



Isolamento de rizóbios de nódulos de *Phaseolus vulgaris* cultivado em duas regiões de Alagoas

Rhizobium isolation from *Phaseolus vulgaris* nodules cultivated in two regions of Alagoas

Página | 1999

Neilson Silva Santos⁽¹⁾; Esmeralda Aparecida Porto Lopes⁽²⁾;
Alexandra de Andrade Santos⁽³⁾; José Crisólogo de Sales Silva⁽⁴⁾;
Joice Kessia Barbosa dos Santos⁽⁵⁾; Luiz Eduardo Bezerra Silva⁽⁶⁾

⁽¹⁾ ORCID: 0000-0001-5965-9510; Universidade Estadual de Alagoas; Acadêmico em Zootecnia, BRASIL. E-mail: neilson.nss@gmail.com

⁽²⁾ ORCID: 0000-0003-3765-0712; Universidade Estadual de Alagoas; Professora Adjunta, BRASIL. E-mail: eportolopes@yahoo.com.br;

⁽³⁾ ORCID: 0000-0002-5643-4233; Secretaria de Educação do Estado de Pernambuco; Professora do Ensino Básico, BRASIL. E-mail: xandaxandrades@gmail.com;

⁽⁴⁾ ORCID: 0000-0001-8687-0952; Universidade Estadual de Alagoas; Professor Titular, BRASIL. E-mail: josecrigot@hotmail.com;

⁽⁵⁾ ORCID: 0000-0002-5315-798X ; Universidade Federal de Alagoas, Mestranda em Proteção de Plantas BRASIL. E-mail: joicekessia1997@gmail.com;

⁽⁶⁾ ORCID: 0000-0002-1586-1239 ; Universidad de Costa Rica; Mestrando em Biología, BRASIL. E-mail: Luiz.e.b.leite@hotmail.com.

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 26 de agosto de 2020; Aceito em: 22 de março de 2021; publicado em 31 de 05 de 2021. Copyright © Autor, 2021.

RESUMO: Um atributo importante do feijoeiro é a sua capacidade de se associar simbioticamente a rizóbios, formando nódulos, onde ocorre o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico. Objetivou-se determinar a diversidade de rizóbios isolados de plantas de feijoeiro coletadas em campos de duas regiões do estado de Alagoas: Agreste e Sertão, nos municípios de Santana do Ipanema e Arapiraca, respectivamente. Foram avaliadas três densidade de sementeira, sendo: 60.000, 120.000 e 180.000 plantas/hectare, utilizado o delineamento inteiramente casualizados com três densidade de sementeira e 6 parcelas. Para a coleta dos nódulos foi demarcado um círculo ao redor da planta correspondente a área do sistema radicular, utilizou-se um círculo de aproximadamente 15 cm em volta da planta a uma profundidade cavada de 30 cm. A desinfestação foi realizada em câmara asséptica, com todas as soluções, água e material utilizado sendo previamente esterilizado. O crescimento das colônias de Rizóbio foi verificado diariamente durante 10 dias, após o crescimento as colônias diferentes foram repicadas para outra placa com meio de cultura YEM. Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5%. Foi constatado que quanto maior a densidade de plantio maior o número de colônias identificadas nos nódulos das plantas e que a região do sertão Alagoano apresenta maior capacidade de nodulação em comparação com a região do Agreste. Em ambas as áreas se observou formação ácida de ácido e álcalis. Além disso os isolados do sertão apresentaram características morfológicas mais diversas, sugerindo que os microrganismos desta área apresentam maior adaptação às condições das áreas estudadas.

PALAVRAS-CHEVE: Alagoas; Feijão; Nitrogênio Atmosférico.

ABSTRACT: An important attribute of the common bean is its ability to symbiotically associate with rhizobia, forming nodules, where the process of biological correction of atmospheric nitrogen occurs. The objective was to determine the rhizobia diversity gained from common bean plants collected in fields in two regions of the state of Alagoas: Agreste and Sertão, in the municipalities of Santana do Ipanema and Arapiraca, respectively. Three sowing density were evaluated, being: 60,000, 120,000 and 180,000 plants/hectare, using a completely randomized design with three sowing densities and 6 plots. For the collection of nodules, a circle was demarcated around the plant corresponding to an area of the root system, a circle of approximately 15 cm was used around the plant with a dug depth of 30 cm. Disinfestation was performed in an aseptic chamber, with all solutions, water and material used being previously sterilized. The growth of the Rhizobia colonies was verified daily for 10 days, after the growth as different colonies were raised to another plate with YEM culture medium. The results were discovered at the Tukey test at the 5% level. It was found that the higher the planting density, the greater the number of colonies identified in the plant nodules and that the region of the Alagoas sertão presents greater nodulation capacity compared to an Agreste region. In both areas, acid and alkali formation is observed. In addition, the possibility of the Sertão more diverse morphological specialties, suggesting that the microorganisms of this area have a greater adaptation to the conditions of the studied areas.

KEYWORDS: Alagoas; Beans; Atmospheric Nitrogen.

INTRODUÇÃO

O Brasil é terceiro produtor mundial de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), por isso, o feijão é um dos grãos de maior importância econômica e social para o país (CONAB, 2019). É consumido em todas as regiões do país de diversas maneiras é fonte de proteínas, carboidratos, fibras, ferro, ferro, cálcio, magnésio, zinco e vitaminas (MORAES e MENELAU, 2017).

O feijão comum é cultivado em vários estados, sendo submetido a diferentes condições ambientais como: épocas de semeadura e sistemas de cultivo, podendo ser cultivado em pequenas propriedades, com baixo uso de insumos e de tecnologia sendo considerada agricultura de subsistência, ou em grandes propriedades, com alta tecnologia em agricultura empresarial. As diferentes condições edafoclimáticas podem afetar sua produtividade, tais como: a temperatura, precipitação pluviométrica e características físico-químicas do solo (PEREIRA et al., 2010; PEREIRA et al., 2014).

A produção do feijão na região Semiárida brasileira, pode ser limitada devido principalmente as chuvas irregularidades, assim como a escassez ou má qualidade de fontes água para irrigação. Tendo em vista que altas temperaturas dificultam o florescimento e desenvolvimento dos grãos, o déficit hídrico pode diminuir o desenvolvimento, assim como a produção de feijão, altas temperaturas associada ao déficit hídrico podem reduzir o número de vagens e o enchimento dos grãos, reduzindo assim a produtividade (PEREIRA et al., 2014).

O feijoeiro é uma cultura exigente em fertilidade do solo, e por apresentar capacidade de se associar a rizóbios nativos ou inoculados, realizando a fixação biológica de nitrogênio, pode diminuir o uso de fertilizante e conseqüentemente o custo de produção, aumentando a produtividade e diminuindo a poluição ambiental (KANEKO et al. 2010; PEDRAZA et al. 2010; ZILLI et al. 2011). Muitos estudos buscam aumentar a produtividade de forma satisfatória e acessível a muitos agricultores, sendo o inoculante rizobiano, um dos mais estudados por apresentar bons resultados agrônômicos, ser economicamente viável e ecologicamente correto (PEDRAZA et al. 2010).

Um atributo importante do feijoeiro é a sua capacidade de se associar simbioticamente com bactérias denominadas, coletivamente, rizóbios, formando nódulos, onde ocorre o processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN), essa

simbiose beneficia o fornecimento de nitrogênio para o feijoeiro, tendo em vista que esse é o nutriente mais exigido pela planta (BARBOSA e GONZAGA, 2012).

Em regiões Semiáridas a deficiência de N é um dos fatores limitantes da produtividade agrícola, uma das estratégias para manter a produtividade e a gestão de um recurso sustentável para a agricultura, sem a necessidade do uso de fertilizantes minerais é o uso de leguminosas associado ao uso de rizóbios eficientes e adaptados às condições locais (YAHDJIAN et al., 2011).

De acordo com Amorim et al. (2019) o estudo de isolados de rizóbios em solos de regiões produtoras no Nordeste possibilita ampliar o conhecimento sobre a multiplicidade de bactérias fixadoras de N que nodulam do feijão. Além disso, as condições edafoclimáticas de cada região influenciam na diversidade dos rizóbios. Informações sobre as características da população de rizobiana, bem como sobre sua associação com as leguminosas podem contribuir para definir estratégias que maximize a fixação biológica do nitrogênio (GRANGE et al. 2007), servindo com subsídio para a produção de inoculante comerciais.

Análises fenotípicas das bactérias do solo são mais rápidas que as análises genotípicas, permitindo uma análise inicial para verificar a diversidade bacteriana do solo, bem permitem o isolamento de microrganismos que podem ser armazenados e utilizados para análises posteriores (SANTOS et al., 2007). Com base nisso, objetivou-se determinar a diversidade de rizóbios isolados de plantas de feijoeiro coletadas em campo em duas regiões do estado de Alagoas: Agreste e Sertão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área da Pesquisa

O experimento foi realizado no Campus II da Universidade Estadual de Alagoas, localizado em Santana do Ipanema (Sertão), e no Polo Tecnológico Agroalimentar em Arapiraca (Agreste) Alagoas. As áreas possuem características pedológicas distintas: Campus II possui solo areno-argiloso amarelo, e o Polo Tecnológico Agroalimentar possui solo franco-arenoso a argiloso de cor vermelho, ambas com vegetação espontânea como cobertura vegetal do solo antes do início do experimento. Foi realizado uma coleta de solo na profundidade de 20 cm e posteriormente as análises físico-química dos amostras, cujos resultados encontram-se na tabela 1. Em ambos os campos

experimentais foram utilizados o sistema de irrigação por meio de microaspersão seguindo a metodologia de AZEVEDO e CAIXETA (1986).

Tabela 1-Atributos químicos do solo, na profundidade de 0 a 0,20 m, antes da instalação do experimento, no Polo Tecnológico Agroalimentar de Arapiraca e no campus II da Universidade Estadual de Alagoas, Santana do Ipanema, Alagoas.

Local	pH (H ₂ O)	P mg.kg ⁻¹	Na	K	Ca	Mg	Ca + Mg cmolc.dm ⁻³	H + Al
Arapiraca	5,75	4	14	31	1,3	0,4	1,7	1,7
Santana do Ipanema	5,90	5,5	16	37	1,5	0,4	1,9	1,8

O clima de ambas as áreas, de acordo com a classificação de Köppen and Geiger (1928), é do tipo savana tropical (AW), com precipitação média anual de 693 mm em Santana do Ipanema e 752 mm em Arapiraca, durante o período do experimento as temperaturas máximas e mínimas foram de 36,6 e 21,2 °C respectivamente.

Plantio do Feijão

O plantio do *Phaseolus vulgaris* L. cultivar IAC Imperador foi realizado em junho de 2017, de acordo com o fabricante, esta cultivar apresenta porte semi-ereto e potencial produtivo de 4.600 kg/ha⁻¹, observado em campos de produção no Estado de São Paulo com ciclo precoce ao redor de 75 dias. Ainda de acordo com o fabricante a cultivar IAC Imperador é recomendada para a semeadura no Estado de Alagoas na época de inverno. Recomenda-se o uso de um espaçamento entre linhas de 50 cm e de 10 a 12 plantas por metro linear, totalizando ao redor de 240 mil plantas por hectare.

Foi avaliado três densidade de semeadura, sendo: G1 - Um grão por cova (60.000 plantas/ hectare), G2 - Dois grãos por cova (120.000 plantas/ hectare) e G3 - Três grãos por cova (180.000 plantas/ hectare). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados com três densidade de semeadura e 6 parcelas com 30 plantas cada, totalizando 180 unidades amostrais. A semeadura foi realizada de forma manual, cada parcela foi constituída por oito fileiras com 5 m de comprimento espaçadas em 0,50 m

entre si. A área útil para coleta de dados foi constituída pelas seis fileiras centrais, desprezando-se 0,5 m de cada uma das extremidades da fileira de semeadura.

Coleta dos Nódulos

Para a coleta dos nódulos, foram descartadas bordaduras da área plantada do experimento para que fatores externos não interferissem nos dados. Seis plantas de cada tratamento foram amostradas, cujos nódulos foram coletados aos 54 dias após a germinação. Para a coleta dos nódulos foi demarcado um círculo ao redor da planta correspondente a área do sistema radicular utilizou-se um círculo de aproximadamente 15 cm em volta da planta a uma profundidade cavada de 30 cm. Removeu-se a terra cuidadosamente para não danificar o sistema radicular.

Isolamento dos Rizóbios

As plantas foram colocadas em sacos plásticos, levadas para o laboratório e lavadas com água de potável corrente, cuidadosamente sobre uma peneira (malha de 2,0 mm), para evitar que as raízes e os nódulos fossem perdidos. Em seguida as raízes foram secas com papel toalha e a partir deste momento foram retirados os nódulos, desidratados e mantidos em tubo a vácuo com sílica gel até o isolamento.

Desinfestação e Isolamento do Nódulos

A Reidratação dos nódulos seguiu a metodologia de Hungria e Araújo (1994), onde os nódulos foram colocados em frascos com água destilada autoclavada e mantidos em refrigerador por uma noite. A desinfestação foi realizada em câmara asséptica, com todas as soluções, água e material utilizado sendo previamente esterilizado. Os nódulos foram imersos em por 60 segundos em álcool a 90%, com o objetivo de quebrar a tensão superficial e remover bolhas de ar no tecido. Em seguida, os nódulos foram transferidos

para um recipiente com hipoclorito de sódio a 1% por 2 minutos, e posteriormente foram lavados em água destilada esterilizada por 6 vezes.

Para o isolamento foram utilizados materiais estéreis e realizado em câmara de fluxo laminar em condições assépticas. Após a última lavagem, cada nódulo foi isolado em uma placa de Petri, sendo amassado com o fórceps e o líquido oriundo do nódulo foi riscado nas placas de Petri contendo meio YEM (Extrato de Levedura Manitol Ágar) com vermelho congo.

Verificação do crescimento e Análise Estatística

O crescimento das colônias de Rizóbio foi verificado diariamente durante 10 dias, após o crescimento, as colônias diferentes foram repicadas das placas contendo meio YEM e vermelho congo para outra placa com meio de cultura YEM com azul de bromotimol. Essas colônias diferentes foram quantificadas e caracterizadas quanto a sua fenologia, as seguintes características: forma, borda, elevação, margem e modificação do pH do meio (HUNGRIA e SILVA, 2011). Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5 % através do software SISVAR (FERREIRA, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características culturais e fenotípicas das espécies bacterianas capazes de formar nódulos no *Phaseolus Vulgaris*, fornecem informações necessárias para sua identificação, agrupamento e verificar a adaptação ecológica as diferentes condições ambientais (BATZLI et al., 1992; MARTINS et al., 1997).

Quanto maior a densidade de semeadura maior o número de colônias encontradas no isolamento dos nódulos nas duas áreas de cultivo (Arapiraca – Tabela 2 e Santana de Ipanema – Tabela 3), indicando que a densidade populacional de leguminosa influencia a densidade de rizóbios coletados do solo. O plantio de 2 ou 3 grãos por cova resultaram em maior número de colônias de rizóbios, foram encontrados 608 e 668 colônias, respectivamente em Arapiraca (Tabela 2) e 1953 e 2031 colônias, respectivamente em Santana de Ipanema (Tabela 3). Demonstrando que as características da comunidade são variáveis de acordo com as condições em que são expostas corroborando com o exposto

por Santos et al. (2007), onde observaram que a presença de leguminosa na área influencia a composição da comunidade de rizóbio no solo.

Tabela 2- Contagem de *Rhizobium* ssp na cultura do feijão comum em Arapiraca, Alagoas.

Tratamento	Nº de Colônias (UFC)*	Características morfológicas**	pH**
G1	513 b	Circular, filamentosa, achatada, ondulada e inteira	Ácida
G2	608 a	Circular, filamentosa, achatada, ondulada e inteira	Ácida
G3	668 a	Circular, filamentosa, achatada, ondulada e inteira	Ácida
Total	1789		
CV (%)	8,75		

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Formas=Circular e filamentosa; Elevação=Achatada; Margem= Ondulada; Bordas= Inteiras; pH (Formação de ácido e álcalis) = Ácida

Houve uma grande diferença na quantidade de colônias identificadas para as duas áreas, sendo que no experimento conduzido em Santana do Ipanema (tabela 3) foram identificadas um número de colônias 67,31% a mais que em comparação ao conduzido em Arapiraca (tabela 2). Um fator que pode ter interferido para essa diferença foi o teor de fósforo no solo de Arapiraca ter sido menor (4 e 5,5 dm⁻³) do que o encontrado em Santana do Ipanema, respectivamente (tabela 1). O fósforo é muito importante, pois melhora a nodulação, associação simbiótica entre o rizóbio e planta hospedeira e consequentemente melhora a fixação de N₂ (NYOKI e NDAKIDEMI, 2013).

Os isolados da área de Arapiraca (Tabela 2) apresentaram formas circulares e filamentosas com elevação achatada e bordos filamentosos, fisiologicamente, já os isolados de Santana de Ipanema (Tabela 3) apresentaram formas circular, filamentosa e puntiforme com presença de elevações achatadas e convexas, margens onduladas e lobadas, além de bordas irregulares. Quando comparamos as duas áreas estudadas, verificamos que as colônias de rizóbios isoladas proveniente do Arapiraca - Agreste (tabela 2) as características fenológicas que as colônias apresentaram não variavam dependendo da densidade de plantas/ hectare. Entretanto, na área de Santana de Ipanema - Sertão (Tabela 3), houve maior variação nas características morfológicas apresentadas pelos rizóbios de acordo com a densidade de germinação.

Tabela 3: Contagem de *Rhizobium* ssp na cultura do feijão comum em Santana do Ipanema, sertão Alagoano.

Tratamento	Nº de Colônias (UFC)*	Características morfológicas**	pH**
G1	1488 b	Circular, filamentosa, puntiforme, achatada, ondulada, lobada, borda inteira	Ácida
G2	1953 a	Circular, filamentosa, rizoide, achatada, borda irregular	Ácida
G3	2031 a	Circular, filamentosa, achatada, convexa, ondulada e irregular	Ácida
Total	5472		
CV (%)	9,12		

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Formas = Circular, irregular, rizoide, puntiforme e filamentosa; Elevação = Achatada, convexa; Margem = Ondulada, lobada; Bordas = Inteira e irregular; pH (Formação de ácido e álcalis) = Ácida.

Houve uma maior diversidade de características bacterianas na área do agreste em comparação a área do sertão, podendo indicar uma influência nas condições ambientais na diversidade rizobiana no solo. De acordo com Martins et al. (1997) a forma das colônias isoladas é variável de acordo com o dia em que o trabalho é conduzido, sendo influenciada especialmente pela consistência do muco produzido, uma vez que estas podem se apresentar de forma circular a irregular, alterando-se de acordo com a intensidade da coalescência do muco. Para os autores, normalmente as estripes de rizóbios, independente da forma das colônias apresentam borda lisa ou inteira.

Resultados semelhante ao do presente estudo foram obtidos em trabalho conduzido por Medeiros et al. (2009) com o feijão-caupi cultivado no Rio Grande do Norte, foi observado que a maioria das bordas observadas foram inteiras, seguida por irregular, sendo que as formas de maior expressão foram circular e irregular.

Na área estudada de Arapiraca (Sertão), 100% cresceram até o 3º dia, e apresentaram crescimento rápido, já as colônias identificadas em Santana do Ipanema (Agreste) 85% cresceram até o 2º dia e todas foram identificadas até o 4º dia. Em pesquisas conduzidas por JORDAN (1984) cerca de 90% dos isolados formaram colônias em até 2 dias de crescimento a 28°C, o que caracteriza estirpes de crescimento rápido.

O crescimento rápido sugere uma adaptação dos isolados as condições ambientais, uma vez que enfrentam desafios no meio de cultivo como o déficit hídrico e

uso de agroquímicos, fazendo com que os microrganismos necessitem dessa evolução para a sobrevivência (MARTINS et al. 1997).

Esses dados corroboram com os dados de Figueiredo et al. (1996), tendo em vista que o solo de Arapiraca apresentou pH de 5,75 (Tabela 1) e isolados com hábito de crescimento rápido e o solo de Santana do Ipanema apresentou pH de 5,9 (tabela 1), ambos apresentaram uma leve acidez, transitando para pH neutro. Para Figueiredo et al. (1996) a ocorrência de rizóbio de crescimento lento ou rápido parece estar relacionada a aspectos relacionados com a variação do pH dos solos, esses autores isolaram rizóbios de caupi, em amostras de solos da Zona da Mata e da região semiárida de Pernambuco e constataram que 90% dos isolados da região semiárida apresentaram crescimento rápido, enquanto 100% dos isolados da Zona da Mata mostraram crescimento lento.

Quanto a formação de ácido e álcalis dos isolado de ambas as áreas se verificou reação ácida. Os rizóbios que acidificam o meio são mais eficientes na infecção e apresentam maior especificidade hospedeira, colonizam solos neutros a alcalinos (NORRIS, 1965), enquanto os rizóbios de crescimento lento que alcalinizam o meio são uma forma ancestral e estão associados a leguminosas tropicais que apresentam baixa eficiência (MARTINS et al. 1997).

De acordo com Amorim et al. (2019) características fisiológicas de acidificação do meio são indicativas de bactérias que indicam estabilidade ao ambiente ácido do solo. Sendo assim, a presença de isolados com adaptação a acidez talvez represente um potencial para a seleção de estirpes. Para os atores, o crescimento rápido como o encontrado para os isolados favorece a sobrevivência mais duradora, pois esse potencial pode indicar que os isolados possam estar mais adaptados as condições edafoclimáticas da região.

Os resultados apresentados estão de acordo com diversos trabalhos que observaram a predominância de rizóbios de crescimento rápido em regiões áridas, sendo uma estratégia de sobrevivência, por se multiplicarem rapidamente, em um curto espaço de tempo úmido, apresentando maior tolerância à seca que as bactérias de crescimento lento, o que explicaria sua maior frequência nos solos das regiões semiáridas (VAN GESTEL et al. 1991; SPRENT, 1994; MARTINS, 1997; MEDEIROS et al. 2009; BARROS et al. 2019).

CONCLUSÃO

Os solos apresentam alta capacidade para a produção de colônias de rizóbios, demonstrando a potencialidade para a produção do feijão na região de forma sustentável e econômica.

A densidade de plantio do feijão-comum influencia o número de colônias isoladas dos nódulos e influenciou as características fenotípicas para o solo de Santana do Ipanema.

Os isolados apresentaram características de adaptação a condições ambientais adversas como, apresentar hábito de crescimento rápido e acidificar o meio de cultura, indicando que as bactérias ali presentes podem ser eficazes quando utilizadas como inoculante, para esta cultura e condições ambientais semelhantes.

Porém ainda se faz necessário testes bioquímicos para a identificação de quais espécies estão presentes naturalmente nesses solos.

REFERÊNCIAS

1. AMORIM, M. R.; SILVA, A. V. C. R.; ANTUNES, J. E. L.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F. Caracterização de rizóbios noduladores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) em solos de três estados do nordeste brasileiro. *Colloquium Agrariae*, v. 15, n. 6, p. 11-20, 2019.
2. AZEVEDO, J. A.; CAIXETA, T. J. Irrigação do feijoeiro. *Brasília: EMBRAPA*, 1986.
3. BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. *Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014*. Santo Antônio de Goiás – GO. Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247p. - Documentos/ Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678- 9644; 272
4. BARROS, V. D. C.; LIRA JUNIOR, M. A.; SANTOS, M. V. F.; COSTA, A. F.; ARRUDA, A. M.; Sousa, C. A. Biodiversidade rizobiana em função de solo e clima no semiárido pernambucano. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 24, n. 1, 2019.
5. FERREIRA, D. F. A. *SISVAR-Sistema de análise de variância*. 2010.
6. CONAB (Brasil). Companhia Nacional de Abastecimento. *Perspectivas para a agropecuária 2019/ 2020*, volume 7, Brasília, 2019. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 20 março de 2021.
7. FIGUEIREDO, M. B.; MEDEIROS, R.; STAMFORD, N.; SANTOS, C. S. Efeito da adubação com diferentes relações potássio/magnésio no jacatupé em latossolo amarelo com e sem inoculação. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 20, n. 1, p. 49-54, 1996.

8. GRANGE, L.; HUNGRIA, M.; GRAHAM, P. H.; MARTÍNEZROMERO, E. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. *Soil Biology Biochemistry*, 39:867-876, 2007.
9. HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. *Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola*. Brasília, DF: Embrapa-Serviço de Produção e Informação, 1994.
10. HUNGRIA, M.; SILVA, K. Manual de curadores de germoplasma-microorganismos: rizóbios e bactérias promotoras do crescimento vegetal. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Documentos (INFOTECA-E)*, 2011.
11. BATZLI, J. M.; GRAVES, W. R.; BERKUM, P. 1992. Diversity among rhizobia effective with Robinia pseudoacacia L. *App. Environmental Microbiology*, 58:2137-2143.
12. BARROS, V. D. C.; LIRA JUNIOR, M. A.; SANTOS, M. V. F.; COSTA, A. F.; ARRUDA, A. M.; Sousa, C. A. Biodiversidade rizobiana em função de solo e clima no semiárido pernambucano. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 24, n. 1, 2019.
13. KANEKO, F.H.; ARF, O.; GITTI, D. de C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; BUZETTI, S. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. *Bragantia*, v. 69, n. 1, p. 125-133, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052010000100017>
14. KÖPPEN, W.; GEIGER, R. *Klimate der Erde. Gotha: Verlag Justus Perthes*. Wall-map 150cmx200cm, 1928.
15. MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de "rizóbio". *Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*, 1997.
16. MARTINS, L. M.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Growth characteristics and symbiotic efficiency of rhizobia isolated from cowpea nodules of the north-east of Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*. v. 29, n. 5/6, p. 1005-1010, 1997.
17. MEDEIROS, E. V. D.; MARTINS, C. M.; LIMA, J. A. M.; FERNANDES, Y. T. D.; OLIVEIRA, V. R. D.; BORGES, W. L. Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte. *Acta Scientiarum Agronomy*, 31(3), 529-535. 2009.
18. MEDEIROS, E. V. D.; MARTINS, C. M.; LIMA, J. A. M.; FERNANDES, Y. T. D.; OLIVEIRA, V. R. D.; BORGES, W. L. Diversidade morfológica de rizóbios isolados de caupi cultivado em solos do Estado do Rio Grande do Norte. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 31, n. 3, p. 529-535, 2009.
19. MORAES, E. S.; MENELAU, A. S. Análise do mercado de feijão comum. *Revista de política agrícola*, v. 26, n. 1, p. 81-92, 2017.
20. NORRIS, D. O. Acid production by rhizobium a unifying concept. *Plant and Soil*, v. 22, n. 2, p. 143-166, 1965. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01373988>
21. NYOKI, D.; NDAKIDEMI, P. A. Economic benefits of *Bradyrhizobium japonicum* inoculation and phosphorus supplementation in cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) grown in northern Tanzania. *American Journal of Research Communication*, v. 1, n. 11, p. 173-189, 2013.
22. PEDRAZA, R. O.; TEIXEIRA, K. R.; SCAVINO, A. F.; SALAMONE, I. G.; BACA, B. E.; AZCÓN, R.; BONILLA, R. Microorganisms that enhance plant

- growth and soil quality. Review. Revista CORPOICA. *Ciência y Tecnología Agropecuaria*, V. 10, n. 2, p. 155-164, 2010.
23. PEREIRA, H. S.; MELO, L.C.; FARIA, L.C.; PELOSO, M. J. D.; WENDLAND, A. Estratificação ambiental na avaliação de genótipos de feijoeiro comum tipo Carioca em Goiás e no Distrito Federal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.45, n.6, p.554-562, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000600004>.
24. PEREIRA, V. G. C.; GRIS, D. J.; MARANGONI, T.; FRIGO, J. P.; AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. Exigências agroclimáticas para a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 3, n. 1, p. 32-42, 2014.
25. SPRENT, J. I. Evolution and diversity in the legume-rhizobium symbiosis: chaos theory?. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 161, p. 1-10, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02183080>.
26. SANTOS, C. E. R. S.; STAMFORD, N. P.; NEVES, M. C.; RUNJANEK, N. G.; BORGES, W. L.; BEZERRA, R. V.; FREITAS, A. D. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 2, n. 4, p. 249-256, 2007.
27. VAN GESTEL, M.; LADD J.N.; AMATO, M. Carbon and nitrogen mineralization from two soils of contrasting texture and microaggregate stability: influence of sequential fumigation, drying and storage. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 23, p. 313-322, 1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(91\)90185-M](https://doi.org/10.1016/0038-0717(91)90185-M).
28. YAHDJIAN, L.; GHERARDI, L.; SALA, O. E. Nitrogen limitation in aridsubhumid ecosystems: a meta-analysis of fertilization studies. *Journal of Arid Environments*, Trelew, v. 75, p. 675-680, 2011.
29. ZILLI, J. E.; NETO, M. L. S.; JÚNIOR, I. F.; PERIN, L.; MELO, A. R. D. Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 35, p. 739-742, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832011000300009>.