



Inoculantes em Sementes de Leguminosas: relações com o tratamento químico

Inoculants in Legume Seeds: relationships with chemical treatment

Delineide Pereira Gomes; Adiano Reinaldo Silva Costa; Érica Garcia França; Deisy Neves da Silva; Cinara da Conceição S. Santana

¹Instituto Federal do Maranhão, IFMA, Campus São Luis - Maracanã, Av. dos Curiós, s/n – Vila Esperança, São Luís - MA, 65095-460, São Luis, MA, franca.eric@acad.ifma.edu.br; delineide.gomes@ifma.edu.br; deisyneves7@gmail.com; franca.eric@acad.ifma.edu.br; adianos@acad.ifma.edu.br; cinara.santana@acad.ifma.edu.br

Resumo

A inoculação de sementes com microrganismos é uma alternativa proposta para a fixação biológica do nitrogênio, e sabe-se que os processos biotecnológicos têm demonstrado ser muito efetivos nesta técnica, mas ainda não têm a confiança absoluta do mercado. Neste contexto, pesquisas devem ser realizadas para verificar a influência das bactérias fixadoras de nitrogênio e a sua interação com outros produtos que são aplicados normalmente nas sementes, tais como inseticidas, fungicidas, e outros, na germinação de sementes, emergência e no desenvolvimento inicial das plântulas que, por conseguinte, poderá favorecer o bom crescimento de leguminosas em campo.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., Rizóbio, Fungicidas

Abstract

Seed inoculation with microorganisms is a proposed alternative for biological nitrogen fixation, and it is known that biotechnological processes have proven to be very effective in this technique, but they still do not have the absolute confidence of the market. In this context, research must be carried out to verify the influence of nitrogen-fixing bacteria and their interaction with other products that are normally applied to seeds, such as insecticides, fungicides, and others, on seed germination, emergence and initial development of seeds. seedlings which, therefore, can favor the good growth of legumes in the field..

Keywords: *Vigna unguiculata* (L.) Walp., Rhizobia, Fungicides

Introdução

A prática da inoculação de sementes de leguminosas com bactérias fixadoras de nitrogênio vem sendo feita há muitos anos, e tem contribuído significativamente para o aumento na produtividade de grãos, apresentando boa lucratividade na agricultura e ajudando na preservação ambiental (SCHUH, 2005). A inoculação das sementes é uma alternativa que



permite baixar os custos da adubação, diminuindo a necessidade do uso de fertilizantes nitrogenados e os danos ao ambiente (ARIAS, 2016).

Apesar dos resultados promissores devido à utilização dos inoculantes agrícolas, diversos fatores influenciam a eficiência da tecnologia, e formulações inadequadas são frequentemente as barreiras mais comuns para a comercialização dos mesmos (MILANI et al., 2013). Para que esses produtos sejam formulados, é necessário investigar a integração de parâmetros físicos, químicos e biológicos, os quais possam manter elevado o número de rizóbios, e assim permitir maior tempo de sobrevivência do organismo em prateleira (STEPHENS e RASK, 2000; MILANI et al., 2013).

Sobre as recomendações de tratamento de sementes com fungicidas existem restrições quando se pretende utilizar inoculantes contendo rizóbios (MONTEIRO et al., 1990). O tratamento das sementes coloca o fungicida em contato direto com o inoculante, fato que pode ser prejudicial à sobrevivência do inóculo, com redução na nodulação, e à fixação biológica do nitrogênio (FBN), pelos possíveis efeitos nocivos do produto (BARBOSA e GONZAGA, 2012). Sementes inoculadas não devem ser pré ou pós-tratadas com defensivos agrícolas que tendem a reduzir a viabilidade dos rizóbios inoculados (CASSINI e FRANCO, 2006). No caso de necessidade de utilização de fungicidas, recomenda-se verificar a sua compatibilidade com o rizóbio (CARDILLO et al., 2015).

Pesquisas ainda pouco esclarecem sobre o tipo de interferência que o tratamento fungicida poderia exercer sobre a sobrevivência do rizóbio inoculado e conseqüentemente na eficiência da FBN, o que constitui sério obstáculo à adoção desta tecnologia pelos agricultores (CARDILLO, 2015; SANTOS et al., 2018). Diversos trabalhos têm demonstrado o efeito de fungicidas de sementes na eficiência agrônômica de rizóbios em condições de campo ou em casa de vegetação, porém poucos falam sobre o efeito da combinação dos fungicidas com estes inoculantes na sobrevivência do rizóbio in vitro.

Desenvolvimento

A fixação biológica de nitrogênio

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo que comumente ocorre pela ação de simbiose de uma leguminosa e microrganismos procarióticos, que possui enzima nitrogenase, comumente conhecidas como diazotróficos (MOREIRA et al., 2010). A ação simbiótica leva a formação de nódulos nas raízes das leguminosas, podendo assim, tendo a possibilidade de fixação do nitrogênio atmosférico, sendo que o nitrogênio fixado é integrado pela leguminosa, e em troca a planta disponibiliza carboidratos para as bactérias, assim gera uma relação de mutualismo (MOREIRA et al., 2013).

O nitrogênio (N) compõe os principais elementos estruturais das biomoléculas, participando no processo de crescimento metabólico das plantas. As plantas absorvem podem absorver em forma mineral (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+), em leguminosas a absorção é feita por nitrogênio



atmosférico (N_2) podendo ser agregado por meio de FBN (RIBEIRO et al., 2013; HUNGRIA e KASCHUK, 2014).

As bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico ou rizóbios, pertencem principalmente aos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*. Sendo os dois primeiros, os mais estudados e com larga eficiência na fixação de nitrogênio, geralmente para a família das leguminosas (ZAHNAN, 1999; MERCANTE et al., 2002). Sabe-se que a FBN se dá pela associação destes rizóbios com as raízes de plantas, com a formação de nódulos radiculares, mas que também podem servir nos caules, no caso do gênero *Azorhizobium* (UDVARD e DAY, 1997; MERCANTE et al., 2002).

Para Figueiredo et al. (2008) os solos tropicais como os brasileiros, são deficientes em nitrogênio, e o processo de FBN representa assim uma alternativa ao uso de fertilizantes nitrogenados, tendo como vantagem de não poluir ambientalmente e ser economicamente viável. A redução de fertilizantes nitrogenados pelo uso de rizóbios em sementes se racionaliza com os princípios agroecológicos, pois estimula a produção de alimentos nutritivos e seguros com a preservação dos seres vivos e do meio ambiente (ARIAS, 2016).

Sabe-se que o caupi que apresenta capacidade de nodular e estabelecer simbiose com diversas espécies de bactérias nativas do grupo rizóbio. Mesmo com essa característica, o uso de inoculantes é um fator limitante nos sistemas agrícolas, pois a cultura tem baixa especificidade de nodulação e a grande quantidade de diferentes espécies nativas de bactérias fixadoras de N_2 , que por sua vez, fazem em baixo grau de eficiência (MOREIRA, 2008; XAVIER et al., 2006).

Devido à tolerância para a adaptação em ambientes não favoráveis é que a cultura caupi interage bem com determinados rizóbios, facilitando os processos de FBN (MARTINS et al., 2003; ZILLI et al., 2006; VIEIRA et al., 2010). A cultura estabelece boa relação com *Bradyrhizobium japonicum* e na literatura existem algumas pesquisas de inoculação deste rizóbio combinado ao uso de agroquímicos, dentre eles inseticidas, fungicidas, micronutrientes, etc (ZILLI et al., 2006; DENARDIN, 2010; SILVA NETO et al., 2013; SANTOS et al., 2018).

Tipos de inoculantes e o uso de polímeros como veículo para inoculantes

Brasil (2011) estabelece que inoculante é um produto que contém microorganismos com atividades favoráveis ao crescimento das plantas, sendo que aqueles produzidos no Brasil, importados ou comercializados, deverão apresentar concentração mínima de 1.0×10^9 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para produtos que contenham bactérias fixadoras de nitrogênio para simbiose com leguminosas. Além disso, devem estar livres de microorganismos não especificados em fator de diluição 1.0×10^{-5} , e serem elaborados em ambientes que forneçam condições de sobrevivência desses.

A turfa é um dos materiais mais usados como veículo de inoculação, contudo, a sua composição química nem sempre se qualifica como um veículo aceitável, pois, por consequência da sua origem pode não apresentar as características necessárias para a sobrevivência das bactérias. É oriunda de solos aluviais orgânicos e ácidos moídos, peneirados e corrigidos, planejando elevar



o pH para aproximação da neutralidade. Já inoculantes líquidos são constituídos de um substrato aquoso estéril onde se veiculam as bactérias. O pó molhável consiste em substrato sólido, contendo bactérias liofilizadas que precisam de hidratação quando aplicadas nas sementes (SCHUH, 2005).

Estudos de diversas substâncias como: argila, carvão, lignita, perlita, fosforo de rocha, talco, poliacrilamida, gomas naturais, alginatos, entre outras, estão em andamento como possíveis suporte para inoculantes, destacando-se as formulações a princípio de polímeros naturais ou sintéticos, que podem oferecer características desejadas ao produto final, bem como garantir a viabilidade do rizóbio (SCHUH, 2005).

Os inoculantes devem ser aplicados de maneira a recobrir homoganeamente as sementes. Os inoculantes líquidos podem ser aplicados, tanto sobre as sementes como diretamente no sulco de semeadura. Esse tipo de formulação proporciona uma distribuição mais uniforme e apresenta capacidade de aderência mais efetiva (DENARDIN, 2010). Os diferentes tipos de inoculantes que existem no mercado, buscam uma alternativa técnica viável em substituição à turfa, pois procuram reduzir os custos de produção e facilitar a aplicação do produto na semente no momento da semeadura, bem como manter a sobrevivência e a eficiência do rizóbio em condições de campo (SCHUH, 2005). No entanto, as condições de armazenamento nas diferentes temperaturas, técnicas de inoculação, os tratamentos químicos das sementes, o tempo de exposição aos inoculantes são diferentes em cada cultura e podem afetar significativamente a sobrevivência do rizóbio (SCHUH, 2005).

Santos (2010), por exemplo, constatou que houve sobrevivência da estirpe *Bradyrhizobium* sp. (BR3267) em biopolímeros (exopolissacarídeo e goma xantana) como veículos de inoculação alternativos à turfa na cultura do feijão-caupi. Seus resultados indicaram que esses veículos incubados em diferentes períodos favoreceram a uma maior densidade populacional, na faixa de 1.12×10^7 a 0.25×10^6 bactérias viáveis, e a menor densidade populacional, na faixa de 0.39×10^7 a 0.09×10^6 bactérias viáveis, quando comparado a turfa.

A sobrevivência de rizóbios em formulações veiculadas por biopolímeros, tais como a goma xantana, pode ser atribuída à propriedade de “encapsular” células bacterianas, protegendo-as de estresses ambientais, e portando, mantendo a sua viabilidade (DENARDIN e FREIRE, 2000; SANTOS, 2011). Esse efeito protetor se relaciona à sua capacidade de diminuir as transferências de calor, boas propriedades reológicas e alta atividade de água (SCHUH, 2005; FERNANDES JÚNIOR, 2006; SILVA, et al., 2009; SANTOS, 2011).

Pesquisas com o carboximetilcelulose (CMC) demonstram que esse polímero é bastante promissor quanto a sua utilização em formulações poliméricas, como no caso das misturas de CMC e amido, visando a utilização como veículo ou suporte para inoculantes (RHOR, 2007; FERNANDES JÚNIOR et al., 2009).

Tratamento de sementes com fungicidas



O tratamento de sementes é de fundamental importância para a agricultura moderna, pois possibilita a proteção desde a germinação até a fase inicial de desenvolvimento (FERNANDES, 2010). Seu principal objetivo é proteger as sementes ou adicionar os mais variados componentes físicos, químicos e biológicos relacionados ao metabolismo, nutrição e sanidade da plantas futura (ZAMBOLIM, 2004; FERNANDES, 2010).

Em áreas extensas de plantio, sementes têm recebido varias tecnologias ao mesmo tempo quanto ao tratamento de sementes, tais como aplicação de rizóbios, inseticidas, fungicidas, micronutrientes e outros.

Mas, apesar dos benefícios advindos do tratamento químico das sementes, esta técnica pode comprometer o estabelecimento da simbiose planta- rizóbio. Por exemplo, o tratamento fungicida de sementes de soja pode reduzir o numero de células de bactérias fixadoras de nitrogênio (ANNAPURNA, 2005) e o numero de nódulos (ANNAPURNA, 2005; BIKROL et al., 2005; CAMPO et al., 2003), bem como a matéria seca dos nódulos nas plantas (ANNAPURNA, 2005).

Sobre as recomendações de tratamento químico de sementes de leguminosas há uma séria restrição quando se pretende utilizar inoculantes contendo estirpes de *Rhizobium* (MONTEIRO et al., 1990) O tratamento químico das sementes coloca essas moléculas sintéticas em contato direto com a bactéria, fato que pode ser prejudicial à sua sobrevivência do rizóbio (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

De acordo com Cassini e Franco (2006), as sementes inoculadas não devem ser pré ou pós-tratadas com defensivos agrícolas que tendam a reduzir a viabilidade dos rizóbios inoculados. No caso de necessidade de utilização de fungicidas, recomendam verificar a sua compatibilidade com o rizóbio e aplicá-lo uma semana após a emergência.

Kintschev et al. (2014) demonstraram que a concentração de rizóbio introduzido pela inoculação é frequentemente prejudicada por diversos fungicidas utilizados na implantação e manejo da cultura. E os princípios ativos fluazinam + tiofanato metílico foram os mais prejudiciais à sobrevivência das bactérias.

Pereira et al. (2009; 2010) também encontraram que o tratamento com alguns fungicidas reduziram a nodulação e o número de vagens da soja. Assim, é preferível utilizar produtos com menor toxidez e manter o inoculante em contato com o fungicida durante menor tempo possível (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

Santos et al. (2018) em estudo de compatibilidade de inseticidas e dos fungicidas tiametoxan e tiofanato metílico com fluazinam com rizóbios verificaram que estes fungicidas foram compatíveis no tratamento de sementes de caupi, pois não inibiram o crescimento da estirpe INPA 03-11B.



Assim, o tratamento químico de sementes pelo contato direto com o inoculante, pode prejudicar à continuidade e sobrevivência do inóculo, com redução na nodulação, e à fixação biológica do nitrogênio (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

A diversidade de produtos químicos no tratamento de sementes vem aumentando e novas moléculas mais eficientes são lançadas no mercado. Estudos visando à interferência destes produtos na simbiose planta/bactéria são fundamentais para o desenvolvimento de boas formulações, levando em consideração a sua compatibilidade com as bactérias fixadoras de nitrogênio. Deste modo, novas tecnologias de inoculação e a escolha do agroquímico são fatores que podem diminuir os possíveis danos para as plantas e para fixação simbiótica de nitrogênio (CARDILLO, 2015).

Referências

ARIAS, L.V.A. *Inoculação de Azotobacter spp. em sementes de feijão (Phaseolus vulgaris): qualidade fisiológica das sementes e produção de grãos*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, SP, 2016.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. *Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, (Documentos, 272), 2012. 247 p.

BELLO, L. *FBN mais do que dobra a produtividade de feijão-caupi no Maranhão*. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/40881572/fbn-mais-do-que-dobra-a-produtividade-de-feijao-caupi-no-maranhao> >. Acesso: 10. Mar.2020.

BOUDINA, A; EMMELIN, C.; BAALIOUAMER, A.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F.; CHOVELON, J. M. Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution. *Chemosphere*, v. 50, p. 649-655, 2003.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA Nº 13, DE 24 DE MARÇO DE 2011. *Brasília, Diário oficial da União*. 6 ISSN 1677-7042 -Nº 58, sexta-feira, 25 de março de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12 de 28 mar. 2008. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 31 mar. 2008. Seção 1, p. 11-14.

CARDILLO, B. E. da S. *Compatibilidade de fungicida via semente e fixação simbiótica em feijoeiro-comum*. 2015. 122 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

CASSINI, S.T.A.; FRANCO, M.C. *Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos*. In: VIEIRA, C.; PAULA JR., T.J.; BORÉM, A. (eds.) *Feijão*. 2. ed. Atual. – Viçosa: Ed. UFV, 2006. p. 143- 170.

Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do 2º Congresso Online Internacional de Sementes Crioulas e Agrobiodiversidade – Dourados/MS - v. 17, no 2, 2022.



CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. *Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos – Safra 2019/2020*, v.7 - Quarto levantamento, jan. 2020, Brasília, p. 1-104. 2020.

DENARDIN, N.D.; FREIRE, J.R.J. Assessment of polymers for the formulation of legume inoculants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.16, p.215-217, 2000.

DENARDIN, N.D. Fixação biológica de nitrogênio em interação com produtos fitossanitários, químicos e biológicos, por leguminosas. Avanços no tratamento e recobrimento de sementes. *Informativo ABRATES*, v. 20, n. 3, p. 62-69. 2010.

EMBRAPA. *Feijão-caupi, melhoramento genético para o avanço da cultura*. Teresina- PI-2016.

FARIAS, T. P. *Eficiência agrônômica de estirpes de rizóbio em Feijão-caupi cultivado em áreas do Maranhão*. 2014. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

FERNANDES, N. Ferramentas para qualidade de sementes no tratamento de sementes profissional. Avanços no tratamento e recobrimento de sementes. *Informativo. ABRATES*, v. 20, n. 3, p. 56. 2010.

FERNANDES JÚNIOR, P.I. *Composições poliméricas a base de carboximetilcelulose (CMC) e amido como veículos de inoculação de rizóbio em leguminosas*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006.

FRED, E. B.; WAKSMAN, S. A. *Laboratory manual of general microbiology*. 1. ed. New York: McGraw W-Hill Book Company, 1928. v. 1

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. *Feijão-caupi: Avanços tecnológicos*. Ed. Brasília-DF. Embrapa Informática, 2005. 519 p

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; ROCHA, M. de M.; SILVA, K.J.D. ; NOGUEIRA, M.S.R.; RODRIGUES, E.V. *Feijaocaupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios*. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84p.

GUIMARÃES, D.G et al. Desempenho da cultivar de feijão-caupi brsnovaera sob níveis de irrigação e adubação em ambiente protegido. *Cultura Agrônômica*, Ilha Solteira, v.29, n.1, p. 61-75, 2020.

HUNGRIA, M.; KASCHUK, G. Regulation of N₂fixation and NO³⁻/NH⁴⁺assimilation in nodulated and Nfertilized *Phaseolus vulgaris* L. exposed to high temperature stress. *Environmental and Experimental Botany, Oxford*, v.98, p.32-39, 2014.



HUTSON, D. H., JEWESS, T. R. **Carbendazim**. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry, 1999.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Levantamento sistemático da produção agrícola*. Rio de Janeiro, 2013. 83 p.

KINTSCHEV, M. R.; GOULART, A. C. P.; MERCANTE, F.M. Compatibilidade entre a inoculação de rizóbios e fungicidas aplicados em sementes de feijoeiro-comum. *SummaPhytopathologica*, Botucatu, v. 40, n. 4, p. 338-346, 2014.

LACERDA, A. M.; MOREIRA, F. M. S.; ANDRADE, M. J. B.; SOARES, A. L. L. *Efeito de estirpes de rizóbio sobre a nodulação e produtividade do feijão-caupi*. Revista Ceres, v. 51, n. 293, p. 67–82, 2004.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p.333–339, 2003.

MERCANTE, F.M.; GOI, S.R.; FRANCO, N.A.A. Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbio. *Revista Universidade Rural*, Série Ciências da Vida. v.22, n.1, p.6-81.2002.

MILANI, K., SANTOS, O., SILVA, M., LEZIÉR, D., BARREIRA, B., OLIVEIRA, A. Influência do meio de cultivo sobre a população e produção de exopolissacarídeos por *Azospirillum brasilense* Ab-V5. *Biochemistry and Biotechnology Reports*, 2013, v. 2, 212-215.

MONTEIRO, R.T.R. et al. Sobrevivência de *Rhizobium leguminosarum* pv. phaseoli em sementes tratadas com fungicidas. *Revista de Microbiologia*, v.21, p.55-59, 1990.

MONTEIRO, F. P. R.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; REIS, M. R.; SANTOS, G. R.; CHAGAS, L. F. B. Efeitos de herbicidas na biomassa e nodulação do feijão-caupi inoculado com rizóbio. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 25, n. 3, p.44-51, 2012.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam Leguminosae. In: MOREIRA, F. M. S.; Siqueira, J. O.; Brussaard, L. (Ed.). *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros*. Lavras: UFLA, p.621-680, 2008.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactéria diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico que nodulam leguminosas. In: MOREIRA, F. M. S. et al. *O ecossistema solo componente: relações ecológicas e efeitos na produção vegetal*. Lavras – MG. Ed. UFLA, p.343- 347, 2013.

Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do 2º Congresso Online Internacional de Sementes Crioulas e Agrobiodiversidade – Dourados/MS - v. 17, no 2, 2022.



PADULOSI, S. NG, N. Q. Origintaxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SINGH, B. B.; MOHAN R, A. J. D. R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.). *Advances in cowpea research*. Ibadan. International Institute of Tropical Agriculture, Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, p.1-12,1997.

RHOR, T.G. *Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano*. 2007. 124f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química.)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

RIBEIRO, R. A.; ORMENO-ORRILLO, E.; DALL'AGNOL, R. F.; GRAHAM, P. H.; MARTINEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Novel *Rhizobium lineages* isolated from root nodules of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Andean and Mesoamerican áreas. *Research in Microbiology, Paris*, v.64, p.740–748, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2013.05.002>

REIS, V. R. R.; SOUZA, L. R. S.; VIEIRA, G. L. S.; COELHO, K. B. S.; FILHO, A. S. C.; SILVA, M. R. M. Crescimento vegetativo do feijão-caupi com inoculante alternativo. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 13, n. 4, p. 466-471, 2018.

SANTOS, A. A. *Produção de polissacarídeos visando obter insumos biológicos de interesse para a agricultura*. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SANTOS, A.A. *Produção de polissacarídeos visando obter insumos biológicos de interesse para agricultura*. 2011. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

SANTOS, M. M. S.; ROCHA, W. S.; SILVA JUNIOR, F. R. CHAGAS JUNIOR, A. F.; LOPES, R.R. *Compatibilidade de tratamentos de sementes e rizóbio in vitro e em casa de vegetação no feijão-caupi*. *Tecnologia & Ciência agropecuária*, v.12, n.1, p. 15-21, 2018.

SCHUH, C.A. *Biopolímeros como suporte para inoculantes*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil. (81p.). 2005.

SILVA, M. F.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R., RUMJANEK, N. G.; REIS, V. M. *Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana-de-açúcar*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.44, p.1437- 1443,n.11, 2009.

SILVA, H. A. P. da; GALISA, P. de S.; OLIVEIRA, R. S. da S.; VIDAL, M. S.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L. Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijão-caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.47, n.6, p.797-807. 2012.



SILVA NETO, M.L.; SMIDERLE, O. J. S. K.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; XAVIER, G. R.; ZILLI, J. E. Compatibilidade do tratamento de sementes de feijão-caupi com fungicidas e inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2013. v.48, n.1, p.80-87.

SOUSA, P. M. *Otimização do processo de produção de células das estirpes de Bradyrhizobium INPA 3-11B e UFLA3-84, inoculantes do feijão-caupi*. 141p. **Tese (Doutorado)** - Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SOUZA, D. A. DE. *Germinação e desenvolvimento inicial de Vigna unguiculata (L.) Walp. inoculada com bactérias diazotróficas*. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação de Tecnologia em Agroecologia) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, BA, 2017.

STEPHENS, J.H.G. AND RASK, H.M. *Inoculant production and formulation*. *Field Crops Research*, 65: 249–258. 2000.

UDVARD, M.K.; DAY, D.A. *Metabolite transport across symbiotic membranes of legume nodules*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.48, p.493-523. 1997.

VINCENT, J. M. *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. London: International Biological Programme, 1970.

VIEIRA, C. L., FREITAS, A. D., SILVA, A. F., SAMPAIO, E.V.; ARAÚJO, M. DO S.. Inoculação de variedades locais de feijão macassar com estirpes selecionadas de rizóbio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 2010, v.14, n.11, p. 1170-1175.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. DE A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. *Revista Caatinga*, v. 19, n. 1, p. 25-33, 2006.

ZAHARAN, H.H. *Rhizobium-Legumes symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v.63, n.4, p.968-989. 1999.

ZAMBOLIM, L. Importância do tratamento de sementes no manejo integrado de doenças. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004, João Pessoa, PB. *Palestras e Resumos...*, João Pessoa: Tropical Hotel Tambaú, 2004. p.94-94.

ZILLI, J. É. et al. Eficiência simbiótica de estirpes de *Bradyrhizobium* isoladas de solo do Cerrado em caupi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, n. 5, p. 811-818, 2006.



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