllis tightly</i>	-	-
<i>Devosia neptunia</i>	<i>Neptunia natans</i>	Devósia	-
<i>Methylobacterium nodulans</i>	<i>Crotalaria</i> spp.	Crotalária	<i>C. glaucoides</i> , <i>C. Perrottetii</i> , <i>C. podocarpa</i>
<i>Ochrobactrum lupini</i>	<i>Lupinus albus</i>	Tremoço	-
<i>Phyllobacterium trifolii</i>	<i>Trifolium</i> spp. <i>Lupinus</i> spp.	Trevo, tremoço	-
<i>Shinella kummerowiae</i>	<i>Kummerowia stipulacea</i>	-	-
β-proteobacteria			
<i>Cupriavidus necator</i>	<i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Mimosa pudica</i> e <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	-	-
<i>C. taiwanensis</i>	<i>Mimosa pudica</i> , <i>Mimosa diplotricha</i>	Mimosa	<i>Mimosa</i> spp.
<i>Paraburkholderia aspalathi</i>	<i>Aspalathus abietina</i>	-	-
<i>P. caballeronis</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Feijoeiro	
<i>P. caribensis</i>	<i>Mimosa diplotricha</i> , <i>Mimosa pudica</i>	Mimosa	-
<i>P. diazotrophica</i>	<i>Mimosa</i> spp.	Mimosa	-
<i>P. dilworthii</i>	<i>Lebeckia ambigua</i> , <i>Lebeckia sepiaria</i>	-	-
<i>P. mimosarum</i>	<i>Mimosa</i> spp.	Mimosa	-
<i>P. nodosa</i>	<i>Mimosa bimucronata</i> , <i>Mimosa scabrella</i>	Mimosa	-
<i>P. phenoliruptrix</i>	<i>Mimosa</i> spp.	Mimosa	-

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Espécie	Hospedeiro representativo		Outros hospedeiros
	Nome científico	Nome popular	
<i>P. phymatum</i>	<i>Mimosa</i> spp., <i>Anadenanthera peregri- na</i>	Mimosa, angico	-
<i>P. piptadeniae</i>	<i>Piptadenia gonoacantha</i>	Piptadênia	-
<i>P. rhynchosiae</i>	<i>Rhynchosia ferulifolia</i>	-	-
<i>P. ribeironis</i>	<i>Piptadenia gonoacantha</i>	-	-
<i>P. sabiae</i>	<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> , <i>Mimosa</i> spp.	-	-
<i>P. sprentiae</i>	<i>Lebeckia ambigua</i>	-	-
<i>P. symbiotica</i>	<i>Mimosa</i> spp.	-	-
<i>P. tuberum</i>	<i>Aspalathus carnosa</i> , <i>Mimosa</i> spp.	Mimosa	<i>Cyclopia</i> spp. e diversas outras leguminosas
<i>P. symbiotica</i>	<i>Mimosa</i> spp.	-	-
<i>P. tuberum</i>	<i>Aspalathus carnosa</i> , <i>Mimosa</i> spp.	Mimosa	<i>Cyclopia</i> spp. e diversas outras leguminosas

⁽¹⁾ Várias espécies de rizóbios não formam nódulos efetivos ou não nodulam leguminosas; por isso, não foram incluídas. ⁽²⁾ A convenção taxonômica é de que seja designado o nome do gênero seguido por "sp." e, entre parênteses, o nome do hospedeiro. ⁽³⁾ Em discussão a transferência para o gênero *Allorhizobium*.

Adubos verdes como fonte de nitrogênio para culturas agrícolas

Os benefícios da utilização de leguminosas na adubação verde são amplamente relatados na literatura científica. Porém, poucos estudos têm se dedicado a quantificar a contribuição efetiva da FBN para essas leguminosas em condições de campo e a avaliar a dinâmica do N no sistema solo-planta. Contudo, são bem conhecidos os benefícios resultantes da decomposição de resíduos de diversas espécies vegetais utilizadas como adubo verde (na sua maioria, espécies da família das leguminosas com capacidade de FBN).

O N do solo oriundo da utilização de adubos verdes é disponibilizado de diversas formas, como o pré-cultivo, em que a cultura principal/subsequente se beneficia da mineralização do N proveniente do adubo verde, e o consórcio, que possibilita a disponibilidade imediata de N para a cultura principal (Calegari, 2000). No Brasil, trabalhos de pesquisa desenvolvidos sob diferentes condições edafoclimáticas têm demonstrado o potencial do uso de leguminosas como adubo verde, principalmente em avaliações do efeito do seu cultivo sobre a produção de culturas sucessoras, como milho (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum*) e sorgo (*Sorghum bicolor*).

Dificuldades em especificar a fonte originária do N no sistema solo-planta e a sua exata quantificação levaram, muitas vezes, à subestimação do potencial dos adubos verdes como condicionadores de nutrientes para as culturas. Contudo, conforme mencionado por Ambrosano et al. (1997), as pesquisas envolvendo a técnica que utiliza o isótopo estável ^{15}N permitem obter informações precisas da dinâmica do N no sistema solo-planta, o que possibilita determinar, no solo e na cultura plantada em sequência, a porcentagem e a quantidade desse nutriente, que deriva do adubo verde.

Perin et al. (2004), avaliando o efeito dos cultivos isolados e consorciados dos adubos verdes de verão [crotalária (*Crotalaria juncea*) e milheto (*Pennisetum americanum*)], verificaram que a contribuição da FBN foi de 61% na leguminosa quando consorciada e de 57% quando isolada, incorporando ao solo 89 kg ha^{-1} e 173 kg ha^{-1} de N via FBN, respectivamente. Cabe destacar que, nesse estudo, as sementes de crotalária foram inoculadas com estirpe selecionada de rizóbio Semia 6145 = BR 2001. A contribuição da FBN da crotalária foi estimada pela técnica de abundância natural de ^{15}N .

Em outro estudo sobre a dinâmica do N no sistema solo-planta, Silva et al. (2008), também utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N , avaliaram a utilização pelo milho do N mineralizado das partes aéreas e dos sistemas radiculares da crotalária e do milheto em casa de vegetação e da palha de milho em campo e em casa de vegetação. Os autores verificaram que a quantidade de N no milho proveniente da crotalária ($111,80 \text{ mg vaso}^{-1}$ de N) foi superior à do milheto ($30,98 \text{ mg vaso}^{-1}$ de N), que, por sua vez, foi superior à da palha de milho ($11,80 \text{ mg vaso}^{-1}$ de N).

Na região Sul do Brasil, a dinâmica de decomposição e liberação de N de resíduos culturais provenientes de diferentes plantas de cobertura de solo, solteiras e consorciadas, foi avaliada em campo, em estudos conduzidos por Aita e Giacomini (2003). Utilizando bolsas teladas de nylon com resíduos culturais, esses autores observaram evidências de que, para aveia-preta (*Avena strigosa* Schieb) consorciada com ervilhaca (*Vicia sativa* L.), não se reduziu a taxa de liberação do N do compartimento mais facilmente mineralizável em relação à taxa da ervilhaca solteira. No entanto, os autores verificaram que os resíduos culturais do consórcio entre aveia-preta e ervilhaca apresentaram maior persistência no solo do que aqueles da ervilhaca solteira e liberaram maior quantidade de N do que a aveia e o nabo-forrageiro (*Raphanus sativus* L. var. *oleiferus* Metzg) solteiros.

Estudos conduzidos em diversas regiões do Brasil demonstraram o potencial de diferentes plantas de cobertura de solo, solteiras ou consorciadas, no fornecimento de N para culturas agrícolas em sucessão, como o milho (Aita et al., 2001; Aita; Giacomini, 2003; Giacomini et al., 2004; Sodré Filho et al., 2004; Silva et al., 2006, 2008; Carvalho et al., 2008). Para mais detalhes, ver Capítulo 6.

Em outros países, estudos da contribuição da FBN pelos adubos verdes também mostram esse potencial (Choi; Daimon, 2008). Essa estratégia (cultivo antecedente de leguminosas de grãos com simbiose efetiva na capacidade fixadora de N_2) para substituir o N fertilizante é bastante divulgada. Revisões sobre os efeitos benéficos do adubo verde e a contribuição da FBN no incremento de

produtividade são fundamentadas em dados verificados em diferentes situações agroecológicas de campo (Bhatia et al., 2001; Giller, 2001; Hardarson, 2003). Para ilustrar, na Tabela 4, são sumarizados alguns exemplos com estimativa do N₂ fixado e a contribuição equivalente ao fertilizante nitrogenado da leguminosa para a cultura em sucessão, na rotação de vários experimentos de campo, em diferentes localidades e épocas. A faixa de variação do balanço de N em diversas leguminosas e condições edafoclimáticas é grande, sendo relatados valores de -74 kg ha⁻¹ de N a +500 kg ha⁻¹ de N (Craswell, 1992; Alves et al., 2003; Peoples; Ormeño-Orrillo et al., 2013).

Além do efeito da FBN nas gramíneas de verão, a produção de grãos por leguminosas também é alterada conforme a rotação de culturas. No Brasil, outro efeito ainda pouco estudado é o das plantas de cobertura na FBN em culturas perenes. Estudos com culturas intercalares ao cafeeiro, visando à cobertura do solo e à adubação verde, mostraram o aumento da população de rizóbio capaz de formar nódulos no feijoeiro conforme a espécie de adubo verde adotada (Colozzi-Filho et al., 2001). Nesse estudo, verificou-se que a leucena (*Leucaena* spp.) foi o adubo

Tabela 4. Estimativa do nitrogênio (N₂) fixado pela leguminosa de grão e efeito residual sobre a produção da cultura sucessora (medido em fertilizante nitrogenado equivalente)⁽¹⁾.

Cultura antecedente (leguminosa de grão)	Estimativa do N fixado (kg ha ⁻¹)	Cultura sucessora	Equivalente em N fertilizante (kg ha ⁻¹)	Referência
<i>Arachis hypogaea</i>	21–206	Milheto	0–97	Bandyopadhyay e De (1986)
<i>Vigna mungo</i>	119–140	Sorgo	68	Baseado em Wani et al. (1995)
<i>Cicer arietinum</i>	23–97	Milho	60–70	Baseado em Wani et al. (1995)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	3–57	Milheto	40	Baseado em Wani et al. (1995)
<i>Vigna unguiculata</i>	9–125	Milheto	60	Bhatia et al. (2001)
<i>Vigna radiata</i>	50–66	Sorgo; trigo; milho	68; 68; 30	Bhatia et al. (2001)
<i>Arachis hypogaea</i>	27–206	Milheto; trigo; milho	60; 28; 9–60	Baseado em Wani et al. (1995)
<i>Lens culinaris</i>	35–100	Milheto; milho	40; 18–30	Bhatia et al. (2001)
<i>Pisum sativum</i>	46	Milheto; milho	40; 20–32	Bhatia et al. (2001)
<i>Cajanus cajan</i>	4–200	Trigo; milho	40; 20–67	Bandyopadhyay e De (1986)
<i>Glycine max</i>	49–450	Milho	7	Bhatia et al. (2001)
<i>Crotalaria juncea</i>	ND ⁽²⁾	Milho	56 e 73	Silva et al. (2006)
<i>Sesbania rostrata</i> + <i>Vigna unguiculata</i>	17–84	Arroz	ND ⁽²⁾	McDonagh et al. (1995).

⁽¹⁾Dados compilados de experimentos em diferentes locais. ⁽²⁾ND = não determinado.

verde de verão que mais incrementou os rizóbios no solo. Esse efeito também foi verificado na eficiência das estirpes isoladas (Scherer et al., 2002) e na diversidade fenotípica e genotípica.

Os adubos verdes de inverno deixam uma palhada (resíduo) que tem efeito benéfico sobre a produtividade da cultura de verão, mesmo no caso de uma leguminosa, conforme demonstrado na Figura 2. Embora tenha sido observada uma certa variação na resposta, conforme a espécie de planta utilizada como adubo verde, os resultados foram economia de gastos com fertilizantes nitrogenados e, principalmente, otimização dos efeitos da inoculação com estirpes selecionadas de rizóbio, em comparação com o tratamento sob pousio.

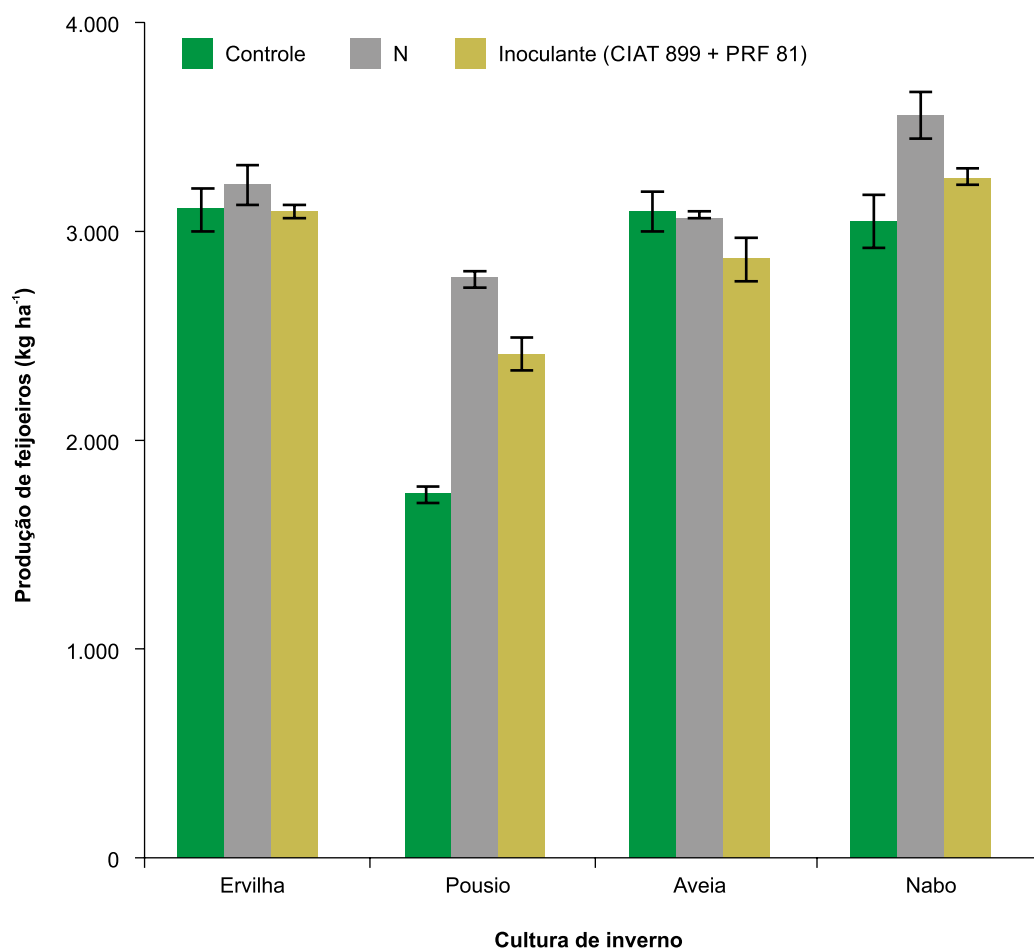


Figura 2. Efeitos do manejo de culturas de inverno [ervilha (*Pisum sativum* L.), pousio (predominância de gramíneas nativas), aveia (*Avena sativa*) e nabo-forrageiro (*Raphanus sativus*)] e da inoculação de rizóbios na produção de grãos (kg ha⁻¹) do feijoeiro (cultivar IPR 88). O inoculante turfoso contém mistura (1:1) das estirpes de *Rhizobium tropici* tipo B (Ciat 899 + PRF 81).

Manejo em plantio direto na safra 2000/2001, em Ponta Grossa, PR.

Além da obtenção de incrementos na produtividade, o feijoeiro apresentou maior nodulação no tratamento com ervilha em cobertura no inverno. A presença de glucosinolatos nas brássicas tem sido atribuída como a causa do efeito biocida nessas plantas. Quando a cultura é incorporada ao solo, a quebra da glucosinamina produz outros compostos, que agem contra doenças. Assim, devem-se tomar precauções e obrigatoriamente inocular a leguminosa após o cultivo de nabo-forrageiro. Resultados obtidos em experimentos de sucessão de culturas no centro-sul do Paraná mostraram redução na população nativa de rizóbio quando se criam nódulos no feijoeiro após o cultivo do nabo-forrageiro. No caso do feijoeiro (que é capaz de formar nódulos com população naturalizada de rizóbio, que, muitas vezes, é competitiva e ineficiente), tal estratégia pode ser uma boa alternativa para introduzir estirpes de rizóbios selecionadas.

Os efeitos benéficos da inclusão da leguminosa no sistema de cultivo sobre a fertilidade do solo ocorrem, entre outros fatores, do incremento de N (Giller, 2001). Ojiem et al. (2007), relatando resultados de um estudo conduzido na África com o uso de adubos verdes, destacaram a crotalária-ocroleuca (*Crotalaria ochroleuca*) como espécie com alto potencial na FBN. Ainda na África, em experimentos de campo, foi observado que a fonte de P (fosfato de rocha ou superfosfato simples) e a dose utilizada alteraram a contribuição da FBN em soja e caupi (*Vigna unguiculata*) quando em rotação com milho (Jemo et al., 2006). Diversas revisões sobre a contribuição da FBN nos agrossistemas têm sido publicadas, entre as quais, vale destacar: Peoples e Craswell (1992), Bhatia et al. (2001), Hardarson e Atkins (2003) e Herridge et al. (2008).

Uma metanálise dos efeitos dos adubos verdes (arbóreos e herbáceos) sobre a produtividade do milho (como cultura sucessora/rotacional) foi apresentada por Sileshi et al. (2008). Nesse estudo, foram utilizados dados de 94 publicações, que abrangiam uma ampla faixa de condições agroecológicas, incluindo as regiões do Trópico Úmido, Savana, Semiúmido e zonas do Semiárido do Oeste, Centro, Leste e Sudeste da África. Os resultados das análises desses dados mostraram resposta positiva para leguminosas dos gêneros incluídos nos estudos, tais como *Aeschynomene*, *Canavalia*, *Calopogonium*, *Centrosema*, *Chamaecrista*, *Clitoria*, *Crotalaria*, *Desmodium*, *Glycine*, *Lablab*, *Macroptilium*, *Mucuna* e *Stylosanthes*, bem como espécies de *Cajanus*, *Sesbania* e *Tephrosia*.

Outra forma eficiente de aporte de N e outros nutrientes ao sistema produtivo pode ser dar com o uso de diversas espécies de *Azolla*, pteridófito aquática simbiote da cianobactéria *Anabaena azollae*. Essa simbiose resulta em adubo verde de grande potencial para campos inundados (Alves, 1985; Ruschel, 1987, 1990; Adalberto et al., 2004). Nesse ambiente, essas espécies são utilizadas em pré-cultivo ou consorciadas, geralmente na orizicultura irrigada por inundação contínua, na China, no Vietnã e nas Filipinas. No Brasil, o seu potencial como biofertilizante ainda é pouco explorado. As espécies de *Azolla* apresentam, em geral, altas taxas de fixação de N_2 , com estimativas entre $1,0 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de N e $2,5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ de N (Nierzwicki-Bauer, 1990), e rápida propagação e crescimento (a sua biomassa duplica em 3 a 6 dias) (Siqueira; Franco, 1988). Alguns fatores, contudo, podem limitar a simbiose *Azolla-Anabaena*, como excesso de luminosidade, altas temperaturas e altos níveis de salinidade da água, o que demanda manejo controlado.

O alto requerimento de P destaca-se entre os fatores nutricionais que mais limitam essa simbiose (Kondo; Kobayashi, 1989; Singh; Singh, 1989; Adalberto et al., 2004).

Deve-se salientar, contudo, que as contribuições das espécies de adubo verde como fonte de N e de outros nutrientes para as culturas sucessoras podem ser bastante significativas, uma vez que tanto a parte aérea quanto as raízes das plantas são, em geral, mantidas no sistema de modo distinto do que ocorre com as leguminosas cultivadas para a produção de grãos, como a soja, em que a maior parte dos nutrientes acumulados é retirada do sistema por ocasião da colheita dos grãos. Além disso, é importante destacar que a presença das espécies de adubos verdes nos sistemas produtivos pode incrementar as interações tróficas estimuladas na biota (Colozzi-Filho et al., 2009).

Estirpes de rizóbio autorizadas para uso em inoculantes comerciais no Brasil

Identificar estirpes mais eficientes no processo de FBN, com as leguminosas de maior importância econômica ou ambiental, sempre fez parte dos objetivos da pesquisa brasileira. Nesse contexto, em 1985, foi realizada a primeira reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de *Rhizobium* (Relare), que agrega membros de instituições de pesquisa do País, das indústrias de inoculantes e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Nessa primeira reunião, foi discutido e estabelecido o mecanismo de recomendação de estirpes de rizóbios, que na época ficou a cargo da Relare, ficando também decidido que caberia à Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul (Fepagro), *Coleção Semia*, a atribuição de preservar e distribuir as estirpes autorizadas para a produção de inoculantes comerciais. O reconhecimento da importância de outros microrganismos para a agricultura induziu a substituição do nome Relare pela Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (Hungria; Campo, 2007), que, atualmente, mantém sua antiga condição de fórum importante, mas na condição estrita de órgão consultivo do Mapa.

Com base nos protocolos elaborados pela Relare, o Mapa publicou a Instrução Normativa nº 13, de março de 2011, que estabelece as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura e as relações dos microrganismos autorizados e recomendados para a produção de inoculantes no Brasil. Também publicou a Normativa nº 30, de dezembro de 2010, com as metodologias para avaliar os inoculantes e as tecnologias de inoculação. Na Tabela 5 estão relacionadas as estirpes atualmente autorizadas pelo Mapa para a produção de inoculantes para leguminosas utilizadas como adubo verde (Brasil, 2011).

Nas Figuras 3 a 8, são mostradas espécies de adubos verdes, raízes com nódulos e exemplos de manejo de espécies utilizadas como adubo verde de grande potencial para o País.

Tabela 5. Espécies de leguminosas utilizadas como adubos verdes e estirpes de rizóbios autorizadas para a produção de inoculantes comerciais para essas leguminosas, no Brasil.

Espécie de leguminosa	Nome comum	Estirpe Semia	Classificação taxonômica	Nº de acesso no NCBI ⁽¹⁾	Outras designações das estirpes	Instituição que recomenda	Nível de recomendação ⁽²⁾
<i>Calopogonium</i> sp.	Calopogônio	6152	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	AY904756	BR 1602	Embrapa Agrobiologia	IV
<i>Cajanus cajan</i>	Guandu	6156	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904758	CPAC F2	Epamig ⁽³⁾ /Embrapa Cerrados	IV
		6157	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904759	BR 2801	Embrapa Agrobiologia	II
<i>Canavalia ensiformis</i>	Feijão-de-porco	6156	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	III
		6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	III
<i>Crotalaria juncea</i>	Crotalária-júnca	6145	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904751	BR 2001	Embrapa Agrobiologia	II
		6156	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	IV
<i>Crotalaria spectabilis</i>	Crotalária-espectábilis	6156	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904758	CPAC F2	Embrapa Cerrados	III
		6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	III
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	Feijão-guar, guar	6145	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904751	BR 2001	Instituto Agronômico	II
		6319	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	AY904774	NC 92	Instituto Agronômico	II
<i>Lupinus</i> sp.	Tremoço	928	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	FJ390904	W 72	Fepagro ⁽⁴⁾	III
		938	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904739	Semia 938	Fepagro	III
<i>Mucuna aterrima</i> (Piper & Tracy) Holland	Mucuna-preta	6158	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904760	CPAC C2	Embrapa Cerrados	IV
<i>Pueraria phaseoloides</i>	Kudzu-tropical	6175	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	AY904771	CPAC Q1	Embrapa Cerrados	IV

⁽¹⁾ Sequência do gene 16S RNAr, depositada no site do National Center for Biotechnology Information (NCBI). ⁽²⁾ Nível de recomendação: II: vasos com substrato estéril sob condições controladas; III: vasos com solo não esterilizado; IV: ensaios de campo. ⁽³⁾ Epamig: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. ⁽⁴⁾ Fepagro: Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Sul.



Figura 3. Crotalaria-júncea (*Crotalaria juncea*): cultivo em campo (A) e detalhe da raiz com nódulos de rizóbio selecionado (B).



Figura 4. Feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) cultivado em campo (A) e detalhe da raiz com nódulos de rizóbio selecionado (B).

Como inocular rizóbio nas sementes

O processo de tratamento das sementes com inoculantes deve ser sempre feito à sombra e preferencialmente pela manhã. As sementes inoculadas precisam ser protegidas do sol e do calor excessivo.

No caso do inoculante turfoso, sua aderência às sementes depende das propriedades físicas e químicas de cada turfa. Para garantir um melhor aproveitamento do inoculante, recomenda-se usar uma substância adesiva, que pode ser goma-arábica a 20%, ou outros produtos recomendados pelos fabricantes. Contudo, graças à facilidade de preparo, a solução açucarada a 10% tem sido a mais utilizada.

O procedimento de inoculação com produto à base de turfa é composto das seguintes etapas:



Figura 5. Guandu (*Cajanus* sp.) cultivado em campo, em vasos de Leonard, comparado com plantas inoculadas com rizóbio (A); tratamento controle – sem inoculação (B); e detalhe da raiz de guandu com nódulos de rizóbio inoculado (C).

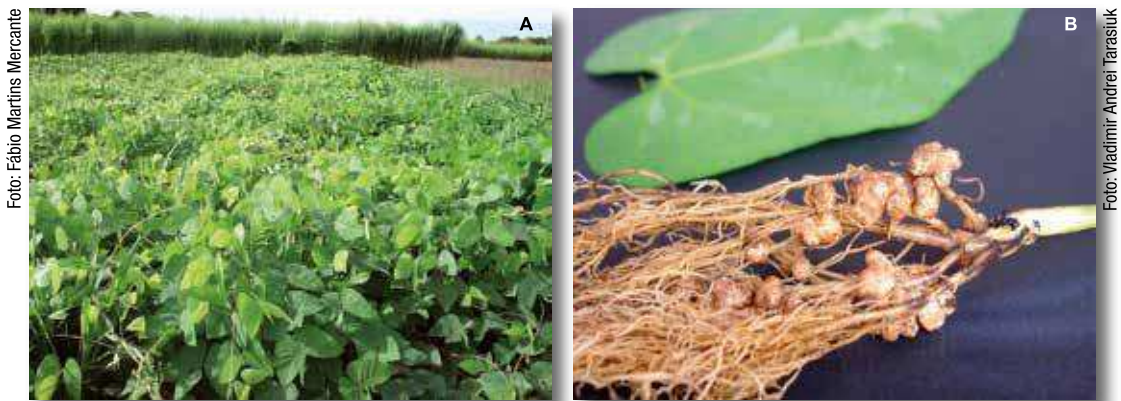


Figura 6. Mucuna-preta (*Mucuna aterrima*) cultivada em campo (A) e detalhe da raiz com nódulos de rizóbio inoculado (B).



Figura 7. Cultivos em campo de crotalaria-júncea (*Crotalaria juncea*) e guandu (*Cajanus* sp.) (A) e crotalaria-júncea, mucuna-preta (*Mucuna aterrima*) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) (B).



Figura 8. Raízes de mucuna -preta (*Mucuna aterrima*) com nódulos, previamente inoculada com rizóbio e cultivada sob condições de campo (A) e mucuna-preta cultivada em vasos de Leonard, sem e com inoculação (CPAC B-10, CPAC C-2 e CPAC-F2) (B).

- Dissolver 100 g de açúcar em 1 L de água. O açúcar pode ser substituído por outras substâncias adesivas recomendadas pelos fabricantes.
- Adicionar a solução açucarada às sementes, na proporção aproximada de 300 mL de solução para 50 kg de sementes. Misturar, para obter uma distribuição uniforme do caldo com as sementes (pode-se utilizar um tambor rotatório para grandes quantidades de sementes, ou sacos plásticos para pequenas quantidades).
- Adicionar o inoculante turfoso às sementes, conforme recomendação do fabricante; misturar e homogeneizar.

- Espalhar as sementes inoculadas sobre uma superfície seca, à sombra, e deixar secar por cerca de 1 hora.
- Imediatamente após esses procedimentos, efetuar a semeadura.

A inoculação com produto líquido dispensa o uso de substância adesiva. Nesse caso, o inoculante deve ser aplicado às sementes, de forma homogênea, deixando, em seguida, que as sementes inoculadas sequem à sombra.

Considerações finais

Entre os problemas relacionados ao uso dos fertilizantes nitrogenados industriais quando aplicados ao solo, destaca-se a baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, a qual raramente ultrapassa 50%. A principal perda ocorre por volatilização, especialmente nas condições tropicais. Outra causa de perda é a lixiviação (lavagem do perfil do solo por percolação ou escoamento superficial da água de chuva ou irrigação), que pode resultar no acúmulo de formas nitrogenadas, particularmente nitrato (NO_3^-), nas águas de rios, lagos e aquíferos subterrâneos, e, assim, atingir níveis tóxicos aos peixes e ao homem. Diversas doenças, como o câncer, e problemas respiratórios têm sido associados ao consumo de águas contaminadas com nitrato, o que vem representando um problema preocupante em alguns países da Europa e nos Estados Unidos. Outro processo que também acarreta perda do N aplicado ao solo é a desnitrificação, ou seja, a transformação do nitrato proveniente do fertilizante em formas gasosas, como N_2O (óxido nitroso) e NO (óxido nítrico), que contribuem para a degradação da camada de ozônio e agravam o famoso efeito estufa relacionado às mudanças climáticas globais.

Ao substituir adubos nitrogenados em cultivos agrícolas, a FBN influencia positivamente a qualidade do solo por evitar os problemas relacionados à poluição causada pelos adubos. Além disso, o processo industrial que transforma o N atmosférico em NH_3 (amônia) demanda alta energia e implica a liberação de grande quantidade de gás carbônico liberado para a atmosfera no momento da produção do adubo nitrogenado.

Por todas essas razões, a FBN constitui um dos seis pilares do Plano de Agricultura de Baixa Emissão de Carbono (ABC), lançado pelo Mapa, instituído para incentivar o uso de técnicas sustentáveis na agricultura que visem à redução da emissão dos gases de efeito estufa. Nesse contexto, vislumbra-se um aumento significativo na demanda por inoculantes contendo rizóbio, para leguminosas utilizadas como adubos verdes, a fim de otimizar o aproveitamento e os benefícios da matéria orgânica do solo, incrementar os rendimentos agrícolas e melhorar a qualidade ambiental.

Referências

- ADALBERTO, P. R.; MASSABNI, A. C.; GOULART, A. J.; MONTI, R.; LACAVA, P. M. Efeito do fósforo na captação de minerais e pigmentação de *Azolla caroliniana* Willd. (Azollaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 581-585, jul./set. 2004.
- AITA, C.; BASSO, C. J.; CERETTA, C. A.; GONÇALVES, C. N.; DAROS, C. O. Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 1, p. 157-165, jan./mar. 2001.
- AITA, C.; GIACOMINI, S. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 4, p. 601-612, jul./ago. 2003.
- ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The leguminosae: a source book of characteristics, uses, and nodulation**. Wisconsin: University of Wisconsin Press, 1981. 812 p.
- ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 1-9, May 2003.
- ALVES, M. F. **Azolla: Anabena azollae**. Belém, PA: Fcap/Serviço de Documentação e Informação, 1985. 53 p.
- AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T. Técnica para marcação dos adubos verdes crotalária júncea e mucuna-preta com ¹⁵N para estudos da dinâmica do nitrogênio. **Bragantia**, v. 56, n. 1, p. 219-224, 1997. DOI: 10.1590/S0006-87051997000100023.
- BANDYOPADHYAY, S. K.; DE, R. Nitrogen relationships and residual effects of intercropping sorghum with legumes. **Journal of Agricultural Science**, v. 107, n. 3, p. 629-632, Dec. 1986. DOI: 10.1017/S0021859600069793.
- BHATIA, C. R.; NICTERLEIN, K.; MALUSZYNSKI, M. Mutations affecting nodulation in grain legumes and their potential in sustainable cropping systems. **Euphytica**, v. 120, n. 3, p. 415-432, Aug. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 13, de 24 de março de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 25 mar. 2011. Seção 1. Disponível em: <http://www.puntofocal.gov.br/notific_otros_miembros/bra347a1_t.pdf>. Acesso em: 15 out. 2012.
- CALEGARI, A. Coberturas verdes em sistemas intensivos de produção. In: WORKSHOP NITROGÊNIO NA SUSTENTABILIDADE DE SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA, 2000, Dourados. **Anais...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000. p. 141-153. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 26; Embrapa Agrobiologia. Documentos, 128).
- CHOI, B.; DAIMON, H. Effect of hairy vetch incorporated as green manure on growth and N uptake of sorghum crop. **Plant Production Science**, v. 11, n. 2, p. 211-216, 2008. DOI: 10.1626/pp.s.11.211.
- COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; BALOTA, E. L.; COSTA, S. M. G. Changes in population and activity of soil microbial groups in function of legume cover crops cultivation between rows of coffee plants. In: WORLD CONGRESS ON CONSERVATION AGRICULTURE, 1., 2001, Madrid. **Conservation agriculture on worldwide challenge**. Madrid: Ecaf: FAO, 2001. v. 2, p. 509-513.
- COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; BALOTA, E. L.; CALEGARI, A. Adubação verde com leguminosas: o potencial ainda pouco explorado da FBN. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p. 25-27, jan./abr. 2009.
- FARIA, S. M.; LEWIS, G. P.; SPRENT, J. I.; SUTHERLAND, J. M. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. **New Phytologist**, v. 111, n. 4, p. 607-619, 1989. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1989.tb02354.x.
- FARRAND, S. K.; BERKUM, P. van; OGER, P. *Agrobacterium* is a definable genus of the family Rhizobiaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1681-1687, 2003. DOI: 10.1099/ijs.0.02445-0.
- FRED, E. B.; BALDWIN, I. L.; MCCOY, E. **Root nodule bacteria of leguminous plants**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1932. 343 p.
- GARRITY, G. M.; HOLT, J. G. The road map to the *Manual*. In: GARRITY, G. M.; BOONE, D. R.; CASTENHOLZ, R. W. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology: the Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria**. 2nd ed. New York: Williams & Wilkins: Springer-Verlag, 2001. v. 1, p. 119-154.

- GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; CHIPINOTTO, I. C.; HÜBNER, A. P.; MARQUES, M. G.; CADORE, F. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. II- Nitrogênio acumulado pelo milho e produtividade de grãos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 4, p. 751-762, jul./ago. 2004.
- GILLER, K. E. **Nitrogen fixation in tropical cropping systems**. Wallingford: Cabi, 2001. 448 p.
- GRAHAM, P. H.; VANCE, C. P. Legumes: importance and constraints to greater utilization. **Plant Physiology**, v. 131, n. 3, p. 872-877, Mar. 2003. DOI: 10.1104/pp.017004.
- HARDARSON, G.; ATKINS, C. Optimising biological N₂ fixation by legumes in farming systems. **Plant and Soil**, v. 252, n. 1, p. 41-54, May 2003.
- HERENDEEN, P. S.; CREPET, W. L.; DILCHER, D. L. The fossil record. In: HERENDEEN, P. S.; DILCHER, D. L. (Ed.). **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. v. 3, p. 303-316.
- HERNANDEZ-LUCAS, I.; SEGOVIA, L.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; PUEPPKE, S. G. Phylogenetic relationships and host range of *Rhizobium* spp. that nodulates *Phaseolus vulgaris* L. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 2775-2779, July 1995.
- HERRIDGE, D. F.; PEOPLES, M. B.; BODDEY, R. M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and Soil**, v. 311, n. 1/2, p. 1-18, Oct. 2008.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. A fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Recife. **Solos, sustentabilidade e qualidade ambiental**. Recife: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. 1 CD-ROM.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. Economical and environmental benefits of inoculation and biological nitrogen fixation with soybean: situation in South America. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 3., 2004, Foz do Iguassu. **Proceedings**. ... Londrina: Embrapa Soybean, 2004. p. 488-498.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. Inoculantes microbianos: situação no Brasil. In: IZAGUIRRE-MAYORAL, M. L.; LABANDERA, C.; SANJUAN, J. (Ed.). **Biofertilizantes en Iberoamérica: visión técnica, científica y empresarial**. Montevideo: Cytel: Biofag, 2007. p. 22-31.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2001. 48 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 35; Embrapa Cerrados. Circular técnica, 13).
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do N₂ na cultura do feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos dos cerrados**. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1997. p. 189-294.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1994. p. 9-89.
- JEMO, M.; ABAIDOO, R. C.; NOLTE, C. M.; TCHIENKOUA, M.; SANGINGA, N.; HORST, W. J. Phosphorus benefits from grain-legume crops to subsequent maize grown on acid soils of Southern Cameroon. **Plant and Soil**, v. 284, n. 1/2, p. 385-397, June 2006.
- JORDAN, D. C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. p. 235-244.
- KONDO, M.; KOBAYASHI, E. Effect of phosphorus in *Azolla* and its utilization in rice culture in Niger. **Plant and Soil**, v. 120, n. 2, p. 165-170, Dec. 1989.
- MCDONAGH, J. F.; TOOMSAN, B.; LIMPINUNTANA, V.; GILLER, K. E. Grain legumes and green manures as pre-rice crops in Northeast Thailand. I. Legume nitrogen fixation, production and residual nitrogen benefits to rice. **Plant and Soil**, v. 177, n. 1, p. 127-136, Nov. 1995.
- MENNA, P.; BARCELLOS, F. G.; HUNGRIA, M. Phylogeny and taxonomy of a diverse collection of *Bradyrhizobium* strains based on multilocus sequence analysis of the 16S rRNA, ITS region and *glnII*, *recA*, *atpD* and *dnaK* genes. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 12, p. 2934-2950, Dec. 2009.