

UFRRJ

**INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - CIÊNCIA DO SOLO**

DISSERTAÇÃO

**Inoculação de Feijão-Mungo (*Vigna radiata* (L.)
Wilczek) com Estirpes Comerciais de
Bradyrhizobium: Avaliação da Produtividade no
Município de Campos dos Goytacazes - RJ**

Dieini Melissa Teles dos Santos

2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
CIÊNCIA DO SOLO**

**INOCULAÇÃO DE FEIJÃO-MUNGO (*Vigna radiata* (L.)
WILCZEK) COM ESTIRPES COMERCIAIS DE *Bradyrhizobium*:
AVALIAÇÃO DA PRODUTIVIDADE NO MUNICÍPIO DE CAMPOS
DOS GOYTACAZES - RJ**

DIEINI MELISSA TELES DOS SANTOS

Sob a Orientação do Pesquisador

Gustavo Ribeiro Xavier

e Co-orientação da Pesquisadora

Norma Gouvêa Rumjanek

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, Área de Concentração em Manejo do Solo e Qualidade Ambiental.

Seropédica, RJ
Outubro de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) Autor(a)

S237i Santos, Dieini Melissa Teles dos, 1990-
Inoculação de Feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) com Estirpes Comerciais de Bradyrhizobium: Avaliação da Produtividade no Município de Campos dos Goytacazes – RJ. / Dieini Melissa Teles dos Santos. – Seropédica – RJ, 2020.
48 f. : il.

Orientador: Gustavo Ribeiro Xavier.
Coorientadora: Norma Gouvêa Rumjanek
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, 2020.

1. *Vigna radiata* (L.) Wilczek. 2. Bradyrhizobium. 3. Fixação biológica de nitrogênio. 4. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. I. Xavier, Gustavo Ribeiro, 1973-, orient. II. Rumjanek, Norma Gouvêa, 1953-, coorient. III. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. IV. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – CIÊNCIA DO SOLO**

DIEINI MELISSA TELES DOS SANTOS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, área de Concentração em Manejo do Solo e Qualidade Ambiental.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 30/10/2020.

Norma Gouvêa Rumjanek. Ph.D. Embrapa Agrobiologia
(Co-orientadora)

Segundo Sacramento Urquiaga Caballero. Dr. Embrapa Agrobiologia

Adelson Paulo de Araújo. Dr. UFRRJ

A minha família pelo apoio incondicional, pela confiança, por acreditar mesmo nos momentos que me sentir incapaz, em especial à minha mãe Valdelina Teles dos Santos por estar ao meu lado em todos os dias de minha vida.

Dedico.

“O assunto mais importante do mundo pode ser simplificado até ao ponto em que todos possam apreciá-lo e compreendê-lo.”

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida, saúde e por estar ao meu lado cada segundo me assegurando de que todo esforço seria recompensado.

A minha família, em especial aos meus pais Silvan José Teles Nascimento e Valdelina Teles dos Santos, que sempre me apoiaram e incentivaram nos momentos difíceis da caminhada até aqui.

Aos orientadores Gustavo Ribeiro Xavier, pelo apoio e paciência, e Norma Gouvêa Rumjanek pela orientação e dedicação incondicional, pelo convívio de domingo a domingo, pela paciência, incentivo, por tornar essa caminhada menos pesada, pessoa que certamente irei me espelhar para traçar minha trajetória profissional e pessoal, terão minha eterna admiração e gratidão.

Ao professor Everaldo Zonta, por estar sempre de portas abertas, pelas orientações com paciência e dedicação, serei sempre grata.

Aos funcionários e analistas da Embrapa Agrobiologia, em especial ao João Luiz Bastos, pessoa extraordinária, que desde o início me deu todo apoio, companheiro de todos os momentos, pessoa em que Deus se fez presente para me mostrar que não estava sozinha, pessoa fundamental na minha caminhada e que será sempre lembrado em minha história, pela paciência e companheirismo serei eternamente grata.

Aos bolsistas do Laboratório de Ecologia Microbiana (LEMI), Vinício Favero, Cláudio Adriano e Ana Beatriz, pela ajuda nas atividades experimentais e companheirismo.

A toda equipe da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes, em especial aos técnicos Willian Pereira e Josimar, pelo apoio inestimável, sem eles certamente não seria possível à realização do experimento, pelo apoio impecável meu muito obrigada.

À minha amiga, Maysa Hartwig por todo apoio e carinho desde a graduação, que nas horas mais difíceis me fez lembrar o quanto deveria permanecer de pé, por permanecer sempre ao meu lado, serei eternamente grata.

Ao pesquisador Paulo Wadt, pelo incentivo, apoio e paciência desde o início do nosso convívio, sendo o principal motivo por estar aqui, serei eternamente grata.

Ao professor Marcos Gervásio, por me receber na Rural desde aluna especial e aos demais professores que de alguma forma contribuíram com meu crescimento profissional e pessoal.

Aos pesquisadores e bolsistas do LEMI, pelo saudável convívio durante essa trajetória, meu muito obrigada.

A UFRRJ em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo, por todo conhecimento adquirido, e por proporcionar conhecer profissionais incríveis, que sempre serão lembrados.

A Embrapa Agrobiologia pela infraestrutura para condução dos experimentos, e suporte à pesquisa.

Ao CNPq pela concessão da bolsa integral e à FAPERJ pela taxa especial complementar.

A todos aqueles que contribuíram para minha formação.

BIOGRAFIA

Dieini Melissa Teles dos Santos, filha de Silvan José Teles Nascimento e Valdelina Teles dos Santos, nascida em 1990 na cidade de Cacoal, estado de Rondônia. Concluiu em 2008 o Ensino Médio na Escola Santa Marcelina Marcelo Cândia II, em Porto Velho-RO. Em 2010 ingressou no curso de graduação em Agronomia da Universidade Federal de Rondônia (UNIR) e no ano de 2017 ingressou no mestrado no Curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela mesma instituição. No ano de 2018 ingressou no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Ciência do Solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

RESUMO

SANTOS, Dieini Melissa Teles. **Inoculação de feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) com estirpes comerciais de *Bradyrhizobium*: avaliação da produtividade no município de Campos dos Goytacazes – RJ.** 2020. 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2020.

O feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) é parte da base alimentar de vários países tropicais e subtropicais em virtude do seu valor proteico, configurando-se como uma alternativa para a diversificação de leguminosas produtoras de grãos no Brasil. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da inoculação de sementes de feijão-mungo com estirpes do grupo rizóbio registradas para feijão-caupi (*V. unguiculata* (L.) Walp), soja (*Glycine max* L.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) na produtividade de grãos. Previamente foi instalado um ensaio sob condições axênicas em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ, para seleção de estirpes eficientes para o feijão-mungo, com doze tratamentos (4 estirpes de feijão-caupi, 4 de soja, 3 de feijão comum e um controle absoluto). As variáveis analisadas foram: número de nódulos (NN), massas secas acumuladas de nódulos (MSN), raiz (MSR) e parte aérea (MSPA). Três estirpes de feijão-caupi (BR 3301, BR 3302 e BR 3267) e uma estirpe de soja (BR 96) foram capazes de formar nódulos no feijão-mungo e promover a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Foi realizado um ensaio sob condições axênicas com níveis crescentes de N solúvel, visando à determinação da dose ótima para ser aplicada em condições de campo como controle nitrogenado. A partir dos resultados obtidos para as variáveis analisadas (MSR e MSPA) estimou-se a dose ótima de 240 kg N ha⁻¹. Foi instalado no campo experimental da UFRRJ, Campos dos Goytacazes-RJ, um ensaio com seis tratamentos (4 estirpes selecionadas e controles absoluto e nitrogenado) e quatro repetições. As variáveis analisadas foram: NN, MSN, MSR, MSPA, teor de N na parte aérea e N total acumulado na parte aérea e o rendimento de grãos. Foram também avaliadas as variáveis associadas à FBN a partir da técnica de abundância natural de ¹⁵N: teor de N derivado da FBN, N acumulado derivado da FBN, N acumulado derivado do solo e a eficiência nodular. Nas plantas do controle absoluto, a comunidade bacteriana indígena do solo foi capaz de prover cerca de 18,5 kg N ha⁻¹ derivado da FBN, correspondendo aproximadamente a 40% do N total. Ao calcular a partição da MSPA, aos 44 dias após emergência, proporcional ao N derivado da FBN e ao N derivado do solo, obtém-se que as plantas inoculadas com a estirpe BR 3302 apresentaram cerca de 50% a mais de MSPA correspondente ao N derivado do solo em comparação às plantas do controle absoluto o que refletiu no rendimento de grãos. A produtividade do feijão-mungo inoculado com a estirpe BR 3302 foi cerca de 18% superior ao controle absoluto e não diferiu do tratamento que recebeu 240 kg N ha⁻¹. No entanto, como a contribuição da FBN pela estirpe BR 3302 foi semelhante ao controle absoluto, o incremento na produção de grãos resultou principalmente do aproveitamento do N do solo, sugerindo que essa estirpe apresenta outras características de promoção de crescimento vegetal, além da FBN.

Palavras chave: *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Bradyrhizobium*. Fixação biológica de nitrogênio. Bactérias promotoras do crescimento vegetal.

ABSTRACT

SANTOS, Dieini Melissa Teles. **Inoculation of mung beans (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) with commercial strains of *Bradyrhizobium*: grain yield evaluation in the municipality of Campos dos Goytacazes - RJ.** 2020. 48p. Dissertation (Master in Agronomy, Soil Science). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2020.

Mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) is part of the feeding base of several tropical and subtropical countries due to their protein content, characterizing an alternative for the diversification of grain-producing legumes in Brazil. The aim of the present study was to evaluate the effect of inoculation of mung bean seeds with strains of the rhizobial group registered for cowpea (*V. unguiculata* (L.) Walp), soybean (*Glycine max* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on grain yield. Initially, a greenhouse trial was previously installed under axenic conditions at Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ, for selecting efficient strains for mung bean inoculation consisting of twelve treatments (4 rhizobial efficient strains for cowpea, 4 for soybean, 3 for common bean and an absolute control). The variables analyzed were nodule number (NN), nodule dry mass (NDM), root (RDM) and shoot (SDM) dry masses. Three cowpea strains (BR 3301, BR 3302 and BR 3267) and one soybean strain (BR 96) were able to nodulate mung beans and to promote biological nitrogen fixation (BNF). A second experiment was carried out under axenic conditions with increasing doses of soluble N, in order to determine the optimal concentration to be applied under field conditions as a nitrogen control. From the results obtained for the analyzed variables (RDM and SDM), the optimal dose of 240 kg N ha⁻¹ was defined. A field experimental was installed at UFRRJ, Campos dos Goytacazes-RJ, composed of six treatments: the 4 selected strains (BR 3301, BR 3302, BR 3267 and BR 96 and an absolute and a nitrogen controls) and four repetitions. The variables analyzed were NN, NDM, RDM, SDM, shoot N content, shoot total N and grain yield. BNF variables were evaluated using the ¹⁵N natural abundance technique: N content derived from BNF, shoot N derived from FBN, shoot N derived from soil and nodular efficiency. In plants from the absolute control, the indigenous soil bacterial community was able to provide about 18,5 kg N ha⁻¹ derived from BNF, corresponding to approximately 40% of the total N. When calculating the partition of the SDM, at 44 day after emergency, proportional to the N derived from FBN and to the N derived from soil, it is obtained that plants inoculated with BR 3302 strain presented about 50% more of SDM corresponding to N derived from soil in comparison to absolute control plants which reflected in grain yield. Mung bean yield inoculated with BR 3302 strain was about 18% higher than the absolute control and did not differ from the treatment that received 240 kg N ha⁻¹. However, as the contribution of BNF by BR 3302 strain was similar to absolute control, the increase in grain yield resulted mainly from soil N, suggesting that this strain has other promoting plant growth characteristics, than BNF.

Keywords: *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Bradyrhizobium*. Biological nitrogen fixation. Plant growth promoting bacteria.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Feijão-mungo (09 DAE) inoculado com estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* em vaso Leonard, com cinco repetições, instalado em casa de vegetação sob condições axênicas, na Embrapa Agrobiologia, Seropédica - RJ..... 11
- Figura 2** - Feijão-mungo (60 DAE) com diferentes níveis de adubação nitrogenada em vaso Leonard, com cinco repetições, instalado em casa de vegetação sob condições axênicas, na Embrapa Agrobiologia, Seropédica - RJ. 12
- Figura 3** - Precipitação pluvial total mensal (mm), temperatura máxima e mínima média mensal (°C) durante a condução do experimento em condições de campo em Campos dos Goytacazes - RJ. Fonte INMET, 2020..... 13
- Figura 4** - Coleta de plantas aos 23 DAE para determinação da nodulação de feijão-mungo na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ. 15
- Figura 5** - Coleta de plantas de feijão-mungo entre floração e enchimento de grãos aos 44 DAE, na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ. 16
- Figura 6** - Coleta de rendimento de grãos de feijão-mungo aos 71 DAE, na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ..... 16
- Figura 7** - Crescimento vegetativo de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ)..... 20
- Figura 8** - Massa seca de raiz (g planta^{-1}) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ). Dados submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e regressão ajustados ao modelo quadrático. 20
- Figura 9** - Massa seca de parte aérea (g planta^{-1}) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ). Dados submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e regressão ajustados ao modelo quadrático. 21
- Figura 10** - Nódulos em raízes de feijão-mungo (23 DAE) nas plantas controle absoluto e inoculada com a estirpe BR 96, em campo (Campos dos Goytacazes – RJ)..... 23
- Figura 11** - Massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 11A) e massa seca de raiz (MSR) (Figura 11B) na 1ª coleta aos 23 DAE e massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 11C) na 2ª coleta aos 44 DAE, de feijão-mungo inoculado com estirpes de *Bradyrhizobium* em condições de campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) da MSPA e MSR na 1ª coleta, 26,99 e 26,92, respectivamente, e da MSPA na 2ª coleta, 14,59; p da MSPA e MSR na 1ª coleta, 0,0487 e 0,0544, respectivamente, e MSPA na 2ª coleta, 0,0013..... 24

- Figura 12** - Eficiência nodular (NAc-dfa/NN) de feijão-mungo inoculado com estipes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) 21,82; $p = 0,0121$. A comparação das médias da variável Eficiência Nodular foi obtida por $\text{NAc-dfa} \log \text{NN}^{-1}$ 27
- Figura 13** - Rendimento de grãos (72 DAE) de feijão-mungo inoculado com estipes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) 8,20; $p = 0,000$ 28
- Figura 14** - Partição de massa seca de parte aérea correspondente ao nitrogênio derivado da FBN (MSPA Ndfa) e ao nitrogênio derivado do solo (MSPA Nref) de feijão-mungo (44 DAE), inoculado com estipes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) 22,10 e 26,57 para Ndfa e Nref, respectivamente; $p = 0,0167$ e 0,0085 para Ndfa e Nref, respectivamente. 29

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Lista de bactérias do grupo rizóbio registradas para produção de inoculantes comerciais no Brasil, para as culturas do feijão-caupi, soja e feijão comum, e seu local de origem. 7
- Tabela 2** - Número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em casa de vegetação, em Seropédica - RJ. 18
- Tabela 3** - Número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN) de plantas de feijão-mungo (23 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). 22
- Tabela 4** - Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N e N total acumulado (NT) na parte aérea do feijão-mungo (44 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). 25
- Tabela 5** - Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N, N total acumulado (NT), teor de N derivado da FBN (Ndfa), N acumulado derivado da FBN (NAc-dfa) e N acumulado derivado do solo (NAc-ref) na parte aérea do feijão-mungo (44 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). 25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Feijão-mungo (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek).....	3
2.2 Contribuição das Leguminosas	4
2.3 Impactos da Adubação Nitrogenada	5
2.4 Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio	5
2.5 Estirpes Registradas para as Culturas do Feijão-caupi, Soja e Feijão Comum	6
2.6 Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio	8
2.7 Fatores que Interferem na Fixação Biológica de Nitrogênio	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Desempenho de Feijão-mungo Inoculado com Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. e <i>Rhizobium</i> spp.	11
3.2 Desempenho de Feijão-mungo em Função de Diferentes Níveis de Nitrogênio.....	12
3.3 Avaliação do Potencial das Estirpes de <i>Bradyrhizobium</i> spp. em Campo	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Seleção de Estirpes Registradas no MAPA para Inoculação do Feijão-mungo sob Condições Controladas	17
4.2 Avaliação do Feijão-mungo em Função de Diferentes Doses de Nitrogênio.....	19
4.3 Avaliação do Potencial das Estirpes Seleccionadas de <i>Bradyrhizobium</i> para Inoculação do Feijão-mungo em Condições de Campo.....	21
5 CONCLUSÕES.....	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
7 ANEXO.....	48

1 INTRODUÇÃO

O feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) é uma cultura originária da Índia e de alto consumo no continente asiático (KHATTAK et al., 2007). Constitui a base alimentar da população em muitas regiões devido seu valor proteico que varia de 21 a 28%, fibras, minerais e vitaminas (SANGAKKARA & SOMARATNE, 1988). Seu consumo é predominantemente na forma de brotos (moyashi) e é excelente alternativa para a proteína não animal (MUHAMMAD et al., 2013), no entanto, sua oferta não atende à demanda pela população, sendo predominante a produção em sistemas de agricultura familiar.

A deficiência de uma dieta nutricional equilibrada, resulta em ameaça à segurança alimentar levando a uma condição denominada “fome oculta”, devido a ingestão insuficiente de proteínas, vitaminas e minerais como Fe e Zn (KAHANE et al., 2013). Uma alternativa a esse cenário é diversificação dos sistemas de produção, principalmente em pequenas propriedades. A inclusão de culturas marginais favorece de maneira positiva a nutrição da população, principalmente de países em desenvolvimento (JACOBSEN et al., 2015). Diversificar o sistema produtivo garante além melhorar o nível nutricional população, uma agricultura mais sustentável, onde o papel ecossistêmico das leguminosas nesse sistema contribui para a segurança alimentar da população e a saúde solo (SIDDIQUE et al., 2012). Porém, as culturas das leguminosas costumam ser menos atraentes quando comparadas a monoculturas de cereais provenientes do melhoramento genético que visam a maior produtividade (BEDOUSSAC et al., 2015).

No entanto, culturas secundárias como o feijão-mungo, possuem potencial de produção quando associadas a melhorias de práticas agrônômicas (SIDDIQUE et al., 2012). Por ser uma planta resistente a temperaturas mais elevadas e tolerante a estresse hídrico, o feijão-mungo se adapta com facilidade em regiões de clima tropical e subtropical (ICAR, 2015). No Brasil, a produção de feijão-mungo é incipiente, apesar da cultura mostrar grande potencial agrônômico, crescente tendência de aceitação e demanda de mercado interno e externo. Sua adaptação no Brasil foi responsiva às condições climáticas e de solos em sua maioria de baixa fertilidade natural, com produtividade variando entre 1,2 a 2,6 Mg ha⁻¹ de grãos (VIEIRA et al., 2003). No Brasil, a produção de leguminosas pulses movimentou o setor agrícola. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2018, a cadeia do feijão movimentou cerca de R\$ 15,5 bilhões, à frente do arroz, laranja e fumo, setores fortes e consolidados na exportação.

Segundo a Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA) em 2018, houve um aumento de 22% nas exportações de feijão do Brasil, aproximadamente 130 mil toneladas, sendo à Índia o maior comprador do grão. Portanto, diversificar o setor das leguminosas pulses através da inclusão de novas culturas visa fortalecer o setor de grãos e amplia o nicho de mercado (MAPA, 2018). Além de beneficiar o ecossistema, com o aporte de nitrogênio através da biomassa vegetal que fica sobre o solo após a colheita de grãos (GUINET et al., 2020). Segundo Cunha & Campo (2006), a contribuição da cultura da soja varia de 20 a 30 kg ha⁻¹ de nitrogênio, suprindo de forma total ou parcial o N para culturas em sucessão.

Além das condições edafoclimáticas favoráveis, existe no país uma larga experiência voltada à implementação da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), que contribui com o fornecimento total ou parcial de N para as culturas. A exemplo da cultura da soja, a FBN é responsável por uma economia anual de US\$ 10 bilhões, devido ao não uso ou a redução de adubos nitrogenados (HUNGRIA & MENDES, 2015). A FBN consiste na associação entre plantas e bactérias diazotróficas, exemplos da soja e do feijão, que possuem uma boa relação simbiótica com bactérias do grupo rizóbios, capazes de suprir o nitrogênio exigido pela cultura

(SILVA JÚNIOR et al., 2018; ALCANTARA et al., 2014). Na rizosfera há uma vasta diversidade de organismos do grupo rizóbio capazes de se associarem e formar nódulos viáveis à contribuição da FBN. No entanto, a inoculação com estirpes selecionadas é uma técnica que visa garantir uma eficiente taxa de fixação de nitrogênio atmosférico (CHRISTOPHER et al., 2017).

A associação do feijão-mungo com bactérias do grupo dos rizóbios pode propiciar o N necessário para o desenvolvimento da cultura via FBN, que costuma ser bastante ativo e capaz de contribuir significativamente para a produtividade de grãos do feijão-mungo e do feijão-caupi, ambas espécies do gênero *Vigna* (QURESHI, et al., 2017.; MARTINS et al., 2003; BHUIYAN & MIAN, 2007; FERREIRA et al., 2013; ZILLI et al., 2009). Por ter sido o feijão-mungo introduzido recentemente no Brasil, até o momento, não há registro no MAPA de estirpes rizobianas eficientes para a cultura. Tem sido relatado que o feijão-mungo é capaz de formar nódulos com uma ampla faixa de microssimbiontes (RISAL et al., 2012; HAKIM et al., 2017; CRISTOPHER et al., 2017; WU et al., 2020). No entanto, o comportamento da cultura nas condições edafoclimáticas locais ainda não é conhecido, bem como a sobrevivência no solo das estirpes que colonizam os nódulos e a competitividade delas com a microbiota indígena.

Na ausência de produto que apresente estirpes rizobianas com eficiência conhecida para a inoculação de sementes de feijão-mungo, produtores de grãos têm utilizado inoculantes recomendados para outras culturas visando aumentar a atividade de FBN. Nesse sentido, passa a ser urgente a confirmação do desempenho dessas estirpes para a cultura, mediante a realização de experimentos de acordo com as normas definidas na Instrução Normativa SDA nº 13, de 24 de março de 2011 (MAPA), de modo a garantir a produção de grãos. Caso sejam verificados resultados favoráveis, esses inoculantes podem ser registrados para a cultura junto ao MAPA, de modo a acelerar a oferta da tecnologia de inoculação para a cultura. Nesse sentido, realizar estudos testando a capacidade simbiótica de inoculantes registrados e recomendados para outras culturas otimiza o setor de *pulses*, onde novas culturas possam se beneficiar da FBN de forma mais rápida.

O objetivo geral foi avaliar o efeito das sementes de feijão-mungo inoculadas com estirpes comerciais registradas no MAPA para feijão-caupi (*V. unguiculata* (L.) Walp), soja (*Glycine max* L.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Compreendendo os seguintes objetivos específicos: (1) realizar uma seleção preliminar sob condições axênicas com quatro estirpes de feijão-caupi (BR 3262, BR 3267, BR 3301 e BR 3302), quatro estirpes de soja (BR 85, BR 86, BR 96 e BR 29) e três de feijão comum (BR 322, BR 520 e BR 534); (2) determinar a dose ótima de nitrogênio mineral sob condições axênicas; (3) determinar a produtividade em condições de campo da cultura do feijão-mungo inoculado com as estirpes eficientes determinadas no item 1.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)

O feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) pertencente à família Fabaceae (leguminosas) e subfamília Papilionaseae. Cultura de ciclo anual, porte ereto ou semi-ereto, varia de 0,30 a 1,50 m de altura, possui pelos em toda sua parte aérea (VIEIRA, 2001), suas folhas são trifolioladas, de cor verde-clara ou verde-escura; possui pecíolos longos e folíolos ovais (VIEIRA & NISHIHARA, 1992).

O início da floração é entre 30 a 49 dias após o plantio, podendo variar de acordo com a cultivar e as condições climáticas da região. O florescimento é hábito indeterminado podendo durar algumas semanas (FAO, 2012), as pétalas são de coloração esverdeadas a amarelo. A maturação das vagens é uniforme, o número de vagens por planta varia de 4 a 34 dependendo das condições edafoclimáticas. As vagens são cobertas de pelos, podem conter até 20 sementes por vagens, seu comprimento pode chegar até 15 cm, de coloração marrom ou preta quando maduras (VIEIRA, 2001). Geralmente as cultivares consumidas na forma de grãos secos são de coloração verdes (VIEIRA et al., 2002).

O feijão-mungo é cultivado principalmente nos meses de verão. Para que haja uma boa germinação das sementes são necessárias elevadas temperaturas que vão entre 28 e 30 °C (POEHLMAN, 1978). A colheita varia entre 60 a 70 dias após a semeadura, devido ao ciclo curto é facilmente adaptável em consórcio com rotação de cultura, a sua tolerância a seca e a altas temperaturas faz com que a cultura seja uma alternativa viável aos produtores (SANGAKKARA & SOMARATNE, 1988). No entanto, o cultivo do feijão-mungo é comprometido na presença de excesso de umidade e salinidade no solo (FAO, 2019). Na alimentação humana o grão é consumido principalmente na forma de broto de feijão, o teor de proteína varia entre 21 a 28% excelente alternativa de proteína não animal (MUHAMMAD et al., 2013), rico em vitamina A, ferro, cálcio, zinco, potássio e fósforo (CHADHA, 2010). O feijão-mungo possui uma produtividade média de 2000 kg ha⁻¹ (LIN, 1999), é nativo da Índia-Birmânia e é cultivado extensivamente na Ásia (KHATTAK et al., 2007). Cerca de 90% da produção atual do grão acontece no sul, leste e sudeste da Ásia, sendo a Índia o maior produtor e consumidor (NAIR et al., 2013).

A Índia em 2013 teve uma produção de feijão-mungo de 1,48 milhões de toneladas, um cultivo marcado por uma produtividade extremamente baixa, cerca de 469 kg ha⁻¹ o que torna o país cada vez mais dependente de importações (FAO, 2019). Devido ao crescente aumento da população e o alto consumo de proteína vegetal, a Índia demanda grande volume de pulses que constitui sua base alimentar.

Segundo a FAOSTAT (2018), a produção mundial de feijões foi de 30,4 milhões de toneladas, dentre os gêneros mais cultivados estão o *Phaseolus* e o *Vigna* que respondem por cerca de 41%. No ranking dos dez países mais produtores e feijão do mundo, a Índia ocupa o primeiro lugar seguido do Myanmar, Brasil, EUA, China, República Unida da Tanzânia, México, Uganda, Kenya e Ethiopia. Juntos esses dez países somam 72% da produção mundial de feijões. Ainda segundo a FAOSTAT (2018), na safra de 2018 esses países foram responsáveis por cerca de 21,8 milhões de toneladas de feijões, sendo o Brasil responsável por cerca de 3 milhões de toneladas.

Conforme a projeção feita pelo MAPA (2016), o Brasil em 2026 chegará a uma área plantada de 65,6 milhões de hectares, com produção de grãos de 255,3 milhões de toneladas, desse total a cadeia do feijão será responsável por 1,8 milhões de hectares plantados e produção de 3,4 milhões de toneladas. Dentre as variedades de feijões mais produzidos na safra de 2018/19, estão o feijão comum, feijão-caupi e feijão preto. O feijão comum representa 62,8% do volume produzido, cultivado nas três safras anuais, o feijão-caupi é responsável por uma

produção de 20,8%, cultivado nas regiões Norte/Nordeste e Mato Grosso característico da 2ª safra e o feijão preto responde por 16,4% da produção e concentra-se na 1ª safra na região Sul do país (CONAB, 2019). Quanto as exportações de feijão, na safra de 2019/20 é possível que mantenha a mesma da safra anterior, cerca de 130 mil toneladas, ou que haja uma diminuição devido uma redução de áreas plantadas com feijão-caupi no Mato Grosso (CONAB, 2019). Diversificar a cadeia de feijões através da inclusão de novas culturas, visa atender o comércio exterior, principalmente os países asiáticos onde o feijão faz parte da dieta nutricional da grande parte da população (EMBRAPA, 2017).

O papel dessas leguminosas pulses é cada vez mais importante e estratégico para a segurança alimentar, devido elevado valor nutricional, alto teor de proteínas, macro e micronutrientes além de baixos níveis de colesterol e índice glicêmico (FAO, 2019). São culturas de baixa exigência nutricional e hídrica, seus resíduos fornecem nitrogênio ao solo por meio da simbiose com rizóbios contribuindo para o estoque de carbono, e podem ser usadas para alimentação animal (FAO, 1994). Devido a todos os benefícios que as leguminosas pulses desempenham no sistema, a FAO declarou 2016 como Ano Internacional das Pulses, e o governo de Burkina Faso propôs declarar o dia 10 de fevereiro como Dia Mundial das pulses (FAO, 2017).

No entanto, apesar do papel vital das pulses na sustentabilidade dos sistemas de produção, nutrição humana e animal, os pulses são extremamente suscetíveis a doenças, pragas e ervas daninhas. Segundo a FAO (2019) iniciativas de pesquisas a fim do melhoramento de novas cultivares de curta duração e maiores rendimentos, aumentar o conteúdo nutricional, melhor resistência a fatores bióticos e abióticos e maior eficiência em aproveitamento dos nutrientes e água do solo além da eficiente relação com organismos fixadores de N₂, são estratégias visam além de assegurar alimento para população asseguram também a saúde do solo.

2.2 Contribuição das Leguminosas

As leguminosas são plantas da família Fabaceae, usadas na alimentação humana na forma de grãos secos ou brotos e extração de óleo, farinha e na forma de ração na nutrição animal. Na agricultura as leguminosas desempenham papel importante como plantas de cobertura, quando em rotação de culturas (MELO et al., 2011), incrementando cerca de 50 a 70 Mg ha⁻¹ de N no solo proveniente da FBN (HERRIDGE et al., 2008; SILVA JÚNIOR, et al., 2014) que contribuirá para o aumento do teor de carbono orgânico no solo.

Sekhon et al. (2007) avaliaram o feijão-mungo como uma segunda safra após o ciclo da batata e o trigo, e observaram que o feijão-mungo é capaz de adicionar ao sistema cerca de 37 kg N ha⁻¹ que tornará disponível para a cultura seguinte, o que corresponde a uma economia de 25% de fertilizante nitrogenado. Shah et al. (2003) avaliaram a entrada de N no sistema por meio da introdução de leguminosas em rotação de culturas de verão e inverno no Paquistão, e observaram que a retenção de resíduos sobre o solo na rotação do feijão-mungo e trigo, aumentou a FBN e saldo positivo no balanço do N do feijão-mungo e o rendimento de ambas culturas. Alves et al. (2006), ao avaliar a FBN e adubação nitrogenada no balanço de N em soja, milho e algodão em sistema de plantio direto, observaram que a soja inoculada com rizóbios proporciona aumento no rendimento de grãos e no balanço positivo de N no sistema.

Além do fornecimento de N para os sistemas agrícolas, as leguminosas também fornecem ao solo macro e micronutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas. Melhorando a agregação e estruturação do solo através do aporte de matéria orgânica no solo, contribuindo para manutenção da biota e aumento da capacidade de troca de cátions (CTC) do solo (CHAVES, 2001). Em consórcio com gramíneas promovem estabilização do carbono orgânico do solo, através do sequestro de CO₂ (DONEDA et al., 2012), pois a dinâmica do

carbono e do nitrogênio estão intimamente associadas. Ao passo que através da economia com o não uso de forma parcial ou total dos fertilizantes nitrogenados, a FBN em leguminosas também contribuem para redução da emissão de gases de efeito estufa (GEE) que são emitidos durante o processo de fabricação do N mineral (JENSEN et al., 2012).

2.3 Impactos da Adubação Nitrogenada

Um dos nutrientes de maior exigência pelas plantas é o nitrogênio (CAVALCANTE et al., 2012). O elemento compõe a molécula de clorofila, que por sua vez está diretamente ligado ao processo de fotossíntese, faz parte dos aminoácidos os quais formam as proteínas e sua deficiência compromete a absorção de outros nutrientes (LOPES, 1998).

Porém, cerca de 30 a 78% do N dos fertilizantes sintéticos, são perdidos na forma de lixiviação e volatilização, respectivamente, desencadeando o fenômeno da eutrofização dos rios e mares e contribuindo para o aumento do aquecimento global, com a emissão de GEE na forma de óxido nitroso (N_2O) (VIEIRA, 2017). Na agricultura são emitidos, principalmente, três gases de gases de efeito estufa: carbônico ou dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O) (FREITAS et al., 2016). Apesar da concentração de N_2O na atmosfera ser baixa, seu potencial de aquecimento é 310 vezes superior ao da molécula de CO_2 (MAPA, 2019). A agricultura mundial é responsável por aproximadamente 80% do total de N_2O emitido para atmosfera, principalmente pelo uso dos fertilizantes nitrogenados (IPCC, 2001).

No Brasil, o setor agrícola é responsável por 80% dos GEE emitidos para a atmosfera, segundo a Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas (PBMC, 2014), e contribui com 95% das emissões de N_2O provenientes desse setor devido aos processos de nitrificação e desnitrificação dos fertilizantes sintéticos nitrogenados (CORRÊA, et al., 2016; FAO, 2015). Entre os anos de 1960 e 2002, o consumo brasileiro de fertilizantes nitrogenados teve um aumento de 30 vezes mais, com um avanço significativo no final dos anos 1990, coincidindo com a ocupação das áreas do bioma do cerrado (COSTA et al., 2009). Que por sua vez predomina solos altamente intemperizados, de baixa fertilidade natural e acidez elevada, sendo assim o uso de fertilizantes é indispensável para se obter uma boa produtividade (ANDA, 1994; GOEDERT, 1989).

De acordo com a CONAB (2019) na safra 2018/19, o maior estado produtor de grãos foi o Mato Grosso, com uma produção de 66.366,2 milhões de toneladas, considerado o celeiro de pulses do Brasil. O centro-oeste é responsável por aproximadamente 46% da produção de grãos do país. Diante da fragilidade dos solos onde se concentra a maior produção de grão de país, o desafio é maximizar os benefícios das leguminosas de grãos, buscando o aumentar a produção através de tecnologias como o melhoramento genético de plantas, otimizar a biotecnologia através da inoculação de microrganismos fixadores de N_2 e promotores de crescimento vegetal, afim de manter o equilíbrio entre a produção de alimentos e a saúde dos solos dessas áreas (TILMAN et al., 2011).

2.4 Contribuição da Fixação Biológica de Nitrogênio

A fixação biológica de N_2 se dá a partir da simbiose das leguminosas com bactérias do gênero *Rhizobium* ou *Azorhizobium*; essas bactérias diazotróficas através da enzima nitrogenase, são capazes de reduzir o N_2 da atmosfera em amônia (NH_3) ou aminoácidos (DÖBEREINER, 1989), capazes de serem usados pelas plantas. Essas bactérias diazotróficas são encontradas na grande maioria nas raízes na forma de nódulos, cujo interior possui coloração avermelhada por apresentar estruturas contendo leghemoglobina responsável por fornecer O_2 para produção de ATP, necessário ao processo de fixação do N_2 (DÖBEREINER, 1997).

As taxas de fixação de N₂ variam de acordo com o microssimbionte, condições ambientais e hospedeiro. As leguminosas fixam de 25 a 200 kg N ha⁻¹ por ciclo de crescimento, suprindo de 40 a 100% das necessidades de N da planta (VIEIRA, 2017; BARRADAS et al., 1989), promovendo maior produtividade da cultura (DUQUE et al., 1987). No entanto, o fornecimento de N na forma mineral inibe a formação dos nódulos e a fixação biológica do N₂ (BRITO et al., 2011). A substituição do fertilizante nitrogenado sintéticos pela FBN é uma estratégia eficaz na redução dos custos de produção, fortalecendo a subsistência do produtor no campo, promovendo melhorias na fertilidade do solo e mitigando a emissão de GEE (CHERKASOV et al., 2015).

O Brasil possui reconhecimento mundial na exploração da FBN, essa técnica contribui para uma economia de US\$ 10 bilhões de dólares anual, devido ao não uso de adubos nitrogenados (HUNGRIA & MENDES, 2015). O papel da FBN na contribuição da mitigação de GEE é extremamente importante num contexto mundial, por essa razão o MAPA, ao lançar o Plano ABC - Agricultura de Baixa Emissão de Carbono no ano de 2010, incluiu a FBN como um dos seus seis pilares para uma agricultura sustentável, conciliando com o aumento da produção de alimentos. A meta do Plano ABC é que, até 2020 a FBN contribuirá com uma redução de 10 milhões de toneladas de CO₂ eq (SEEG, 2016). Na agenda de ação até 2030, a FBN terá participação em 5 dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: 1 - erradicar a pobreza; 2 - erradicar a fome; 9 - indústria inovação e infraestrutura; 12 - produção e consumo sustentável; 13 - ação climática.

Segundo o relatório de 2012 das Organizações das Nações Unidas (ONU, 2014), a população mundial chegará a 9,6 bilhões de habitantes até 2050, esse aumento populacional será maior em países subdesenvolvidos, a Índia ocupará a primeira posição. Sendo assim, será necessário um aumento de produção, para garantir a segurança alimentar mundial, e o uso de tecnologias como a FBN, contribui de forma a suprir a necessidade da população por alimento atrelando a sustentabilidade da cadeia de produção.

2.5 Estirpes Registradas para as Culturas do Feijão-caupi, Soja e Feijão Comum

Na Tabela 1 estão listadas as bactérias do grupo rizóbio registradas no MAPA, de acordo com a Instrução Normativa nº 13, de 25 de março de 2011, para a produção de inoculantes no Brasil que foram utilizadas no presente estudo.

A estirpe BR 3267 (=SEMIA 6462), isolada e selecionada de nódulos do feijão-caupi coletados em áreas de sequeiro na região semi-árida do Brasil, foi eficiente em nodular e contribuir para o aumento do N total acumulado nos grãos. A estirpe foi capaz de alcançar nessas áreas produtividade de 693 kg ha⁻¹, semelhante ao controle nitrogenado que recebeu 50 kg N ha⁻¹, e elevou cerca de 30% a mais no rendimento de grãos quando comparada ao controle não inoculado (MARTINS et al., 2003).

Zilli et al. (2008) registrou a estirpe BR 3262 (=SEMIA 6464) para o feijão-caupi. Sua eficiência em campo foi avaliada na região de cerrado e mata alterada da Amazônia no estado de Roraima, em experimentos nos anos de 2005 e 2006. Observaram que a estirpe BR 3262 proporcionou aumento do número e massa seca de nódulos, e massa seca de parte aérea superior ao controle não inoculado. A estirpe BR 3262 alcançou uma produtividade de 2334 kg ha⁻¹ e contribuiu para um aumento no rendimento de grãos em 34%, em relação ao controle e semelhante ao tratamento que recebeu 50 kg ha⁻¹ de N. A BR 3262 foi a mais efetiva na FBN e mais indicada como inoculante para promover o aumento da produtividade do feijão-caupi no estado de Roraima. Leite et al. (2017) reclassificaram a nível de espécie as estirpes recomendadas para o feijão-caupi, BR 3267 antes *B. japonicum* para *B. yuanmingense* e BR 3262 antes *B. elkanii* para *B. pachyrhizi*.

Tabela 1 - Lista de bactérias do grupo rizóbio registradas para produção de inoculantes comerciais no Brasil, para as culturas do feijão-caupi, soja e feijão comum, e seu local de origem.

Cultura Leguminosa	Nome Comum	Sinonímia	Estirpe SEMIA*	Gênero/Espécie		Local de Origem e Referência
				Classificação	Reclassificação	
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp	Feijão-caupi	UFLA 3-84 (=BR 3302)	6461	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium viridifuturi</i>	Amazônia, Ji-Paraná-RO (LACERDA et al., 2004).
		BR 3267	6462	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i>	Semi-Árido, Nordeste (MARTINS et al., 2003).
		INPA 3-11B (=BR 3301)	6463	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Amazônia, Manaus-AM (SOARES, 2006a).
		BR 3262	6464	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	<i>Bradyrhizobium pachyrhizi</i>	Seropédica-RJ (ZILLI et al., 2008).
<i>Glycine max</i> (L.) Merrill	Soja	CPAC 15 (=BR 86)	5079	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Distrito Federal (VARGAS et al., 1992).
		CPAC 7 (=BR 85)	5080	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>	Distrito Federal (VARGAS et al., 1992).
		SEMIA 587 (=BR 96)	587	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	Rio grande do Sul (PERES, 1979).
		29 W (=BR 29)	5019	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	Rio de Janeiro (PERES, 1979).
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Feijão comum	CIAT 899 (=BR 322)	4077	<i>Rhizobium tropici</i>	<i>Rhizobium tropici</i>	Colômbia (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991).
		PRF 81 (=BR 520)	4080	<i>Rhizobium tropici</i>	<i>Rhizobium freirei</i>	Paraná (HUNGRIA et al., 2000a).
		H 12 (=BR 534)	4088	<i>Rhizobium tropici</i>	<i>Rhizobium tropici</i>	Distrito Federal (MOSTASSO et al., 2002).

* SEMIA - Sigla da Seção de Microbiologia Agrícola da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, atual Centro de Fixação Biológica do Nitrogênio da FEPAGRO, Secretaria da Ciência e Tecnologia. SEMIA foi registrada no primeiro catálogo de Rhizóbio, do International Biological Program, editado pela FAO (SKINNER, 1973; SKERMAN, 1983).

As estirpes BR 3302 (=SEMIA 6461, UFLA 3-84) e BR 3301 (=SEMIA 6463, INPA 3-11B) foram isoladas por Lacerda et al. (2004) e Soares et al. (2006a), respectivamente, na região amazônica nos estados de Rondônia e Manaus, respectivamente, e testada a atividade da FBN no feijão-caupi em experimentos de campo em Minas Gerais. Observaram que as estirpes foram eficientes em nodular o feijão-caupi em solo da região da mata atlântica. A produtividade máxima obtida para os tratamentos inoculados foi de até 1400 kg ha⁻¹ semelhante ao controle com 70 kg N ha⁻¹. A inoculação com as estirpes BR 3302 e BR 3301 foi capaz de contribuir com aumento de até 30% no rendimento de grãos em relação ao controle sem inóculo e sem N. Em 2019 a estirpe BR 3302 foi reclassificada, antes *B. japonicum* para *B. viridifuturi* (COSTA et al., 2019).

Em 1980 foram recomendadas as primeiras estirpes para produção de inoculante comercial para a soja, as BR 29 (=SEMIA 5019, 29 W) e BR 96 (=SEMIA 587), foram isoladas e sua eficiência testada no Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, respectivamente (PERES, 1979). Desde então vários trabalhos mostram sua eficiência em nodular a soja e contribuir com aumento da produtividade (NISHI & HUNGRIA, 1993; NEVES et al., 1985; SANTOS et al., 1999; HUNGRIA et al., 1997; BOHRER & HUNGRIA, 1998).

Os trabalhos buscando novas estirpes para soja tiveram continuidade, e Vargas et al. (1992) recomendaram as estirpes BR 85 (=SEMIA 5080, CPAC 7) e BR 86 (=SEMIA 5079, CPAC 15), isoladas e testadas durante sete anos em solos de Cerrado de primeiro cultivo no Distrito Federal. Os autores observaram que as estirpes BR 85 e BR 86 alcançaram em média incrementos de produtividade de 447 kg ha⁻¹ correspondendo a cerca de 25% em relação ao controle não inoculado. Enquanto que as estirpes BR 29 e BR 96, até então recomendadas para soja, alcançaram um incremento médio de 189 kg ha⁻¹ cerca de 11% em comparação ao controle sem inoculante. Em 2013 a estirpe BR 85 foi reclassificada a nível de espécie, antes classificada como *B. japonicum* após sua reclassificação passou a ser uma *B. diazoefficiens* (DELAMUTA et al., 2013). A estirpe BR 322 (=SEMIA 4077, CIAT 899) foi isolada por Martínez-Romero et al. (1991) na Colômbia. No Brasil é recomendada para o feijão comum desde 1998, seu desempenho agrônômico foi avaliado em diversos trabalhos (HUNGRIA et al., 2000b; SOARES et al., 2006b; GONZÁLEZ et al., 2008; MOREIRA, 2015).

No ano de 2000, durante um programa de seleção, a estirpe BR 520 (=SEMIA 4080, PRF 81) foi recomendada como inoculante comercial para a cultura do feijão comum. A estirpe BR 520 foi isolada e testada por Hungria et al. (2000a) em ensaios de campo em solos do estado do Paraná. Ao testarem três estirpes promissoras em nodular a soja, a estirpe BR 520, promoveu incremento de rendimento de grãos no primeiro ano de 53% e no segundo ano 78% superior ao controle não inoculado e igual ao controle que recebeu aproximadamente 30 kg N ha⁻¹. Em 2013 foi proposto uma reclassificação a nível de espécie da BR 520, antes *Rhizobium tropici* e após a reclassificação passou a ser um *Rhizobium freirei* (DALL'AGNOL et al., 2013).

Para a estirpe BR 534 (=SEMIA 4088, H 12) seu registro e recomendação para a cultura do feijão comum foi no ano de 2002. Mostasso et al. (2002) avaliaram 36 isolados em experimentos no cerrado no Distrito Federal e compararam com as estirpes BR 322 e BR 520 indicadas como inoculante para o feijoeiro. Observaram que a estirpe BR 534, apresentou a produtividade mais alta dentre os tratamentos, cerca de 2600 kg ha⁻¹, semelhante ao controle nitrogenado que recebeu 30 kg N ha⁻¹. O feijão inoculado com a estirpe BR 534 apresentou rendimento de grãos de 20 e 9% superior, em relação as estirpes BR 322 e BR 520, respectivamente, e cerca de 37% em comparação com controle não inoculado.

2.6 Quantificação da Fixação Biológica de Nitrogênio

Para quantificar a contribuição do N atmosférico proveniente da atividade da FBN, os métodos mais usados são a diluição isotópica de ¹⁵N por meio de fertilizantes marcados com esse isótopo ou através da sua abundância natural do ¹⁵N no solo (BODDEY et al., 1995; 2000). A técnica de abundância natural de ¹⁵N é comumente a mais utilizada, devido ao menor custo, além de permitir sua aplicação de forma rápida em diferentes sistemas. O N₂ atmosférico possui uma abundância natural de 0,3663 átomo% ¹⁵N e o restante compõe cerca de 99,6337 átomos% ¹⁴N (MARIOTTI, 1983). O isótopo de ¹⁵N é extremamente estável, ou seja, não sofre variações independentemente do ponto de coleta em torno do planeta (PEOPLES et al., 1989).

Contudo, nos solos geralmente o N é encontrado com um pequeno enriquecimento natural de ¹⁵N em relação ao N₂ do ar, devido a discriminação isotópica que ocorre durante as transformações do N no sistema solo-planta (BODDEY et al., 2000). Essa fração de enriquecimento é muito pequeno, podendo variar em até 0,005 átomos% de ¹⁵N, para lidar com

esses valores emprega-se a unidade delta ^{15}N que é expressa em partes por mil (‰), deste modo, cada unidade de delta ^{15}N seria a abundância natural dividida por mil, resultando em 0,0003663 átomos% ^{15}N em excesso (BODDEY et al., 2001). Deste modo, plantas que conseguem suprir total ou parcialmente sua demanda fisiológica por N através da FBN, o valor de delta ^{15}N é próximo de zero, pois a maior contribuição do N no tecido vegetal será proveniente do N_2 atmosférico cujo valor é 0,3663 átomos% ^{15}N . Em contrapartida, as plantas que não fixam N atmosférico e que estão na mesma área, o valor de delta ^{15}N será maior devido o N extraído do solo ser levemente enriquecido com ^{15}N . É importante salientar que geralmente, a distribuição da abundância natural de ^{15}N do solo aumenta em profundidade (URQUIAGA et al., 2012).

Para determinar a contribuição do N derivado da FBN (%Ndfa) são estimados três valores diferentes de abundância de ^{15}N : a de ^{15}N da planta fixadora de N_2 (valor 'B'), a de ^{15}N derivado do solo ($\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$) e a de ^{15}N de plantas não fixadoras que tenham a marcha de absorção de N semelhante aos da planta em avaliação (SHEARER & KOHL, 1986). A contribuição do N derivado da FBN em leguminosas varia entre as diferentes espécies do grupo rizóbio (ARAUJO et al., 2019). Guimarães et al. (2008) avaliaram na soja as estirpes recomendadas para cultura e estimou a contribuição do N derivado da atmosfera, e observaram que os valores médios de 'B' das plantas variaram entre estirpes. As médias dos valores 'B' de parte aérea e planta inteira quando inoculada com *B. japonicum* foram de -1,84 ‰ e -0,50 ‰, enquanto as inoculadas com *B. elkanii* apresentaram médias de -3,67 ‰ e -1,00 ‰, respectivamente.

2.7 Fatores que Interferem na Fixação Biológica de Nitrogênio

Em sistemas naturais vários fatores bióticos e abióticos interferem na eficiência simbiótica das bactérias diazotróficas com a planta hospedeira, o que leva a variação da fixação biológica do N atmosférico (FARIA, 2017). Dentre os fatores bióticos a competitividade das bactérias de interesse interfere diretamente no sucesso da FBN (XAVIER et al., 2006). Ao selecionar uma estirpe para a inoculação é necessário considerar que além da eficiência em fixar o N do ar, a bactéria precisa ser eficiente em competir por sítio de nodulação com as bactérias indígenas do solo (FERNANDES JÚNIOR & REIS, 2008). Segundo Araújo (1995), competitividade é a capacidade que o rizóbio tem em sobreviver, crescer e colonizar os sítios de nodulação em relação aos rizóbios indígenas. Estes sítios são aberturas naturais como fissuras geradas pela emissão de novas raízes que servirão como pontos de infecção para a bactéria na planta hospedeira, onde será formado o cordão de infecção em direção ao córtex da raiz (HIRSCH & LAURUE, 1997). Devido a seleção natural promovida pelas condições edafoclimáticas, geralmente os rizóbios naturalizados são mais competitivos, por isso é importante que as estirpes de interesse possuam também alta capacidade de competição (STRALIOTTO & RUMJANEK, 1999).

Outro fator biótico primordial ao sucesso da FBN é a especificidade da planta hospedeira em relação ao microssimbionte, que é a capacidade de uma planta nodular com ampla gama de microssimbiontes (pouco seletiva) ou com poucos microssimbiontes (altamente seletiva). Por apresentar baixa especificidade hospedeira, plantão feijão mungo estabelece associação com rizóbios naturalizados do solo, comprometendo a eficiência das estirpes usadas como inoculantes (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Em relação aos fatores abióticos que influenciam no poder competitivo dos rizóbios, a disponibilidade hídrica é fator limitante (SANTOS et al., 2013). Segundo Marino et al. (2007), a FBN em leguminosas reduz drasticamente em condições de estresse hídrico, devido a modificações enzimáticas, principalmente na síntese de alguns compostos como a sacarose, isocitrato desidrogenase e malato; a falta de água no sistema também provoca desequilíbrio no potencial redox da célula, além de comprometer a sinalização sistêmica de feedback de nitrogênio. De acordo com Larrainzar et al. (2009) e Valentine et al. (2011), o estresse hídrico

compromete o metabolismo de C, devido a inibição da FBN e grandes mudanças no perfil metabólico dos nódulos, principalmente um acúmulo de aminoácidos e carboidratos, o que leva ao declínio nos níveis de proteínas dos bacteróides envolvidos na FBN e metabolismo de C, juntamente com uma redução dos níveis de sacarose na sintetase 1 da planta, além de comprometer o metabolismo respiratório bacteriano.

Segundo Hungria & Vargas (2000b), outros fatores ambientais que limitam a FBN principalmente em países tropicais são a acidez dos solos e altas temperaturas.

Para maioria das espécies de rizóbio o aumento do pH do solo favorece a simbiose entre as bactérias diazotróficas nodulíferas em leguminosas (RUFINI et al., 2011; CAMPANHARO et al., 2010; MIGUEL & MOREIRA, 2001) e algumas espécies são mais sensíveis a acidez que outras. No caso do feijoeiro, a moderada acidez (pH 5,5) aumenta a biossíntese de fatores de nodulação (MORÓN et al., 2005). Já na soja, a acidez na faixa entre 4,5 e 5,8 afeta a fase de exsudação de flavonoides pela planta, o que compromete a síntese dos genes de nodulação (*nod*) pelos rizóbios (HUNGRIA & STACEY, 1997). Outro fator relacionado a acidez é o aumento da concentração de alumínio trocável (Al^{3+}). Para alguns rizóbios a presença de Al^{3+} reduz seu crescimento e a capacidade de nodulação (KEYSER & MUNNS, 1979), em virtude da alteração do perfil proteico, atividade de enzimas proteolíticas e amilase, alteração na produção de exopolissacarídeos e fatores de nodulação (GRAHAM, 1992; MORÓN et al., 2005).

A alta temperatura limita a FBN mesmo em condições de boa disponibilidade de água, em leguminosas cultivadas em temperatura de 40 °C. Sob altas temperaturas, estirpes de rizóbio apresentaram proteínas diferenciadas, e o choque térmico faz com que a síntese de proteína seja alterada (FERNANDES JÚNIOR & REIS, 2008). Outros fatores como a classe textural do solo, interferem diretamente na fixação biológica de N_2 . Diatta et al. (2020) observaram que os valores de N derivado FBN no feijão-mungo, foram maiores em solos argilosos quando comparados aos solos arenosos. Outro fator limitante é a fertilidade do solo. Alguns macros e micronutrientes são indispensáveis para o bom desempenho da planta e dos rizóbios. Segundo Stralio et al. (1999) para os rizóbios o fósforo está ligado a formação e manutenção dos nódulos, além de atuar na redução de N_2 em amônia, através da transferência de energia para o funcionamento da nitrogenase. Já o potássio atua no transporte dos ureídeos na forma de alantoato de potássio. O cálcio na planta está relacionado com o crescimento de raízes, que por sua vez afeta os sítios de nodulação, além de atuar na sinalização molecular que resulta na formação de nódulos. O papel do Mg na FBN se dá de forma indireta, pois constitui a molécula de clorofila, portanto, afeta a transferência de energia no processo de fotossíntese. Já o enxofre é responsável por ativar enzimas e coenzimas, além de compor a enzima nitrogenase (HUNGRIA et al., 2007). Já a presença de N para culturas como a soja e feijão-caupi, mesmo em doses baixas, pode ter efeito supressor na nodulação, pois a simbiose com bactérias diazotróficas requer dispendioso gasto energético para planta (HUNGRIA et al., 2015; NTAMBO et al., 2017; ZILLI et al., 2011). No entanto, em outras leguminosas, como o feijão comum, dose complementar de N é recomendada para suprir a exigência da cultura e aumentar a produtividade (MWEETWA et al., 2016; HABETE & BURAKA, 2016).

Micronutrientes como molibdênio (Mo), cobalto (Co) e ferro (Fe) também exercem papel indispensável ao bom desempenho da FBN. O Mo é constituinte estrutural das enzimas nitrogenase e a nitrato redutase, sua disponibilidade estimulam a atividade dessas enzimas e, conseqüentemente, o acúmulo de N na planta (PESSOA et al., 2001; KUBOTA et al., 2008). Já o Fe compõe a enzima nitrogenase e a leghemoglobina, responsável por formar uma barreira protetora da nitrogenase, regulando da passagem do oxigênio para o interior do nódulo (YEOMAN, 2000). O Co constitui a coenzima cobamida, precursora da leghemoglobina e, portanto, indispensável ao bom funcionamento da FBN (CAMPO et al., 1999). De modo geral, todos os fatores que afetam o crescimento e desenvolvimento da planta afetam também a FBN.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desempenho de Feijão-mungo Inoculado com Estirpes de *Bradyrhizobium* spp. e *Rhizobium* spp.

Foi conduzido ensaio em casa de vegetação sob condições axênicas na Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica - RJ, em vasos Leonard (VINCENT, 1970) (Figura 1), contendo pedrisco e vermiculita na proporção de 2:1, esterilizados em autoclave à pressão de 1 atm e à temperatura de 121 °C por 60 min. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 12 tratamentos (11 estipes e controle absoluto) e cinco repetições, totalizando 60 vasos.



Fonte: Dieini Melissa T. Santos

Figura 1 - Feijão-mungo (09 DAE) inoculado com estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* em vaso Leonard, com cinco repetições, instalado em casa de vegetação sob condições axênicas, na Embrapa Agrobiologia, Seropédica - RJ.

Foram avaliadas as seguintes estirpes registradas no MAPA: quatro estirpes para feijão-caupi (SEMIA 6463 (=BR 3301) de *B. japonicum*; SEMIA 6461 (=BR 3302) de *B. viridifuturi*; SEMIA 6462 (=BR 3267) de *B. yuanmingense*; e, SEMIA 6464 (=BR 3262) de *B. pachyrhizi*), quatro estirpes para soja (SEMIA 5080 (=BR 85) de *B. diazoefficiens*; SEMIA 5079 (=BR 86) de *B. japonicum*; SEMIA 587 (=BR 96) de *B. elkanii*; e, SEMIA 5019 (=BR 29) de *B. elkanii*), e três estirpes para feijão comum (SEMIA 4077 (=BR 322) de *R. tropici*; SEMIA 4088 (=BR 534) de *R. tropici*; e, SEMIA 4080 (=BR 520) de *R. freirei*)).

A cultivar de feijão-mungo utilizada foi a Camaleão. As sementes foram desinfestadas com álcool 70% por 60 s, depois emergidas em peróxido de hidrogênio por 3 min e posteriormente lavadas em água destilada autoclavada (VINCENT, 1970). Foram usadas cinco sementes por vaso.

Os isolados foram inoculados em meio de cultura líquido YM - Extrato de levedura e Manitol (FRED & WAKSMAN, 1928) e incubados em Shaker horizontal a 30 °C e 150 rpm. Cada estirpe apresentou tempo de crescimento específico entre três a sete dias, apresentando uma concentração de 10⁸ unidades formadoras de colônia (UFC). Após o crescimento, foi

realizada a inoculação utilizando, da suspensão bacteriana, 1 mL semente⁻¹. Aos cinco dias após a emergência (DAE) foi realizado o desbaste, deixando apenas uma planta vaso⁻¹. Semanalmente a solução nutritiva com macro e micronutrientes foi trocada, colocando 300 mL vaso⁻¹ de solução de Norris (NORRIS & DATE, 1976). Aos 60 DAE foi realizada a coleta. A parte aérea foi cortada na altura do nó cotiledonar, as raízes foram lavadas e os nódulos foram destacados e contados. A biomassa aérea, radicular e os nódulos foram levados para secar em estufa de circulação forçada com temperatura de 60 °C até atingir massa constante (EMBRAPA, 1997). Posteriormente foram pesadas e avaliados as variáveis: número de nódulo (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca da raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA). A variável número de nódulo foi transformada em logaritmo (NN+1).

Foi avaliado a normalidade e homogeneidade de variância dos dados pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ($p \leq 0,05$), respectivamente, no software R[®] v.3.6.3 (R CORE TEAM, 2019). Os dados homogêneos e normais foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparado as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada por meio do programa Sisvar v.5.7[®] (FERREIRA, 2019).

3.2 Desempenho de Feijão-mungo em Função de Diferentes Níveis de Nitrogênio

Foi instalado um experimento em casa de vegetação sob condições axênicas na Embrapa Agrobiologia, no município de Seropédica - RJ, em vasos Leonard (VINCENT, 1970) (Figura 2), contendo pedrisco e vermiculita na proporção de 2:1, esterilizados em autoclave à pressão de 1 atm e à temperatura de 121 °C por 60 min. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com sete tratamentos e cinco repetições, totalizando 35 vasos. Os tratamentos foram seis doses de N: 150, 300, 600, 1200, 1800 e 2400 mg N vaso⁻¹ na forma de nitrato de amônio com 35% de nitrogênio e um controle absoluto.



Fonte: Dreini Melissa T. Santos

Figura 2 - Feijão-mungo (60 DAE) com diferentes níveis de adubação nitrogenada em vaso Leonard, com cinco repetições, instalado em casa de vegetação sob condições axênicas, na Embrapa Agrobiologia, Seropédica - RJ.

A cultivar de feijão-mungo utilizada foi a Camaleão. O plantio foi realizado colocando cinco sementes por vaso. As sementes foram desinfestadas com álcool 70% por 60 s, depois emergidas em peróxido de hidrogênio por três min e lavadas em água destilada autoclavada (VINCENT, 1970). Aos cinco DAE foi realizado o desbaste, deixando uma planta por vaso.

Semanalmente a solução nutritiva com macro e micronutrientes foi trocada, colocando 300 mL vaso⁻¹ de solução de Norris (NORRIS & DATE, 1976). As doses de N foram fracionadas e a adubação realizada semanalmente.

Aos 60 DAE foi realizada a coleta. A parte aérea foi cortada na altura do nó cotiledonar, as raízes foram lavadas e levadas para secar em estufa com temperatura de 60 °C até massa constante (EMBRAPA, 1997). As variáveis analisadas foram: massa seca da raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA).

Os dados foram submetidos a análise de variância e, quando detectados efeitos significativos pelo teste F, a 5% de probabilidade, foram ajustadas equações de regressão, adotando-se o modelo quadrático. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa Sisvar v.5.7[®] (FERREIRA, 2019).

3.3 Avaliação do Potencial das Estirpes de *Bradyrhizobium* spp. em Campo

O experimento foi instalado na área experimental da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, *campus* Campos dos Goytacazes - RJ, no dia 14 de fevereiro de 2020, em área de solo classificado como Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 1997). A área experimental está localizada nas coordenadas geográficas de 21°48'10.81"S e 41°17'43.14"O, com elevação de 10,0 m acima do nível do mar. Segundo a classificação de Köppen - Geiger, é tropical (Aw), com inverno seco e verão quente (KÖPPEN, 1948). As temperaturas máximas e mínimas, bem como a precipitação, durante a condução do experimento são apresentadas na Figura 3.

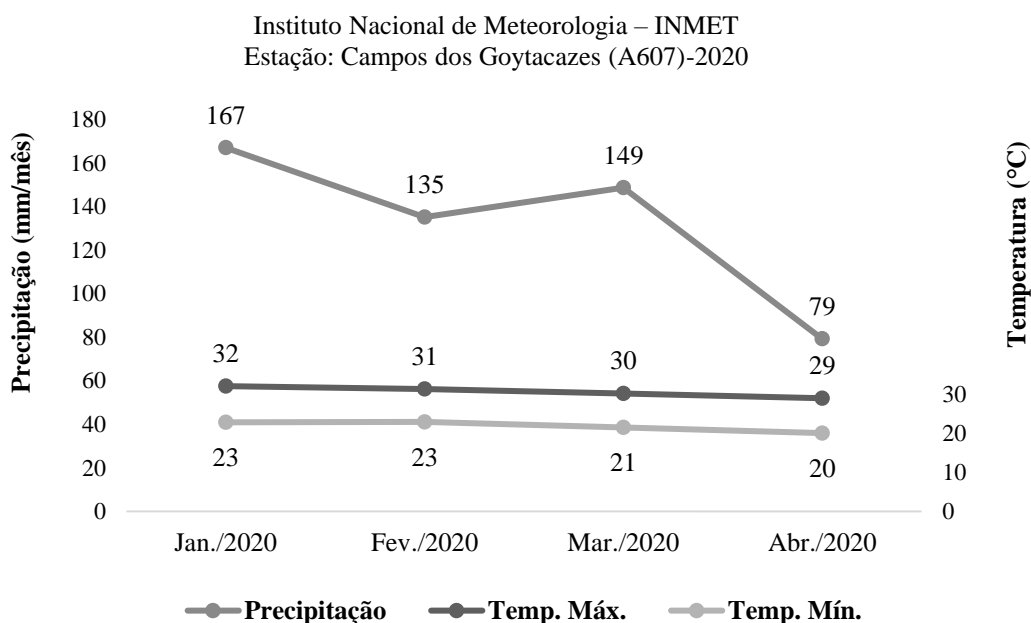


Figura 3 - Precipitação pluvial total mensal (mm), temperatura máxima e mínima média mensal (°C) durante a condução do experimento em condições de campo em Campos dos Goytacazes - RJ. Fonte INMET, 2020.

O experimento foi conduzido em delineamento blocos casualizados, com 6 tratamentos e 4 repetições totalizando 24 parcelas. As parcelas experimentais tiveram dimensão de 4,0 m de largura por 6,0 m de comprimento, distanciadas em 1,0 m entre si com 8 linhas espaçadas em 0,50 m.

Os tratamentos utilizados foram quatro estirpes, selecionadas a partir do ensaio conduzido em casa de vegetação, sendo três estirpes de feijão-caupi (BR 3302, BR 3301 e BR

3267) e uma estirpe de soja (BR 96). Foram utilizados dois controles, um controle nitrogenado que recebeu 240 kg de N ha⁻¹ e um controle absoluto (sem inoculação e sem adubação nitrogenada).

A fertilidade da área de plantio foi analisada na linha e entrelinha, na profundidade de 0-20 cm (Anexo 1). Seguindo a recomendação para a cultura do feijão-caupi, de acordo com o Freire et al. (2013), não houve necessidade de correção da acidez do solo. Foi realizada uma adubação na linha de semeadura, com 50 kg P₂O₅ ha⁻¹ no plantio, 50 kg K₂O ha⁻¹ e 240 kg N ha⁻¹ ambos fracionados $\frac{1}{3}$ aos 7 DAE e $\frac{2}{3}$ no início da floração aos 23 DAE. Somente as parcelas do tratamento nitrogenado receberam a adubação com N mineral.

Foram utilizadas sementes de uma variedade local de feijão-mungo resultante de cultivos sucessivos por vários anos, a partir de uma introdução feita na Embrapa Agrobiologia na década de 1980. As sementes estão disponíveis no Sistema Integrado de Produção Agroecológica – “Fazendinha Km 47” (Seropédica - RJ), situada à Rua B, 1048, Ecologia, Seropédica/RJ, Rodovia BR 465, CEP 23890-000, telefone +55(21) 2682-1082. As sementes apresentaram cerca de 99% de germinação.

A semeadura foi realizada de forma manual, totalizando 15 sementes por metro linear com espaçamento entre linhas de 0,50 m (720 plantas parcela⁻¹) e uma densidade populacional de 300.000 plantas ha⁻¹.

Os inoculantes turfosos foram preparados no Laboratório de Ecologia Microbiana (LEMI) da Embrapa Agrobiologia – RJ, contendo 10⁸ células g⁻¹, de acordo com a recomendação da Rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbianos de interesse agrícola (RELARE, 2007). As sementes (2.880 sementes tratamento⁻¹) foram inoculadas no dia do plantio com 30 g de inoculante turfoso suspensas em 10 mL de água. Como tratamentos culturais, foram realizadas duas capinas manuais, sendo a primeira aos 19 DAE e a segunda aos 68 DAE e irrigação por aspersão após três dias de estiagem.

As variáveis analisadas na primeira coleta aos 23 DAE foram: NN, MSN e MSPA. Foram coletadas cinco plantas na altura do nó cotiledonar cova⁻¹ parcela⁻¹ na segunda linha a partir de 1,0 m da extremidade (Figura 4). As raízes foram lavadas e os nódulos foram destacados, contados e levados para secar em estufa de circulação forçada a 65 °C até atingir massa constante (EMBRAPA, 1997), juntamente com as raízes e parte aérea, para pesagem e determinação de massa seca. A variável número de nódulos foi transformada em logaritmo (NN+1).

Na segunda coleta realizada aos 44 DAE, entre a floração e o início de enchimento de grãos foram avaliadas as variáveis: MSPA, teor de N, N total acumulado na parte aérea, teor de N derivado da FBN, N acumulado derivado da FBN e N acumulado derivado do solo, eficiência nodular e a partição do N na MSPA. Foram coletadas cinco plantas cova⁻¹ parcela⁻¹ na segunda linha a partir de 2,50 m da extremidade (Figura 5). A biomassa aérea foi cortada na altura do nó cotiledonar, levada para casa de vegetação para reduzir a umidade e em seguida, acondicionada em estufa de circulação forçada a 60 °C até atingir massa constante (EMBRAPA, 1997), para determinação da massa seca.



Figura 4 - Coleta de plantas aos 23 DAE para determinação da nodulação de feijão-mungo na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ.

Foram coletadas plantas testemunhas, não fixadoras de N_2 que se estabeleceram dentro das parcelas: tiririca (*Cyperus haspan*), pé-de-galinha (*Eleusine indica*) e capim-annoni (*Eragrotis plana*).

O teor de N pelo foi determinado pelo método Kjeldahl e Dumas (RIBEIRO, 2010), N total acumulado na parte aérea calculado pela fórmula: teor de N x MSPA / 100.

O teor de N derivado da FBN foi determinado por meio da técnica de abundância natural de ^{15}N a partir de amostras pesadas e moídas em moinho de faca. A determinação do N total na biomassa aérea do feijão-mungo e abundância natural de ^{15}N (OKITO et al., 2004), usou uma massa de razão isotópica de fluxo contínuo pelo espectrômetro (Finnigan Delta Plus ou massa Delta V espectrômetro Finnigan MAT, Bremen, Alemanha) acoplado à saída de um Costech (modelo ECS4010) no Laboratório John M. Day de Isótopos Estáveis da Embrapa Agrobiologia, de acordo com Ramos et al. (2001). O isótopo de ^{15}N foi mensurado através da diferença do número de átomos de ^{15}N para ^{14}N , usando o ar atmosférico com padrão (JUNK & SVEC, 1958; MARIOTTI et al., 1981).

Para o cálculo da estimativa da FBN, por meio da abundância natural, utiliza-se a seguinte expressão %Ndfa de SHEARER & KOHL (1986):

$$\%Ndfa = \frac{\delta^{15}N \text{ da planta de referência} - \delta^{15}N \text{ da planta fixadora de } N_2}{\delta^{15}N \text{ da planta de referência} - B} \times 100$$

$\delta^{15}N$ da planta de referência – Valor de $\delta^{15}N$ do solo obtido através de plantas não fixadoras, utilizadas como testemunha e coletadas dentro da área experimental;

$\delta^{15}N$ da planta fixadora de N_2 – Valor de $\delta^{15}N$ da planta fixadora de N_2 ;

B – Valor da discriminação isotópica de ^{15}N , sendo B a proporção de ^{15}N da planta fixadora crescida totalmente dependente da FBN.

O N acumulado derivado da FBN foi calculado pela fórmula: teor de N derivado da FBN x N total acumulado / 100, e N acumulado derivado do solo: N total acumulado - N acumulado derivado da FBN. A eficiência nodular foi determinada a partir do N acumulado derivado da FBN pelo NN. A partição do N (derivado da FBN:derivado do solo) na MSPA foi calculada pelas fórmulas: teor de N derivado da FBN x MSPA / 100 (MSPA derivada da FBN) e MSPA - MSPA derivada da FBN (MSPA derivada do solo).



Fonte: Dieini Melissa T. Santos

Figura 5 - Coleta de plantas de feijão-mungo entre floração e enchimento de grãos aos 44 DAE, na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ.

O rendimento de grãos foi avaliado na terceira coleta aos 71 DAE, quando aproximadamente 99% das vagens estavam em ponto de colheita. Foi demarcada uma área útil de 1,0 m² dentro da área da parcela (Figura 6). As plantas foram cortadas na altura do nó cotiledonar, levadas para casa de vegetação e distribuídas sobre as bancadas para reduzir a umidade inicial das folhas. As vagens foram destacadas da parte aérea e debulhados. Os grãos foram acondicionados em estufa de circulação forçada a 65 °C até massa constante (EMBRAPA, 1997) e corrigida a umidade para 13%. A produtividade foi determinada a partir da massa seca de 100 grãos.



Fonte: Dieini Melissa T. Santos

Figura 6 - Coleta de rendimento de grãos de feijão-mungo aos 71 DAE, na área experimental da UFRRJ *campus* Campos dos Goytacazes - RJ.

Foi avaliado a normalidade e homogeneidade de variância dos dados pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ($p \leq 0,05$), respectivamente, no software R[®] v.3.6.3 (R CORE TEAM, 2019). Os dados homogêneos e normais foram submetidos à análise de variância pelo teste F e comparado as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada por meio do programa Sisvar v.5.7[®] (FERREIRA, 2019).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção de Estirpes Registradas no MAPA para Inoculação do Feijão-mungo sob Condições Controladas

Em experimento conduzido em casa de vegetação, a estirpe BR 3302 proporcionou ao feijão-mungo número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca de raiz e massa seca da parte aérea significativamente superiores aos demais tratamentos (Tabela 2). As estirpes BR 3302, BR 96 e BR 3301 apresentaram número de nódulos, massa seca de nódulos e massa seca de parte aérea, significativamente superior aos demais tratamentos, inclusive o controle absoluto (Tabela 2). Nas plantas não inoculadas (controle absoluto) não foi observada a presença de nódulos, indicando que a manipulação das plantas foi adequada, garantindo a não contaminação com estirpes rizobianas.

As plantas inoculadas com a estirpe BR 3302 apresentaram em relação ao controle absoluto, aproximadamente 5 e 2,5 vezes os valores de massa seca de parte aérea e de raiz, respectivamente. As estirpes BR 96 e BR 3301 também mostraram diferenças significativas para massa seca de parte aérea, cerca de 3 vezes em relação ao controle absoluto.

Estudos com foco na atividade da FBN já realizados com feijão-mungo, são bastante incipientes e apresentam resultados limitados a respeito das estirpes bacterianas que possam promover a nodulação e a fixação de N_2 para a cultura. Resultados sob condições axênicas mostram a capacidade de associações entre o feijão-mungo e várias espécies rizobianas, sugerindo que a espécie apresenta baixa especificidade em relação ao microssimbionte (RISAL et al., 2012; CRISTOPHER et al., 2017; WU et al., 2020).

Em condições de campo, estudos na Etiópia revelaram que *V. radiata* e *V. unguiculata* são noduladas por diversos grupos de estirpes do gênero *Bradyrhizobium* (DEGEFU et al., 2018). Tem sido apontado também, que a atividade de FBN nos nódulos de feijão-mungo pode ser altamente eficiente, respondendo por uma fração representativa do N para a cultura (DIATTA et al., 2020; CRISTOPHER et al., 2017; WU et al., 2020; HAKIM et al., 2017). Um estudo de feijão-mungo consorciado com milho, calculou que 78% do N era derivado da atmosfera (SENARATNE et al., 1995). Essas características são comuns também ao feijão-caupi, onde a FBN pode disponibilizar todo o N para a cultura, dispensando completamente a aplicação de fertilizante nitrogenado (MARTINS et al., 2003; ZILLI et al., 2009; BODDEY et al., 2016; LEITE et al., 2017; JARAMILLO et al., 2013; ROCHA et al., 2020).

Lacerda et al. (2004) e Soares et al. (2006a) isolaram as estirpes BR 3302 e BR 3301 na região amazônica nos estados de Rondônia e Manaus, respectivamente, e testaram sua eficiência no feijão-caupi em experimentos de campo em Minas Gerais. Os autores observaram que as estirpes amazônicas, apesar de serem adaptadas a condições de elevadas temperaturas e solos predominantemente ácidos, foram eficientes em nodular o feijão-caupi em solos da região da mata atlântica. A produtividade máxima obtida para os tratamentos inoculados foi de até 1400 kg ha^{-1} , semelhante ao controle com 70 kg N ha^{-1} . As estirpes BR 3302 e BR 3301 são capazes de proporcionar aumentos de até 30% no rendimento de grãos em relação ao controle sem inóculo e sem N. Em um ensaio no estado do Piauí, região Nordeste brasileira, Costa et al. (2011) inocularam sementes de feijão-caupi com as estirpes amazônicas. Os autores observaram que ambas as estirpes foram eficientes, respondendo por aumentos de 30 a 70% no rendimento da cultura em região sequeira. Os melhores resultados foram obtidos a partir da inoculação com a estirpe BR 3301 que alcançou 1600 kg ha^{-1} de produtividade, semelhante ao tratamento nitrogenado. Em função dos resultados obtidos, a estirpe foi recomendada pelos autores para a inoculação de feijão-caupi cultivado na região Nordeste. Além dos resultados em feijão-caupi, essas estirpes também nodulam o feijão-mungo.

Tabela 2 - Número de nódulos (NN), massa seca de nódulos (MSN), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em casa de vegetação, em Seropédica - RJ.

Tratamento	NN*	MSN	MSR	MSPA
	-- número planta ⁻¹ --	-- mg planta ⁻¹ --	----- g planta ⁻¹ -----	
BR 3302	49 a	138 a	0,294 a	0,930 a
BR 96	70 a	98 b	0,178 bc	0,582 b
BR 3301	72 a	89 b	0,200 ab	0,590 b
BR 3262	2 b	6 c	0,122 bc	0,222 c
BR 3267	1 b	3 c	0,114 bc	0,212 c
BR 29	3 b	15 c	0,138 bc	0,264 c
BR 85	0 b	0 c	0,126 bc	0,182 c
BR 86	0 b	0 c	0,114 bc	0,190 c
BR 322	0 b	0 c	0,110 bc	0,174 c
BR 534	0 b	0 c	0,110 bc	0,204 c
BR 520	0 b	0 c	0,094 c	0,180 c
Controle absoluto	0 b	0 c	0,112 bc	0,188 c
CV (%)	31,48	56,47	30,37	32,50

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *A comparação das médias de NN foi obtida por log (NN+1).

O potencial das estirpes BR 3267 e BR 3262 em promover a atividade de FBN para a cultura do feijão-caupi é bem reconhecido. A estirpe BR 3267, isolada e selecionada de nódulos do feijão-caupi coletados em áreas de sequeiro na região semi-árida do Brasil, é capaz de alcançar nessas áreas produtividade de 693 kg ha⁻¹, semelhante ao controle nitrogenado que recebeu 50 kg N ha⁻¹, e cerca de 30% a mais no rendimento de grãos quando comparada ao controle não inoculado (MARTINS et al., 2003). Ainda na região nordeste, Almeida et al. (2010) observaram que além da BR 3267, as estirpes BR 3262 e BR 3301 tiveram rendimento de grãos iguais ao tratamento com 50 kg N ha⁻¹, suprimindo nesse nível a necessidade de N da cultura. Resultados semelhantes também foram encontrados por Ferreira et al. (2013) e Marinho et al. (2014).

Na região amazônica, Melo & Zilli (2009) e Zilli et al. (2009) avaliaram as estirpes BR 3267 e BR 3262 em cinco cultivares de feijão-caupi em condições de casa de vegetação e campo, encontraram resultados semelhantes aos estudos supracitados em áreas das regiões nordeste do Brasil. A inoculação contribuiu com o equivalente a 50 kg N ha⁻¹, promovendo aumento de aproximadamente 30% no rendimento de grãos em relação ao controle absoluto.

Além dos estudos que mostram a eficiência simbiótica entre *Bradyrhizobium* e feijão-caupi em diferentes condições edafoclimáticas do Brasil, Boddey et al. (2016) testaram as cepas brasileiras BR 3267, BR 3262, BR 3302 e BR 3301 na cv. BRS Guariba em solos da região Norte de Moçambique e de Gana. Os resultados encontrados foram semelhantes aos do Brasil. No primeiro ensaio, a capacidade produtiva da cultura inoculada com as cepas BR 3267 e BR 3262 dobrou em relação ao controle. A produtividade média do feijão-caupi inoculado com ambas as estirpes foi de 2000 kg ha⁻¹, superando os tratamentos com N. No segundo ensaio, o aumento do rendimento de grãos variou de 40 a 60% para a cepa BR 3267, que contribuiu com produtividade maior do que os tratamentos com 40 e 80 kg N ha⁻¹.

Ao contrário do observado para as estirpes amazônicas (BR 3301 e BR 3302), as estirpes BR 3267 e BR 3262 apresentaram uma baixa eficiência simbiótica em feijão-mungo.

Em relação a estirpe BR 96 isolada de nódulos de soja no Rio Grande do Sul em 1967, Santos et al. (1999) observaram que houve um incremento de número de nódulos, massa seca de raiz e parte aérea nos tratamentos inoculados, concluindo que a estirpe foi superior aos demais tratamentos. Hungria et al. (1997) ao inocular a soja combinando as estirpes BR 96 e

BR 85, observaram que o rendimento de grãos da cultura foi semelhante ao controle positivo que recebeu 200 kg N ha⁻¹, em solos dos estados do Paraná, Goiás e Maranhão.

Zilli et al. (2011) avaliaram em condições controladas a contribuição de estirpes registradas no MAPA para a soja no feijão-caupi, constatando que a estirpe BR 96 apresentou eficiência nodular, massa seca de parte aérea e N total iguais as estirpes BR 3262 e BR 3267 recomendadas para a cultura do feijão-caupi. Para a massa de parte aérea e N total acumulado, a estirpe BR 96 foi semelhante ao tratamento que recebeu 50 kg N ha⁻¹, apresentando um acréscimo de 86 e 96% para as respectivas variáveis em relação ao controle, sugerindo que essa estirpe pode ser uma alternativa eficiente para incrementar a fixação biológica de N na cultura do feijão-caupi.

Além da soja e do feijão-caupi, a estirpe BR 96 foi capaz de nodular o feijão-mungo no experimento realizado sob condições axênicas (Tabela 2).

Os resultados apresentados na Tabela 2 caracterizam dois grupos de estirpes: as que são capazes de nodular e fixar o N atmosférico no feijão-mungo (BR 3302, BR 3301 e BR 96) e as demais estirpes testadas que não conseguiram proporcionar uma nodulação significativa e tiveram um comportamento semelhante ao controle. Entre as estirpes do segundo grupo, três induziram a formação de poucos nódulos que não resultaram em aumento significativo de massa seca de parte aérea: duas estirpes de feijão-caupi (BR 3267 e BR 3262) e uma estirpe de soja (BR 29). As estirpes BR 3267 e BR 3262 registradas para o feijão-caupi apresentaram respostas similares entre si para todas as variáveis.

4.2 Avaliação do Feijão-mungo em Função de Diferentes Doses de Nitrogênio

Para determinar uma dose ótima de adubação mineral nitrogenada para o feijão-mungo, foi instalado um ensaio em casa de vegetação com diferentes doses de N (Figura 7). Observou-se que o feijão-mungo responde a níveis crescentes de N mineral conforme já havia sido relatado por Razzaque et al. (2015). A dose de 1200 mg N planta⁻¹, igual a 240 kg N ha⁻¹ calculada a partir de uma densidade populacional de 200.000 plantas ha⁻¹, proporcionou maiores incrementos de massa seca de raiz, cerca de 88%, e de parte aérea, em torno de 97%, quando comparada ao controle absoluto, segundo Figuras 8 e 9, respectivamente. Respostas semelhantes foram também encontradas por Duque & Pessanha (1990), ao avaliar o comportamento de dez cultivares de feijão-mungo, que observaram uma média de N total na parte aérea das plantas de aproximadamente 1200 mg N planta⁻¹.

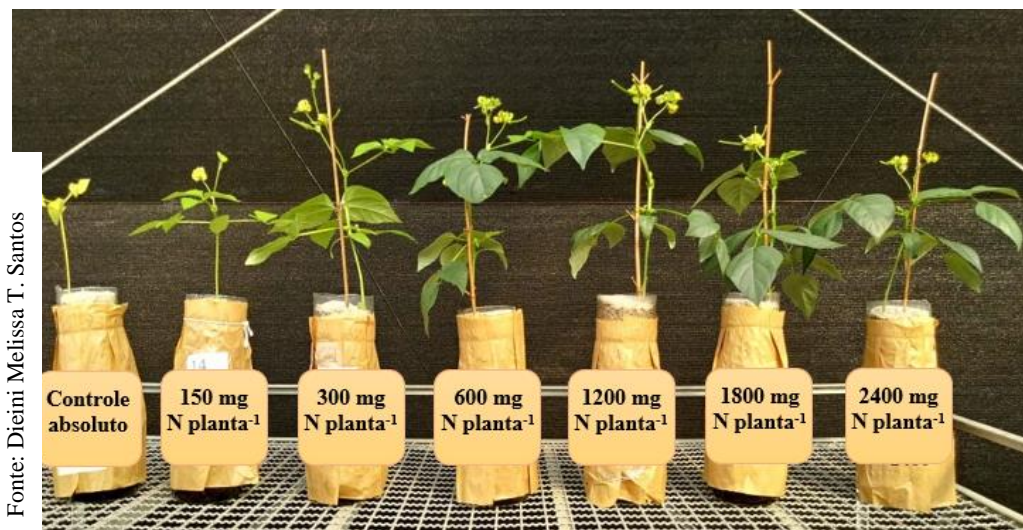


Figura 7 - Crescimento vegetativo de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ).

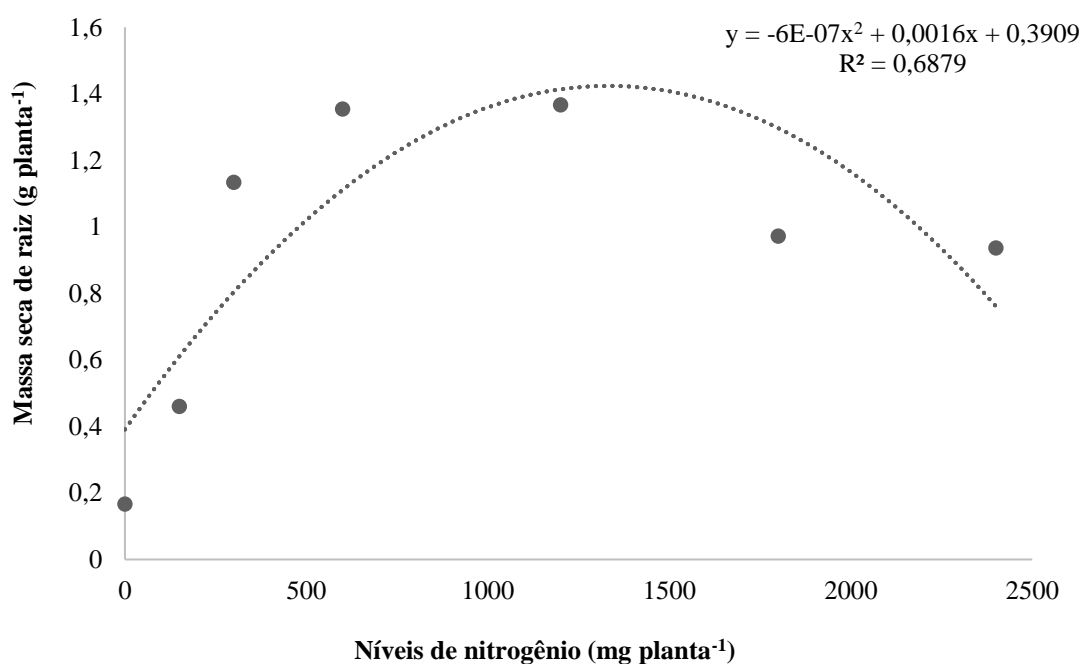


Figura 8 - Massa seca de raiz (g planta^{-1}) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ). Dados submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e regressão ajustados ao modelo quadrático.

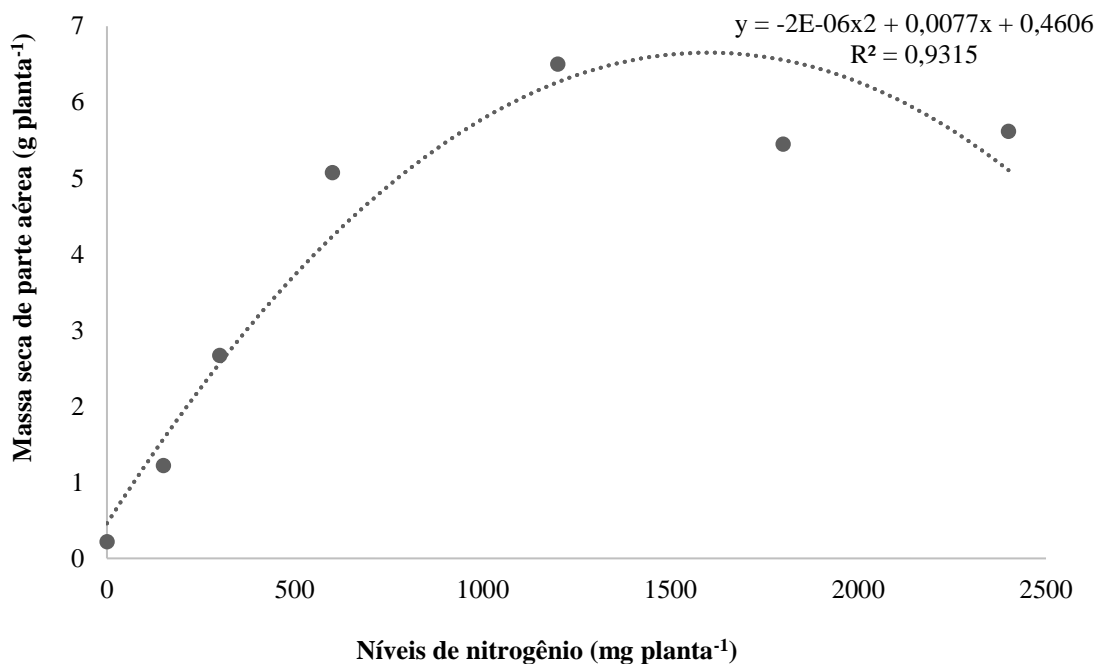


Figura 9 - Massa seca de parte aérea (g planta^{-1}) de plantas de feijão-mungo (60 DAE) em função de diferentes níveis de fertilizante nitrogenado (mg planta^{-1}) sob condições axênicas (Seropédica – RJ). Dados submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e regressão ajustados ao modelo quadrático.

4.3 Avaliação do Potencial das Estirpes Seleccionadas de *Bradyrhizobium* para Inoculação do Feijão-mungo em Condições de Campo

A partir dos ensaios realizados em casa de vegetação, foi implantado um experimento em condições de campo com as estirpes seleccionadas, consideradas promissoras para a inoculação do feijão-mungo: BR 3302, BR 3301, BR 96 e BR 3267. Não houve diferença significativa no número de nódulos em resposta à inoculação com as estirpes testadas (Tabela 3). Tanto as plantas inoculadas como as plantas do controle absoluto apresentaram em média 44 nódulos planta^{-1} , o que sugere uma boa nodulação e a presença de uma alta população de estirpes nodulantes indígenas no solo, que foram responsáveis pela nodulação das plantas não inoculadas. Já nas raízes das plantas que receberam 240 kg N ha^{-1} , houve uma tendência de redução na nodulação para cerca de 25 nódulos planta^{-1} .

Os tratamentos inoculados com as estirpes BR 96 e BR 3302 aumentaram cerca de 3 vezes a massa seca de nódulos em comparação ao tratamento nitrogenado. Os dados indicam o efeito supressor do N na nodulação do feijão-mungo (Tabela 3) e seguem a tendência observada para o número de nódulos. Respostas semelhantes foram encontrados para o feijão-caupi, em um ensaio realizado por Chagas Junior et al. (2010a) avaliando estirpes de *Bradyrhizobium* registradas para a cultura. Os autores observaram que a dose de 50 kg N ha^{-1} suprimiu a nodulação em até 99% em relação aos tratamentos inoculados. Xavier et al. (2008) conduziram um ensaio avaliando a nodulação no feijão-caupi nas doses de 0, 20, 40, 80 e 160 kg N ha^{-1} , observando que doses acima de 20 kg N ha^{-1} tem efeito supressor na nodulação do feijão-caupi. Respostas semelhantes também foram encontradas por Zilli et al. (2011), Melo & Zilli (2009) e Martins et al. (2013).

Em outras leguminosas a presença de N também promove a redução da nodulação. Em soja a aplicação de 200 kg N ha^{-1} reduziu de 35 a 75% a massa de nódulos quando comparada

aos tratamentos inoculados com estirpes rizobianas (MENDES et al., 2008; NTAMBO et al., 2017; CAMPOS & GNATTA, 2006; ZILLI et al., 2010). O nível da contribuição de N proveniente da FBN pode ser afetado de forma significativa em resposta ao teor de N disponível no solo. Na cultura da soja, a partir de ensaio realizado por Viera Neto et al. (2008), discute-se que apesar de alguns estudos recomendarem a aplicação de doses de N na fase inicial da cultura, principalmente após o cultivo de plantas não leguminosas, mesmo doses consideradas baixas, entre 20 a 40 kg N ha⁻¹, podem reduzir drasticamente a nodulação e não contribuem para o aumento da produtividade.

Tabela 3 - Número de nódulos (NN) e massa seca de nódulos (MSN) de plantas de feijão-mungo (23 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ).

Tratamento	NN*	MSN
	----- nódulo planta ⁻¹ -----	----- mg planta ⁻¹ -----
BR 96	49,3	111,5 a
BR 3302	43,1	96,0 a
BR 3267	44,1	92,8 ab
BR 3301	37,6	80,2 ab
Controle absoluto	45,4	91,3 ab
Controle nitrogenado	25,4	31,7 b
CV (%)	10,89	32,99
	ns**	

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). *A comparação das médias de NN foi obtido por logNN. **ns – não significativo.

Em contrapartida, estudos realizados com o feijão-mungo relatam que a adubação com fertilizante nitrogenado, em baixos níveis, promove aumento da nodulação contribuindo para o desenvolvimento inicial da cultura. Em um ensaio conduzido com feijão-mungo no Paquistão, Malik et al. (2014) avaliaram a inoculação com misturas de estirpes de rizóbios combinadas às doses de 12,5, 19 e 25 kg uréia ha⁻¹ e composto orgânico (800 kg ha⁻¹) com 1,96% N. A mistura de rizóbios com composto e 19 kg uréia ha⁻¹ promoveu incremento de 46% na nodulação, 48% na massa fresca, 50% massa seca de nódulo e 25% no rendimento de grãos em relação ao tratamento nitrogenado.

Anwar et al. (2018) realizaram um experimento de campo com feijão-mungo fornecendo diferentes níveis de fertilizante nitrogenado mineral e orgânico. Constataram que o tratamento que recebeu a dose de 30 kg N ha⁻¹ e o tratamento com 5 t ha⁻¹ de esterco de aves, apresentaram a maior taxa de nodulação, o que corresponde a um aumento de 23 e 26%, respectivamente, em relação ao controle que não recebeu adubação. O tratamento com 30 kg N ha⁻¹ e o tratamento com 5 t ha⁻¹ de esterco de aves, proporcionaram aumentos de 32 e 39% no rendimento de grãos respectivamente, quando comparados ao controle.

Razzaque et al. (2016), avaliando dez genótipos de feijão-mungo e seis níveis de N, correspondendo a 0, 20, 40, 60, 80 e 100 kg N ha⁻¹, concluíram que a dose de 40 kg N ha⁻¹ estimulou maior nodulação e produtividade no feijão-mungo. Os resultados sugerem que a cultura necessita de uma dose de N mineral na fase inicial, pois as bactérias nesse estágio vegetativo da cultura são incapazes de contribuir eficientemente com a FBN. No entanto, doses acima desse valor (40 kg N ha⁻¹) reduziram a nodulação da planta, pois a fixação do N atmosférico depende de uma alta taxa de carboidratos o que torna o processo dispendioso energeticamente em oposição à absorção do N mineral. Nesse mesmo sentido, respostas semelhantes também foram encontradas por Christopher et al. (2017). Argawa & Tsigie (2017) também observaram o mesmo comportamento para o feijão comum. Mweetwa et al. (2016) e

Habete & Buraka (2016) ao avaliarem níveis de fertilizante nitrogenado nas doses de 0, 20, 40, 60, 80 e 100 kg N ha⁻¹, observaram que as doses entre 20 e 40 kg N ha⁻¹ tiveram maior nodulação no feijão comum, correspondendo a 68 e 57%, respectivamente, em relação ao controle sem N, e que nas doses acima de 40 kg N ha⁻¹ houve uma drástica redução no número de nódulos nas raízes do feijoeiro.

Ainda em relação a variável número de nódulos em campo, embora não tenha mostrado diferença significativa, a nodulação das plantas do controle absoluto indica uma alta população de rizóbios naturalizados estabelecidas no solo (Tabela 3). A avaliação da nodulação em amostras de campo costuma ser limitada pela perda de nódulos durante a coleta e pela dificuldade de se obter uma quantidade de raízes representativa (ARAUJO et al., 2019). Nas condições do estudo, o feijão-mungo demonstrou capacidade de formar associação simbiótica com uma gama de microssimbiontes em uma área onde não há histórico recente de plantio de feijão-mungo. Resultados semelhante também foram observados por Risal et al. (2012) e Hakim et al. (2017).

Embora numerosos, visualmente, os nódulos do controle absoluto eram, na sua maioria, menores do que os das plantas inoculadas (Figura 10), o que pode ser um indicativo de baixa eficiência, observando-se nessas plantas que a maior contribuição advém do N derivado do solo, cerca de 23 kg N ha⁻¹, conforme apresentado na Tabela 5.

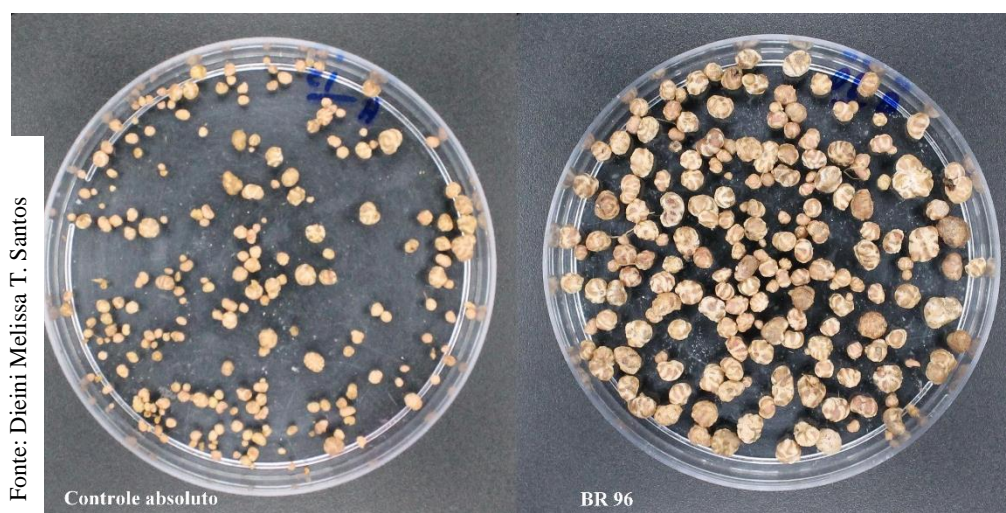


Figura 10 - Nódulos em raízes de feijão-mungo (23 DAE) nas plantas controle absoluto e inoculada com a estirpe BR 96, em campo (Campos dos Goytacazes – RJ).

As estirpes BR 96 e BR 3302 apresentaram valores superiores de massa seca de nódulos quando comparadas ao controle nitrogenado (Tabela 3), não sendo observada diferença significativa entre os demais tratamentos (BR 3267, BR 3301 e controle absoluto). Quanto à massa seca de raiz, também não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, contudo, os valores variaram de cerca de 90 a 160 kg ha⁻¹ (Figura 11B). No entanto, observa-se uma tendência (a nível de 7% de probabilidade) em relação ao controle nitrogenado que foi cerca de 40% superior ao tratamento inoculado com a estirpe BR 3301 e controle absoluto. A massa seca de raiz, assim como o número de nódulos, são variáveis que sofrem muita interferência das condições físicas do solo. Tanto a textura, quanto a compactação do solo, dificultam a remoção do sistema radicular, resultando em coleta parcial das raízes. Portanto, são passíveis de alta variabilidade (ARAUJO et al., 2019).

A maior massa seca de parte aérea na primeira coleta, aos 23 DAE, correspondeu ao controle nitrogenado que apresentou 986,6 kg ha⁻¹ de biomassa, cerca de 44% superior ao

controle absoluto com 555,8 kg ha⁻¹. Quanto aos demais tratamentos não houve diferença significativa (Figura 11A). A massa seca de parte aérea do controle nitrogenado na segunda coleta, aos 44 DAE, foi superior em cerca de 56%, em relação à média das massas secas do feijão-mungo inoculado com as estirpes BR 3267, BR 3301 e o controle absoluto (Figura 11C).

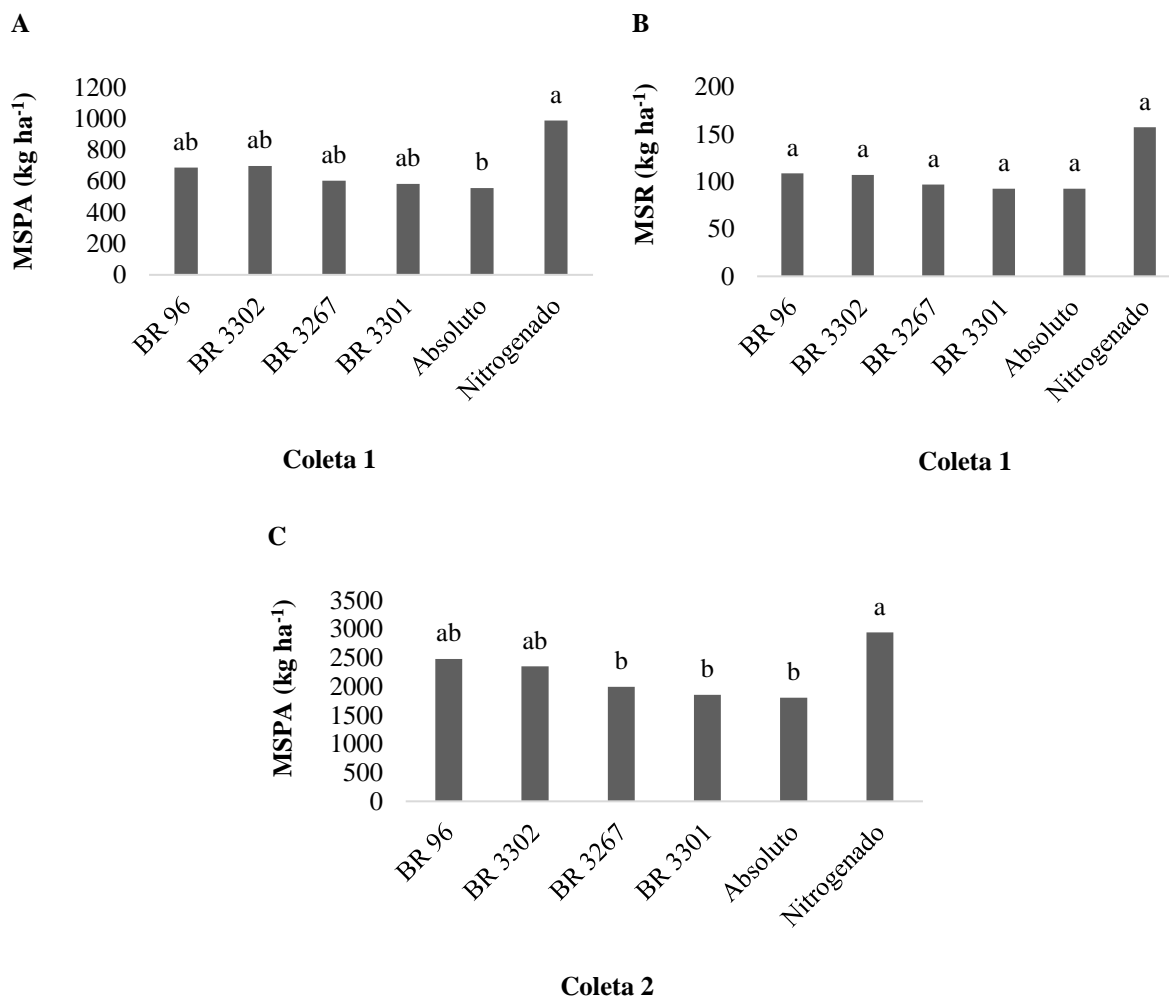


Figura 11 - Massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 11A) e massa seca de raiz (MSR) (Figura 11B) na 1^a coleta aos 23 DAE e massa seca de parte aérea (MSPA) (Figura 11C) na 2^a coleta aos 44 DAE, de feijão-mungo inoculado com estirpes de *Bradyrhizobium* em condições de campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) da MSPA e MSR na 1^a coleta, 26,99 e 26,92, respectivamente, e da MSPA na 2^a coleta, 14,59; p da MSPA e MSR na 1^a coleta, 0,0487 e 0,0544, respectivamente, e MSPA na 2^a coleta, 0,0013.

Resposta semelhante foi observada em um ensaio conduzido por Bhuiyan & Mian (2007) com variedades de feijão-mungo em Bangladesh, onde as estirpes de *Bradyrhizobium* promoveram incremento de 55% na nodulação e 27% na biomassa de parte aérea em relação ao controle.

Em relação ao teor de N determinado pelo método de Kjeldahl, não houve diferença significativa entre os tratamentos inoculados e o controle absoluto, e todos os tratamentos foram semelhantes à aplicação de 240 kg N ha⁻¹. A diferença do N total acumulado na parte aérea do controle nitrogenado em relação ao controle absoluto foi de 46,69 kg ha⁻¹. Ainda em relação ao

N total acumulado, as estirpes BR 96 e BR 3302, foram capazes de suprir 40,69 e 34,86%, respectivamente, do valor encontrado para o controle nitrogenado (Tabela 4).

Tabela 4 - Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N e N total acumulado (NT) na parte aérea do feijão-mungo (44 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ).

Tratamento	MSPA	Teor N	NT
	----- kg ha ⁻¹ -----	----- % -----	----- kg ha ⁻¹ -----
BR 96	2479,3 ab	2,96	73,97 ab
BR 3302	2347,3 ab	2,99	71,25 ab
BR 3267	1992,7 b	3,06	61,15 b
BR 3301	1854,2 b	2,71	50,47 b
Controle absoluto	1802,9 b	3,04	54,97 b
Controle nitrogenado	2941,0 a	3,40	100,66 a
CV (%)	14,59	10,73	21,17
		ns*	

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *ns – não significativo.

Na Tabela 5 estão apresentados os quatro tratamentos inoculados e contro absoluto. Nas variáveis massa seca e teor de N de parte aérea não houve diferenças significativas entre os tratamentos inoculados e o controle absoluto. O teor de N foi determinado pelo método Dumas durante a análise de abundância natural de ¹⁵N.

Ao observar a variável N total sem o controle nitrogenado, apenas entre os tratamentos que receberam inoculantes, observa-se que a BR 96 foi superior em cerca de 36% a BR 3301 e semelhante aos demais inoculantes e ao controle absoluto (Tabela 5). Os resultados obtidos são semelhantes aos obtidos por Zilli et al. (2011), que mostraram que a inoculação do feijão-caupi com a estirpe BR 96, uma estirpe originalmente isolada de nódulos de soja, resultou em acúmulo total de N na biomassa aérea semelhante às estirpes BR 3267 e BR 3262, registradas para o feijão-caupi.

Tabela 5 - Massa seca de parte aérea (MSPA), teor de N, N total acumulado (NT), teor de N derivado da FBN (Ndfa), N acumulado derivado da FBN (NAc-dfa) e N acumulado derivado do solo (NAc-ref) na parte aérea do feijão-mungo (44 DAE) em campo (Campos dos Goytacazes – RJ).

Tratamento	MSPA	Teor N	NT	Ndfa	NAc-dfa	NAc-ref
	--- kg ha ⁻¹ ---	---- % ----	-- kg ha ⁻¹ --	---- % ----	----- kg ha ⁻¹ -----	
BR 96	2479,3	2,51	62,03 a	57,12 ab	35,27 a	26,75 ab
BR 3302	2347,3	2,47	58,74 ab	35,75 b	20,88 b	37,86 a
BR 3267	1992,7	2,53	50,58 ab	57,02 ab	28,68 ab	21,90 b
BR 3301	1854,2	2,16	40,21 b	66,15 a	26,25 ab	13,96 b
Controle absoluto	1802,9	2,32	41,93 ab	44,27 ab	18,54 b	23,38 ab
CV (%)	15,87	8,39	18,16	20,11	22,27	28,25
	ns*	ns*				

Médias seguidas de letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *ns – não significativo.

Em relação ao teor de N derivado do ar, observa-se que a estirpe BR 3301 apresentou maior eficiência em relação a estirpe BR 3302. Shah et al. (2003) observaram no Paquistão uma grande variação de N acumulado no feijão-mungo derivado da fixação do N atmosférico, de 47

a 100%, correspondendo em média a 35 kg N ha⁻¹. Nos resultados apresentados nessa dissertação, os valores de N derivado da atmosfera mostraram uma tendência semelhante, variando de 33 a 66%, em resposta à estirpe inoculante. As plantas do controle absoluto noduladas pela população de rizóbios nativos proveram cerca de 45% do N, provavelmente como resultado da alta nodulação (como visto na Tabela 3) e que apresentam uma eficiência semelhante aos das estirpes comerciais BR 96 e BR 3267. O feijão-mungo tem sido caracterizado como uma planta que não apresenta especificidade em relação ao microssimbionte e é colonizada por uma ampla gama de bactérias nodulantes, o que pode explicar a alta nodulação pelas plantas do controle absoluto em uma área sem histórico recente de feijão-mungo. Resultados semelhantes foram reportados por Hakim et al. (2017) e Christopher et al. (2017), que observaram que o feijão-mungo possui baixa especificidade hospedeira.

Resultados semelhantes foram observados para o feijão-caupi, que também é capaz de formar nódulos com diversas estirpes de rizóbios, também considerada uma planta menos seletiva do que a soja, bem como é comum que plantas não inoculadas estejam bem noduladas (MARTINS et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2012; FERREIRA et al., 2019; CHAGAS JUNIOR et al., 2010b; FARIAS et al., 2016). Michiels et al. (1998) observaram que o feijão comum também é uma espécie não seletiva, dependendo do genótipo cerca de 80 a 90% dos rizóbios foram capazes de nodular o feijoeiro, no entanto, esses nódulos não foram eficientes quanto à atividade da FBN.

Quando se considera o N acumulado derivado da FBN, o maior valor foi observado para BR 96, que diferiu estatisticamente do controle absoluto e da BR 3302.

Os dados apresentados na Tabela 5 estão de acordo com a estimativa da eficiência nodular apresentada na Figura 12, que indica que nódulos das plantas do controle absoluto apresentaram baixa eficiência na atividade da FBN. A estirpe BR 96 apresentou eficiência nodular superior aos tratamentos BR 3302 e controle absoluto e semelhante às estirpes BR 3301 e BR 3267. Os resultados obtidos são corroborados por Zilli et al. (2011), que ao inocular a estirpe BR 96 em feijão-caupi, observaram que sua eficiência nodular foi semelhante às das estirpes BR 3267 e BR 3262, que são registradas para cultura.

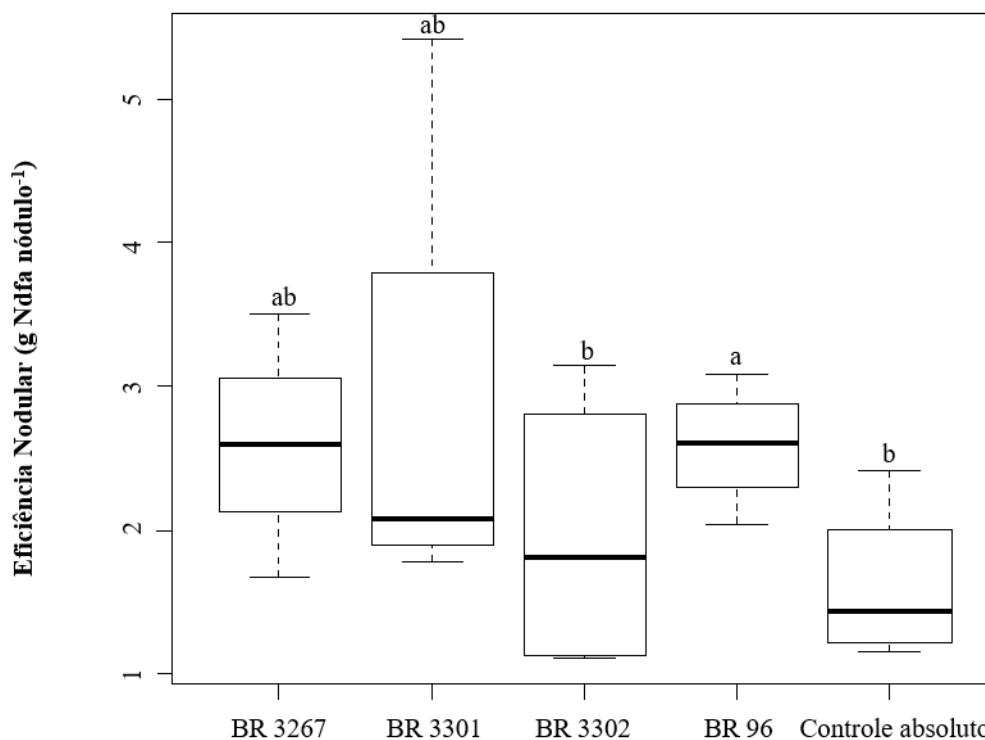


Figura 12 - Eficiência nodular (N_{Ac-dfa}/NN) de feijão-mungo inoculado com estirpes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) 21,82; p 0,0121. A comparação das médias da variável Eficiência Nodular foi obtida por $N_{Ac-dfa} \log NN^{-1}$.

Em estudo de Wu et al. (2020), uma estirpe de *B. guangdongense* isolada de nódulos de amendoim foi capaz de nodular o feijão-mungo, promover incrementos em massa fresca de nódulo e parte aérea e elevar o conteúdo de clorofila das plantas. Costa et al. (2014) avaliaram no Piauí a resposta do feijão-caupi cv. BRS Guariba à inoculação com seis estirpes rizobianas, um tratamento com 70 kg N ha^{-1} e um controle não inoculado, e observaram que o desempenho das plantas controle foi igual aos tratamentos que receberam inoculantes em relação aos parâmetros agrônômicos avaliados. O rendimento de grãos do controle foi de 892 kg ha^{-1} , resultado semelhante à inoculação com a estirpe BR 3302 (848 kg ha^{-1}) e 42, 72 e 65% superior às BR 3301, BR 3267 e BR 3262, respectivamente; todas as estirpes citadas são registradas para o feijão-caupi. Respostas semelhantes também foram encontrados por Marinho et al. (2014), Guedes et al. (2010) e Cavalcante et al. (2017).

No entanto, em outras condições, células rizobianas naturalizadas adaptadas às condições edafoclimáticas formaram nódulos eficientes e contribuíram com a atividade da FBN tanto quanto as estirpes comerciais. Christopher et al. (2017) compararam a contribuição da FBN no feijão-mungo derivado da inoculação por uma estirpe comercial registrada para o feijão-caupi, como aquelas provenientes de populações indígenas. Os autores observaram que a nodulação das plantas controle foi tão eficiente na fixação do N atmosférico quanto a estirpe comercial. No entanto, os autores ressaltam que, apesar dos resultados, a inoculação com uma estirpe comercial garante produtividade e segurança ao agricultor.

Outras leguminosas também apresentaram respostas semelhantes em relação às plantas controle não inoculadas. O feijão comum também se beneficia da atividade das populações rizobianas indígenas. Galli-Terasawa et al. (2003) observaram que em solos do cerrado as estirpes indígenas são tão competitivas que desempenham um papel no solo de efeito tampão

biológico e muitas vezes as estirpes inoculadas não conseguem competir pela ocupação do nódulo.

De acordo com Neves & Hungria (1987) a eficiência dos nódulos dos rizóbios é refletida em aumento no rendimento de grãos. No entanto, quando avaliado o rendimento de grãos do feijão-mungo (Figura 13), observa-se que não necessariamente a estirpe BR 96, que apresentou maior eficiência nodular, foi a que apresentou o maior rendimento de grãos.

A maior produtividade resultou da inoculação da estirpe BR 3302, com aproximadamente 2840 kg grãos ha⁻¹, semelhante ao controle nitrogenado, com 3000 kg ha⁻¹, que diferiram dos tratamentos controle absoluto e BR 3301. A estirpe BR 3302 apresentou rendimento de grãos superior, cerca de 36 e 18% em relação à BR 3301 (1805 kg ha⁻¹) e ao controle absoluto (2326 kg ha⁻¹), respectivamente. Ou seja, a inoculação das sementes de feijão-mungo com a estirpe BR 3302 eleva a produtividade em cerca de 500 kg ha⁻¹ em relação ao controle absoluto.

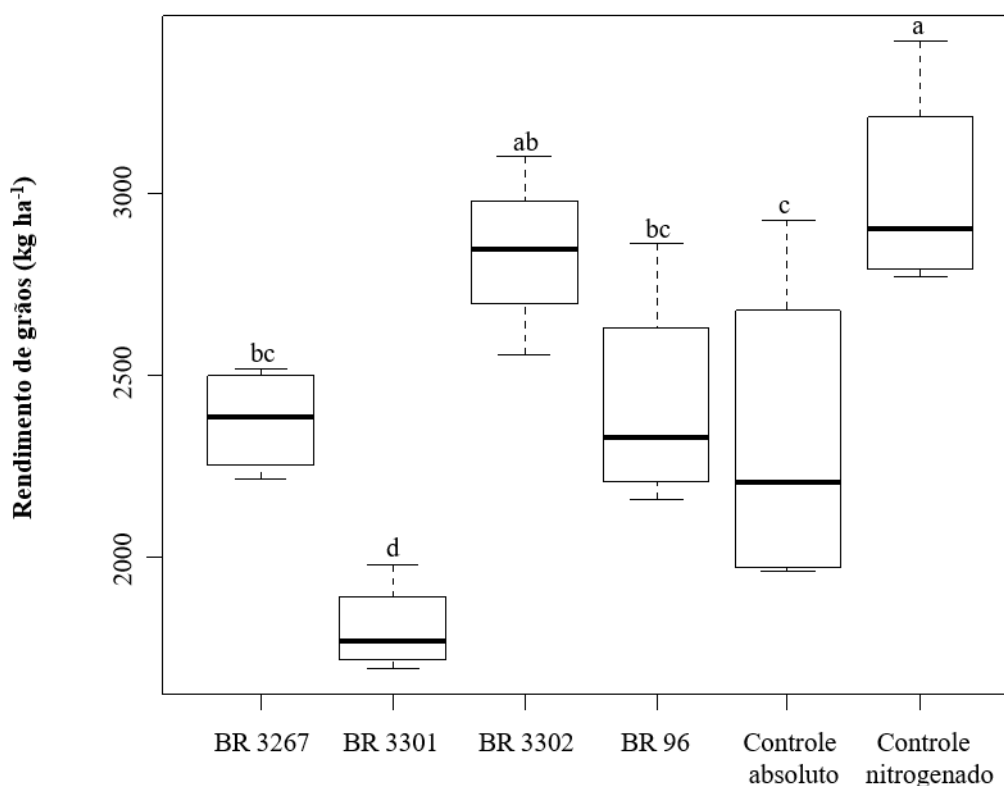


Figura 13 - Rendimento de grãos (72 DAE) de feijão-mungo inoculado com estirpes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) 8,20; p 0,000.

As estirpes BR 96 e BR 3267 promoveram um rendimento de grãos superior em aproximadamente 25% em relação a BR 3301, no entanto, não houve diferença significativa em relação ao controle absoluto. Resultados de Bhuiyan & Mian (2007) para a inoculação de sementes de feijão-mungo com estirpes de *Bradyrhizobium*, mostraram que a inoculação promoveu um incremento no rendimento de grãos de 980 kg ha⁻¹ em relação ao controle não inoculado, que teve produtividade de 770 kg ha⁻¹. Apesar da diferença na produtividade das plantas controle observada no nosso experimento, que foi cerca de 2330 kg de grãos ha⁻¹, os incrementos observados nos tratamentos com inoculação com as melhores estirpes foram

semelhantes, em torno de 25% em relação ao controle absoluto.

Na Figura 14, apresenta-se a partição da biomassa aérea correspondente ao N derivado da FBN e ao N derivado do solo aos 44 DAE. A massa seca acumulada na parte aérea relativa ao N derivado da FBN mostrou aumento significativo a partir da inoculação com a estirpe BR 96, cerca de 40 e 43%, em relação à inoculação com a estirpe BR 3302 e ao controle absoluto, respectivamente. Não houve diferença significativa entre o tratamento com a estirpe BR 3302 e o controle absoluto. Em contrapartida, as plantas inoculadas com a estirpe BR 3302 foram as que mais se beneficiaram com o acúmulo de N na parte aérea derivado do solo, cerca de 58 e 43% superior em termos de biomassa acumulada em relação à inoculação com às estirpes BR 3301 e BR 3267.

Através do teor de matéria orgânica apresentado na análise de solo (Anexo 1), é possível estimar um valor aproximado do teor de N no solo, o que correspondeu a cerca de 2,8 t N ha⁻¹. Possivelmente as plantas inoculadas com a estirpe BR 3302 aproveitaram dessa reserva de N do solo de forma mais eficiente do que as inoculadas com as demais estirpes, talvez por algum mecanismo de promoção do crescimento, como aumento da área radicular, por exemplo, que possa ter contribuído para o desenvolvimento da parte aérea.

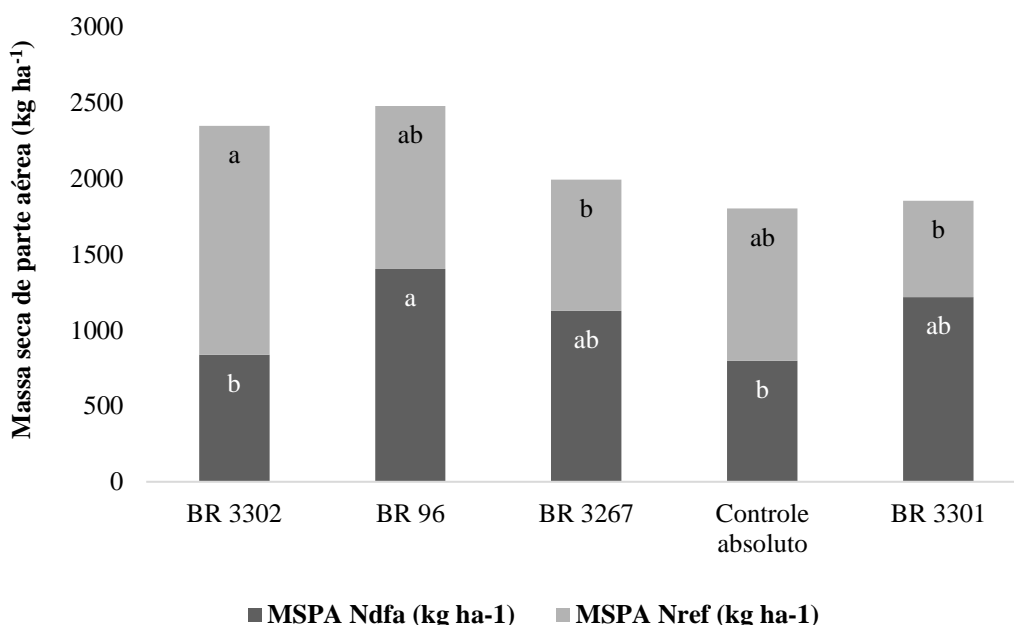


Figura 14 - Partição de massa seca de parte aérea correspondente ao nitrogênio derivado da FBN (MSPA Ndfa) e ao nitrogênio derivado do solo (MSPA Nref) de feijão-mungo (44 DAE), inoculado com estirpes de *Bradyrhizobium* em campo (Campos dos Goytacazes – RJ). Médias seguidas de letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) 22,10 e 26,57 para Ndfa e Nref, respectivamente; p 0,0167 e 0,0085 para Ndfa e Nref, respectivamente.

Argawa & Tsigie (2017), ao avaliarem a atividade da FBN em feijão comum, os autores afirmam que solos de alta fertilidade natural resultam em maior indução de número de nódulos e refletem em maior rendimento de grãos, quando comparados a solos de baixa fertilidade. Dessa forma é possível inferir que outras leguminosas, entre elas o feijão-mungo, possam também aproveitar da fertilidade do solo de modo a maximizar a atividade da FBN.

Diatta et al. (2020) afirmam que a fixação de N atmosférico no feijão-mungo é influenciada, tanto pelo genótipo da planta, quanto pela classe textural do solo. Os autores

observaram que os valores de N derivado da FBN e do N derivado do solo na parte aérea foram maiores em solos argilosos quando comparados aos solos arenosos. Ao contrário do presente estudo, onde avaliamos 4 estirpes de *Bradyrhizobium*, Diatta et al. (2020) só usaram um inoculante rizobiano, portanto não foi avaliado o efeito do tipo de inoculante.

Usando os valores do N derivado da FBN e do N derivado do solo obtido para massa seca de parte aérea aos 44 DAE, foi realizada uma estimativa para a partição da massa seca de grãos. Não foi observada diferença significativa entre os quatro tratamentos inoculados e o controle absoluto, na massa seca de grãos relativa ao N derivado da FBN. No entanto, em relação à massa seca de grãos relativa ao N derivado do solo, observou-se que a estirpe BR 3302 foi superior significativamente à inoculação com a estirpe BR 3301, cerca de 67%. Não houve diferença significativa entre a estirpe BR 3302 e o controle absoluto, embora a produtividade decorrente da inoculação com a estirpe BR 3302 tenha sido cerca de 18% superior às plantas controle (Figura 13).

Esses resultados não consideram que durante a floração até o enchimento de grãos ocorre translocação de N na planta. Segundo Neves & Hungria (1987) ocorre transferência de ureídeos do xilema para o floema, seguida pela translocação do floema para grãos e ápices em crescimento. No feijão-caupi, essa transferência foi em torno de 28% do nitrogênio total da semente, enquanto na soja, o transporte do xilema forneceu 52% do N nos grãos.

Até o início do enchimento de grãos (44 DAE), a estirpe que mais fixou o N do ar foi a BR 96. Entretanto, isso não refletiu em aumento de produtividade, talvez porque nas condições do experimento a estirpe não tenha conseguido expressar seu potencial em virtude da presença de N no solo. Já a estirpe BR 3302 foi menos eficiente em fixar o N atmosférico em comparação à estirpe BR 96, mas capaz de aproveitar melhor o N do solo, uma tendência observada nas coletas realizadas aos 44 e 72 DAE, o que resultou em um maior rendimento de grãos.

A partir dos resultados obtidos nesse ensaio realizado em solo predominantemente argiloso, com presença de matéria orgânica, pode-se sugerir a presença de duas atividades principais associadas às estirpes de *Bradyrhizobium* testadas: 1) predominância da atividade de FBN, como observado para a estirpe BR 96 e 2) predominância da atividade promotora do crescimento vegetal voltada ao aproveitamento do N do solo, atribuída à estirpe BR 3302. É possível que um inoculante misto contendo essas duas estirpes, onde uma complementa a outra, apresente vantagens em termos de aproveitar diferentes condições locais. Nas condições do experimento, a estirpe BR 96 forneceu maior contribuição do N derivado do ar até o início da floração e enchimento de grãos e, após esse período, a estirpe BR 3302 contribuiu com o N derivado do solo através de um mecanismo de promoção do crescimento. A ação concatenada com essas duas estirpes pode contribuir para o maior rendimento de grãos do feijão-mungo, o que precisa ser objeto de novos experimentos. Curiosamente, Diatta et al. (2020) observaram que os resultados da inoculação eram melhores nos solos argilosos, utilizando somente um inoculante que, no entanto, continha duas estirpes de *Bradyrhizobium* e duas estirpes de *Rhizobium*. Vale considerar a possibilidade de que algo semelhante tenha ocorrido nas plantas dos solos argilosos.

De acordo com Velázquez et al. (2019), as bactérias do grupo rizóbio, além da contribuição da FBN, também apresentam várias atividades de promoção de crescimento, como por exemplo, solubilização de fosfatos, ácido indolacético e ACC deaminase, que vem sendo estudadas em plantas oleaginosas, cereais e hortaliças. Essas atividades provavelmente também devem ser expressas em leguminosas, talvez de forma concomitante com a fixação do N atmosférico. Nesse sentido, mais estudos são necessários de modo a desvendar o papel da estirpe BR 3302 na promoção do crescimento vegetal.

Estudos com feijão-caupi revelam o comportamento da estirpe BR 3302 que vai além da habilidade em fixar o N do ar. A estirpe revela capacidade de realizar processos adicionais como o crescimento vegetal, através da indução de fitormônio, além da resistência a

antibióticos, o que resulta em maior poder competitivo em relação à microbiota naturalizada (OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2013). Efeitos como solubilização de P e Ca em solos tropicais também mostram a versatilidade da estirpe BR 3302 e seu potencial em contribuir com a melhoria da nutrição das plantas, o que faz com que a estirpe BR 3302 tenha um melhor desempenho a diferentes condições edafoclimáticas (MARRA et al., 2011).

O controle absoluto indica que o feijão-mungo é uma planta não seletiva em relação ao microssimbionte, pois apresentou número de nódulos abundante, mas que não refletiram em ganho de produtividade da cultura quando comparados à estirpe BR 3302, podendo inferir que, apesar de haver uma população indígena de rizóbios capaz de nodular o feijão-mungo, estes formam nódulos amplamente ineficazes em fixar o N atmosférico.

A estirpe BR 3301 que apresentou a maior eficiência em condições axênicas e o maior teor de N derivado do ar nas condições de campo, foi a estirpe que exibiu o menor rendimento de grãos de feijão-mungo. Thilakarathna & Raizada (2017) sugerem que a ineficiência dos rizóbios pode estar relacionado ao baixo poder competitivo da bactéria com a população de rizóbios naturalizados, ou mesmo esta pode ser sensível a fatores edafoclimáticos da região.

5 CONCLUSÕES

Dentre os inóculos testados, as estirpes BR 3301, BR 3302 e BR 3267 registradas para feijão-caupi e a BR 96 registrada para soja são capazes de nodular o feijão-mungo.

A estirpe BR 96 apresenta o maior conteúdo de N derivado da fixação do N atmosférico e a maior eficiência nodular, ambas as variáveis superiores ao controle absoluto.

A estirpe BR 3302 é capaz de promover aumento na produtividade de grãos de feijão-mungo de cerca 18% em relação ao controle absoluto e não diferiu significativamente do tratamento que recebeu 240 kg N ha⁻¹.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, R.M.C.M.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G.; ROCHA, M.M.; CARVALHO, J.S. Eficiência simbiótica de progenitores de cultivares brasileiras de feijão-caupi. *Revista Ciência Agronômica*, Ceará, v.45, n.1, p.1-9, 2014.
- ALMEIDA, A.L.G.; ALCÂNTARA, R.M.C.M.; NÓBREGA, R.S.A.; NÓBREGA, J.C.A.; LEITE, L.F.C.; SILVA, J.A.L. Produtividade do feijão-caupi cv. BR 17 Gurguéia inoculado com bactérias diazotróficas simbióticas no Piauí. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.5, n.3, p.364-369, 2010.
- ALVES, B.J.R.; ZOTARELLI, L.; FERNANDES, F.M.; HECKLER, J.C.; MACEDO, R.A.T.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S. Fixação biológica de nitrogênio e fertilizantes nitrogenados no balanço de nitrogênio em soja, milho e algodão. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.41, n.3, p.449-456, 2006.
- ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos. Solos sob cerrado: manejo da fertilidade para a produção agropecuária. *Boletim técnico 5*. São Paulo, ed.2, p.62, 1994.
- ANWAR, S.; RAHMAN, Z.; SAEED, B.; ISLAM, M.; KHAN, M.O.; AHMAD, J. Response of mung bean to organic sources and nitrogen levels. *Pure Appl. Biol.*, v.7, n.2, p.692-699, 2018.
- ARAÚJO, F.F. Efeito de *Bacillus* spp. e seus metabólitos na competitividade e na nodulação da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) por *Bradyrhizobium* spp. 111p. (Mestrado em Microbiologia) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, 1995.
- ARAÚJO, K.E.C.; TORRES JÚNIOR, C.V.; GUIMARÃES, A.P.; SILVA, M.A.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Natural abundance of ¹⁵N of N derived from the atmosphere by different strains of *Bradyrhizobium* in symbiosis with soybean plants. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.49, n.12, p.1-6, 2019.
- ARGAWA, A.; TSIGIE, A. The inorganic N requirement, nodulation and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as influenced by inherent soil fertility of eastern Ethiopia. *Journal of plant nutrition*, v.40, n.13, p.1842-1855, 2017.
- BARRADAS, C.A.A.; SAYÃO, F.A.D.; DUQUE, F.F. Feijão-mungo uma – uma alternativa protéica na alimentação. *Comunicado técnico*, n.4, p.1-4, 1989.
- BEDOUSSAC, L.; JOURNET, E.P.; HAUGGAARD-NIELSEN, H.; NAUDIN, C.; CORREHELLOU, G.; JENSEN, E.S.; PRIEUR, L.; JUSTES, E. Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, v.35, p.911-935, 2015.
- BHUIYAN, M.S.H.; MIAN, M.H. Effect of *Bradyrhizobium* inoculation on nodulation, biomass production and yield of mungbean. *Bangladesh J Microbiol*, v.24, n.2, p.95-99, 2007.
- BODDEY, R.M.; FOSU, M.; ATAKORA, W.K.; MIRANDA, C.H.B.; BODDEY, L.H.; GUIMARAES, A.P.; AHIABOR, B.D.K. Cowpea (*Vigna unguiculata*) crops in Africa can respond to inoculation with *Rhizobium*. *Expl Agric*. Cambridge University Press, p.1-10, 2016.

BODDEY, R.M.; OLIVEIRA, O.C.D.E.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Field application of the ¹⁵N isotope dilution technique for the reliable quantification of plant-associated biological nitrogen fixation. *Fertilizer Research*, v.42, p.77-87, 1995.

BODDEY, R.M.; PEOPLES, M.B.; PALMER, B.; DART, P.J. Use of the ¹⁵N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v.57, p.235-270, 2000.

BODDEY, R.M.; POLIDORO, J.C.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S. Use of the ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and other grasses. *Aust. J. Plant Physiol.*, v.28, 889-895, 2001.

BOHRER, T.R.J.; HUNGRIA, M. Avaliação de cultivares de soja quanto à fixação biológica do nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.33, p.937-953, 1998.

BRITO, M.M.P.; MURAOKA, T.; SILVA, E.C. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio, fertilizante nitrogenado e nitrogênio do solo no desenvolvimento de feijão-caupi. *Bragantia*, Campinas, v.70, n.1, p.206-215, 2011.

CAMPANHARO, M.; LIRA JUNIOR, M.A.; NASCIMENTO, C.W.A.; STAMFORD, N.P.; FREIRE, F.J.; COSTA, J.V.T. Acidez do solo na fixação biológica de nitrogênio em feijoeiro comum. *Rev. Bras. Ciênc. Agrár. Recife*, v.5, n.3, p.285-290, 2010.

CAMPO, R.J.; ALBINO, U.B.; HUNGRIA, M. Métodos de Aplicação de Micronutrientes na Nodulação e na Fixação Biológica do N₂ em Soja. PA/19, EMBRAPA-CNPSO, p.2, 1999.

CAMPOS, B.H.C.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. *R. Bras. Ci. Solo*, v.30, p.69-76, 2006.

CAVALCANTE, A.C.P.; CAVALCANTE, A.G.; DINIZ NETO, M.A.; MATOS, B.F.; DINIZ, B.L.M.T.; BERTINO, A.M.P. Inoculação das cultivares locais de feijão-caupi com estirpes de rizóbio. *Rev. Ciênc. Agrar.*, v.60, n.1, p.38-44, 2017.

CAVALCANTE, V.S. SANTOS, V.R.; SANTOS NETO, A.L.; SANTOS, M.A.L.; SANTOS, C.G.; COSTA, L.C. Biomassa e extração de nutrientes por plantas de cobertura. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Campina Grande, PB. v.16, n.5, p.521-528, 2012.

CHADHA, M.L. Short Duration Mungbean: A New Success in South Asia. Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions (APAARI) C/o FAO Regional Office for Asia & the Pacific (FAO RAP) Maliwan Mansion, 39 Phra Atit Road Bangkok 10200, Thailand, p.01-45, 2010.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; OLIVEIRA, L.A.; OLIVEIRA, A.N. Caracterização fenotípica de rizóbio nativos isolados de solos da Amazônia e eficiência simbiótica em feijão-caupi Amazônia e eficiência simbiótica em feijão-caupi. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.32, n.1, p.161-169, 2010b.

CHAGAS JUNIOR, A.F.; RAHMEIER, W.; FIDELIS, R.R.; SANTOS, G.R.; CHAGAS, L.F.B. Eficiência agronômica de estirpes de rizóbio inoculadas em feijão-caupi no Cerrado, Gurupi-TO. Revista Ciência Agronômica, v.41, n.4, p.709-714, 2010a.

CHAVES, J.C.D.; CALEGARI, A. Adubação verde e rotação de culturas. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.22, p.53-60, 2001.

CHERKASOV, N.; IBHADON, A.O.; FITZPATRICK, P.A. review of the existing and alternative methods for greener nitrogen fixation. Chemical Engineering and Processing, p.01-44, 2015.

CHRISTOPHER, M.; MACDONALD, B.; YEATES, S.; ZIEGLER, D.; SEYMOUR, N. Wild bradyrhizobia that occur in the Burdekin region of Queensland are as effective as commercial inoculum for mungbean (*Vigna radiata* (L.)) and black gram (*Vigna mungo* (L.)) in fixing nitrogen and dry matter production. Applied Soil Ecology, p.7, 2017.

CNA - Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária do Brasil. Balanço 2017 e Perspectivas 2018. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/feijao_balanco_2017.pdf>. Acesso em: 30.nov.2019.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2018/19. Monitoramento agrícola. Brasília, v.6, n.9, p.1-113, 2019.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Perspectiva para a agropecuária, Safra 2019/20. Brasília, v.7, p.1-100, 2019.

CORRÊA, R.S.; MADARI, B.E.; CARVALHO, G.D.; COSTA, A.R.; PEREIRA, A.C.C.; MEDEIROS, J.C. Fluxos de óxido nitroso e suas relações com atributos físicos e químicos do solo. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.51, n.9, p.1148-1155, 2016.

COSTA, A.R.; MADARI, B.E.; CARVALHO, M.T.M.; MACHADO, P.L.O.A.; BERNARDES, T.G.; SILVEIRA, P.M. Uso do nitrogênio na agricultura e suas implicações na emissão do gás de efeito estufa óxido nitroso (N₂O). Santo Antônio de Goiás: Documentos/Embrapa Arroz e Feijão, p.47, 2009.

COSTA, E.M.; CARVALHO, T.S.; GUIMARÃES, A.G.; LEÃO, A.C.R.; CRUZ, L.M.; BAURA, V.A.; LEBBE, L.; WILLEMS, A.; MOREIRA, F.M.S. Classification of the inoculant strain of cowpea UFLA03-84 and of other strains from soils of the Amazon region as *Bradyrhizobium viridifuturi* (symbiovar tropici). Brazilian Journal of Microbiology, p.1-11, 2019.

COSTA, E.M.; NÓBREGA, R.S.A.; FERREIRA, L.V.M.; AMARAL, F.H.C.; NÓBREGA, J.C.A.; SILVA, A.F.T.; MOREIRA, F.M.S. Growth and yield of the cowpea cultivar BRS Guariba inoculated with hizobia strains in southwest Piauí. Ciências Agrárias, Londrina, v.35, n.6, p.3073-3084, 2014.

COSTA, E.M.; NÓBREGA, R.S.A.; MARTINS, L.V.; AMARAL, F.H.C.; MOREIRA, F.M.S. Nodulação e produtividade de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. por cepas de rizóbio em Bom Jesus, PI. Revista Ciência Agronômica, v.42, n.1, p.1-7, 2011.

CUNHA, M.H.; CAMPO, R.J. Fixação biológica no Brasil é exemplo de sucesso. Visão Agrícola, n.5, p.27-30, 2006.

DALL'AGNOL, R.F.; RIBEIRO, R.A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; ROGEL, M.A.; DELAMUTA, J.R.M.; ANDRADE, D.S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. *Rhizobium freirei*, a symbiont of *Phaseolus vulgaris* very effective in fixing nitrogen. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.63, p.4167-4173, 2013.

DEGEFU, T.; WOLDE-MESKEL, E.; RASCHE, F. Genetic diversity and symbiotic effectiveness of *Bradyrhizobium* strains nodulating selected annual grain legumes growing in Ethiopia. Int J Syst Evol Microbiol, v.68, p.449-460, 2018.

DELAMUTA, J.R.M.; RIBEIRO, R.A.; ORMEÑO-ORRILLO, E.; MELO, I.S.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; HUNGRIA, M. Polyphasic evidence supporting the reclassification of *Bradyrhizobium japonicum* Group Ia strains as *Bradyrhizobium diazoefficiens* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.63, p.3342-3351, 2013.

DIATTA, A.A.; THOMASON, W.E.; ABAYE, O.; THOMPSON, T.L.; BATTAGLIA, M.L.; VAUGHAN, L.J.; LO, M.; FILHO, J.F.D.L. Assessment of nitrogen fixation by mungbean genotypes in different soil textures using ¹⁵N natural abundance method. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, p.1-11, 2020.

DÖBEREINER, J. A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. Biotecnologia Ciência, p.2-3, 1997.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em Fixação Biológica de Nitrogênio no Brasil. Estudos avançados, v.4, n.8, p.144-152, 1989.

DONEDA, A.; AITA, C.; GIACOMINI, S.J.; MIOLA, E.C.C.; GIACOMINI, D.A.; SCHIRMANN, J.; GONZATTO, R. Fitomassa e decomposição de resíduos de plantas de cobertura puras e consorciadas. Revista Brasileira Ciência do Solo, v.36, p.1714-1723, 2012.

DUQUE, F.F.; PESSANHA, G.G.; QUEIROZ, P.H.S. Estudo preliminar sobre o comportamento de 21 cultivares de feijão-mungo em Itaguaí; RJ. Pesq. agropec. Brasília, v.22, n.6, p.593-598, 1987.

DUQUE, F.F.; PESSANHA, G.G. Comportamento de dez cultivares de mungo verde nos períodos das águas e da seca em condições de campo. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.25, n.7, p.963-969, 1990.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Feijão-caupi puxa a fila e Embrapa amplia pesquisa com pulses em Mato Grosso. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/20361811/feijao-caupi-puxa-a-fila-e-embrapa-amplia-pesquisa-com-pulses-em-mato-grosso>>. Acesso em: 05.jan.2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro, 212p.: il. (EMBRAPA-CNPS. Documentos; 1) 1997.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Conference, Observance of World Pulses Day. Roma, 2017.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Estimación de emisiones de gases de efecto invernadero en la agricultura. Roma, p.61-66, 2015.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Pulses and derived products, 1994. Disponível em: <<http://www.fao.org/es/faodef/fdef04e.htm>>. Acesso em: 19.nov.2020.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The Global Economy of Pulses. Roma, p.1-147, 2019.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Using residual soil moisture after monsoon rice crop for Mung Bean production in drought prone areas, Bangladesh. Bangladesh, p.1-3, 2012.

FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production quantities of Beans, dry by country, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 18.nov.2020.

FARIA, V.R. Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. Brasília, DF: Embrapa, 1 ed., p. 163, 2017.

FARIAS, T.P.; TROCHMANN, A.; SOARES, B.L.; MOREIRA, F.M.S. Rhizobia inoculation and liming increase cowpea productivity in Maranhão State. Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá, v.38, n.3, p.387-395, 2016.

FERNANDES JÚNIOR, P.I.; REIS, V.M. Algumas Limitações à Fixação Biológica de Nitrogênio em Leguminosas. Embrapa Agrobiologia, 33 p. (Documentos/Embrapa Agrobiologia, ISSN 1517-8498; 252), 2008.

FERREIRA, D.F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. Brasileira de Biometria, 37:529-535, 2019.

FERREIRA, L.V.M.; NÓBREGA, R.S.A.; NÓBREGA, J.C.A.; AGUIAR, F.L.; MOREIRA, F.M.S.; PACHECO, L.P. Biological Nitrogen Fixation in Production of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, Family Farming in Piauí, Brazil. Journal of Agricultural Science, v.5, n.4, 2013.

FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, J.P.A.R.; OLIVEIRA, D.P.; VALE, H.M.M.; JESUS, E.C.; SOARES, A.L.L.; NOGUEIRA, C.O.G.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. New rhizobia strains isolated from the Amazon region fix atmospheric nitrogen in symbiosis with cowpea and increase its yield. Bragantia, Campinas, v.78, n.1, p.38-42, 2019.

FRED, E.B.; WAKSMAN, S.A. Yeast Extract – Mannitol agar for laboratory manual of general microbiology. New York: McGraw Hill, 145 p., 1928.

FREITAS, S.M.; RAMOS, R.C.; NACHILUK, K.; FAGUNDES, A.; SILVA, R.O.P.; FAGUNDES, P.R.S.; MIURA, M.; BUENO, C.R.F. Contribuições do setor agropecuário para

as emissões de gases de efeito estufa no Brasil, 2010-2014. Informações Econômicas, SP, v.46, n.6, 2016.

GALLI-TERASAWA, L.V.; GLIENKE-BLANCO, C.; HUNGRIA, M. Diversity of a soybean rhizobial population adapted to a Cerrados soil. World Journal of Microbiology & Biotechnology, v.19, p.933-939, 2003.

GOEDERT, W.J. Região dos cerrados: potencial agrícola e política para seu desenvolvimento. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.24, n.1, p.01-17, 1989.

GONZÁLEZ, T.O.; CAMPANHARO, J.C.; LEMOS, E.G.M. Genetic characterization and nitrogen fixation capacity of *Rhizobium* strains on common bean. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.43, n.9, p.1177-1184, 2008.

GRAHAM, P.H. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, v.38, p.485-492, 1992.

GUEDES, G.N.; SOUZA, A.S.; ALVES, L.S. Eficiência agrônômica de inoculantes em feijão-caupi no município de Pombal-PB. Revista Verde, Fortaleza, v.5, n.4, p.82-96, 2010.

GUIMARÃES, A.A.; JARAMILLO, P.M.D.; NÓBREGA, R.S.A.; FLORENTINO, L.A.; SILVA, K.B.; MOREIRA, F.M.S. Genetic and Symbiotic Diversity of Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Agricultural Soils in the Western Amazon by Using Cowpea as the Trap Plant. Applied and Environmental Microbiology, v.78, p.6726- 6733, 2012.

GUIMARÃES, A.P.; MORAIS, R.F.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. *Bradyrhizobium* strain and the ¹⁵N natural abundance quantification of biological N₂ fixation in soybean. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), v.65, n.5, p.516-524, 2008.

GUINET, M.; NICOLARDOT, B.; VOISIN, A.S. Provision of contrasted nitrogen-related ecosystem services among grain legumes. Agronomy for Sustainable Development, v.40, n.33, p.1-15, 2020.

HABETE, A.; BURAKA, T. Effect of *Rhizobium* Inoculation and Nitrogen Fertilization on Nodulation and Yield Response of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) at Boloso Sore, Southern Ethiopia. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, v.6, n.13, p.72-75, 2016.

HAKIM, S.; MIRZA, B.S.; ZAHEER, A.; MCLEAN, J.E.; IMRAN, A.; YASMIN, S.; MIRZA, M.S. Retrieved 16S rRNA and nifH sequences reveal co-dominance of *Bradyrhizobium* and *Ensifer* (*Sinorhizobium*) strains in field-collected root nodules of the promiscuous host *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. Appl Microbiol Biotechnol, p.13, 2017.

HERRIDGE, D.F.; PEOPLES, M.B.; BODDEY, R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. Plant Soil, v.311, p.01-18, 2008.

HIRSCH, A.M.; LARUE, T.A. Is the legume nodule a modified root or stem or na organ sui generis? Critical Reviews in Plant Science, Boca Raton, v.16, p.361-392, 1997.

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 Biology & Biochemistry*, v.32, p.1515-1528, 2000a.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica de nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. *Embrapa Soja: Londrina*. p.80. (Documentos/Embrapa Soja, 283). 2007.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: de Bruijn FJ, ed. *Biological Nitrogen Fixation*. Fixation. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. p.1009-1024, 2015.

HUNGRIA, M.; STACEY, G. Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Bio. and Biochem*, v.29, n.5/6, p.819-830, 1997.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, v.65, p.151-164, 2000b.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; CAMPO, R.J. A inoculação da soja. EMBRAPA-CNPSO, Londrina. (EMBRAPA-CNPSO, Circular Técnica 17. EMBRAPA-CPAC, Circular Técnica 34), 1997.

ICAR - Indian Council of Agricultural Research. *Vision 2050*. New Dehli, Indian Institute of Pulses Research, p. 01-50, 2015.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf>. Acesso em: 15.jul.2020.

IPCC AR3 - The Intergovernmental Panel on Climate Change. (2001) *Climate Change 2001: the scientific basis*. Contribution of working group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York: Cambridge University Press, p.881, 2001.

JACOBSEN, S.E.; SORENSEN, M.; PEDERSEN, S.M.; WEINER, J. Using our agrobiodiversity: plant-based solutions to feed the world. *Agron. Sustain. Dev.*, v.35, p.1217-1235, 2015.

JARAMILLO, P.M.D.; GUIMARÃES, A.A.; FLORENTINO, L.A.; SILVA, K.B.; NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S. Symbiotic nitrogen-fixing bacterial populations trapped from soils under agroforestry systems in the Western Amazon. *Scientia Agricola*, v.70, n.6, p.397-404, 2013.

JENSEN, E.S.; PEOPLES, M.; BODDEY, R.; RESSHOFF, P.; NIELSEN, H.; ALVES, B.J.R.; MORRISON, M. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agron. Sustain. Dev.* v.32, p.329-364, 2012.

JUNK, G.; SVEC, H.V. The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geochim.Cosmochim*, v.14, p.234-243, 1958.

KAHANE, R.; HODGKIN, T.; JAENICKE, H.; HOOGENDOORN, C.; HERMANN, M.; KEATINGE, J.D.H.D.; HUGHES, J.A.; PADULOSI, S.; LOONEY, N. Agrobiodiversity for food security, health and income. *Agron. Sustain. Dev.*, 2013.

KEYSER, H.H.; MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum, and phosphate. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, v.43, p.519-523, 1979.

KHATTAK, A. B.; BIBI, N.; AURANGZEB. Quality assessment and consumers acceptability studies of newly evolved mung bean genotypes (*Vigna radiata* L.). *American J. Food Tech.* v.2, p.536-42, 2007.

KÖPPEN, W. *Climatologia: Con un estudio de los climas de la tierra*. México: Fondo de Cultura Económica, p.466, 1948.

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*, v.32, p.1635-1641, 2008.

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

LARRAINZAR, E.; WIENKOOP, S.; SCHERLING, C.; KEMPA, S.; LADRERA, R.; ARRESE-IGOR, C.; WECKWERTH, W.; GONZÁLEZ, E.M. Carbon Metabolism and Bacteroid Functioning Are Involved in the Regulation of Nitrogen Fixation in *Medicago truncatula* Under Drought and Recovery. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.22, n.12, p.1565-1576, 2009.

LEITE, J.; PASSOS, S.R.; SIMÕES-ARAÚJO, J.L.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; ZILLI, J.E. Genomic identification and characterization of the elite strains *Bradyrhizobium yuanmingense* BR 3267 and *Bradyrhizobium pachyrhizi* BR 3262 recommended for cowpea inoculation in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, p.11, 2017.

LIN, S.S. Quebra de dormência de sementes do feijão-mungo. *Pes. Agropec. Brasília*, v.34, n.6, p.1081-1086, 1999.

LOPES, A.S. Manual internacional de fertilidade do solo. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba, SP. ed.2, p.37-48, 1998.

MALIK, M.M.R.; AKHTAR, M.J.; AHMAD, I.; KHALID, M. Synergistic use of *Rhizobium*, compost and nitrogen to improve growth and yield of mungbean (*Vigna radiata*). *Pak. J. Agri. Sci.*, v.51, n.2, p.383-388, 2014.

FREIRE, L.R.; BALIEIRO, F.C.; ZONTA, E.; ANJOS, L.H.C.; PEREIRA, M.G.; LIMA, E.; GUERRA, J.G.M.; FERREIRA, M.B.C.; LEAL, M.A.A.; CAMPOS, D.V.B.; POLIDORO, J.C. Manual de calagem e adubação do Estado do Rio de Janeiro. Brasília, DF: Embrapa; Seropédica, RJ: Ed Universidade Rural. 2013.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Efeito Estufa e Aquecimento Global. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/informma/item/195-efeito-estufa-e-aquecimento-global>>. Acesso em: 28.jan.2019.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Plano nacional de desenvolvimento da cadeia do feijão e pulses. Brasília, MAPA, p.40, 2018.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Projeções do agronegócio: Brasil 2015/16 a 2025/26 – Projeções de longo prazo. Brasília, MAPA, p.1-138, 2016.

MARINHO, R.C.N.; NÓBREGA, R.S.A.; ZILLI, J.E.; XAVIER, G.R.; SANTOS, C.A.F.; AIDAR, S.T.; MARTINS, L.M.V.; JÚNIOR, P.I.F. Field performance of new cowpea cultivars inoculated with eficiente nitrogen-fixing rhizobial strains in the Brazilian Semiarid. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.49, n.5, p.395-402, 2014.

MARINO D.; FRENDON, P.; LADRERA, R.; ZABALZA, A.; PUPPO, A.; ARRESE-IGOR, C.; GONZÁLEZ, E.M. Nitrogen Fixation Control under Drought Stress. Localized or Systemic?. *Plant Physiology*, v.143, p.1968-1974, 2007.

MARIOTTI, A. Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ¹⁵N abundance measurements. *Nature*, v.303, p.685-687, 1983.

MARIOTTI, A.; GERMON, G.C.; HUBERT, P.; KAISER, P.; LÉTOLLE, R.; TARDIEUX, A.; TARDIEUX, P. Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fraction: some principle; illustrations for the denitrification and nitrification processes. *Plant Soil*, v.62, p.413-430, 1981.

MARRA, L.M.; OLIVEIRA, S.M.; SOARES, C.R.F.S.; MOREIRA, F.M.S. Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. *Sci. Agric.*, v.68, n.5, p.603-609, 2011.

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. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.41, p.417-426, 1991.

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

MARTINS, R.N.L.; NÓBREGA, R.S.A.; SILVA, A.F.T.; NÓBREGA, J.C.A.; AMARAL, F.H.C.; COSTA, E.M.; LUSTOSA FILHO, J.F.; MARTINS, L.V. Nitrogênio e micronutrientes na produção de grãos de feijão-caupi inoculado. *Ciências Agrárias*, Londrina, v.34, n.4, p.1577-1586, 2013.

MELO, A.V.; GALVÃO, J.C.C.; BRAUN, H.; SANTOS, M.M.; COIMBRA, R.R.; SILVA, R.R.; Willian Fialho dos Reis Extração de nutrientes e produção de biomassa de aveia-preta cultivada em solo submetido a dezoito anos de adubação orgânica e mineral. *Ciências Agrárias*, Londrina, PR. v.32, n.2, p.411-420, 2011.

- MELO, S.R.; ZILLI, J.E. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão-caupi recomendadas para o Estado de Roraima. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.44, n.9, p.1177-1183, 2009.
- MENDES, I.C.; REIS-JUNIOR, F.B.; HUNGRIA, M.; SOUSA, D.M.G.; CAMPO, R.J. Adubação nitrogenada suplementar tardia na soja cultivada em Latossolos do Cerrado. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.43, p.1053-1060, 2008.
- MICHIELS, J.; DOMBRECHT, B.; VERMEIREN N.; XI, C.; LUYTEN, E.; VANDERLEYDEN, J. *Phaseolus vulgaris* is a non-selective host for nodulation. *FEMS Microbiology Ecology*, v.26, p.193-205, 1998.
- MIGUEL, D.L.; MOREIRA, F.M.S. Influência do pH do meio de cultivo e da turfa no comportamento de estirpes de *Bradyrhizobium*. *R. Bras. Ci. Solo*, v.25, p.873-883, 2001.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. 2.ed. atual. e ampl. - Lavras: Editora UFLA, 729 p.: il. 2006.
- MOREIRA, L.P. Avaliação agrônômica de isolados de rizóbio que nodulam o feijoeiro-comum. 2015, 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, 2015.
- MORÓN, B.; SORIA-DÍAZ, M.E.; AULT, J.; VERROIOS, G.; NOREEN, S.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, D.N.; GIL-SERRANO, A.; THOMAS-OATES, J.; MEGÍAS, M.; SOUSA, C. Low pH Changes the Profile of Nodulation Factors Produced by *Rhizobium tropici* CIAT899. *Chemistry & Biology*, v.12, p.1029-1040, 2005.
- 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 Crops Research*, v.73, n.2, p.121-132, 2002.
- MUHAMMAD, R. W.; AHMAD, M.; UMAR, M.I.; QAYYUM, A.; MALIK, W.; HAMZA, A.; YOUSAF, M.; SHAH, J.; AHMAD, B.; BASHIR, S.; ZADA, R.; ALI, R.Z.; NOOR, E.; LIAQAT, S.; AHMED, A.I. Hereditary divergence, linkages and performance comparison in case of various genotypes of mungbean (*Vigna radiata* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*. v.1, n.11, p.1319-1322, 2013.
- MWEETWA, A.M.; CHILOMBO, G.; GONDWE, B.M. Nodulation, nutrient uptake and yield of common bean inoculated with *Rhizobia* and *Trichoderma* in an acid soil. *Journal of Agricultural Science*, v.8, n.12, p.61-70, 2016.
- NAIR, R.M.; YANG, R.Y.; EASDOWN, W.J.; THAVARAJAH, D.; THAVARAJAH, P.; HUGHES, J.D.; KEATINGE, J.D. Biofortification of mungbean (*Vigna radiata*) as a whole food to enhance human health. *J Sci Food Agric*. v.93, p.1805-1813, 2013.
- NEVES, M.C.P.; DIDONET, A.D.; DUQUE, F.F.; DÖBEREINER, J. *Rhizobium* strain effects on nitrogen transport and distribution in soybeans. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.36, n.169, p.1179-1192, 1985.

NEVES, M.C.P.; HUNGRIA, M. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. *Plant Sciences*, v.6, n.3, p.267-321, 1987.

NISHI, C.Y.M.; HUNGRIA, M. Eficiência da fixação biológica do N₂ e capacidade competitiva das estirpes SEMIA 566, SEMIA 586, SEMIA 5079 e SEMIA 5080 inoculadas em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Londrina: Embrapa-CNPSO, p.13, (EMBRAPA-CNPSO. Pesquisa em Andamento), 1993.

NORRIS, D.O.; DATE, R.A. Legume bacteriology. In: SHAW, N. H., BRYAN, W. W. (Ed.) *Tropical pasture research: principles and methods*. Brisbane: CAB Publisher, p. 134-173, 1976.

NTAMBO, M.S.; CHILINDA, I.S.; TARUVINGA, A.; HAFEEZ, S.; ANWAR, T.; SHARIF, R.; CHAMBI, C.; KIES, L. The effect of *Rhizobium* inoculation with nitrogen fertilizer on growth and yield of soybeans (*Glycine max* L.). *International Journal of Biosciences, IJB*, v.10, n.3, p.163-172, 2017.

OKITO, A.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Isotopic fractionation during N₂ fixation by four tropical legumes. *Soil Biology and Biochemistry*, v.36, p.1179-1190, 2004.

OLIVEIRA-LONGATTI, S.M.; MARRA, L.M.; SOARES, L.B.; BOMFETI, C.A.; SILVA, K.; FERREIRA, P.A.A.; MOREIRA, F.M.S. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Oxford, v.30, n.4, p.1239-1250, 2013.

ONU - Organização das Nações Unidas. *World Population Prospects The 2012 Revision: Methodology of the United Nations Population Estimates and Projections*. New York, p.01-54, 2014.

PBMC - Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. Base científica das mudanças climáticas. Contribuição do Grupo de Trabalho 1 do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas ao Primeiro Relatório da Avaliação Nacional sobre Mudanças Climáticas [Ambrizzi, T., Araujo, M. (eds.)]. COPPE. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 464 pp, 2014.

PEOPLES, M.B.; FAIZAH, A.W.; RERKASEM, B.; HERRIDGE, D.F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. Canberra: ACIAR, p.75, (ACIAR Monograph, 11), 1989.

PERES, J.R.R. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Porto Alegre: UFRGS-FA, (Dissertação de Mestrado) p.81, 1979.

PESSOA, A.C.S.; RIBEIRO, A.C.; CHAGAS, J.M.; CASSINI, S.T.A. Atividades de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “ouro negro” em resposta à adubação foliar com molibdênio. *R. Bras. Ci. Solo*, v.24, p.217-224, 2001.

POEHLMAN, J.M. What we have learned from the International Mungbean Nurseries. In: *International Mungbean Symposium, 1, Los Baños, Philippines, 1977. Proceedings*, Taipei, Taiwan, AVRDC, p.97-100, 1978.

QURESHI, M.A.; MUJEEB, F.; ANJUM, M.A.; ALI, M.A.; KHAN, A. Influence of growth stimulants with *Rhizobium* inoculation on the yield of mung bean (*Vigna radiata* L.). Pak. J. Agri. Sci., v.54, n.3, p.523-529, 2017.

R CORE TEAM: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>, 2019.

RAMOS, M.; VILLATORO, M.A.A.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Quantification of the contribution of biological nitrogen fixation to tropical green manure crops and the residual benefit to a subsequent maize crop using ¹⁵N-isotope techniques. Journal of Biotechnology, v.91, n.2-3, p.105-115, 2001.

RAZZAQUE, M.A.; HAQUE, M.M.; KARIM, M.A.; SOLAIMAN, A.R.M. Nitrogen fixing ability of mungbean genotypes under different levels of nitrogen application. Bangladesh J. Agril. Res., v.41, n.1, p.163-171, 2016.

RAZZAQUE, M.A.; HAQUE, M.M.; KARIM, M.A.; SOLAIMAN, A.R.M.; RAHMAN, M.M. Effect of nitrogen on different genotypes of mungbean as affected by nitrogen level in low fertile soil. Bangladesh J. Agril. Res., v.40, n.4, p.619-628, 2015.

RELARE - Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola. (13. :2006: Londrina, PR). Anais da XIII Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE)./- Londrina: Embrapa Soja, 212p. - (Documentos/ Embrapa Soja, 15514 151 6-781 x; n. 290), 2007.

RIBEIRO, P.E.A. Implementação de análise de nitrogênio total em solo pelo método de Dumas. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, p.26.: il. (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518- 4277; 115), 2010.

RISAL, C.P.; DJEDIDI, S.; DHAKAL, D.D.; OHKAMA-OHTSU, N.; SEKIMOTO, H.; YOKOYAMA, T. Phylogenetic diversity and symbiotic functioning in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) bradyrhizobia from contrast agro-ecological regions of Nepal. Systematic and Applied Microbiology, n.35, p.45-53, 2012.

ROCHA, S.M.B.; MENDES, L.W.; OLIVEIRA, L.M.S.; MELO, V.M.M.; ANTUNES, J.E.L.; ARAUJO, F.F.; HUNGRIA, M.; ARAUJO, A.S.F. Nodule microbiome from cowpea and lima bean grown in composted tannery sludge-treated soil. Applied Soil Ecology, p.1-7, 2020.

RUFINI, M.; FERREIRA, P.A.A.; SOARES, B.L.; OLIVEIRA, D.P.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. Simbiose de bactérias fixadoras de nitrogênio com feijoeiro-comum em diferentes valores de pH. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.46, n.1, p.81-88, 2011.

SANGAKKARA, U. R.; SOMARATNE, H. M. Sources, storage condition and quality of mungbean seeds cultivation in Sri Lanka. Scitec Nutrition. v.16, n.1, p.5-10, 1988.

SANTOS, E.L.; NEPOMUCENO, A.L.; PRETE, C.E.C.; NEUMAIER, N.; OLIVEIRA, M.C.N.; FARIAS, J.R.B.; CATTELAN, A.J. Competitividade nodular de estirpes de *Bradyrhizobium* spp. Em cultivares de soja sob diferentes disponibilidades hídricas. Gl. Sci Technol, Rio Verde, v.06, n.03, p.116-123, 2013.

SANTOS, M.A.; VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Characterization of soybean *Bradyrhizobium* strains adapted to the Brazilian savanas. FEMS Microbiology Ecology, v.30, p.261-272, 1999.

SEEG - Sistema de Estimativas de Emissões e Remoções de Gases de Efeito Estufa. Emissões de GEE do setor agropecuário. Documento de análise. p.42-44. 2016.

SEKHON, H.S.; BAINS, T.S.; KOONER, B.S.; SHARMA, P. Grow Summer Mungbean for Improving Crop Sustainability, Farm Income and Malnutrition. Acta Hort. v.752, p.459-464, 2007.

SENARATNE, R.; LIYANAGE, N.D.L.; SOPER, R.J. Nitrogen fixation of and N transfer from cowpea, mungbean and groundnut when intercropped with maize. Fertilizer Research, v.40, p.41-48, 1995.

SHAH, Z.; SHAH, S.H.; PEOPLES, M.B.; SCHWENKE, G.D.; HERRIDGE, D.F. Crop residue and fertiliser N effects on nitrogen fixation and yields of legume–cereal rotations and soil organic fertility. Field Crops Research, v.83, p.1-11, 2003.

SHEARER, G.B.; KOHL, D.H. N₂-fixation in field settings: estimations based on natural ¹⁵N abundance. Australian Journal of Plant Physiology, v.13, p.699-756, 1986.

SIDDIQUE, K.H.M.; JOHANSEN, C.; TURNER, N.C.; JEUFFROY, M.H.; HASHEM, A.; SAKAR, D.; GAN, Y.; ALGHAMDI, S.S. Innovations in agronomy for food legumes. A review. Agron. Sustain. Dev., v.32, p.45-64, 2012.

SILVA JÚNIOR, E.B.; FAVERO, V.O.; XAVIER, G.R.; BODDEY, R.M.; ZILLI, J.E. *Rhizobium* inoculation of cowpea in brazilian cerrado increases yields and nitrogen fixation. Agronomy Joournal, v.110, n.2, p.01-06, 2018.

SILVA JÚNIOR, E.B.; OLIVEIRA, S.S.; OLIVEIRA, P.J.; ZILLI, E.J.; XAVIER, G.R.; BODDEY, R.M. Inserção do feijão-caupi no centro-oeste e a importância da fixação biológica de nitrogênio no manejo do solo. Cadernos de Agroecologia, v.9, n.4, p.01-12, 2014.

SKERMAN, V.B.D. (Ed.) World catalogue of *Rhizobium* collections. 2.ed. Australia: World Data Center of Microorganisms, Department of Microbiology, University of Queensland, p.284, 1983.

SKINNER, F.A. (Ed.) World catalogue of *Rhizobium* collections. London: International Biological Programme, p.270, 1973.

SOARES, A.L.L.; PEREIRA, J.P.A.R.; FERREIRA, P.A.A.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). I-Caupi. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v.30, p.795-802, 2006a.

SOARES, A.L.L.; FERREIRA, P.A.A.; PEREIRA, J.P.A.R.; VALE, H.M.M.; LIMA, A.S.; ANDRADE, M.J.B.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência agrônômica de rizóbios selecionados e

diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). II – Feijoeiro. R. Bras. Ci. Solo, v.30, p.803-811, 2006b.

STRALIOTTO, R.; RUMJANEK, N.G. Biodiversidade do rizóbio que nodula o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e os principais fatores que afetam a simbiose. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 51p. (EmbrapaCNPAB. Documentos, 94), 1999.

THILAKARATHNA, M.S.; RAIZADA, M.N. A meta-analysis of the effectiveness of diverse rhizobia inoculants on soybean traits under field conditions. Soil Biology & Biochemistry, v.105, p.177-196, 2017.

TILMAN, D.; BALZERB, C.; HILLC, J.; BEFORTA, B. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. PNAS. v.108, n.50, p.01-05, 2011.

URQUIAGA, S.; XAVIER, R.P.; MORAIS, R.F.; BATISTA, R.B.; SCHULTZ, N.; LEITE, J.M.; SÁ, J.M.; BARBOSA, K.P.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, B.M. Evidence from field nitrogen balance and ¹⁵N natural abundance data for the contribution of biological N₂ fixation to Brazilian sugarcane varieties. Plant Soil, v.356, p.5-21, 2012.

VALENTINE, A.J.; BENEDITO, V.A.; KANG, Y. Legume nitrogen fixation and soil abiotic stress: from physiology to genomics and beyond. Annual Plant Reviews, v.42, p.207-248, 2011.

VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.R. Duas novas estirpes de rizóbio para a inoculação da soja. Planaltina: Embrapa-CPAC, p.3, (EMBRAPA-CPAC. Comunicado técnico 62), 1992.

VELÁZQUEZ, E.; CARRO, L.; FLORES-FÉLIX, J.D.; MENÉNDEZ, E.; RAMÍREZ-BAHENA, M-H.; PEIX, A. Bacteria-inducing legume nodules involved in the improvement of plant growth, health and nutrition. Microbiome in Plant Health and Disease, v.4. p. 79-103, 2019.

VIEIRA NETO, S.A.; PIRES, F.R.; MENEZES, C.C.E.; MENEZES, J.F.S.; SILVA, A.G.; SILVA, G.P.; ASSIS, R.L. Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. R. Bras. Ci. Solo, v.32, p.861-870, 2008.

VIEIRA, R.F. Leguminosas graníferas. Viçosa, Editora UFV. 206 p. Este capítulo: p.129-140, 2001.

VIEIRA, R.F.; NISHIHARA, M. K. Comportamento de cultivares de mungo-verde (*Vigna radiata*) em Viçosa, Minas Gerais. Rev. Ceres, v.39, p.60-83, 1992.

VIEIRA, R.F. Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas. Brasília, Distrito Federal, p.1-165, 2017.

VIEIRA, R.F.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C. Cultivo do feijão-mungo-verde no verão em Viçosa e em Prudente de Morais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.21, n.1, p.37-43, 2003.

VIEIRA, R.F.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C.; PINTO, C.M.F. Ouro Verde MG2: nova cultivar de mungo-verde para Minas Gerais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.20, n.1, p.119-120, 2002.

VINCENT, J.M. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria, 1970.

WU, Y.; LI, Y.H.; SHANG, J.Y.; WANG, E.T.; CHEN, L.; HUO, B.; SUI, X.H.; TIAN, C.F.; CHEN, W.F.; CHEN, W.X. Multiple Genes of Symbiotic Plasmid and Chromosome in Type II Peanut *Bradyrhizobium* Strains Corresponding to the Incompatible Symbiosis With *Vigna radiata*. Front. Microbiol, p.1-14, 2020.

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

XAVIER, T.F.; ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; CAMPOS, F.L. Inoculação e adubação nitrogenada sobre a nodulação e a produtividade de grãos de feijão-caupi. Ciência Rural, v.38, n.7, 2008.

YEOMAN, K.H.; WISNIEWSKI-DYE, F.; TIMONY, C.; STEVENS, J.B.; DELUCA, N.; DOWNIE, J.A.; JOHNSTON, A.W.B. Analysis of the *Rhizobium leguminosarum* siderophoreuptake gene *fhuA*: differential expression in free-living bacteria and nitrogenfixing bacteroids and distribution of an *fhuA* pseudogene in different strains. Microbiology 146, p.829-837, 2000.

ZILLI, J.E.; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-semeadura da soja. Pesq. agropec. bras., v.45, n.3, p.335-338, 2010.

ZILLI, J.E.; MARSON, L.C.; MARSON, B.F.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R. Contribuição de estirpes de rizóbio para o desenvolvimento e produtividade de grãos de feijão-caupi em Roraima. Acta Amazonica, v.39, n.4, p.749-758, 2009.

ZILLI, J.E.; NETO, M.L.S.; JÚNIOR, I.F.; PERIN, L.; MELO, A.R. Resposta do feijão-caupi à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* recomendadas para a soja. R. Bras. Ci. Solo, v.35, p.739-742, 2011.

ZILLI, J.E.; XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N.G. BR 3262: nova estirpe de *Bradyrhizobium* para a inoculação de feijão-caupi em Roraima. Boa Vista: Embrapa Roraima, p.7 (Embrapa Roraima. Comunicado técnico, 10), 2008.

7 ANEXO

Resultados de atributos da análise química e de relações para amostra de terra, coletada na profundidade de 0-20 cm, em solo Cambissolo Háplico no *campus* da UFRRJ no município de Campos dos Goytacazes – RJ.

1 - Resultados dos atributos químicos.

	pH	P ⁽¹⁾	K ⁽¹⁾	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO ⁽²⁾
	água	---- mg dm ³ ----	-----	-----	-----	cmolc dm ³ -----	-----	-----	-- % --	- g dm ³ -
Linha	5,9	27	105	4,48	2,8	0,05	4,15	0,31	1,63	28,1
Entrelinha	5,9	19	121	4,60	2,6	0,04	3,41	0,27	1,69	29,1

⁽¹⁾Extrator: Carolina do Norte. ⁽²⁾Matéria orgânica do solo: digestão úmida (Walkley-Black).

2 - Resultados das relações.

	SB	T	t	m	V
	-----	cmolc dm ³ -----	-----	-----	% -----
Linha	7,9	12,0	7,9	0,6	65,4
Entrelinha	7,8	11,2	7,8	0,5	69,5