

## Uma década de ouro se aproxima para a microbiologia do solo: expectativas da pesquisa, da indústria, dos agricultores e da sociedade.

Hungria, M.<sup>1,2\*</sup>, Megías, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora da Embrapa Soja. C.P. 231, 86001-970, Londrina PR, Brasil; <sup>2</sup> Bolsista de Pesquisa do CNPq; <sup>3</sup> Professor da Universidad de Sevilla, Apdo Postal 874, 41080, Sevilla, España.

\* mariangela.hungria@embrapa.br

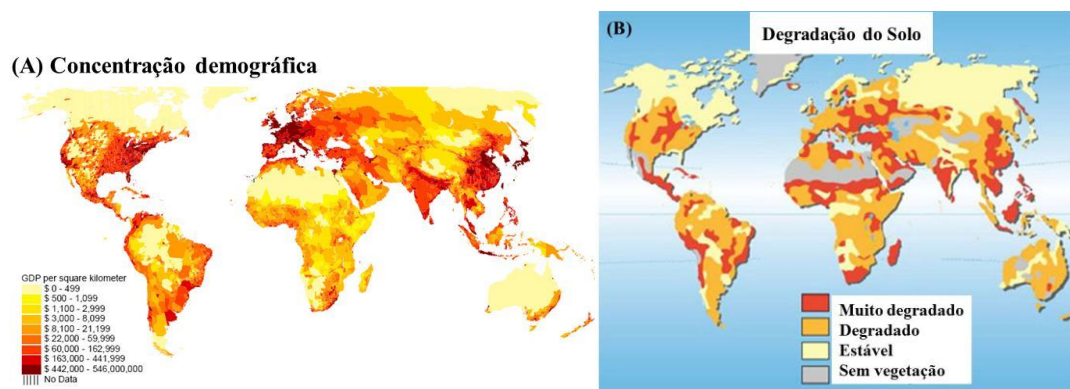
### RESUMO

O cenário mundial aponta para um incremento quantitativo e qualitativo na demanda de alimentos. Como fatores limitantes ao fornecimento de alimentos, tem-se um quadro crônico de degradação de solos, bem como baixo acesso a tecnologias e desigualdades sociais em muitos países. Para atender à maior demanda são necessários insumos, mas que devem ser aplicados visando a sustentabilidade dos solos e do planeta, com menor emissão de gases de efeito estufa e sem contribuir para a erosão química dos solos. É um cenário perfeito de incentivo ao uso responsável de microrganismos como inoculantes, em biorremediação, na bioprospecção de novos produtos e processos e como bioindicadores de qualidade do solo. No papel mais conhecido, de substituição parcial ou total de fertilizantes químicos, tem-se a contribuição excepcional das bactérias diazotróficas, bem como de micorrizas, microrganismos solubilizadores de rochas e bactérias promotoras do crescimento de plantas. Grandes avanços no conhecimento básico, por exemplo, na genômica e proteômica, são discutidos, mas ainda não foram convertidos em produtos tecnológicos. Com a valorização dos estudos e usos de microrganismos na agricultura e meio ambiente são esperados resultados promissores na próxima década, no conhecimento, em produtos biotecnológicos e na prestação de serviços para a sociedade.

### 1. SITUAÇÃO E PERSPECTIVAS DE DEMANDA DE ALIMENTOS E DA AGRICULTURA MUNDIAL.

As perspectivas para a próxima década são de incremento na demanda quantitativa e qualitativa de alimentos. No primeiro caso, tem-se o crescimento da população, de aproximadamente 3 pessoas/s, e que poderia atingir 10 bilhões de habitantes que precisam ser alimentados em 2040 (MA, 2005). Qualitativamente, tem-se um incremento no produto interno bruto mundial per capita excepcional, de 60% entre 2002 e 2008 (Perry, 2008); com mais recursos, aumenta a demanda de alimentos, bem como a procura por qualidade. Consequentemente, alimentos precisam ser produzidos, requerendo insumos agrícolas. Mas que tipo de insumos? E em qual quantidade?

Em outro cenário global, desta vez negativo, tem-se que o número de pessoas com carência alimentar ainda é elevado, como evidenciado pelo mapa de fome no mundo (FAOSTAT, 2013). Além disso, a produção de alimentos encontra severas restrições na degradação acentuada dos ecossistemas, com perdas estimadas em 1 ha/7,6 s (Greenfacts, 2013). O problema atinge desde países desenvolvidos, com degradação de solos europeus, salinização de solos na Austrália, até os casos de desertificação na Ásia, particularmente por erosão eólica e química e a baixa disponibilidade de tecnologia e concentração demográfica na África e em vários locais da América Latina (UNEP, 2002). Infelizmente, o mapa mundial de concentração demográfica (Fig. 1A) coincide com o mapa de degradação de solos (Fig. 1B) (USDA, 1996; UNEP, 2002; WRSC, 2013), evidenciando que a produção de alimentos se torna mais crítica nos locais mais necessitados.



**Figura 1.** Mapas mundiais de (A) concentração demográfica e (B) degradação de solos, indicando que as áreas com maior demanda de alimentos coincidem com as áreas com maior degradação de solos. Adaptado de UNEP (2002), USDA (2011), WRSC (2013).

A perda da biodiversidade em todos os ecossistemas terrestres também é outro ponto crítico, e a taxa de extinção atual é estimada em cerca de mil vezes superior à das eras fósseis (MA, 2005). Existe, ainda, a grande preocupação quanto à emissão de gases de efeito estufa, com mensuráveis incrementos nas temperaturas terrestres. Em países como os da América do Sul, as maiores emissões estão relacionadas à agricultura e à pecuária, sendo agravadas pelo uso de insumos agrícolas; na Europa, as emissões se devem principalmente à indústria, incluindo a síntese dos insumos agrícolas (IPCC, 2007).

Pode-se concluir que, apesar de melhorias em vários índices de desenvolvimento, a fome no mundo continuará, tendo como causa guerras, catástrofes climáticas, falta de acesso a tecnologias, desigualdade social. Além disso, há sérios problemas de sustentabilidade do planeta, com degradação de solos, mesmo em países desenvolvidos (JRC, 2012) e incremento acentuado na emissão de gases de efeito estufa. Os desafios são grandes e, para enfrentá-los, é necessário desenvolver tecnologias para todos os tipos de agricultura e agricultores. Os progressos tecnológicos conseguidos nas últimas décadas são imensos, por exemplo, em memórias de computadores, telefones, diagnósticos médicos. Na área da microbiologia também foram obtidos progressos, desde a identificação e o armazenamento de microrganismos de coleções de culturas, até o desenvolvimento de novos inoculantes.

## 2. COMO OS MICRORGANISMOS SE ENCAIXAM NAS NOVAS PERSPECTIVAS DA AGRICULTURA?

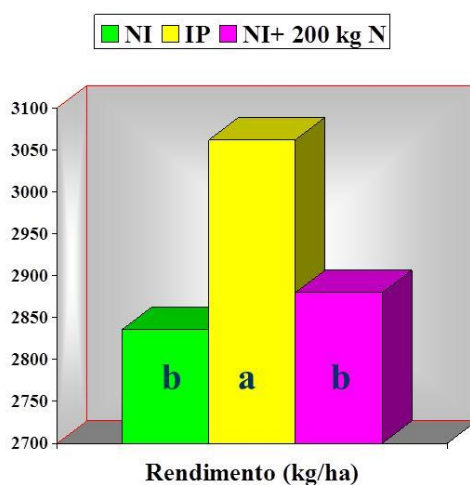
### 2.1. Consumo global de fertilizantes químicos.

O consumo global de fertilizantes, de 173 milhões de toneladas de nutrientes em 2010/2011, cresce de maneira acentuada (IFA, 2013); são, aproximadamente, 70 kg de N, 20 kg de P e 15 kg de K por ha (FAOSTAT, 2010). Os maiores consumidores são a Índia, EUA e China (57,7%), a América do Sul e Caribe respondem por 8,6% e a Europa por 6% (IFA, 2013). O uso de fertilizantes químicos é crítico em países importadores, como os da América Latina. Como exemplo, 73% do N, 49% do P e 90% do K consumidos na agricultura brasileira são importados, com preços atrelados ao dólar (ANDA, 2013). Nesse contexto, mais do que nunca o cenário é propício ao uso de microrganismos para a substituição, parcial ou total, de fertilizantes químicos.

## 2.2. Fixação biológica do nitrogênio.

Os microrganismos já começam a desempenhar um papel relevante considerando o nutriente mais consumido mundialmente, o N, responsável por 61% do consumo global, de N-P-K (IFA, 2013). A contribuição da fixação biológica do nitrogênio em várias culturas é excepcional. Tomando como exemplo o caso da soja (*Glycine max*), no centro de origem genética da leguminosa, na China, bem como em países onde os fertilizantes nitrogenados são subsidiados, como nos EUA, a contribuição do processo biológico é baixa. Contudo, a conjuntura econômica na América do Sul resultou em ações que culminaram na seleção de simbioses capazes de suportar altos rendimentos, de até 6.000 kg/ha, exclusivamente via fixação biológica (Hungria *et al.*, 2006). Técnicas tradicionais de avaliação de estirpes e de seleção de variantes (uma vez que na América do Sul não existe biodiversidade indígena de simbioses da soja) mais eficientes e competitivas resultaram na identificação de estirpes elite, capazes de fixar 300 kg N/ha (Hungria *et al.*, 2006). Certamente por isso constata-se que o Brasil contrasta com os resultados mundiais, com menor consumo proporcional de fertilizantes nitrogenados.

Histórias bem sucedidas também podem ser encontradas com leguminosas nativas ou com longa história de naturalização, como é o caso do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*), em que dentro da biodiversidade indígena é possível selecionar estirpes com alta capacidade de fixação biológica e competitividade, importantes propriedades para o seu uso como inoculantes (Hungria *et al.*, 2000). É interessante observar que, tanto no caso da soja, como do feijoeiro, mesmo em solos com altas populações de rizóbios compatíveis, é possível observar respostas à reinoculação anual (Hungria *et al.*, 2003, 2006, 2007), conforme pode ser visualizado na Fig. 2 para a soja.



**Figura 2.** Médias de rendimento de soja (kg/ha) de 80 ensaios conduzidos no Brasil, por 15 anos, em solos previamente inoculados e contendo populações naturalizadas elevadas de *Bradyrhizobium*, comparando os tratamentos não inoculado, inoculado padrão com inoculante turfoso e não inoculado recebendo 200 kg de N/ha, parcelados 50% na sementeira e 50% no florescimento. O incremento médio foi de 8%.

Taxas excepcionais de fixação biológica são relatadas para várias outras leguminosas de grãos, adubos verdes, forrageiras, arbóreas. Dentre alguns exemplos citados em uma recente compilação realizada por Ormeño-Orrillo *et al.* (2013), tem-se contribuições máximas aproximadas de: 200 kg N/ha para o amendoineiro (*Arachis hypogaea*), 280

kg de N/ha para *Centrosema* sp., 380 kg de N/ha para *Desmodium*, 450 kg de N/ha para soja, 520 kg de N/ha para *Lupinus* sp.

Avanços excepcionais foram conseguidos no conhecimento básico sobre as bactérias fixadoras de nitrogênio nas últimas décadas. Desde o primeiro plasmídeo simbiótico sequenciado, de *Rhizobium* NGR 234 em 1997 (Freiberg *et al.*, 1997), há hoje mais de uma centena de genomas completos ou parciais de rizóbios. Conhecimentos intrigantes foram revelados, elementos surpresa como sistemas de secreção, transferência horizontal de genes acentuada, ausência de genes de nodulação. Também há vários genomas de diazotróficos associativos e endofíticos disponíveis (NCBI, 2013). Mas esse avanço enorme no conhecimento resultou em algum produto de prateleira para o agricultor? Ou pode resultar? Onde o conhecimento sobre genomas de diazotróficos pode nos levar?

Independente de genomas cerrados, a introdução de genes da hidrogenase em estirpes Hup<sup>-</sup> já se mostrou possível. A aplicação dessas estirpes em escala comercial, porém, certamente custaria milhões de dólares em desregulamentação em vários países. Seria esse o caminho frente à atual conjuntura? Ou seria mais fácil buscar estirpes Hup<sup>+</sup> dentro da diversidade natural dos solos? Outra perspectiva interessante e buscada por décadas é a de incorporação dos genes de nodulação e/ou fixação biológica do nitrogênio em não leguminosas. Esse é o tema de um projeto recente financiado pela Fundação Bill and Melinda Gates para o John Innes Institute e, mais uma vez, há grande expectativa sobre os resultados.

Em relação às leguminosas, progressos também foram obtidos e são esperados pelo sequenciamento dos genomas da soja, do feijoeiro e de *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula*, *Cicer arietinum* e *Cajanus cajan* (Cannon *et al.*, 2009; Schmutz *et al.*, 2010; Phytozome, 2013; Varshney *et al.*, 2013). Ferramentas importantes para o melhoramento e mapeamento de genes estão sendo definidas a partir desses genomas, por exemplo, a base de dados Soybase (<http://www.soybase.org>) para a soja,

Os genomas estruturais de bactérias diazotróficas e leguminosas têm conduzido a vários estudos de genômica funcional, também com grandes avanços científicos. Como exemplos, tem-se a identificação de proteínas relacionadas à alta tolerância a temperaturas elevadas de bactérias do grupo *Rhizobium tropici* (Gomes *et al.*, 2012), identificação de respostas extremamente rápidas de *R. tropici* a exsudatos da planta hospedeira (Oliveira *et al.*, 2010) e identificação de transcritos de soja em resposta à inoculação com *Bradyrhizobium* (Carvalho *et al.*, 2013).

### 2.3. Microrganismos relacionados ao fósforo, solubilizadores de rochas e bactérias promotoras do crescimento de plantas.

Em relação ao nutriente que ocupa a segunda posição quantitativa global, o fósforo (23%) (IFA, 2013), não restam dúvidas sobre a importância dos fungos micorrízicos. Contudo, os avanços na pesquisa básica e aplicada ainda não foram traduzidos proporcionalmente em produtos inoculantes. Desse modo, esforços precisam ser alocados em redes de pesquisa nacionais e internacionais para, finalmente, conseguir ter uma massa crítica de produtos no mercado. É interessante ressaltar, ainda, que os benefícios das micorrizas podem ir muito além do fósforo, incrementando a absorção de água e outros nutrientes. Além disso, foi constatado que o próprio processo de sinalização molecular rizóbios-leguminosas também envolve sinais micorrízicos (Geurts and Bisseling, 2002), de modo que a dupla inoculação em leguminosas pode resultar em benefícios às plantas (van der Heijden and Horton, 2009). É a chamada “tripartite association” (Bonfante and Anca, 2009), promissora no cenário de maior eficiência de utilização e substituição de fertilizantes químicos por insumos biológicos. Há, ainda,

uma gama enorme de microrganismos solubilizadores de rochas, com ênfase em fungos e leveduras, que aumentam a disponibilidade de fósforo e potássio, mas que também estão apenas timidamente representados em produtos no mercado.

Bactérias promotoras do crescimento de planta, dentre elas diazotróficas associativas e endofíticas, vêm sendo usadas em escala crescente e os benefícios já são consolidados. A promoção do crescimento pode estar relacionada a diversos mecanismos, incluindo a fixação biológica do nitrogênio, produção de hormônios como auxinas, giberelinas e citocininas, aumento na resistência sistêmica a patógenos, entre outros. O exemplo mais estudado e convertido em produtos globalmente é o do *Azospirillum*. Em uma revisão de trabalhos conduzidos por duas décadas com *A. brasilense* e *A. lipoferum*, Okon and Labandera-Gonzalez (1994) verificaram uma taxa de sucesso de 60 a 70% dos ensaios, com incrementos de 5 a 30%, estatisticamente significativos, no rendimento de grãos. Outro exemplo inclui estudos na Argentina, onde na análise de 273 ensaios com trigo (*Triticum aestivum*), houve resposta positiva em 76% dos casos; no caso do milho (*Zea mays*), na análise de 110 ensaios, 85% foram positivos (Díaz-Zorita and Fernandez Canigia, 2008). No Brasil, com reduções de 50% no N-fertilizantes e inoculação com *A. brasilense* foi possível observar ganhos no rendimento de trigo superiores a 4000 kg/ha (Hungria, 2011).

#### 2.4. Microrganismos como bioindicadores de qualidade do solo e metagenômica

Outro grande avanço no uso de microrganismos é como bioindicadores de qualidade do solo. A qualidade do solo foi um conceito lançado no início da década de 1990, nos EUA e um solo com qualidade tem que considerar pelo menos três componentes: o ambiente, a produção agropecuária e o bem estar humano. Os indicadores de qualidade podem ser propriedades, processos ou características físicas, químicas ou biológicas do solo. Existe hoje uma vasta bibliografia mostrando que os microrganismos podem ser excelentes bioindicadores da qualidade do solo, auxiliando na definição das escolhas corretas sobre o uso adequado do solo e conseguindo detectar alterações muito antes de qualquer propriedade química ou física (Kaschuk *et al.*, 2010, 2011). Na prática, essa metodologia já está em uso não só em estudos de avaliação da qualidade do solo, mas também em outras atividades, como para a liberação de materiais transgênicos, por exemplo, no caso da soja transgênica contendo o gene *ahas*, de tolerância a herbicidas do grupo imidazolinona (Souza *et al.*, 2013a).

Avanços ainda maiores vêm sendo e certamente serão obtidos com os estudos de metagenoma. Em 1998, a pesquisadora norte-americana Jo Handelsman usou pela primeira vez o termo metagenômica para identificar o uso de técnicas moleculares independentes de cultivo para a análise do metagenoma total de uma amostra (Handelsman *et al.*, 1998). Em 15 anos de estudos, foi evidenciado que a metagenômica tornou possível determinar a diversidade e a atividade de comunidades, vias metabólicas, microrganismos ou genes específicos (Steele and Streit, 2005) e passou a ser empregada em estudos em ambientes diversos, incluindo solos (Delmont *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013b). Embora ainda em fase inicial, existe também o interesse pela busca de novas biomoléculas nos estudos de metagenômica. Há, por exemplo, estudos buscando identificação de novos antibióticos e enzimas, como lipases, esterases, celulasas, proteases, amilases e quitinases. A metagenômica também possibilita a detecção mais precisa de classes de microrganismos bioindicadores de qualidade do solo. Como exemplo, bactérias fixadoras de nitrogênio da ordem Rhizobiales e Archaea seriam bons indicadores de qualidade do solo, estando relacionadas aos manejos mais sustentáveis (Souza *et al.*, 2013b).



### 2.5 *Microrganismos e serviços ecológicos.*

Existe a preocupação mundial com a emissão de gases de efeito estufa (IPCC, 2007; EPA, 2013). Para auxiliar na mitigação dessas emissões, os países assumiram compromissos, voluntários ou não. O Brasil, por exemplo, lançou o Plano ABC (Agricultura de Baixa Emissão de Carbono) e, dentre as metas estabelecidas, está a de adoção de práticas agrícolas envolvendo a fixação biológica do nitrogênio, com o compromisso de aumento de área em 5,5 milhões de ha e um potencial de mitigação de 10 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub>. Estimativas feitas para o caso do feijoeiro indicam que as estirpes disponíveis conseguem fornecer nitrogênio para patamares de rendimento de 2.000 kg/ha e, considerando as perspectivas de conjuntura econômica, a fixação biológica poderia completar 55% das metas governamentais. No caso da soja, caso não fossem utilizados inoculantes, a aplicação do N-fertilizantes resultaria em um gasto de 45 milhões t e-CO<sub>2</sub> (equivalentes de CO<sub>2</sub>). Cabe ressaltar que o uso desnecessário de N-fertilizante para a cultura teria um enorme impacto na emissão, uma vez que apenas 30 kg de N/ha implicariam em 3,24 milhões t e-CO<sub>2</sub> (Tabela 1) (Hungria *et al.*, 2013).

**Tabela 1.** Cenário de consumo de N-fertilizante e emissão de gases de efeito estufa frente ao uso da fixação biológica do nitrogênio com a cultura da soja produzindo 3.000 kg/ha no Brasil. Segundo Hungria *et al.* (2013).

Situações	Aporte de N-fertilizante	Aporte total em 24 milhões de ha	e-CO <sub>2</sub> <sup>1</sup>
Caso não houvesse pesquisa em fixação biológica do nitrogênio no Brasil	420 kg de N/ha	10 milhões t N	45 milhões t
Cenário atual, fixação biológica e média de 8 kg de N/ha <sup>2</sup>	8 kg de N/ha	192.000 t N	864.000 t
Cenário de pressão para a colocação de 30 kg de N/ha	30 kg N/ha	720.000 t N	3,24 milhões t

<sup>1</sup> Considerando 1 kg de N = 4,5 kg de e-CO<sub>2</sub>. Devem ser descontados desse valor as emissões relacionadas ao uso do inoculante, estimado em 1 dose de 100 mL=8,76×10<sup>-9</sup> kg de e-CO<sub>2</sub>.

<sup>2</sup> Estimativa da FAO.

### 3. *DESENVOLVIMENTO DE INOCULANTES.*

Os primeiros passos das indústrias de inoculantes remontam ao microbiologista Martinus Willem Beijerinck que isolou, em 1888, bactérias dos nódulos de ervilha (*Pisum sativum*) e, em 1890, aos cientistas alemães Nobbe e Hiltner, que relataram os efeitos da adição de culturas puras de bactérias às sementes no plantio. Pouco depois, em 1896, Nobbe e Hiltner solicitaram o primeiro pedido de patente para o processo de inoculação. Embora esses estudos tenham sido conduzidos na Europa, a visão empresarial dos EUA conduziu à fundação da primeira fábrica de inoculantes microbianos, em 1898 e, a partir de então, o uso desses insumos foi generalizado (Hungria *et al.*, 2005). Embora como enormes progressos em 120 anos de comercialização, comparativamente à ciência básica, os avanços em formulações de inoculantes são modestos. Ainda há muito o que fazer, particularmente quando as comparações são feitas com a formulação considerada como padrão universal, a turfa. E, mais do que nunca, há ameaças, particularmente pela baixa compatibilidade com os vários produtos agrotóxicos usados nas sementes Serão possíveis inovações na área?

Novas formulações à base de nanotecnologia? O mercado atual (100 milhões de doses anuais?) e em expansão justificam o investimento em pesquisas na área.

Outro campo promissor e ainda pouco explorado é o de moléculas envolvidas na sinalização molecular planta-microrganismos. Como exemplo, fatores Nod de rizóbios purificados são ativos em raízes de leguminosas e, em concentrações muito baixas (na ordem de pico e nanomolar), induzem muitas das respostas características das bactérias (Gough, 2003). Extratos brutos de bactérias, contendo não só fatores Nod, mas também exopolissacarídeos e hormônios, também podem resultar em incrementos significativos no rendimento de grãos (Marks *et al.*, 2013). Hoje, somente com algumas dessas moléculas, é possível obter nódulos Fix<sup>+</sup>. Quanto falta para conseguir nódulos Fix<sup>+</sup>? É interessante observar, ainda, que os efeitos de sinais produzidos por rizóbios também são positivos quando adicionados a gramíneas, em mecanismos que ainda precisam ser melhor investigados. Seria o uso de moléculas sinais um caminho mais fácil a seguir do que incorporar genes de fixação às não leguminosas? Há uma série de questões intrigantes que deverão ser investigadas e respondidas nos próximos anos.

#### 4. CONCLUSÕES

A necessidade de produzir mais alimentos e com melhor qualidade demanda maior aporte de nutrientes. As fontes químicas encontram sérias restrições ambientais e econômicas e, portanto, os próximos anos são extremamente promissores para a consolidação de pesquisas visando o uso de microrganismos. É necessário, porém, acelerar a transformação dos resultados em produtos biotecnológicos disponíveis aos agricultores. Avanços notáveis vêm sendo obtidos no conhecimento básico, mas ainda não está claro em como esse conhecimento vai se transformar em produtos ou serviços para os agricultores e para a sociedade. Provavelmente o campo com menores avanços seja o de desenvolvimento de novas formulações de inoculantes e existe premência para atender às demandas de facilidade, armazenamento e compatibilidade de inoculantes com outros produtos utilizados nas sementes. Certamente, pode-se afirmar que uma década de ouro se aproxima para a microbiologia do solo, com grandes expectativas da pesquisa, da indústria, dos agricultores e da sociedade.

#### REFERÊNCIAS

- ANDA (Associação Nacional para Difusão dos Adubos) (2013) <http://www.anda.org.br/multimedia/investimentos.pdf>.
- Bonfante, P., Anca, I.A. (2009) *Annu. Rev. Microbiol.* 63:363-383.
- Cannon, J. *et al.* (2009) *Plant Physiol.* 151:970-977.
- Carvalho, G.A.B. *et al.* (2013) *BMC Genomics* 14:153.
- Delmont, T.O. *et al.* (2012) *ISME J.* 6:1677-1687.
- Díaz-Zorita, M., Fernandez Canigia, M.V. (2008) Asociación Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina.
- EPA (United States Environmental Protection Agency) (2013). <http://www.epa.gov/climatechange/ghgemissions/global.html#two>.
- FAOSTAT (2010). FAO, Rome, Italy.
- FAOSTAT (2013). FAO, Rome, Italy.
- Freiberg, C., *et al.* (1997). *Nature* 387:394-401.
- Geurts, R., and Bisseling, T. (2002) *Plant Cell* 14: S239-S249.
- Gomes, D.F., *et al.* (2012). *BMC Microbiol.* 12: 84.
- Gough, C. (2003). *Curr. Biol.* 13: 973-9753.
- Greenfacts (2013). <http://www.greenfacts.org>.
- Handelsman, J., *et al.* (1998). *Chem. Biol.* 5: 245-249.
- Hungria, M. (2011.) Embrapa Soja. Documentos, 325.
- Hungria, M., *et al.* (2000). *Soil Biol. Biochem.* 32: 1515-1528.
- Hungria, M., *et al.* (2003). *Biol. Fertil. Soils* 39: 88-93.
- Hungria, M., *et al.* (2005). Springer, Dordrecht, Amsterdam, The Netherlands.

- Hungria, M., *et al.* (2006). Studium Press, Houston, USA.
- Hungria, M., *et al.* (2007). Embrapa Soja. Documentos, 283.
- Hungria, M., *et al.* (2013). Embrapa Soja. Documentos, 337.
- IFA (International Fertilizers Industrial Association) (2013). IFA, Paris, France.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2007). Cambridge University Press, United Kingdom and New York-USA. JRC (Joint Research Center) (2012) [http://ec.europa.eu/dgs/jrc/downloads/jrc\\_report\\_2012\\_02\\_soil.pdf](http://ec.europa.eu/dgs/jrc/downloads/jrc_report_2012_02_soil.pdf).
- Kaschuk, G., *et al.* (2010). Soil Biol. Biochem. 42: 1-13.
- Kaschuk, G., *et al.* (2011). Plant Soil 338:467-481.
- MA (Millennium Ecosystem Assessment (2005) Island Press, Washington-DC, USA.
- Marks, B.B., *et al.* (2013). Appl. Microbiol. Biotechnol. Express 3:21.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) (2013). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Okon, Y., and Labandera-Gonzalez, C.A. (1994). Soil Biol Biochem 26:1591-1601.
- Oliveira, L.R., *et al.* (2010). Funct. Integr. Genom. 10:425-431.
- Ormeño-Orrillo, E., *et al.* (2013). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.
- Perry, M.J., *et al.* (2008). <http://mjerry.blogspot.com.br/2008/11/2002-08-60-growth-in-world-per-capita.html>
- Phytozome (2013). <http://www.phytozome.net/commonbean.php#C1>.
- Schmutz, J., *et al.* (2010). Nature 463: 178-183.
- Souza, R.A., *et al.* (2013a). Transgenic Res (online) Souza, R.C. *et al.* (2013b) Appl. Soil Ecol. 72:49-61.
- Steele, H., and Streit, W.R. (2005). FEMS Microbiol. Lett. 247:105-111.
- UNEP (United Nations Environment Program) (2002). <http://www.unep.org/geo/GEO3/english/pdf.htm>.
- USDA (United States Department of Agriculture) (2011). <http://soils.usda.gov/use/worldsoils/mapindex/>.
- van der Heijden, M.G.A., and Horton, T.R. (2009). J. Ecol. 97: 1139-1150.
- Varshney, R.K., *et al.* (2013). Nat. Biotech. 31:240-246.
- WRSC (World Resource SIMCENTER) (2013). [http://www.wrsc.org/attach\\_image/gdp-density-world-map](http://www.wrsc.org/attach_image/gdp-density-world-map).