

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/257542987>

Contribuições para melhoria da eficiência da fixação biológica de nitrogênio no feijoeiro comum no Brasil

Chapter · July 2013

CITATIONS

0

READS

119

7 authors, including:



Anderson Ferreira

Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA)

82 PUBLICATIONS 512 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Mariangela Hungria

Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA)

570 PUBLICATIONS 10,976 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Iêda De Carvalho Mendes

Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA)

118 PUBLICATIONS 1,871 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Jean Luiz Simoes-Araujo

Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA)

65 PUBLICATIONS 1,063 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Regulation of the Biosynthesis of Nodulation Factors by Rhizobium Tropici CIAT 899: Implications of its Application as Molecular Inoculant in Legumes and Cereals.

[View project](#)



Sink stimulation of photosynthesis by rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi [View project](#)

ISSN 1519-3934

TÓPICOS EM CIÊNCIA DO SOLO
(Topics in Soil Science)

VOLUME VIII - 2013

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO
(Brazilian Soil Science Society)

ISSN 1519-3934

TÓPICOS EM CIÊNCIA DO SOLO

V.8, julho, 2013

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO
VIÇOSA - MG

Copyright © 2000

Não é permitida a reprodução total ou parcial desta publicação sem a permissão expressa da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.

EDITORES

Adelson Paulo Araújo
Bruno José Rodrigues Alves

CAPA

Manuela Vieira Novais

REVISÃO

Shirley Aparecida Gomide Cabral
Maria Aparecida S. Soares

DIAGRAMAÇÃO

José Roberto da Silva Lana (Beto)
(jrsilvalana@gmail.com)

ACABAMENTO E IMPRESSÃO

Suprema Gráfica e Editora Ltda

**Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Catalogação
e Classificação da Biblioteca Central da UFV**

**Tópicos em ciência do solo / publicação da Sociedade
Brasileira de Ciência do Solo. – vol. 1 (2000)- . –
Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo,
2000-
v. : il. ; 22 cm.**

**Bianual
ISSN 1519-3934**

**1. Solos - Periódicos. I. Sociedade Brasileira de Ciência
do Solo.**

CDD 22.ed. 631.4

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo

Tel.: (0xx) 31 3899-2471

E-mail: sbcs@sbcs.org.br

<http://www.sbcs.org.br>

CONTEÚDO

Bases Físicas da Paisagem Brasileira: Estrutura Geológica, Relevo e Solos CARLOS ERNESTO G. R. SCHAEFER	1
Uso de Leguminosas Arbóreas na Recuperação de Áreas Degradadas ALEXANDER SILVA DE RESENDE, GUILHERME MONTANDON CHAER, EDUARDO FRANCIA CARNEIRO CAMPELLO, ALESSANDRO DE PAULA SILVA, KHADIDJA DANTAS ROCHA DE LIMA & GUSTAVO RIBAS CURCIO	71
Emissão de Metano em Cultivo de Arroz Irrigado por Inundação MAGDA APARECIDA DE LIMA, MARIA CONCEIÇÃO PERES YOUNG PÉSSOA & OMAR VIEIRA VILELLA	93
Fracionamento Químico das Formas de Fósforo do Solo: Usos e Limitações LUCIANO COLPO GATIBONI, GUSTAVO BRUNETTO, DANILO DOS SANTOS RHEINHEIMER & JOÃO KAMINSKI	141
Enzimas e seu Papel na Qualidade do Solo ELCIO LIBÓRIO BALOTA, MARCO ANTONIO NOGUEIRA, IÊDA CARVALHO MENDES, MARIANGELA HUNGRIA, DÁFILA SANTOS LIMA FAGOTTI, GABRIEL MAURÍCIO PERUCA MELO, RENATA CAROLINI SOUZA & WANDERLEY JOSÉ DE MELO	189
Contribuições para Melhoria da Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio no Feijoeiro Comum no Brasil ENDERSON PETRÔNIO DE BRITO FERREIRA, FÁBIO MARTINS MERCANTE, MARIANGELA HUNGRIA, IÊDA DE CARVALHO MENDES, JEAN LUIZ SIMÕES DE ARAÚJO, PAULO IVAN FERNANDES JÚNIOR & ADELSON PAULO ARAÚJO	251
Aplicação da Análise Quantitativa do Crescimento Vegetal para Avaliar a Absorção e a Utilização de Nutrientes ADELSON PAULO ARAÚJO & ROBERTO OSCAR PEREYRA ROSSIELLO	293
Abordagem Sistemática do Solo em Sistemas Integrados de Produção Agrícola e Pecuária no Subtropical Brasileiro IBANOR ANGHINONI, PAULO CÉSAR DE FACCI CARVALHO & SÉRGIO ELY VALADÃO GIGANTE DE ANDRADE COSTA	325

CONTRIBUIÇÕES PARA MELHORIA DA EFICIÊNCIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NO FEIJOEIRO COMUM NO BRASIL

Anderson Petrônio de Brito Ferreira⁽¹⁾, Fábio Martins Mercante⁽²⁾, Mariangela Hungria⁽³⁾, Iêda de Carvalho Mendes⁽⁴⁾, Jean Luiz Simões de Araújo⁽⁵⁾, Paulo Ivan Fernandes Júnior⁽⁶⁾ & Adelson Paulo Araújo⁽⁷⁾

Introdução	251
Fatores Limitantes para a Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijoeiro Comum	254
Fertilidade do Solo	254
Estresse Hídrico	256
Elevadas Temperaturas	257
Incompatibilidade da Inoculação com o Tratamento de Sementes	258
População de Rizóbio Nativa do Solo	259
Recentes Avanços da Fixação Biológica de Nitrogênio no Feijoeiro Comum	262
Identificação de Estirpes de Rizóbio Mais Eficientes e Competitivas	262
Coinoculação de Rizóbio e <i>Azospirillum brasilense</i>	267
Uso de Bioinsumos (Aditivos) para Incrementos da Nodulação e do Rendimento de Grãos	268
Compatibilidade com a Adubação Nitrogenada	269
Desenvolvimento e Identificação de Cultivares Eficientes para FBN	271
Enriquecimento de Sementes com Fósforo e Molibdênio	274
Uso de Ferramentas Moleculares nos Estudos da Interação Entre Rizóbio e Feijoeiro	279
Perspectivas de Aumento da Eficiência da Fixação Biológica de Nitrogênio em Feijoeiro Comum	280
Literatura Citada	281

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de feijão em grãos (*dry bean*), que compreende várias espécies de feijão), atrás apenas da Índia e à frente de Myanmar, Estados Unidos, China e México (FAO, 2012). Apesar da elevada produção, em 2009, o Brasil situava-se como o sexto maior importador de feijão no mundo, com importações de 110 mil toneladas que totalizaram 63 milhões de dólares (FAO, 2012).

⁽¹⁾ Embrapa Arroz e Feijão. CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás (GO). E-mail: anderson.ferreira@embrapa.br

⁽²⁾ Embrapa Agropecuária Oeste. CEP 79804-970 Dourados (MS). E-mail: fabio.mercante@embrapa.br

⁽³⁾ Embrapa Soja. CEP 86001-970 Londrina (PR). E-mail: mariangela.hungria@embrapa.br

⁽⁴⁾ Embrapa Cerrados. CEP 73310-970 Planaltina (DF). E-mail: ieda.mendes@embrapa.br

⁽⁵⁾ Embrapa Agrobiologia. CEP 23890-000 Seropédica (RJ). E-mail: jean.araujo@embrapa.br

⁽⁶⁾ Embrapa Semi-árido. CEP 56302-970 Petrolina (PE). E-mail: paulo.ivan@embrapa.br

⁽⁷⁾ Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ. CEP 23890-000 Seropédica (RJ). E-mail: aparaujo@ufrj.br

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada dentre o gênero *Phaseolus* e está presente na maioria dos sistemas de produção do Brasil, abrangendo desde os pequenos e médios produtores rurais, assim como sistemas produtivos de alto rendimento e altamente tecnificados, conduzidos no segmento da agricultura empresarial. Apesar de ter ocorrido redução da área plantada com o feijoeiro nos últimos 30 anos no Brasil (Figura 1), a produção total tem aumentado gradativamente, resultante do aumento da produtividade da cultura, que era de 423 kg ha⁻¹ em 1981 e passou para 935 kg ha⁻¹ em 2011 (CONAB, 2012). Esse aumento de produtividade ocorreu em função do desenvolvimento e adoção de tecnologias, como introdução de novas cultivares e técnicas de manejo da cultura, dentre outras. Os principais Estados produtores são Paraná, Minas Gerais, São Paulo, Bahia e Goiás, que juntos responderam em 2011 por mais de 61 % da produção nacional. A produtividade média, considerando os Estados do Paraná, Minas Gerais e São Paulo, foi de 1.605 kg ha⁻¹, superando em 72 % a média nacional (CONAB, 2012).

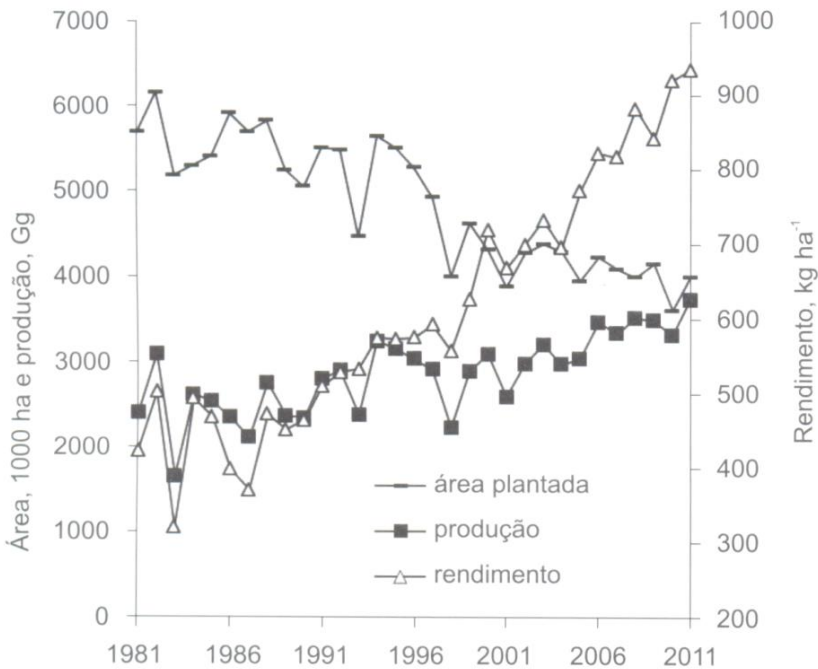


Figura 1. Área plantada, produção e rendimento de grãos da cultura do feijão no Brasil no período de 1981 a 2011.

Fonte: CONAB (2012).

A fixação biológica do N₂ atmosférico (FBN) é um processo realizado por bactérias pertencentes principalmente, mas não exclusivamente, à ordem Rhizobiales. Essas bactérias associadas a plantas hospedeiras, a maioria da família Leguminosae (=Fabaceae), formam estruturas específicas chamadas nódulos, nas quais, por meio do complexo enzimático da nitrogenase, ocorre a transformação do N₂ atmosférico em amônia, que é incorporada em esqueletos de C, transformada em compostos nitrogenados e transferida para a planta hospedeira (Hungria et al., 1997).

Apesar de se beneficiar da FBN, a inoculação do feijoeiro comum com estirpes de rizóbio ainda não apresenta resultados consistentes que permitam a recomendação inequívoca dessa técnica para substituição de todo o fertilizante nitrogenado nas condições de cultivo no Brasil. Os estudos com FBN no feijoeiro comum no Brasil tiveram início na década de 1960 (Döbereiner & Ruschel, 1961; Franco & Döbereiner, 1967). Naquele período, muitos trabalhos conduzidos no País indicavam pequenas respostas à inoculação com rizóbio em condições de campo, que, desde então, vem sendo associadas a vários fatores, como variabilidade de resposta de diferentes cultivares à inoculação (Döbereiner & Ruschel, 1961; Peres et al., 1994), ciclo curto da cultura (Barradas & Hungria, 1989; Boddey et al., 1996), sensibilidade do inoculante e da própria simbiose a temperaturas elevadas e baixa umidade do solo (Peres et al., 1994; Hungria & Vargas, 2000) e presença nos solos brasileiros de elevada população nativa de estirpes de rizóbio capazes de nodular o feijoeiro (Vargas et al., 2000). Entretanto, grandes avanços estão sendo obtidos com a seleção e inoculação de novas estirpes de *Rhizobium tropici*, que são geneticamente estáveis e mais tolerantes a estresses ambientais, como alta temperatura e acidez do solo (Hungria et al., 2000; Mostasso et al., 2002; Hungria et al., 2003b; Pinto et al., 2007).

O desenvolvimento de cultivares de feijoeiro comum no Brasil tem sido realizado basicamente por programas públicos de melhoramento genético da cultura, que, no período de 1990 a 2012, foram responsáveis pelo lançamento de cerca de 60 novos materiais, tendo contribuído decisivamente para o aumento de produtividade da cultura. Nesses programas de melhoramento, o fornecimento de N é feito por meio de fertilizantes nitrogenados, de forma que a FBN nunca foi uma característica de grande interesse para esses programas, resultando em somente cinco linhagens registradas como de alta capacidade fixadora (Bliss et al., 1989) e somente uma veio a ser lançada como cultivar de alta capacidade de FBN e produtividade (Henson et al., 1993). Apesar disso, já existem estudos para



a busca de informação sobre genótipos mais responsivos à FBN (Silva et al., 2011; Knupp et al., 2011) e que poderão ser usados para o melhoramento genético da cultura.

O objetivo deste trabalho é apresentar um panorama da pesquisa científica desenvolvida no Brasil voltada à FBN no feijoeiro comum, evidenciando os principais fatores limitantes ao pleno sucesso da técnica, os avanços obtidos ao longo dos últimos anos e as perspectivas de melhoria da eficiência da FBN no feijoeiro comum.

FATORES LIMITANTES PARA A FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FEIJOEIRO COMUM

Como todo processo biológico, a FBN requer o suprimento de condições ideais para expressar sua máxima eficiência. Uma vez que esse processo ocorre a partir da interação entre dois organismos diferentes, a bactéria e a planta, qualquer fator que provoque redução no desempenho tanto do macro como do microssimbionte irá provocar redução da eficiência do processo. De forma genérica, esses fatores limitantes à FBN podem ser divididos em abióticos, dentre os quais: fertilidade do solo, estresse hídrico e elevadas temperaturas; e bióticos, como a competição das estirpes de rizóbio no inoculante com população nativa do solo.

Fertilidade do solo

Nas regiões tropicais é comum a ocorrência de solos altamente intemperizados, onde a disponibilidade de nutrientes é usualmente baixa e a acidez e toxidez por Al^{3+} são elevadas. Sanchez & Logan (1992) estimaram que, nas regiões tropicais e subtropicais da América Latina, 43 % dos solos possuem baixa reserva de nutrientes; 38 % apresentam alta toxidez por Al^{3+} ; e 28 % alta capacidade de adsorção de P. No Brasil, os Latossolos e Argissolos ocupam 58,3 % do território e são, em geral, solos bastante intemperizados, com baixa fertilidade natural e em muitos casos com elevada saturação por Al^{3+} (Embrapa, 2011). Os solos com baixa reserva de nutrientes apresentam capacidade limitada de suprimento de P, K, Ca e Mg aos cultivos e são mais recorrentes nos trópicos úmidos e nas savanas ácidas, ocupando 66 e 55 %, respectivamente, da superfície dessas regiões (Sanchez & Logan, 1992). Essa situação é agravada em consequência da contínua remoção

dos nutrientes pelas colheitas sem sua adequada reposição, uma vez que elevadas produtividades implicam quantidades expressivas de nutrientes exportados pelos grãos colhidos (Tan et al., 2005).

O estabelecimento e desenvolvimento da simbiose entre leguminosas e rizóbios requerem o adequado suprimento dos nutrientes essenciais e também Co, Ni e Se (O'Hara, 2001). As limitações no suprimento de P, Ca, Fe e Mo podem ocorrer com maior frequência em cultivos comerciais de leguminosas, limitando o crescimento vegetal e desenvolvimento e funcionamento dos nódulos (O'Hara, 2001). Em solos tropicais com carga variável, os íons fosfato e molibdato podem ser fortemente adsorvidos nos coloides de carga positiva em baixo pH, reduzindo-se a disponibilidade de P e Mo para as plantas.

Leguminosas que dependem da FBN para aquisição de N apresentam maior requerimento de P e Mo do que plantas que recebem N mineral, pois a redução do N_2 atmosférico pela nitrogenase é um processo de grande demanda energética e, conseqüentemente, mais P e Mo são requeridos para a fixação simbiótica do que para o metabolismo vegetal em geral (Parker & Harris, 1977; Israel, 1987). Conseqüentemente, sob condições de suprimento limitado desses nutrientes, os nódulos de feijoeiro comum atuam como fortes drenos de P e Mo, de forma a garantir adequadas taxas de fixação de N_2 (Brodrick & Giller, 1991; Olivera et al., 2004).

A deficiência de P tem impacto negativo na FBN, pois tanto a redução do N_2 atmosférico que ocorre nos bacteroides quanto a assimilação de amônia em aminoácidos e ureídeos, que ocorre na fração vegetal dos nódulos, são processos de intenso consumo de energia (Sá & Israel, 1991). A redução na FBN em leguminosas sob suprimento limitado de P é, em geral, explicada por diminuição no crescimento do hospedeiro e, por conseqüente, na demanda pelo N fixado, no crescimento e funcionamento dos nódulos ou no crescimento de ambos (Almeida et al., 2000).

O Mo, por sua vez, está diretamente envolvido no metabolismo de N. Além de componente da enzima nitrogenase, o Mo é encontrado em quatro enzimas vegetais que catalisam reações redox, dentre essas a nitrato redutase e xantina dehidrogenase, essa última envolvida no metabolismo de ureídeos (Mendel & Hänsch, 2002). A deficiência de Mo pode ocorrer em solos muito intemperizados, em conseqüência da erosão do solo, do cultivo contínuo, da redução dos teores de matéria orgânica e da adsorção pelos coloides do solo, particularmente sob baixo pH (Gupta & Lipsett, 1981).

Outros micronutrientes, como o Fe e o Co, também desempenham importante papel na simbiose. O Fe participa da composição da

leghemoglobina e nitrogenase, na forma de Fe-proteína, sendo indispensável para a formação e o funcionamento dos nódulos (Taiz & Zieger, 2004). Entretanto, considerando a composição dos solos brasileiros, a deficiência de Fe é rara. A importância do Co na FBN está relacionada ao seu papel como componente da coenzima cobalamida (Taiz & Zieger, 2004), precursora da leghemoglobina, responsável pelo transporte de O₂ em baixas concentrações para os nódulos. Os teores totais de Co no solo variam de 10 a 40 µg g⁻¹, mas solos ácidos podem apresentar concentrações inferiores a 10 µg g⁻¹ (Hungria et al., 2007).

Estresse hídrico

Entre os vários estresses abióticos que interferem no funcionamento da FBN, a deficiência hídrica destaca-se pela amplitude territorial de ocorrência e pela redução que pode causar na produtividade das culturas (Muñoz-Perea et al., 2006). Cerca de 60 % da produção mundial de feijão vêm de regiões com deficiência hídrica; na América Latina, 93 % da área de cultivo de feijoeiro comum não têm as necessidades hídricas da planta satisfeitas, o que torna essa deficiência a segunda maior causa de redução da produtividade da cultura (Singh, 1995). Dessa forma, o fornecimento de água em quantidade suficiente para atender à demanda vegetal é fator-chave para o sucesso da simbiose rizóbio-feijoeiro.

A falta de água influencia também a sobrevivência dos rizóbios no solo (Peña-Cabriales & Alexander, 1979), resultando em perda de competitividade das estirpes inoculadas em relação à população nativa do solo, que normalmente apresenta-se adaptada a tal situação, alterando a infecção por meio dos pelos radiculares, causando redução do número e da massa de nódulos, inibição da diferenciação do bacteroide, alteração da estrutura e do funcionamento dos nódulos e, conseqüentemente, diminuição do conteúdo de N fixado na parte aérea das plantas (Daniel et al., 2007; Tajini et al., 2012). Ocorrendo a deficiência de água durante a floração e enchimento de vagens, a FBN pode ser reduzida em até 2,2 vezes, comparada às condições ótimas para o desenvolvimento da cultura (Calvache & Reichardt, 1996). Dessa forma, mesmo um déficit hídrico moderado pode provocar a morte prematura dos nódulos funcionais e, em razão do curto ciclo da planta, não há tempo hábil para o estabelecimento de novos nódulos com plena capacidade de fixação.

Alguns genótipos de feijoeiro comum são capazes de manter potenciais de água na folha mais altos, bem como maior capacidade de recuperação

hídrica, além de apresentar resistência difusiva estomática e temperatura do dossel mais baixas que outros genótipos (Guimarães et al., 2006). Essas características fisiológicas são importantes para a adaptação da planta ao déficit hídrico, podendo resultar em melhor desempenho da FBN. Devi et al. (2012) identificaram quatro genótipos de feijoeiro com substancial tolerância da FBN a solos com baixa umidade. Além disso, há evidências de grande variabilidade genética entre cepas de rizóbio em resposta ao estresse hídrico (Rennie & Kemp, 1983a). A inoculação de estirpes de rizóbio com alta expressão da enzima *cbb3* oxidase no bacteroide altera o metabolismo de carboidratos no nódulo durante o estresse hídrico e reduz a sensibilidade do feijoeiro comum à seca (Talbi et al., 2012). Essas características de tolerância ao estresse hídrico, tanto em cultivares de feijoeiro comum como em estirpes de rizóbio, podem ser exploradas para aumentar a eficiência da FBN em sistemas de produção, em que a deficiência hídrica pode representar ameaça ao rendimento da cultura.

Elevadas temperaturas

A temperatura ótima para nodulação e funcionamento da FBN para a maioria das leguminosas situa-se entre 20-30 °C. As temperaturas elevadas podem ter efeito deletério sobre as estirpes de rizóbio, alterando sua competitividade, retardando o início da nodulação e interferindo com a estrutura, o funcionamento e a eficiência dos nódulos (Hungria & Franco, 2003; Mohammadi et al., 2012). As altas temperaturas influenciam não apenas a sobrevivência do rizóbio no solo, diminuindo sua população de forma significativa (Day et al., 1978), mas também interferem em vários aspectos da simbiose, como a formação de pelos radiculares, penetração da bactéria, nodulação e atividade da nitrogenase (Nehra et al., 2007). Portanto, o fator temperatura apresenta grande importância para a eficiência da FBN em condições tropicais, uma vez que nessas regiões a temperatura do solo nas camadas mais superficiais pode chegar com frequência a 38 °C (Hafeez et al., 1991). Ressalta-se ainda que a tolerância da simbiose a altas temperaturas varia entre espécies de leguminosa; o feijoeiro é considerado bastante sensível (Graham, 1981).

Estudos indicam que um choque térmico de 38 °C, com duração de 5 h por dia durante três dias no período de floração, causa diminuição da FBN do feijoeiro, mesmo quando as plantas são inoculadas com estirpes que têm capacidade de crescer sob altas temperaturas (40 °C) em meio de cultura (Mercante, 1993). *A exposição de plantas de feijoeiro a 38 °C durante*

seis dias pode causar a ruptura da membrana peribacteriana dos nódulos, eliminando totalmente a atividade da nitrogenase (Hernandez-Armenta et al., 1989). Após o estresse térmico, a retomada da FBN depende da formação de novos nódulos, o que pode levar até sete dias, diminuindo substancialmente a quantidade de N na planta advindo da FBN (Hungria & Franco, 2003).

Relatos na literatura evidenciam que há diferenças quanto à tolerância a altas temperaturas entre cultivares de feijoeiro (Porch, 2006; Stefanova et al., 2011) e entre espécies de rizóbio que nodulam essa planta (Mercante, 1993; Pinto et al., 1998). A tolerância a altas temperaturas é um processo que envolve as diversas vias metabólicas e a indução de proteínas específicas como as de choque térmico (heat-shock proteins - HSPs) (Huang & Xu, 2008). A síntese de HSPs já foi relatada para estipes de *Rhizobium tropici*, tolerantes a altas temperaturas (Michiels et al., 1994; Gomes et al., 2012) e cultivares de feijoeiro (Simões-Araújo et al., 2003). Contudo, o papel dessas proteínas na tolerância da simbiose do feijoeiro ainda precisa ser determinado. Além disso, a utilização de novas abordagens para identificar genes envolvidos com a tolerância ao estresse, bem como o sequenciamento do genoma do feijoeiro, abre perspectivas ao entendimento da base genética da resistência para aumentar a adequação dessa simbiose ao clima tropical.

Incompatibilidade da inoculação com o tratamento de sementes

A ocorrência de doenças é uma das principais causas de redução da produtividade do feijoeiro comum, tornando-se necessário, em muitos casos, o tratamento das sementes com fungicidas. Contudo, os benefícios da inoculação de rizóbio em sementes de feijoeiro comum podem ser reduzidos pela toxicidade de alguns fungicidas, alterando a sobrevivência da bactéria (Guene et al., 2003). Esse efeito já foi descrito para a estirpe CIAT 899 (=SEMIA 4077) de *Rhizobium tropici*, tanto no momento do contato da bactéria com os fungicidas quanto 24 h após esse contato (Araújo & Araújo, 2006).

De forma geral, a maioria dos fungicidas altera negativamente a nodulação e o crescimento do feijoeiro (Mercante et al., 2010). As maiores reduções na nodulação, na matéria seca da parte aérea e nos teores foliares de N ocorreram com a aplicação dos fungicidas com os princípios ativos captan, carbendazin + thiram, tolylfluanid, thiram e carboxim + thiram, com diminuições entre 77 e 96 % no número e na massa de nódulos (Mercante

et al., 2010). No entanto, os fungicidas com os princípios ativos fludioxonil e carbendazim não alteram a nodulação, a matéria seca da parte aérea e os teores foliares de N no feijoeiro comum (Mercante et al., 2010).

Nas condições de plantio em que o tratamento de sementes é indispensável, preconizam-se o uso de fungicidas menos tóxicos para as bactérias e o aumento da dose do inoculante microbiano com o intuito de aumentar o número de células viáveis, refletindo em maior nodulação e maior eficiência da FBN. Além disso, tornam-se fundamentais as pesquisas para obtenção de cultivares de feijoeiro geneticamente resistentes a doenças e de formas alternativas de manejo fitossanitário como o biocontrole.

População de rizóbio nativa do solo

O gênero *Phaseolus* tem como centro de origem o continente americano, tendo sido levado posteriormente para a Europa (Kaplan, 1981). Com base em tipos de faseolina da semente, estudos indicam a existência de duas áreas de domesticação de *P. vulgaris*, sendo uma no México e América Central, que deu origem aos cultivares com sementes pequenas e faseolina do tipo S; e outra na região dos Andes, originando materiais com sementes maiores e faseolina do tipo T e, possivelmente, dos tipos C, H e A (Gepts et al., 1986). Outras análises, com base em dados do cloroplasto, isozimas e polimorfismo de DNA, suportam a domesticação independentemente do feijoeiro comum na Mesoamérica e nos Andes (Chacón et al., 2005). Como no Brasil ocorrem tanto feijões pequenos como grandes, é provável que sua introdução tenha ocorrido por pelo menos duas rotas distintas: a primeira, envolvendo a introdução de materiais Mesoamericanos, deve ter começado no México e seguido para o Caribe e a Venezuela, introduzindo feijões pequenos, pretos e mulatinhos; e a segunda, partindo dos Andes, possibilitando a entrada de feijões grandes, mas é possível que alguns desses cultivares tenham sido introduzidos por imigrantes europeus (Gepts et al., 1988). Freitas (2006), avaliando amostras arqueológicas do norte de Minas Gerais, sustenta a hipótese de que o feijoeiro comum cultivado no Brasil é predominantemente originário das regiões mesoamericanas, com pouca influência das regiões andinas.

O conhecimento do processo de domesticação do feijoeiro comum e a sua relação com os estudos taxonômicos das estirpes de rizóbio nodulantes de feijoeiro podem ter importantes implicações na eficiência agrônômica

dos inoculantes utilizados no Brasil. Acredita-se que a espécie *Rhizobium tropici* tenha origem nas regiões mesoamericanas e no norte da América do Sul (Martínez-Romero et al., 1991), enquanto os isolados de *R. etli* são originários das regiões andinas na América do Sul (Aguilar et al., 2004). A maioria dos isolados de rizóbio nodulantes de feijoeiro comum no Brasil pertencem à espécie *R. tropici*, principalmente aqueles isolados de regiões produtoras de feijão (Hungria et al., 2000; Grange et al., 2007). Quando são utilizadas plantas-isca de feijoeiro de origem mesoamericana, a maioria dos isolados obtidos dos nódulos são da espécie *R. tropici*, o que pode indicar relativa especificidade dos simbiontes (Mostasso et al., 2002). Essas evidências de possível coevolução dos pares simbiontes em ambientes tropicais, com tendência do feijoeiro comum de formar nódulos com estirpes da espécie *R. tropici* (Grange et al., 2007), podem restringir à nodulação dos cultivares de feijoeiro a outras espécies de rizóbio nos solos brasileiros, como *R. etli* (Grange & Hungria, 2004).

Estudos de diversidade de rizóbios nativos dos solos do Brasil apontam para um nível de diversidade excepcional (Grange & Hungria, 2004; Grange et al., 2007). Além da espécie *R. leguminosarum* bv *phaseoli* (Andrade et al., 2002), populações expressivas de estirpes de *R. etli* (Grange et al., 2007) e *R. tropici* (Straliotto et al., 1999) ocorrem nos solos brasileiros e nodulam o feijoeiro comum. Embora estirpes de *R. etli* estejam presentes em grandes quantidades em solos brasileiros, essas apresentam baixa capacidade de competição pelos sítios de infecção nodular em condições de solos ácidos (Grange et al., 2007). Dentre as espécies do gênero *Rhizobium* que nodulam o feijoeiro comum, apenas *R. gallicum* ainda não foi isolada em solos brasileiros (Straliotto et al., 1999; Hungria et al., 2000; Grange & Hungria, 2004; Grange et al., 2007). Estirpes de outros gêneros, como *Ensifer* e *Mesorhizobium*, bem como estirpes sem posição taxonômica conhecida, também têm sido isoladas de nossos solos (Grange & Hungria, 2004).

A presença nos solos brasileiros de estirpes nativas é considerada um dos principais fatores limitantes ao sucesso da inoculação do feijoeiro comum em condições de campo (Vargas et al., 2000). Em determinadas áreas de cultivo, além de presentes em quantidades elevadas, as populações nativas competem eficientemente pelos sítios de infecção nodular com as estirpes introduzidas por meio da inoculação; contudo, essas apresentam baixa capacidade fixadora (Vargas et al., 2000). Raramente um solo brasileiro não possui população nativa de rizóbio estabelecida e com grande diversidade

genética; como exemplo, mesmo após mais de três anos sem cultivo de feijoeiro comum, são encontradas no solo populações abundantes de rizóbios compatíveis com o feijoeiro (Hungria et al., 2000). Exceções são encontradas em situações específicas, como em áreas inundáveis após alagamento, que facilitam as respostas à inoculação (Vargas et al., 1994), podendo resultar em incrementos expressivos no rendimento em relação ao tratamento não inoculado (Mendes et al., 1994).

Vargas et al. (2000) observaram que o cultivo sucessivo do feijoeiro comum numa mesma área favorece o aumento de populações nativas de rizóbio, capazes de competir com as estirpes introduzidas por meio da inoculação. Em uma área cultivada anteriormente com essa leguminosa, com população de estirpes nativas capazes de nodular o feijoeiro comum superior a 10^3 células g^{-1} de solo, o nível de estabelecimento nos nódulos da estirpe SEMIA 4077, nos tratamentos em que essa havia sido inoculada, foi de apenas 3 %; em contrapartida, a porcentagem de ocorrência de nódulos sem reação aos antissoros específicos foi de 90 %, indicando a grande participação de estirpes nativas na nodulação (Vargas et al., 2000).

Contudo, em solos com populações nativas menos elevadas e com boa diversidade, as estirpes autorizadas para a produção de inoculantes comerciais no Brasil, as SEMIAs 4077, 4080 e 4088, têm se apresentado competitivas. Em um ensaio conduzido nos Cerrados, em um solo com 7×10^2 células g^{-1} de solo, a inoculação do feijoeiro com a SEMIA 4077 resultou em 91 % de ocupação dos nódulos, que diminuiu gradativamente com a aplicação de N mineral (Vargas et al., 2000). No Paraná, em solos com mais de 1×10^3 células g^{-1} de solo, a ocupação dos nódulos do feijoeiro comum pela SEMIA 4077 foi de 35 % no primeiro ano, subindo para 58 % com a reinoculação; pela SEMIA 4080, 35 % no primeiro ano e de 55 %, no segundo; e pela SEMIA 4088, 25 % no primeiro ano e 52 %, no segundo (Hungria et al., 2003a). Esses resultados comprovam que é possível selecionar estirpes de rizóbio que sejam competitivas, mesmo em solos com altas populações nativas dessas bactérias.

Estudos conduzidos em solo arenoso de baixa fertilidade no Estado do Rio de Janeiro demonstraram que a estirpe SEMIA 4077 foi altamente competitiva nessas condições (Vlassak et al., 1996, 1997); contudo, essa estirpe apresenta baixa sobrevivência no solo, após cultivos sucessivos do feijoeiro (Vlassak et al., 1996), o que evidencia a necessidade de reinoculação das sementes a cada plantio.

RECENTES AVANÇOS DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO NO FEIJOEIRO COMUM

Identificação de estirpes de rizóbio mais eficientes e competitivas

Inicialmente, a simbiose com o feijoeiro comum era considerada bastante restrita, sendo relatado que ocorreria apenas com um grupo de bactérias classificadas, em 1932, como *Rhizobium phaseoli* (Fred et al., 1932). Os avanços obtidos na área de caracterização bioquímica e genética conduziram à reclassificação dessas bactérias, após 50 anos, na espécie *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (Jordan, 1984). Os novos métodos da biologia molecular, a abordagem polifásica na taxonomia rizobiana e a coleta de rizóbios em vários locais do mundo, porém, passaram a indicar que essa leguminosa poderia ser bastante promíscua em suas associações simbióticas e, em 1991, houve a descrição da espécie *Rhizobium tropici*, subdividida em dois tipos, A e B, e compreendendo bactérias provavelmente originadas da América do Sul (Martínez-Romero et al., 1991). Consecutivamente, com a detecção de grande variabilidade entre isolados mexicanos de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, foi definida a nova espécie *R. etli* (Segovia et al., 1993). Já entre estirpes europeias, duas novas espécies foram definidas, *R. gallicum* e *R. giardinii*, essa última; entretanto, composta só por isolados inefetivos em fixar N (Amarger et al., 1997).

Posteriormente, foi sugerido que *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* voltasse a ser denominado como *R. phaseoli* (Ramírez-Bahena et al., 2008) e novas espécies, *Herbaspirillum lusitanum* (Valverde et al., 2003), *R. lusitanum* (Valverde et al., 2006) e *R. pisi* (Ramírez-Bahena et al., 2008), foram descritas. Recentemente, as estirpes de *R. tropici* tipo A foram redefinidas como a espécie *R. leucaenae*, cujas estirpes mantêm propriedades de interesse para os trópicos, como estabilidade genética e tolerância a estresses ambientais (Ribeiro et al., 2012). Finalmente, estudos indicam que novas espécies capazes de nodular o feijoeiro comum existem e ainda estão por ser descritas (Stocco et al., 2008). Análises de genes simbióticos e não simbióticos de 15 estirpes oriundas de programas de seleção de estirpes de quatro Estados brasileiros (Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás e Pernambuco) demonstraram que todas as estirpes se agruparam com *R. tropici* tipo A ou tipo B, sugerindo que a seleção de estirpes dessa espécie poderia maximizar a nodulação e a FBN em feijoeiro comum (Pinto et al., 2007).

Dessa forma, pode-se concluir que o feijoeiro comum, que inicialmente acreditava-se ser bastante restrito em sua simbiose, é provavelmente uma das leguminosas com maior capacidade de se associar com a grande diversidade de rizóbio do solo. Infelizmente, a maioria das bactérias nativas que nodula o feijoeiro comum apresenta baixa eficiência de fixação de N_2 (Vargas et al., 2000). Isso provavelmente explica vários insucessos em ensaios de inoculação; entretanto, aponta para estratégias que podem ser seguidas para selecionar estirpes mais eficientes e competitivas nessa grande diversidade de rizóbios capazes de nodular o feijoeiro comum.

Uma característica importante do genoma de rizóbios microssimbiontes do feijoeiro comum é a presença de sequências reiteradas de DNA, detectadas em regiões do plasmídeo simbiótico, *pSym*, contendo genes estruturais da nitrogenase, *nif*, ou genes da nodulação, *nod* (Girard et al., 1991; Segovia et al., 1993). Essas cópias são normalmente necessárias para a expressão e efetividade do processo de FBN, mas também representam sítios de recombinação, onde ocorrem rearranjos genômicos, que podem conduzir a perdas das propriedades simbióticas nessas estirpes (Girard et al., 1991), constituindo explicação para a ocorrência frequente da perda da habilidade de nodular e fixar N_2 de diversas estirpes, como ocorreu com a de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* SEMIA 4064, recomendada em inoculantes comerciais brasileiros até 1994 (Hungria & Araujo, 1995).

Estudos conduzidos com *R. tropici*, incluindo bactérias agora reclassificadas como *R. leucaenae*, evidenciaram que essa espécie apresentava maior estabilidade genética do que os demais microssimbiontes do feijoeiro comum, provavelmente por apresentar uma única cópia do gene *nifH* (Martínez-Romero et al., 1991). Pelas estimativas das frequências de rearranjos, *R. tropici* pode ser 100 vezes mais estável do que, por exemplo, *R. etli* e, ao considerar as perdas de plasmídeos, a estabilidade de *R. tropici* pode ser 1.000 vezes superior à de *R. etli*. Consequentemente, ficou decidido na Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE), fórum em que a recomendação de estirpes para o uso em inoculantes comerciais no Brasil é discutida, realizada em 1994, que os programas brasileiros de seleção de estirpes de rizóbio para o feijoeiro comum deveriam procurar por estirpes mais eficientes e competitivas dentro da espécie *R. tropici*, agora também incluindo *R. leucaenae* (Hungria & Araujo, 1995). Outras características importantes associadas a *R. tropici*/*R. leucaenae* de interesse para a agricultura brasileira são a tolerância a temperaturas elevadas e a acidez do solo (Martínez-Romero et al., 1991;

Hungria et al., 1997; Hungria & Vargas, 2000; Hungria et al., 2000, 2003b), além de maior competitividade em solos ácidos (Anyango et al., 1995).

Desde a década de 1980, pesquisadores brasileiros têm selecionado estirpes de rizóbio para o feijoeiro comum. A primeira recomendação de estirpes para o feijoeiro no Brasil foi realizada em 1985, quando foram recomendadas as estirpes SEMIA 487, SEMIA 492 (CENA C-05) e SEMIA 4048 (CPAC V-23) (RELARE, 1985). Em experimentos de campo conduzidos na Embrapa Cerrados em solos de várzea do tipo Gley Húmico, com baixa população nativa de rizóbios capazes de nodular o feijoeiro, Mendes et al. (1994) reportaram ganhos de rendimento de grãos com a inoculação das estirpes CENA C-05 e CPAC V-23, em relação ao tratamento testemunha, da ordem de 1.077 e 514 kg ha⁻¹ com o cultivar Capixaba Precoce e de 663 e 933 kg ha⁻¹ com o cultivar CNPAF-178, respectivamente. Em 1988, em razão dos problemas relacionados à instabilidade genética, as estirpes recomendadas passaram a ser a UMR 1135 (da Universidade de Minnesota, EUA), denominada SEMIA 4064, e a CIAT 899 (SEMIA 4077), isolada na Colômbia por Peter H. Graham. A partir de 1994, novos problemas relacionados à instabilidade genética das estirpes para o feijoeiro comum resultaram em que a estirpe CIAT 899 (=SEMIA 4077) de *R. tropici* fosse a única utilizada em inoculantes comerciais a partir daquele ano (Hungria & Araujo, 1995).

A partir de um programa de seleção de estirpes nativas dos solos brasileiros realizado pela Embrapa Soja e pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), e após várias avaliações *in vitro*, em casa de vegetação e principalmente em ensaios de campo, foi obtida a estirpe PRF-81 de *R. tropici*, espécie mais estável geneticamente. Além de eficiente e competitiva, a estirpe demonstrou ser tolerante às temperaturas elevadas e à acidez e, em quatro ensaios conduzidos a campo, resultou em ganhos de até 906 kg ha⁻¹, em relação ao controle não inoculado, em solos que continham, no mínimo, 10⁴ células g⁻¹ de rizóbio nativo de solo (Hungria et al., 2000). O bom desempenho dessa estirpe foi confirmado em vários ensaios conduzidos em outros estados do Brasil, o que levou a sua autorização, a partir de 2000, para o uso em inoculantes comerciais no Brasil, passando a receber a denominação de SEMIA 4080 (Hungria et al., 2000). Paralelamente, a Embrapa Soja e a Embrapa Cerrados fizeram uma busca por estirpes adaptadas aos Cerrados. Esse programa resultou na identificação da estirpe de *R. tropici* H 12 (=SEMIA 4088) que, em seis ensaios em campo, resultou em um incremento médio no rendimento de grãos de 437 kg ha⁻¹ (Mostasso et al., 2002; Hungria et al., 2003a). A estirpe também passou a ser autorizada para o uso em inoculantes comerciais em 2004, quando recebeu a denominação oficial de SEMIA 4088 (RELARE, 2005).

Esses resultados demonstraram que é possível fazer a seleção de estirpes mais eficientes e adaptadas às condições locais, no caso, ao ambiente frequentemente estressante dos trópicos. Também se demonstrou a importância da condução de estudos genéticos, que levaram ao conhecimento de particularidades relacionadas à estabilidade dos genes de nodulação e fixação de N_2 , viabilizando o uso da estirpe em larga escala industrial. Desde 1994, quando os inoculantes passaram a veicular somente *R. tropici*, não houve mais relatos de perda da capacidade de nodulação e fixação de N_2 .

O processo de seleção adotado no Brasil usa técnicas tradicionais e visa encontrar estirpes dentro da diversidade natural dos solos, portanto, sem a necessidade de transgenia, o que facilita a aprovação do uso comercial dos materiais selecionados. Contudo, é um processo laborioso, requerendo a avaliação de centenas de estirpes. Como exemplo, no processo de identificação da estirpe SEMIA 4088, menos de 2 % das estirpes avaliadas foram identificadas como promissoras (Quadro 1). Depois dessa fase de identificação, várias outras etapas precisam ser seguidas, com ênfase na verificação da capacidade competitiva (Hungria et al., 2000). Finalmente, uma estirpe eficiente e competitiva pode não apresentar propriedades adequadas para a indústria, para o crescimento em larga escala em grandes fermentadores (Hungria et al., 2005).

Quadro 1. Avaliação da capacidade de fixação de N_2 de 105 isolados de rizóbio, obtidos da região de Planaltina, DF, em ensaio conduzido em casa de vegetação, com plantas de feijoeiro crescidas em substrato estéril e na ausência de N mineral

Número de isolado	Grupo de capacidade de fixação biológica de N_2
	mg/planta de N
28	0-10
25	10-30
19	30-50
15	50-70
9	70-90
7	90-120
2	>120

Fonte: Mostasso et al. (2002)

Resultados têm comprovado que as três estirpes atualmente autorizadas para a produção de inoculantes comerciais, SEMIAs 4077, 4080 e 4088, são eficientes em fixar N_2 em vários ecossistemas brasileiros. Mercante et al. (2006) avaliaram em Dourados, MS, as respostas de quatro cultivares de feijoeiro comum a diferentes doses de adubação nitrogenada, em comparação à inoculação com estirpes comerciais de rizóbio. O uso de inoculante promoveu aumentos significativos no rendimento de grãos dos cultivares avaliados, mesmo no solo contendo populações elevadas de rizóbios nativos, e as produtividades foram superiores àquelas correspondentes à aplicação de doses de até 80 kg ha^{-1} de N (Mercante et al., 2006).

Mesmo em ensaios conduzidos sem irrigação, rendimentos elevados podem ser conseguidos somente com a inoculação. Em Planaltina, DF, considerando tratamentos complementados com 0 a 80 kg ha^{-1} de N em um solo com baixa população de rizóbios, a inoculação com a SEMIA 4077 resultou em rendimentos médios de 3.444 kg ha^{-1} , em comparação com 3.196 kg ha^{-1} nos tratamentos não inoculados (Vargas et al., 2000). No Paraná, altos rendimentos foram alcançados com a inoculação das estirpes SEMIA 4077 e 4080 e sem suplementação com fertilizantes nitrogenados, permitindo rendimentos de até 3.425 kg ha^{-1} , similares ao controle não inoculado, recebendo 60 kg ha^{-1} de N (Figura 2) (Hungria et al., 2000). Bons rendimentos sem irrigação também foram obtidos em Londrina e Ponta Grossa com a estirpe SEMIA 4088, de até 2.663 kg ha^{-1} , similares ao controle com N fertilizante (2.771 kg ha^{-1}) e superiores ao controle sem inoculação e sem N (1.612 kg ha^{-1}) (Mostasso et al., 2002; Hungria et al., 2003a).

Em condições irrigadas, o potencial da estirpe SEMIA 4080 foi ainda maior, conforme demonstrado em um ensaio conduzido em Planaltina, DF, onde o tratamento não inoculado produziu 3.254 kg ha^{-1} e o com 60 kg ha^{-1} de N resultou em rendimento de 4.454 kg ha^{-1} , semelhante aos 4.355 kg ha^{-1} obtidos nas plantas inoculadas com a SEMIA 4080 (Mendes et al., 2004).

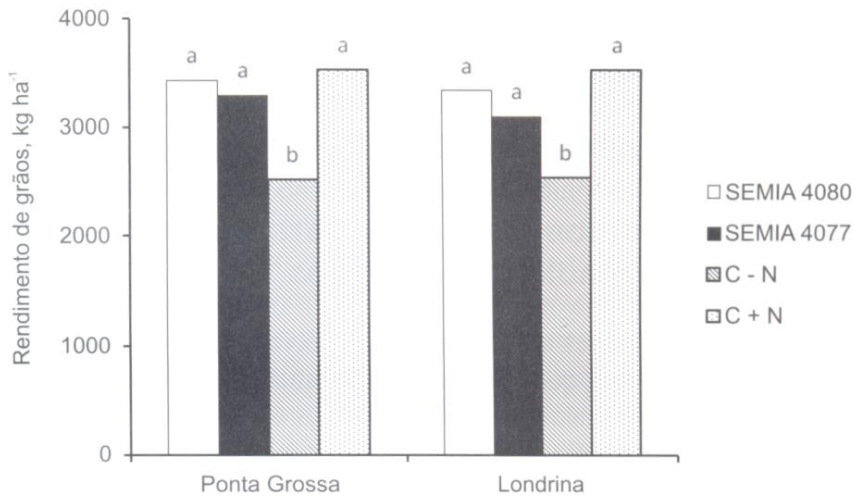


Figura 2. Rendimento de feijoeiro comum inoculado com as estirpes comerciais SEMIA 4077 e SEMIA 4088 e no controle não inoculado (C), sem ou com fertilizante nitrogenado (30 kg ha^{-1} de N no plantio e 30 kg ha^{-1} de N no florescimento), no segundo ano de reinoculação, em Ponta Grossa e Londrina, PR.

Fonte: Adaptado de Hungria et al. (2000).

Coinoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense*

Alguns estudos têm demonstrado que a coinoculação ou inoculação mista, que consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos, pode produzir efeito múltiplo que supera os resultados obtidos com a inoculação desses isoladamente. Na cultura do feijoeiro comum, tem sido demonstrado que a inoculação combinada de *Rhizobium* e *Azospirillum* pode aumentar a quantidade de N fixado e a produtividade de grãos (Yadegari et al., 2010; Veronezi et al., 2012).

Veronezi et al. (2012) avaliaram o efeito da coinoculação de diferentes estirpes de rizóbio previamente selecionadas de solos do Mato Grosso do Sul e a mistura das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *Azospirillum brasilense*, promotoras do crescimento vegetal. A resposta à coinoculação foi bastante variável em razão da estirpe de rizóbio utilizada. Contudo, a coinoculação de isolados de rizóbio e as estirpes de *A. brasilense* favoreceram uma nodulação mais abundante nas plantas de feijoeiro comum, quando comparada às plantas apenas inoculadas com rizóbio (Veronezi et al., 2012). Da mesma forma, Yadegari et al. (2010) verificaram que a coinoculação de *Rhizobium* e *Pseudomonas fluorescens* resultou em aumento na nodulação, na matéria seca da parte aérea, na quantidade de N fixado e na produtividade

de feijoeiro. No entanto, o crescimento das plantas, os componentes de produção e a produtividade de grãos de feijoeiro comum não foram alterados pela inoculação com *A. brasilense*, quando as sementes não foram inoculadas com estirpes selecionadas de rizóbio (Gitti et al., 2012).

Uso de bioinsumos (aditivos) para incrementos da nodulação e do rendimento de grãos

A associação simbiótica entre estirpes de rizóbio e espécies leguminosas é um processo complexo, que envolve a expressão de genes simbióticos da planta hospedeira e do microssimbionte. Nessa simbiose, a formação de nódulos radiculares fixadores de N_2 envolve diversas etapas de “comunicação” entre a bactéria e a planta para coordenar a expressão dos genes e o desenvolvimento entre macro e microssimbionte, sendo esse processo controlado, em grande parte, pela troca de sinais entre a bactéria simbiote e a planta hospedeira (Stougaard, 2000). Diversos modelos hipotéticos envolvendo a comunicação molecular entre os parceiros simbióticos foram apresentados, especialmente a partir da década de 1980. No modelo mais aceito, a troca inicial de sinais envolve a ativação da expressão dos genes da nodulação dos rizóbios por diferentes compostos produzidos pelas plantas (Peters et al., 1986; Zaat et al., 1989). Assim, nos estádios iniciais de formação dos nódulos, a espécie hospedeira libera sinais (compostos químicos, como flavonoides e betaínas), que são percebidos pela bactéria, desencadeando a expressão coordenada de uma série de genes da nodulação (*nod*, *nol* e *noe*), referidos coletivamente como genes *nod* (Krishnan et al., 1995). Por sua vez, as bactérias sintetizam compostos conhecidos como fatores da nodulação (fatores Nod), que consistem de lipo-quitto-oligossacarídeos ou oligossacarídeos lipoquitínicos. Os fatores Nod são responsáveis pelas alterações iniciais que ocorrem nas raízes da planta hospedeira, como deformação dos pelos radiculares, atenuação das defesas vegetais, início da divisão celular no córtex da raiz até a formação dos nódulos (Stougaard, 2000).

Os compostos presentes em exsudatos de raízes e sementes de leguminosas têm sido identificados como substâncias indutoras dos genes da nodulação, em diferentes sistemas planta-rizóbio (Firmin et al., 1986; Peters et al., 1986; Hungria et al., 1991a,b). As plantas hospedeiras liberam grupos diferentes de compostos químicos, que atuam como indutores dos genes *nod* de rizóbio. Nesse sentido, o espectro de compostos, como flavonoides, é dependente da espécie de planta (Rolfe, 1988) e do seu estágio de desenvolvimento (Hartwig et al., 1990). Além disso, foi demonstrado que

a expressão dos genes *nod* comuns e específicos do rizóbio é fortemente aumentada pela adição desses compostos, que são exsudados pelas plantas hospedeiras (Peters et al., 1986).

Os compostos fenólicos nos exsudatos de sementes e raízes de leguminosas consistem de uma mistura de indutores do gene *nod* fracos e fortes, além de compostos inibidores e ineficazes (Firmin et al., 1986; Peters et al., 1986; Hartwig et al., 1990; Hungria et al., 1992). O feijoeiro libera um número particularmente grande de compostos fenólicos ativos das sementes (Hungria et al., 1991a), assim como um grupo estruturalmente diferente de moléculas indutoras dos genes *nod* em exsudatos radiculares (Hungria et al., 1991b). Entre os compostos presentes nos exsudatos de sementes de feijoeiro capazes de induzir os genes *nod* de estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, Hungria et al. (1991a) identificaram antocianidinas (delfinidina, petunidina e malvidina) e flavonoides (miricetina e canferol). Nos exsudatos radiculares, eriodictol, naringenina e genisteína causaram a principal indução (Hungria et al., 1991b).

O entendimento dos fatores envolvidos na troca de sinais moleculares entre estirpes de rizóbio e plantas hospedeiras tem proporcionado modificações nas suas interações, visando ao aumento do desempenho simbiótico (Mercante et al., 2002). Resultados experimentais têm demonstrado a possibilidade de se obterem incrementos na nodulação de diversas leguminosas, por meio de efeito sinérgico entre os compostos indutores dos genes da nodulação (*nod*, *nol* e *noe*) das bactérias. Esses indutores encontram-se nos exsudatos de sementes e raízes de espécies leguminosas hospedeiras e, até mesmo, de não hospedeiras, em concentrações variadas. Estudos conduzidos em casa de vegetação evidenciaram incrementos na nodulação inicial do feijoeiro, quando exsudatos de sementes de leguminosas arbóreas, como *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*, que foram adicionados ao inoculante rizobiano (Mercante & Franco, 2000). Em condições de campo, Mercante et al. (2012) verificaram que a adição dos exsudatos de sementes de *M. flocculosa* ao inoculante com diferentes estirpes de rizóbio aumentou o rendimento de grãos em todos os tratamentos avaliados (Figura 3).

Compatibilidade com a adubação nitrogenada

Elevados teores de N no solo, ou fertilizantes nitrogenados em excesso, frequentemente limitam o potencial de nodulação e a FBN do feijoeiro comum (Westermann et al., 1981; Rennie & Kemp, 1983b). De maneira geral, o N

mineral altera, em diferentes magnitudes, a interação rizóbio-leguminosa, como o controle da produção de flavonoides pela planta e a adesão da bactéria às raízes, além de influências no nível de infecção, desenvolvimento nodular e atividade da nitrogenase (Streeter, 1988).

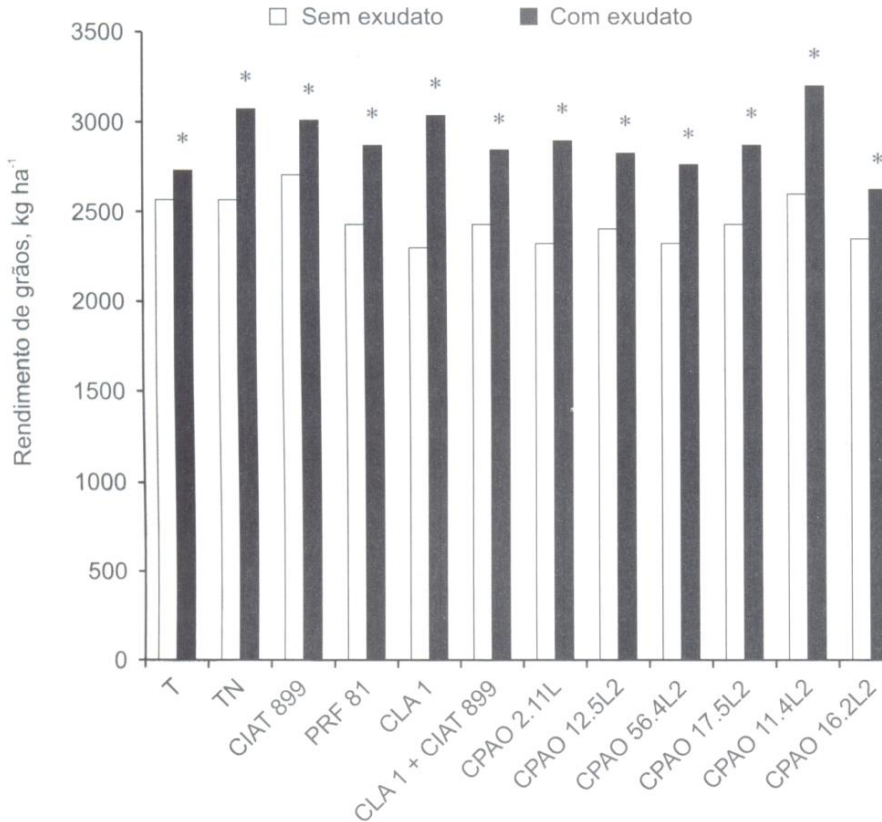


Figura 3. Rendimento de grãos de feijoeiro comum, sob diferentes fontes de N, na presença e ausência de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa*. T: Tratamento- controle (sem N e sem inoculação), TN: Testemunha nitrogenada (80 kg ha⁻¹ de N, 50 % na semente e 50 % em cobertura), CIAT 899 e PRF 81: estirpes de *Rhizobium tropici* recomendadas para produção de inoculante comercial, CLA1: estirpe de *Burkholderia phenoliruptrix* e CPAO: estirpes de rizóbio obtidas de solos de Mato Grosso do Sul. *Indica diferença significativa entre exsudatos ($p < 0,05$), dentro de cada fonte de N.

Fonte: Adaptado de Mercante et al. (2012).

Contudo, os mecanismos pelos quais o N combinado limita a nodulação ainda não são bem conhecidos. Em *Rhizobium meliloti* e *Bradyrhizobium*

japonicum, foi verificado que o efeito inibitório do N combinado na nodulação estava relacionado com a inibição da expressão dos genes *nodABC* do rizóbio (Wang & Stacey, 1990). Entretanto, a presença de N mineral no momento da indução não inibiu a expressão dos genes *nodABC* de estirpes de *R. tropici*, *R. etli* e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, apesar da nodulação de dois cultivares de feijoeiro comum terem sido inibidos, mesmo em doses baixas de N (Mercante et al., 1995). Nesse sentido, resultados experimentais demonstraram que a nodulação do feijoeiro, em vasos com solo, não foi inibida pelo suprimento de N mineral, quando as plantas foram inoculadas com determinadas estirpes de rizóbio e supridas com exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala* (Mercante & Franco, 2000). Além disso, na presença de um suprimento adequado de nutrientes, a aplicação de N estimulou a nodulação, a atividade da nitrogenase e o crescimento vegetal, indicando que um balanço adequado de nutrientes é essencial para obtenção de alta FBN no feijoeiro comum (Tsai et al., 1993).

Avaliações econômicas em ensaio conduzido em Dourados, MS, indicaram que a inoculação com a suplementação de apenas 20 kg ha⁻¹ de N propiciou acréscimo na renda líquida equivalente à aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N (Pelegrin et al., 2009). Entretanto, ainda são escassas as informações sobre ensaios de inoculação e complementação com N fertilizante, inclusive avaliando o comportamento de diferentes genótipos de feijoeiro, em particular cultivares modernos com elevados níveis de produtividade. Contudo, fica evidenciado que altos rendimentos podem ser obtidos exclusivamente via inoculação com estirpes elites de rizóbio, ou também com a complementação com doses mais baixas de N fertilizante do que as usualmente recomendadas.

Além disso, deve-se considerar que a utilização de feijoeiro comum em sistemas de consórcio e rotação de culturas com espécies não fixadoras de N₂ é constituída numa prática utilizada em muitas regiões do País. Nesses sistemas, o aproveitamento do N disponível no solo pela espécie não fixadora associada pode resultar em benefícios significativos para o desempenho do sistema de produção.

Desenvolvimento e identificação de cultivares eficientes para FBN

Historicamente, os esforços dos programas de melhoramento do feijoeiro comum no desenvolvimento de cultivares eficientes em FBN são muito modestos. Vários trabalhos relatam grande variabilidade de resposta de

diferentes cultivares de feijoeiro comum à inoculação (Döbereiner & Ruschel, 1961; Peres et al., 1994), resultando em grandes diferenças nas taxas de FBN entre cultivares (Hardarson et al., 1993). Esses fatos não são necessariamente ruins, uma vez que existem evidências sobre genótipos silvestres de feijoeiro comum altamente responsivos à nodulação (Ferreira et al., 2010) e de linhagens com capacidade de produção de grãos sob inoculação superior à condição sob adubação nitrogenada (Knupp et al., 2011; Oliveira Júnior et al., 2011).

Em uma avaliação de 720 genótipos silvestres de feijoeiro comum, Ferreira et al. (2010) observaram que aproximadamente 19 % dos genótipos apresentaram maior número de nódulos que o cultivar Ouro Negro, que foi desenvolvido para alta resposta à FBN (Henson et al., 1993), com número de nódulos por planta variando de 58 a 264 (Figura 4a). Ferreira et al. (2010) observaram também que 31 e 33 % dos genótipos silvestres apresentaram maior matéria seca e massa específica de nódulos, respectivamente, que o cultivar Ouro Negro (Figura 4b,c), indicando grande potencial desses genótipos silvestres como materiais parentais em programas de melhoramento visando à maior eficiência de FBN.

Resultados de ensaios preliminares de linhagens (EPLs) conduzidos em campo indicam que linhagens melhoradas objetivando outras características agrônômicas também apresentam repostas diferenciadas quanto à FBN. Em ensaio conduzido com 40 linhagens de feijoeiro comum tipo carioca, 18 linhagens apresentaram produção de grãos acima de 2.000 kg ha⁻¹; a produção de grãos dessas linhagens foi maior quando inoculadas, variando de 56 a 79 %, em relação ao tratamento nitrogenado (Oliveira Júnior et al., 2011).

No entanto, a identificação de cultivares mais eficientes quanto à FBN dentre aqueles já disponíveis no mercado pode ser estratégia eficiente para aumentar a permeabilidade da técnica da FBN entre os produtores em uma perspectiva de curto em médio prazo. Fageria et al. (2012), em estudo com 15 cultivares de feijoeiro comum, observaram que o máximo acúmulo de matéria seca da parte aérea foi produzido pelo cultivar Diamante Negro, enquanto o mínimo, pelo cultivar BRSMG Talismã, ocorrendo aumento de 17 % no acúmulo de matéria seca da parte aérea com a inoculação. A média da produção de grãos do tratamento inoculado foi de 9,83 g/planta, não diferindo do tratamento inoculado + 50 mg kg⁻¹ de N (Fageria et al., 2012). Em estudo com sete cultivares andinos e sete mesoamericanos, Franco et al. (2002) observaram que nenhum dos cultivares restringiu à nodulação, embora tenham sido verificadas diferenças de até 53 e 103 vezes no número e na matéria seca de nódulos/planta, respectivamente.

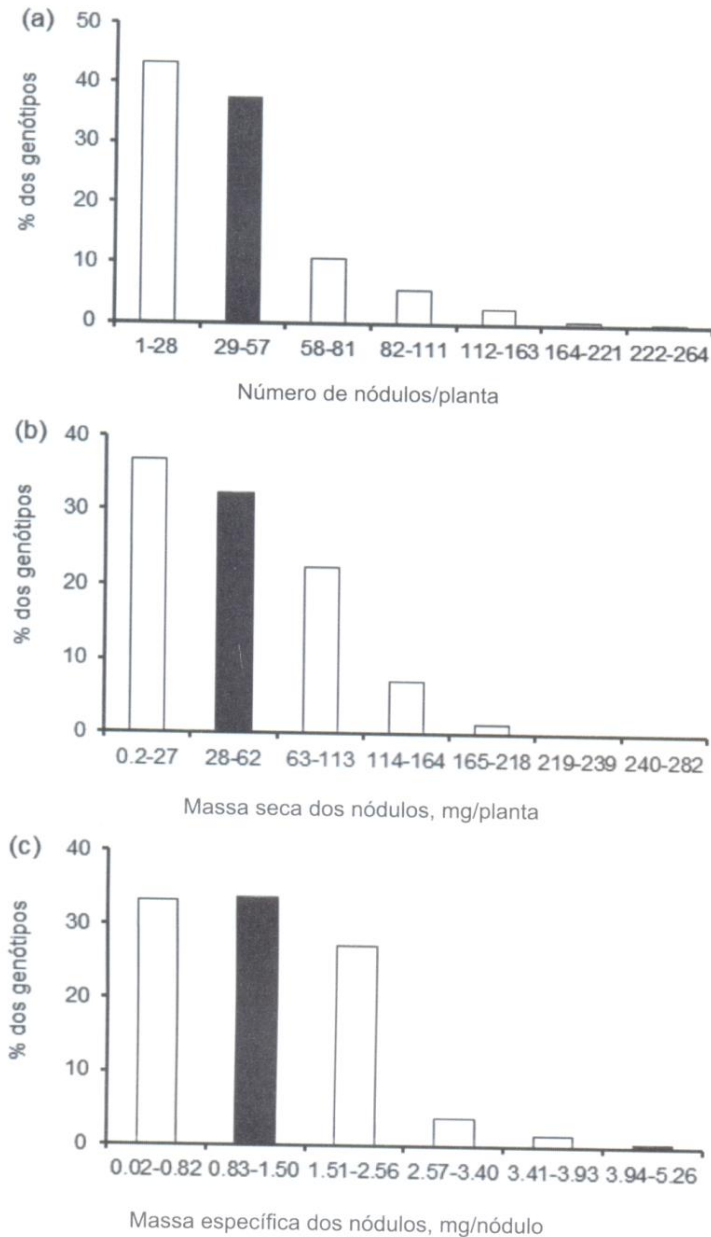


Figura 4. Distribuição percentual de genótipos silvestres de feijoeiro comum em razão de diferentes classes para número de nódulos (a), massa seca de nódulos (b) e massa específica de nódulos (c). A coluna em preto indica a classe em que se enquadra o cultivar-padrão (Ouro Negro). As classes, representadas pelas colunas, são estatisticamente diferentes entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Fonte: Adaptado de Ferreira et al. (2010).

Enriquecimento de sementes com fósforo e molibdênio

As sementes podem constituir uma fonte relevante de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento vegetal (Tyler & Zohlen, 1998). As reservas das sementes são particularmente relevantes para o Mo, nutriente que pode ser armazenado nas sementes em quantidades muitas vezes superiores à demanda vegetal durante todo ciclo de crescimento, e para o P, cujas quantidades nas sementes, mesmo que relativamente pequenas em relação à demanda vegetal total, podem influenciar no estabelecimento das plântulas e em seu crescimento posterior (Tyler & Zohlen, 1998; Grant et al., 2001). Além disto, esse suprimento de P pelas sementes não está suscetível à adsorção pelos coloides do solo e está prontamente disponível para o metabolismo vegetal, o que aumentaria seu potencial de estimulação ao crescimento nos estádios iniciais do ciclo (Thomson et al., 1991; Grant et al., 2001).

Dessa forma, o fornecimento de P e Mo por meio de sementes enriquecidas pode constituir alternativa técnica para estimular o crescimento e produtividade dos cultivos, em particular de leguminosas sob condições de FBN. Entretanto, o suprimento de P e Mo por meio de sementes, ou a produção de sementes enriquecidas com esses nutrientes, apresenta limitações. O incremento do teor de P e Mo em sementes por meio do aumento da adubação no solo pode aumentar proibitivamente o custo de produção, em virtude da forte adsorção desses elementos nos coloides do solo e da baixa eficiência da adubação fosfatada. Variando as doses de P aplicadas ao solo entre 5 e 640 mg kg⁻¹ de P, Teixeira et al. (1999) obtiveram teores de P nas sementes de feijoeiro comum entre 2,6 e 5,5 mg g⁻¹, ou seja, o aumento de duas vezes no teor de P nas sementes exigiu incrementos das aplicações de P ao solo de mais de 100 vezes.

No entanto, a adubação foliar constitui-se alternativa para elevar os teores de nutrientes nas sementes, pois não acarreta aumentos significativos no custo de produção, uma vez que pequenas quantidades de nutrientes são necessárias; essas aplicações podem ser combinadas com o controle sanitário. Após alguns ajustes das doses e épocas de aplicação foliar, foram produzidas sementes de feijoeiro comum enriquecidas com P e Mo por meio de duas aplicações foliares com 5 kg ha⁻¹ de P e 120 g ha⁻¹ de Mo, no início do estágio reprodutivo (Quadro 2). Entretanto, quando o P e o Mo foram pulverizados simultaneamente, as concentrações de Mo nas sementes foram muito inferiores às obtidas quando apenas o Mo foi aplicado (Quadro

2); isso pode sugerir uma competição entre o P e Mo durante os processos de absorção pelas folhas e transporte para os grãos, pois evidências indicam que a absorção de molibdato em células vegetais ocorre por meio dos mesmos carreadores de fosfato (Kaiser et al., 2005).

Quadro 2. Teores de P e de Mo em sementes de três cultivares de feijoeiro comum, colhidos de plantas que receberam adubação foliar com P ou Mo, ou ambos, em duas aplicações foliares de 5 kg ha⁻¹ de P e, ou, 120 g ha⁻¹ de Mo no estágio reprodutivo

Adubação foliar	Cultivar		
	Carioca	Manteigão	Rio Tibagi
	Teor de P (mg g ⁻¹)		
Com P sem Mo	2,55	2,38	2,42
Sem P com Mo	2,92	2,20	2,55
Com P sem Mo	4,09	4,06	5,11
Com P com Mo	3,60	3,49	4,25
	Teor de Mo (µg g ⁻¹)		
Baixo P baixo Mo	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Baixo P alto Mo	13,9	8,8	23,1
Alto P baixo Mo	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Alto P alto Mo	5,6	7,5	9,4

Concentrações de Mo abaixo de 0,5 g g⁻¹ de Mo não foram detectadas nas análises por espectrometria de plasma.

Fonte: Adaptado de Pacheco et al. (2012).

As primeiras evidências experimentais do efeito estimulante de sementes com alto teor de P na nodulação de leguminosas foram fornecidas por Thomson et al. (1991) em tremoço (*Lupinus spp.*) e por Teixeira et al. (1999), em feijoeiro comum. Como o suprimento limitado de P retarda o desenvolvimento da nodulação no feijoeiro comum (Araújo & Teixeira, 2000), sementes enriquecidas podem fornecer P em estádios iniciais da formação e do desenvolvimento dos nódulos (Thomson et al., 1991). Plantas de feijoeiro comum oriundas de sementes com alto teor de P são menos responsivas ao aumento das doses de P aplicada ao solo (Figura 5) (Teixeira et al., 1999), embora os efeitos do P da semente no estímulo ao crescimento e à nodulação do feijoeiro comum se reduzam com o aumento do suprimento de P no solo (Figura 5) (Araújo et al., 2002).

Os efeitos do Mo da semente sobre o crescimento e a nodulação do feijoeiro comum vêm sendo estudados desde a definição de Jacob-Neto &

Franco (1986), em que um conteúdo de 3,5 μg /semente de Mo é suficiente para atender à demanda vegetal para o ciclo de cultivo, nível de suficiência confirmado por Vieira et al. (2011). Plantas de feijoeiro comum oriundas de sementes com alto teor de Mo apresentam maior acúmulo de matéria seca e de N na parte aérea e maior atividade da nitrogenase nas raízes (Kubota et al., 2008); maior produção de grãos em solos com baixos teores de N e, na maior parte das situações, essas sementes enriquecidas tornam dispensável a aplicação adicional de Mo para garantir adequados rendimentos (Vieira et al., 2005, 2011).

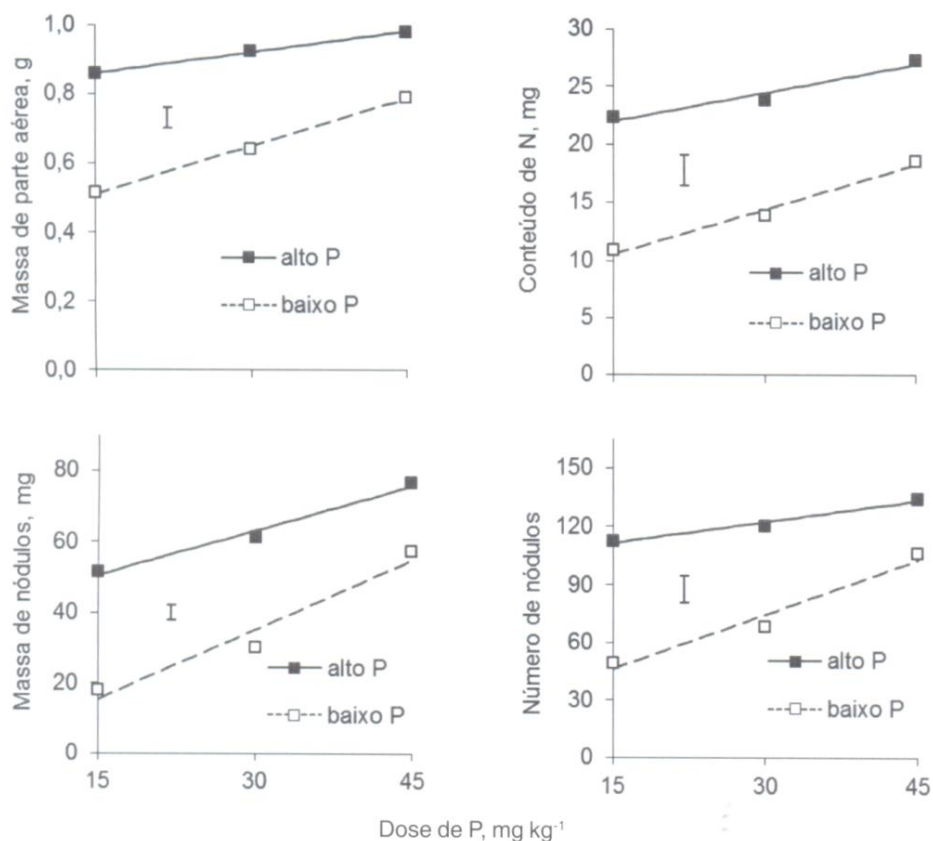


Figura 5. Matéria seca de parte aérea, conteúdo de N na parte aérea, matéria seca de nódulos e número de nódulos de plantas de feijoeiro comum originadas de sementes com baixo (□) e alto (■) teor de P, crescidas sob três doses de P aplicadas ao solo em experimento de vasos. Valores por planta, na média de três cultivares de feijoeiro comum e as barras verticais representam a diferença mínima significativa (Duncan a 5 %) e comparam teores de P na semente dentro de cada dose de P no solo.

Fonte: Adaptado de Teixeira et al. (1999).

Avaliando o efeito de sementes de feijoeiro comum enriquecidas simultaneamente com P e Mo, Chagas et al. (2010) registraram que sementes com alto teor de P aumentam a contribuição da FBN em plantas inoculadas com estirpes comerciais de rizóbio. As sementes enriquecidas com Mo também aumentaram a contribuição da FBN, mas apenas nas plantas-controle sem inoculação, na menor dose de P aplicada ao solo.

O efeito de sementes de feijoeiro comum enriquecidas com P e Mo também foi avaliado em experimentos no campo, sob diferentes fontes de N (Pacheco et al., 2012). Sementes com altos teores de P e Mo aumentaram a matéria seca de nódulos aos 30 DAE nas plantas inoculadas com rizóbio, em comparação com os demais teores de nutrientes nas sementes (Figura 6), confirmando, em condições de campo, o estímulo à nodulação do feijoeiro comum com consequência do enriquecimento das sementes com P. Para as plantas inoculadas, as sementes com baixo teor de P e alto de Mo aumentaram a produção de grãos, em comparação às com baixo teor de P e baixo de Mo, bem como com alto teor de P e baixo de Mo (Figura 6). Esse maior efeito das sementes com baixo teor de P e alto de Mo no rendimento de grãos foi atribuído ao seu maior teor de Mo (Quadro 2) (Pacheco et al., 2012). Em três experimentos de campo, as sementes enriquecidas com P e Mo aumentaram o rendimento de grãos do feijoeiro comum em 49, 6 e 10 %, em comparação com as não enriquecidas, na média das diferentes fontes de N avaliadas; esses aumentos de rendimentos vieram acompanhados de maior acumulação de N nos grãos, maior número de vagens por planta e maior índice de colheita (Pacheco et al., 2012).

Essas evidências demonstram que sementes enriquecidas com P e Mo, associadas à inoculação com estirpes selecionadas de rizóbio, podem estimular a nodulação e FBN no feijoeiro comum, assim como aumentar o crescimento e rendimento de grãos, particularmente em condições de menor disponibilidade de P no solo. Entretanto, alguns ajustes técnicos ainda são necessários para viabilizar a produção de sementes enriquecidas simultaneamente com P e Mo por meio da adubação foliar.

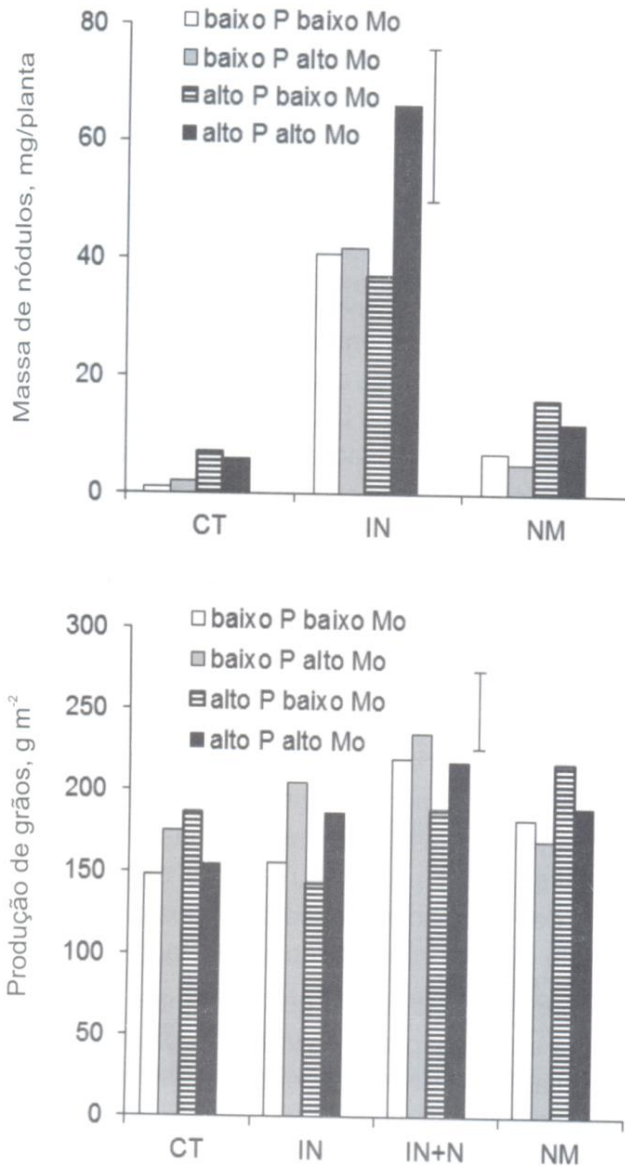


Figura 6. Matéria seca de nódulos aos 30 dias após emergência e produção de grãos do cultivar Carioca originado de sementes com baixos ou altos teores de P e Mo, submetidas a quatro fontes de N (CT: controle, IN: inoculado com rizóbio, IN+N: inoculado + 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura, NM: 20 kg ha⁻¹ de N no plantio + 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura); médias de cinco repetições. As barras verticais representam a diferença mínima significativa (Duncan a 5 %) e comparam teores nas sementes dentro de cada fonte de N.

Fonte: Adaptado de Pacheco et al. (2012).

Uso de ferramentas moleculares nos estudos da interação entre rizóbio e feijoeiro

A área de biologia vegetal tem alcançado grandes avanços após o sequenciamento completo do genoma de espécies como *Arabidopsis thaliana* (AGI, 2000), arroz (Yu et al., 2002) e soja (Schmutz et al., 2010) e diversos projetos de Genômica Funcional em espécies de interesse agrônomico. A rápida expansão no campo da genômica fornece excelente oportunidade para se avaliar de maneira coordenada e simultânea a expressão e função de milhares de genes, incluindo os genes relacionados com as etapas do processo de FBN. Grande número de genes do feijoeiro comum e do rizóbio envolvidos com a simbiose já foram identificados (Vercruysse et al., 2011) e, dependendo da estirpe utilizada para inoculação, pode haver alteração no programa genético da planta ativado durante a simbiose, com a expressão de determinados genes em interações mais eficientes (Meschini et al., 2008). Entretanto, a repressão de genes como a trealase (PvTRE1) pode provocar aumento na massa dos nódulos, no número de bacteroides, nos nódulos e no teor de trealose (Barraza et al., 2013), tendo impacto positivo na interação simbiótica e FBN no feijoeiro comum. Interessantemente, a superexpressão do gene NF-YC1 teve efeito negativo na formação dos nódulos em acesso de feijão Alubia, independentemente da estirpe de *R. etli* inoculada, sugerindo que a variação transcricional e funcional de NF-YC1 ocorre entre acessos geneticamente distintos de feijoeiro comum, podendo contribuir de forma positiva ou negativa com o mecanismo de regulação fina, responsável pela formação dos nódulos na simbiose feijão-*R. etli* (Mazziotta et al., 2012).

Recentemente, a utilização de uma nova geração de sequenciadores de DNA tem permitido a obtenção de sequências em larga escala. Essa abordagem tem permitido os estudos de transcriptoma em diversas espécies, incluindo o feijoeiro comum (Kalavacharla et al., 2011). Certamente, essas sequências podem contribuir na identificação dos genes mais importantes para a formação e o desenvolvimento dos nódulos, bem como para o processo de FBN no feijoeiro comum, além de possibilitar a busca de marcadores moleculares que possam ser utilizados nos programas de melhoramento genético da cultura.

PERSPECTIVAS DE AUMENTO DA EFICIÊNCIA DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM FEIJOEIRO COMUM

Nos últimos anos, diversas estratégias têm sido conduzidas em trabalhos de pesquisa visando ultrapassar barreiras que contribuem para a ocorrência de resultados não consistentes da inoculação com rizóbio no feijoeiro comum em condição de campo, incrementando o potencial simbiótico da cultura, incluindo: seleção de rizóbios mais adaptados às condições locais, com foco na estabilidade genética e tolerância a estresses ambientais (Pinto et al., 2007); identificação de germoplasma vegetal mais responsivo à FBN (Ferreira et al., 2010); compatibilidade da inoculação de rizóbio com fungicidas no tratamento de sementes (Mercante et al., 2010); novas formulações e novos veículos de inoculantes microbianos (Fernandes Júnior et al., 2012); uso de bioinsumos (aditivos) para incrementos da nodulação (Mercante et al., 2010), além da coinoculação de microrganismos multifuncionais, como bactérias promotoras do crescimento vegetal (Yadegari et al., 2010).

O estágio tecnológico alcançado atualmente em relação à FBN no feijoeiro comum, resultante de anos de pesquisa voltados, principalmente, à seleção de estirpes de rizóbio mais eficientes e competitivas, com elevada estabilidade genética e tolerantes a estresses ambientais, permite a substituição, ainda que parcial, do N fertilizante usado na cultura, garantindo produtividades acima de 2.500 kg ha^{-1} . A seleção de estirpes é um processo-chave para o sucesso da FBN no feijoeiro comum e, portanto, deve ser feita de forma contínua, visando à identificação de rizóbios eficientes, em razão de especificidades locais, associadas às condições edafoclimáticas, cultivares utilizados e particularidades inerentes ao manejo estabelecido no sistema produtivo. Além disso, as interações entre os novos inoculantes, diferentes genótipos de plantas e sistemas de produção também necessitam de investigação, com o objetivo de gerar informações necessárias para aumentar a consistência dos resultados alcançados com a utilização da inoculação e, conseqüentemente, o estabelecimento da técnica, estimulando sua adoção pelo produtor.

Considerando o acúmulo de conhecimento e os esforços empregados por várias instituições de pesquisa e universidades do País, é possível vislumbrar um cenário mais favorável à utilização da técnica de inoculação do feijoeiro comum com bactérias fixadoras de N_2 nos próximos anos. Nesse sentido, há necessidade de contínua busca por bactérias mais eficientes,

identificação de genótipos e desenvolvimento de cultivares mais responsivos à FBN e utilização de sistemas de manejo mais conservacionistas. Além disso, o emprego de novas abordagens, como a metagenômica, aplicadas ao estudo da diversidade e função dos microrganismos do solo, e a genômica funcional, associadas ao sequenciamento de DNA em larga escala, serão fundamentais para ampliar o entendimento da complexidade da comunidade microbiana, bem como a identificação dos componentes genéticos da planta e bactéria, importante para efetiva associação simbiótica em condições tropicais. A ampliação do entendimento desses mecanismos será importante para o desenvolvimento de novos cultivares, novas estirpes e estratégias de inoculação, que possivelmente permitirão substituir todo o fertilizante nitrogenado usado na cultura do feijoeiro comum, sem comprometimento de seu potencial produtivo, resultando em maior sustentabilidade para a cultura, economia para o produtor e para o Brasil.

LITERATURA CITADA

- ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE - AGI. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. Nature, 408:796-815, 2000.
- AGUILAR, O.M.; RIVA, O. & PELTZER, E. Analysis of *Rhizobium etli* and of its symbiosis with wild *Phaseolus vulgaris* supports coevolution in centers of host diversification. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 101:13548-13553, 2004.
- ALMEIDA, J.P.F.; HARTWIG, U.A.; FREHNER, M.; NÖSBERGER, J. & LÜSCHER, A. Evidence that P deficiency induces N feedback regulation of symbiotic N₂ fixation in white clover (*Trifolium repens* L.). J. Exp. Bot., 51:1289-1297, 2000.
- AMARGER, N.; MACHERET, V. & LAGUERRE, G. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. Inter. J. Syst. Bacteriol., 47:996-1006, 1997.
- ANDRADE, D.S.; MURPHY, P.J. & GILLER, K.E. The diversity of *Phaseolus*-nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. Appl. Environ. Microbiol., 68:4025-4034, 2002.
- ANYANGO, B.; WILSON, K.J.; BEYMON, J.L. & GILLER, K.E. Diversity of rhizobia nodulating *Phaseolus vulgaris* L. in Kenyan soils with contrasting pHs. Appl. Environ. Microbiol., 61:4016-4021, 1995.
- ARAÚJO, A.P. & TEIXEIRA, M.G. Ontogenetic variations on absorption and utilization of phosphorus in common bean cultivars under biological nitrogen fixation. Plant Soil, 225:1-10, 2000.
- ARAÚJO, A.P.; TEIXEIRA, M.G. & LIMA, E.R. Efeitos do aumento do teor de fósforo na semente, obtido via adubação foliar, no crescimento e na nodulação do feijoeiro. R. Bras. Ci. Solo, 26:183-189, 2002.

- ARAÚJO, A.S.F. & ARAÚJO, R.S. Sobrevivência e nodulação de *Rhizobium tropici* em sementes de feijão tratadas com fungicidas. *Ci. Rural*, 36:973-976, 2006.
- BARRAZA, A.; ESTRADA-NAVARRETE, G.; RODRIGUEZ-ALEGRIA, M.E.; LOPEZ-MUNGUÍA, A.; MERINO, E.; QUINTO, C. & SANCHEZ, F. Down-regulation of PvTRE1 enhances nodule biomass and bacteroid number in the common bean. *New Phytol.*, 197:194-206, 2013.
- BARRADAS, C.A. & HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* feijoeiro. I-precocidade para nodulação e fixação da nitrogênio. *Turrialba*, 39:236-242, 1989.
- BLISS, F.A.; PEREIRA, P.A.A.; ARAÚJO, R.S.; HENSON, R.A.; KINIECK, K.A.; McFERSON, J.R.; TEIXEIRA, M.G. & SILVA, C.C. Registration of five high nitrogen fixing common bean germplasm lines. *Crop Sci.*, 29:240-241, 1989.
- BODDEY, R.M.; MÜLLER, S.H. & ALVES, B.J.R. Estimation of the contribution of biological N₂ fixation to two *Phaseolus vulgaris* genotypes using simulation of plant nitrogen uptake from ¹⁵N-labelled soil. *Fert. Res.*, 45:169-185, 1996.
- BRODRICK, S.J. & GILLER, K.E. Root nodules of *Phaseolus*: Efficient scavengers of molybdenum for N₂-fixation. *J. Exp. Bot.*, 42:679-686, 1991.
- CALVACHE, A.M. & REICHARDT, K. Efeito de épocas de deficiência hídrica na eficiência do uso do nitrogênio da cultura do feijão cv. Imbabello. *Sci. Agric.*, 53:342-353, 1996.
- CHACÓN, S.M.I.; PICKERSGILL, B. & DEBOUCK, D.G. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theor. Appl. Genet.*, 110:432-444, 2005.
- CHAGAS, E.; ARAÚJO, A.P.; ALVES, B.J.R. & TEIXEIRA, M.G. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by ¹⁵N isotope dilution. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:1093-1101, 2010.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Safras séries históricas feijão. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 21 dez. 2012.
- DANIEL, M.; PIERRE, F.; RUBEN, L.; ANA, Z.; ALAIN, P.; CESAR, A.I. & ESTHER, M.G. Nitrogen fixation control under drought stress. Localized or Systemic? *Plant Physiol.*, 143:1968-1974, 2007.
- DAY, J.M.; ROUGHLEY, R.J.; EAGLESHAM, A.R.J.; DYE, M. & WHITE, S.P. Effect of high soil temperature on nodulation of cowpea, *Vigna unguiculata*. *Ann. App. Biol.*, 88:476-481, 1978.
- DEVI, M.J.; SINCLAIR, T.R.; BEEBE, S.E. & RAO, I.M. Comparison of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes for nitrogen fixation tolerance to soil drying. *Plant Soil*. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11104-012-1330-4>>.
- DÖBEREINER, J. & RUSCHEL, A.P. Fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). I- Influência do solo e da variedade. Rio de Janeiro, Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, 1961. 16p. (IEEA, Comunicado Técnico, 10)
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Mapa de Solos do Brasil 2011. Disponível em: <<http://sosgisbr.com/2012/06/04/mapa-de-solos-do-brasil-2011-embropa/>>. Acesso em 2 out. 2012.

- FAGERIA, N.K.; MELO, L.C.; FERREIRA, E.P.B. & KNUP, A.M. Resposta de genótipos de feijão à aplicação de nitrogênio e rizóbio. In: FERTBIO2012. REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 30., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 14., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 12., SIMPÓSIO SOBRE SELÊNIO NO BRASIL, 1., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 9., Maceió, 2012. Anais... Maceió, 2012.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>. Acesso em 29 ago. 2012.
- FERNANDES JÚNIOR, P.I.; SILVA JÚNIOR, E.B.; SILVA JÚNIOR, S.; SANTOS, C.E.R.S.; OLIVEIRA, P.J.; RUMJANEK, N.G.; MARTINS, L.M.V. & XAVIER, G.R. Performance of polymer compositions as carrier to cowpea rhizobial inoculant formulations: survival of rhizobia in pre-inoculated seeds and field efficiency. *Afr. J. Biotechnol.*, 11:2945-2951, 2012.
- FERREIRA, E.P.B.; BARBOSA, L.H.A.; KNUPP, A.M.; MATA, W.M.; WENDLAND, A.; DIDONET, A.G.; MELO, L.C. & PELOSO, M.J. Identification of high nodulation efficiency among wild genotypes of common beans. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.*, 53:170-171, 2010.
- FIRMIN, J.L.; WILSON, K.E.; ROSSEN, L. & JOHNSTON, A.W.B. Flavonoid activation of nodulation genes in *Rhizobium* reversed by other compounds present in plants. *Nature*, 324:90-92, 1986.
- FRANCO, A.A. & DÖBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium*-feijão e influência de diferentes nutrientes. *Pesq. Agropec. Bras.*, 2:467-474, 1967.
- FRANCO, M.C.; CASSINI, S.T.A.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C. & TSAI, S.M. Nodulação em cultivares de feijão dos conjuntos gênicos andino e meso-americano. *Pesq. Agropec. Bras.*, 37:1145-1150, 2002.
- FRED, E.B.; BALDWIN, I.L. & MCCOY, E. Root nodule bacteria of leguminous plants. Madison, The University of Wisconsin Press, 1932. 343p.
- FREITAS, F.O. Evidências genético-arqueológicas sobre a origem do feijão comum no Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41:1199-1203, 2006.
- GEPTS, P.; OSBORN, T.C.; RASHKA, K. & BLISS, F.A. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.*, 40:451-468, 1986.
- GEPTS, P.; KMIĘCIK, K.; PEREIRA, P. & BLISS, F.A. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. I. The Americas *Econ. Bot.*, 42:73-85, 1988.
- GIRARD, M.L.; FLORES, M.; BROM, S.; ROMERO, D.; PALÁCIOS, R. & DÁVILA, G. Structural complexity of the symbiotic plasmid of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. *J. Bacteriol.*, 173:2411-2419, 1991.
- GITTI, D.C.; ARF, O.; KANECO, F.H.; RODRIGUES, R.A.F.; BUZZETTI, S.; PORTUGAL, J.R. & CORSINI, D.C.D.C. Inoculação de *Azospirillum brasilense* em cultivares de feijões cultivados no inverno. *Agrarian*, 5:36-46, 2012.
- GOMES, D.F.; BATISTA, J.S.S.; SCHIAVON, DIVA, A.L.; ANDRADE, S. & HUNGRIA, M. Proteomic profiling of *Rhizobium tropici* PRF 81: Identification of conserved and

specific responses to heat stress. *BMC Microbiol.*, 12:84, 2012.

- GRAHAM, P.H. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: A review. *Field Crop Res.*, 4:93-112, 1981.
- GRANGE, L. & HUNGRIA, M. Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobia in two Brazilian ecosystems. *Soil Biol. Biochem.*, 36:1389-1398, 2004.
- GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P.H. & MARTINEZ-ROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. *Soil Biol. Biochem.*, 39:867-876, 2007.
- GRANT, C.A.; FLATEN, D.N.; TOMASIEWICZ, D.J. & SHEPPARD, S.C. The importance of early season phosphorus nutrition. *Can. J. Plant Sci.*, 81:211-224, 2001.
- GUENE, N.F.D.; DIOUF, A. & GUEYE, M. Nodulation and nitrogen fixation of field grown common bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by fungicide seed treatment. *Afr. J. Biotechnol.*, 2:198-201, 2003.
- GUIMARÃES, C.M.; STONE, L.F. & BRUNINI, O. Adaptação do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) à seca. *R. Bras. Eng. Agric. Amb.*, 10:70-75, 2006.
- GUPTA, U.C. & LIPSETT, J. Molybdenum in soils, plants and animals. *Adv. Agron.*, 34:73-115, 1981.
- HAFEEZ, F.Y.; ASAD, S. & MALIK, K.A. The effect of high temperature on vigna radiata nodulation and growth with different bradyrhizobial strains. *Environ. Exp. Bot.*, 31:285-294, 1991.
- HARDARSON, G.; BLISS, F.A.; GIGALES-RIVERO, M.R.; HENSON, R.A.; KIPE-NOLT, J.A.; LONGERI, L.; MANRIQUE, A.; PEÑA-CABRIALES, J.J.; PEREIRA, P.A.A.; SANABRIA, C.A. & TSAI, S.M. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. *Plant Soil*, 159:59-70, 1993.
- HARTWIG, U.A.; MAXWELL, C.A.; JOSEPH, C.M. & PHILLIPS, D.A. Chrysoeriol and luteolin released from alfalfa seeds induce *nod* genes in *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiol.*, 92:116-122, 1990.
- HENSON, R.A.; PEREIRA, P.A.A.; CARNEIRO, J. E.S. & BLISS, F.A. Registration of "Ouro Negro" a high dinitrogen-fixing high-yielding common bean. *Crop Sci.*, 33:644, 1993.
- HERNANDEZ-ARMENTA, R.; WIEN, H.C. & EAGLESHAM, A.R.J. Maximum temperature for nitrogen-fixation in common bean. *Crop Sci.*, 29:1260-1265, 1989.
- HUANG, B. & XU, C. Identification and characterization of proteins associated with plant tolerance to heat stress. *J. Integ. Plant Biol.*, 50:1230-1237, 2008.
- 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 Physiol.*, 97:751-758, 1991a.
- HUNGRIA, M.; JOSEPH, C.M. & PHILLIPS, D.A. *Rhizobium nod* gene inducers exuded naturally from roots of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Physiol.*, 97:759-764, 1991b.
- HUNGRIA, M.; JOHNSTON, A.W.B. & PHILLIPS, D.A. Effects of flavonoids released naturally

- from bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on *nodD*-regulated gene transcription in *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. *Molec. Plant-Microbe Interact.*, 5:199-203, 1992.
- HUNGRIA, M. & ARAUJO, R.S. Relato da VI Reunião de laboratórios para recomendação de estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* In: HUNGRIA, M.; BALOTA, E.L.; COLOZZI-FILHO, A. & ANDRADE, D.S., eds. *Microbiologia do solo: Desafios para o século XXI*. Londrina, IAPAR/Embrapa-CNPSo, 1995. p.476-489.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. & ARAÚJO, R.S. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro: In: VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M., eds. *Biologia dos solos dos cerrados*. Planaltina, Embrapa-CPAC, 1997. p.189-294.
- HUNGRIA, M. & VARGAS, M.A.T. Environmental factors impacting N₂ fixation in legumes grown in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crop Res.*, 65:151-164, 2000.
- 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 Biol. Biochem.*, 32:1515-1528, 2000.
- 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. *Biol. Fert. Soils*, 39:88-93, 2003a.
- HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. & SPRENT, J.I. New sources of high-temperature tolerant rhizobia for *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil*, 149:103-109, 2003b.
- HUNGRIA, M. & FRANCO, A.A. Effects of high temperatures on nodulation and N₂ fixation by *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil*, 149:95-102, 2003.
- HUNGRIA, M.; LOUREIRO, M.F.; MENDES, I.C.; CAMPO, R.J. & GRAHAM, P.H. Inoculant preparation, production and application. In: WERNER, D. & NEWTON, W.E., eds. *Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology and the environment*. Amsterdam, Springer, 2005. p.223-253.
- 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. 80p. (Documentos, 283)
- ISRAEL, D.W. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiol.*, 84:835-840, 1987.
- JACOB-NETO, J. & FRANCO, A.A. Conteúdo de molibdênio nas sementes para auto-suficiência do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *An. Acad. Bras. Ci.*, 58:508, 1986.
- JORDAN, D.C. *Rhizobiaceae* Conn 1938. In: KRIEG, N.R. & HOLT, J.G., eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore/London, Williams & Wilkins, 1984. p.235-244.
- KAISER, B.N.; GRIDLEY, K.L.; BRADY, J.N.; PHILLIPS, T. & TYERMAN, S.D. The role of molybdenum in agricultural plant production. *Ann. Bot.*, 96:745-754, 2005.
- KALAVACHARLA, V.; LIU, Z.; MEYERS, B.C.; THIMMAPURAM, J. & MELMAIEE, K. Identification and analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptomes by massively parallel pyrosequencing. *BMC Plant Biol.*, 11:135, 2011.
- KAPLAN, L. What is the origin of the common bean? *Econ. Bot.*, 35:240-254, 1981.

- KNUPP, A.M.; FERREIRA, E.P.B.; PEREIRA, H.S.; WENDLAND, A. & MELO, L.C. Resposta de genótipos de feijão preto à inoculação com *Rhizobium tropici*. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2011, Goiânia. Anais... Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2011.
- KRISHNAN, H.B.; KUO, C.L. & PUEPPKE, S.G. Elaboration of flavonoid-induced proteins by the nitrogenfixing soybean symbiont *Rhizobium fredii* is regulated by both nodD1 and nodD2, and is dependent on the cultivar-specificity locus, nolXWBTUV. *Microbiology*, 141:2245-2251, 1995.
- KUBOTA, F.Y.; ANDRADE NETO, A.C.; ARAÚJO, A.P. & TEIXEIRA, M.G. Crescimento e acumulação de nitrogênio de plantas de feijoeiro originadas de sementes com alto teor de molibdênio. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:1635-1641, 2008.
- MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, E.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A.; GRAHAM, P.H. & PARDO, M.A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. *Inter. J. Syst. Bacteriol.*, 41:417-426, 1991.
- MAZZIOTTA, L.; REYNOSO, M.A.; AGUILAR, O.M.; BLANCO, F.A. & ZANETTI, M.E. Transcriptional and functional variation of *NF-YC1* in genetically diverse accessions of *Phaseolus vulgaris* during the symbiotic association with *Rhizobium etli*. *Plant Biol.*, 05 nov. 2012. doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00683.x.
- MENDEL, R.R. & HÄNSCH, R. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *J. Exp. Bot.*, 53:1689-1698, 2002.
- 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. *R. Bras. Ci. Solo*, 18:421-426, 1994.
- MENDES, I.C.; HUNGRIA, M.; STRALLIOTO, R. & REIS JUNIOR, F.B. Bean response to reinoculation with *Rhizobium* strains in Brazilian Cerrados soils. In: XX RELAR, 2004, Miguel Pereira. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 2004.
- MERCANTE, F.M. Uso de *Leucaena leucocephala* na obtenção de *Rhizobium* tolerante a temperatura elevada para inoculação do feijoeiro. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rural do Rio de Janeiro, 1993. 194p. (Dissertação de Mestrado)
- MERCANTE, F.M.; CUNHA, C.O.; STRALIOTTO, R.; MARTINS, L.M.V.; FRANCO, A.A. & RUMJANEK, N.G. Efeito do nitrogênio mineral na troca de sinais moleculares durante o processo de infecção das raízes do feijoeiro por *Rhizobium*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 25., Viçosa, MG, 1995. Resumos...Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1995. v.1. p.495-497.
- MERCANTE, F.M. & FRANCO, A.A. Expressão dos genes *nod* de *Rhizobium tropici*, *R. etli* e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e estabelecimento da nodulação do feijoeiro na presença de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:301-310, 2000.
- MERCANTE, F.M.; GOI, S.R. & FRANCO, A.A. Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbio. *R. Univ. Rural*, 22:65-81, 2002.
- 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 DE SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27., Bonito, MS, 2006. Fertbio

- 2006: A busca das raízes. Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. CD ROM
- MERCANTE, F.M.; MORETTO, H.J.N.; TARASIUK, V.A. & GOULART, A.C.P. Efeitos de fungicidas na nodulação de feijoeiros inoculados com *Rhizobium tropici*. In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES MICROBIOLÓGICOS DE INTERESSE AGRÍCOLA, 14. Bonito, MG, 2008. Anais... Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. p.50-51.
- MERCANTE, F.M.; SILVA, R.F. & OTSUBO, A.A. Aumento da produtividade do feijoeiro pela adição de aditivo ao inoculante microbiano. In: MERCANTE, F.M. & LIMA FILHO, O.F., orgs. REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES MICROBIOLÓGICOS DE INTERESSE AGRÍCOLA, Brasília, 2012. Anais... Brasília, Embrapa, 2012. p.39-40.
- MESCHINI, E.P.; BLANCO, F.A.; ZANETTI, M.E.; BEKER, M.P.; KÜSTER, H.; PÜHLER, A. & AGUILAR, O.M. Host genes involved in nodulation preference in common bean (*Phaseolus vulgaris*)-*Rhizobium etli* symbiosis revealed by suppressive subtractive hybridization. *Molec. Plant-Microbe Interact.*, 21:459-468, 2008.
- MICHELIS, J.; VERRETH, C. & VANDERLEYDEN, J. Effects of temperature stress on bean-nodulating *Rhizobium* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60:1206-1212, 1994.
- MOHAMMADI, K.; SOHRABI, Y.; HEIDARI, G. & KHALESRO, S. Effective factors on biological nitrogen fixation. *Afr. J. Agric. Res.*, 7:1782-1788, 2012.
- MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F.L.; DIAS, B.G.; VARGAS, M.A.T. & HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. *Field Crop Res.*, 73:121-132, 2002.
- MUÑOZ-PEREA, C.G.; TERÁN, H.; ALLEN, R.G.; WRIGHT, J.L.; WESTERMANN, D.T. & SINGH, S.P. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Sci.*, 46:2111-2120, 2006.
- NEHRA, K.; YADAV, A.S.; SEHRAWAT, A.R. & VASHISHAT, R.K. Characterization of heat resistant mutant strains of *Rhizobium* sp. [Cajanus] for growth, survival and symbiotic properties. *Indian J. Microbiol.*, 47:329-335, 2007.
- O'HARA, G.W. Nutritional constraints on root nodule bacteria affecting symbiotic nitrogen fixation: a review. *Aust. J. Exp. Agric.*, 41:417-433, 2001.
- OLIVERA, M.; TEJERA, N.; IRIBARNE, C.; OCAÑA, A. & LLUCH, C. Growth, nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of phosphorus. *Physiol. Plant.*, 121:498-505, 2004.
- OLIVEIRA JÚNIOR, M.J.; FERREIRA, E.P.B.; KNUPP, A.M.; PEREIRA, H.S.; WENDLAND, A. & MELO, L.C. Inoculação de genótipos de feijão carioca com bactérias diazotróficas. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2011, Goiânia. Anais... Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2011.
- PACHECO, R.S.; BRITO, L.F.; STRALIOTTO, R.; PÉREZ, D.V. & ARAÚJO, A.P. Seeds enriched with phosphorus and molybdenum as a strategy for improving grain yield of common bean crop. *Field Crop Res.*, 136:97-106, 2012.
- PARKER, M.B. & HARRIS, H.B. Yield and leaf nitrogen of nodulating and nonnodulating soybean as affected by nitrogen and molybdenum. *Agron. J.*, 69:551-554, 1977.

- 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. R. Bras. Ci. Solo, 33:219-226, 2009.
- PEÑA-CABRIALES, J.J. & ALEXANDER, M. Survival of *Rhizobium* in soil undergoing drying. Soil Sci. Soc. Am. J., 43:962-966, 1979.
- PERES, J.R.R.; SUHET, A.R.; MENDES, I.C. & VARGAS, M.A.T. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em um solo de cerrados. R. Bras. Ci. Solo, 18:415-420, 1994.
- PETERS, N.K.; FROST, J.W. & LONG, S.R. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. Science, 233:977-980, 1986.
- PINTO, P.P.; RAPOSEIRAS, R.; MACEDO, A.M.; SELDIN, L.; PAIVA, E. & SÁ, N.M.H. Effects of high temperature on survival, symbiotic performance and genomic modifications of bean nodulating *Rhizobium* strains. R. Microbiol., 29:295-300, 1998.
- PINTO, F.G.S.; HUNGRIA, M. & MERCANTE, F.M. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Soil Biol. Biochem., 39:1851-1864, 2007.
- PORCH, T.G. Application of stress indices for heat tolerance screening of common bean. J. Agron. Crop Sci., 192:390-394, 2006.
- RAMÍREZ-BAHENA, 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 1889^{AL}, *Rhizobium phaseoli* Dangeard 1926^{AL} and *Rhizobium trifolii* Dangeard 1926^{AL}. *R. trifolii* is a later synonym of *R. leguminosarum*. Reclassification of the strain *R. leguminosarum* DSM 30132 (=NCIMB 11478) as *Rhizobium pisi* sp. nov. Inter. J. Syst. Evol. Microbiol., 58:2484-2490, 2008.
- REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO DE ESTIRPES DE *Rhizobium* - RELARE. Ata da I Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de *Rhizobium*. Curitiba, 1985. 9p.
- REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO DE ESTIRPES DE *Rhizobium* - RELARE. Ata da XII Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE). Londrina, 2005.
- RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂ fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotopic dilution I. Effect of strain of *Rhizobium phaseoli*. Agron. J., 75:640-644, 1983a.
- RENNIE, R.J. & KEMP, G.A. N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. II. Effects of cultivars of beans. Agron. J. 75:645-649, 1983b.
- 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. Int. J. Syst. Evol. Microbil., 2:1180-1185, 2012.
- ROLFE, B.G. Flavones and isoflavones as inducing substances of legume nodulation. Biofactors, 1:3-10, 1988.

- SÁ, T.M. & ISRAEL, D.W. Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules. *Plant Physiol.*, 97:928-935, 1991.
- SANCHEZ, P.A. & LOGAN, T.J. Myths and science about the chemistry and fertility of soils in the tropics. In: LAL, R. & SANCHEZ, P.A., eds. Myths and science of soils of the tropics. Madison, Soil Science Society of America, 1992. p.35-46. (SSSA Special Publication, 29)
- SCHMUTZ, J.; CANNON, S.B.; SCHLUETER, J.; MA, J.; MITROS, T.; NELSON, W.; HYTEN, D.L.; SONG, Q.; THELEN, J.J.; CHENG, J.; XU, D.; HELLSTEN, U.; MAY, G.D.; YU, Y.; SAKURAI, T.; UMEZAWA, T.; BHATTACHARYYA, M.K.; SANDHU, D.; VALLIYODAN, B.; LINDQUIST, E.; PETO, M.; GRANT, D.; SHU, S.; GOODSTEIN, D.; BARRY, K.; FUTRELL-GRIGGS, M.; ABERNATHY, B.; DU, J.; TIAN, Z.; ZHU, L.; GILL, N.; JOSHI, T.; LIBAULT, M.; SETHURAMAN, A.; ZHANG, X.C.; SHINOZAKI, K.; NGUYEN, H.T.; WING, R.A.; CREGAN, P.; SPECHT, J.; GRIMWOOD, J.; ROKHSAR, D.; STACEY, G.; SHOEMAKER, R.C. & JACKSON, S.A. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463:178-83, 2010.
- SEGOVIA, L.; YOUNG, J.P.W. & MARTÍNEZ-ROMERO, E. Reclassification of American *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* type I strains as *Rhizobium etli* sp. nov. *Inter. J. Syst. Bacteriol.*, 43:374-377, 1993.
- SILVA, J.D.C.; BRITO, L.F.; FERREIRA, E.P.B. & STRALIOTTO, R. Avaliação do potencial simbiótico de cultivares de feijoeiro em combinação com estirpes elite de rizóbio. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2011, Goiânia. Anais... Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 2011.
- SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; RUMJANEK, N.G. & MARGIS-PINHEIRO, M. Small heat shock proteins genes are differentially expressed in distinct varieties of common bean. *Braz. J. Plant Physiol.*, 15:33-41, 2003.
- SINGH, S.P. Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common bean. *Crop Sci.*, 35:118-124, 1995.
- STEFANOVA, D.; PETKOVAB, V. & DENEVC, I.D. Screening for heat tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines and cultivars using JIP-test. *Sci. Hortic.*, 128:1-6, 2011.
- STOCCO, P.; SANTOS, J.C.P.; VARGAS, V.P. & HUNGRIA, M. Avaliação da biodiversidade de rizóbios simbiotes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em Santa Catarina. *R. Bras. Ci. Solo*, 32:1107-1120, 2008.
- STOUGAARD, J. Regulators and regulation of legume root nodule development. *Plant Physiol.*, 124:531-540, 2000.
- STREETER, J. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 7:1-23, 1988.
- STRALIOTTO, R.; CUNHA, C.O.; MERCANTE, F.M.; FRANCO, A.A. & RUMJANEK, N.G. Diversity of rhizobia nodulating common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) isolated from Brazilian tropical soils. *An. Acad. Bras. Ci.*, 71:3-11, 1999.
- TAJINI, F.; TRABELSI, M. & DREVON, J-J. Comparison between the reference *Rhizobium tropici* CIAT899 and the native *Rhizobium etli* 12a3 for some nitrogen fixation parameters in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress. *Afr. J.*

- Microbiol. Res., 6:4058-4067, 2012.
- TALBI, C.; SÁNCHEZ, C.; HIDALGO-GARCIA, A.; GONZÁLEZ, E.M.; ARRESE-IGOR, C.; GIRARD, L.; BEDMAR, E.J. & DELGADO, M.J. Enhanced expression of *Rhizobium etli* *cbb₃* oxidase improves drought tolerance of common bean symbiotic nitrogen fixation. J. Exp. Bot., 63:5035-43, 2012.
- TAIZ, L. & ZIEGER, E. Fisiologia vegetal. 3.ed. Porto Alegre, Artemed, 2004. p.719.
- TAN, Z.X.; LAL, R. & WIEBE, K.D. Global soil nutrient depletion and yield reduction. J. Sustain. Agric., 26:123-146, 2005.
- TEIXEIRA, M.G.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; ARAÚJO, A.P. & FRANCO, A.A. Effect of seed phosphorus concentration on nodulation and growth of three common bean cultivars. J. Plant Nutr., 22:1599-1611, 1999.
- THOMSON, B.D.; BELL, R.W. & BOLLAND, M.D.A. Low seed phosphorus concentration depresses early growth and nodulation of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gungurru). J. Plant Nutr., 14:1355-1367, 1991.
- TSAI, S.M.; BONETTI, R.; AGBALA, S.M. & ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. Plant Soil, 152:131-138, 1993.
- TYLER, G. & ZOHLEN, A. Plant seeds as mineral nutrient resource for seedlings - A comparison of plants from calcareous and silicate soils. Ann. Bot., 81:455-459, 1998.
- VALVERDE, A.; IGUAL, J.M.; PEIX, A.; CERVANTES, E. & VELÁSQUEZ, E. *Rhizobium lusitanum* sp. nov. a bacterium that nodulates *Phaseolus vulgaris*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 56:2631-2637, 2006.
- VALVERDE, A.; VELÁSQUEZ, E.; GUTIÉRREZ, C.; CERVANTES, E.; VENTOSA, A. & IGUAL, J.-M. *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. Inter. J. Syst. Evol. Microbiol., 43:1979-1983, 2003.
- VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C. & HUNGRIA, M. Response of field grown bean [*Phaseolus vulgaris* (L)] to *Rhizobium* inoculation and N fertilization in two Cerrados soils. Biol. Fert. Soils, 32:228-233, 2000.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R.; MENDES, I.C. & PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio em solos de Cerrados. Planaltina, Embrapa-CPAC, 1994. 83p.
- VERCRUYSSSE, M.; FAUVART, M.; BEULLENS, S.; BRAEKEN, K.; CLOOTS, L.; ENGELEN, K.; MARCHAL, K. & MICHIELS, J.A. comparative transcriptome analysis of *Rhizobium etli* bacteroids: Specific genes expression during symbiosis nongrowth. Molec. Plant-Microbe Interact., 24:1553-1561, 2011.
- VERONEZI, S.D.F.; COSTA, M.R.; SILVA, A.T. & MERCANTE, F.M. Co-inoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA DE MATO GROSSO DO SUL, 4., Glória de Dourados, 2012. Cad. Agroecol., 7:1-5, 2012.
- VIEIRA, R.F.; PAULA JR., T.J.; PIRES, A.A.; CARNEIRO, J.E.S. & ROCHA, G.S. Common bean seed complements molybdenum uptake by plants from soil. Agron. J., 103:1843-1848, 2011.

- VIEIRA, R.F.; SALGADO, L.T. & FERREIRA, A.C.B. Performance of common bean using seeds harvested from plants fertilized with high rates of molybdenum. *J. Plant Nutr.*, 28:363-377, 2005.
- VLISSAK, K.; VANDERLEYDEN, J. & FRANCO, A.A. Competition and persistence of *Rhizobium tropici* and *Rhizobium etli* in a tropical soil during successive bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultures. *Biol. Fert. Soils*, 21:61-68, 1996.
- VLISSAK, K.; MERCANTE, F.; STRALIOTTO, R.; FRANCO, A.A.; VUYLSTEKE, M. & VANDERLEYDEN, J. Evaluation of the intrinsic competitiveness and saprophytic competence of *Rhizobium tropici* IIB strains. *Biol. Fert. Soils*, 24:274-282, 1997.
- WANG, S.P. & STACEY, G. Ammonia regulation of *nod* genes in *Bradyrhizobium japonicum*. *Molec. Gen. Genet.*, 223:329-331, 1990.
- WESTERMANN, D.T.; KLEINKOPF, G.E.; PORTER, L.K. & LEGGETT, G.E. Nitrogen sources for bean seed production. *Agron. J.*, 73:660-664, 1981.
- YADEGARI, M.; RAHMANI, H. A.; NOORMOHAMMADI, G. & AYNEBAND, A. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *J. Plant Nutr.*, 33:1733-1743, 2010.
- YU, J.; HU, S.; WANG, J.; WONG, G. K-S.; LI, S.; LIU, B.; DENG, Y.; DAI, L.; ZHOU, Y.; ZHANG, X.; CAO, M.; LIU, J.; SUN, J.; TANG, J.; CHEN, Y.; HUANG, X.; LIN, W.; YE, C.; TONG, W.; CONG, L.; GENG, J.; HAN, Y.; LI, L.; LI, W.; HU, G.; HUANG, X.; LI, W.; LI, J.; LIU, Z.; LI, L.; LIU, J.; QI, Q.; LIU, J.; LI, L.; LI, T.; WANG, X.; LU, H.; WU, T.; ZHU, M.; NI, P.; HAN, H.; DONG, W.; REN, W.; FENG, X.; CUI, P.; LI, X.; WANG, H.; XU, X.; ZHAI, W.; XU, Z.; ZHANG, J.; HE, S.; ZHANG, J.; XU, J.; ZHANG, K.; ZHENG, X.; DONG, J.; ZENG, W.; TAO, L.; YE, J.; TAN, J.; REN, X.; CHEN, X.; HE, J.; LIU, D.; TIAN, W.; TIAN, C.; XIA, H.; BAO, Q.; LI, G.; GAO, H.; CAO, T.; WANG, J.; ZHAO, W.; LI, P.; CHEN, W.; WANG, X.; ZHANG, Y.; HU, J.; WANG, J.; LIU, S.; YANG, J.; ZHANG, G.; XIONG, Y.; LI, Z.; MAO, L.; ZHOU, C.; ZHU, Z.; CHEN, R.; HAO, B.; ZHENG, W.; CHEN, S.; GUO, W.; LI, G.; LIU, S.; TAO, M.; WANG, J.; ZHU, L.; YUAN, L. & YANG, H. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L ssp. *indica*). *Science*, 296:79-92, 2002.
- ZAAAT, S.A.J.; SCHRIPSEMA, J.; WIJFFELMAN, C.A.; van BRUSSEL, A.A.N. & LUGTENBERG, B.J.J. Analysis of the major inducers of the *Rhizobium nodA* promoter from *Vicia sativa* root exudate and their activity with different *nodD* genes. *Plant Molec. Biol.*, 13:175-188, 1989.