

Potenciais inoculantes de bactérias diazotróficas em *Hibiscus sabdariffa* L.

Potential inoculants of diazotrophic bacteria in *Hibiscus sabdariffa* L.

Inoculantes potenciales de bacterias diazotróficas en *Hibiscus sabdariffa* L.

Recebido: 13/01/2023 | Revisado: 29/01/2023 | Aceitado: 17/02/2023 | Publicado: 21/02/2023

Caio Takeshi Morinishi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8387-064X>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: Caio.morinishi@aluno.unifenas.br

Luis Felipe Lima e Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6082-9182>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: luis.silva@unifenas.br

Ligiane Aparecida Florentino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9092-3017>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: ligiane.florentino@unifenas.br

Felipe Mendes Dias de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2315-9252>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: felipe.dias@aluno.unifenas.br

Resumo

O *Hibiscus sabdariffa* L., conhecido como vinagreira ou azedinha é uma hortaliça classificada como Planta Alimentícia Não Convencionai (PANC), exigente em alta fertilidade de nitrogênio. O uso de microrganismos para suprir a demanda do nutriente é uma alternativa viável. Com isso, o objetivo desta pesquisa experimental foi avaliar isolados de bactérias diazotróficas no crescimento vegetativo de hibisco. O delineamento estatístico utilizado foi em blocos casualizados, contendo 8 tratamentos e 5 repetições, totalizando-se 40 parcelas experimentais, sendo cada parcela um vaso contendo duas plantas. Os tratamentos foram constituídos por 6 diferentes mix bacterianos (B1, B2, B3, B4, B5 e B6) de estirpes mantidas em armazenamento controlado no Laboratório de Microbiologia Agrícola-UNIFENAS, acrescido de 2 controles, controle positivo (CP), sem inoculação, acrescido de fertilização completa, controle negativo (CN), sem inoculação e fertilização. A colheita da parte aérea e das raízes foi realizada após 90 dias do plantio, avaliando-se as principais medidas biométricas. O tratamento B4 utilizando as estirpes HNFB3B e HJR3, apresentou o melhor resultado nas variáveis biométricas de altura, número de folhas e biomassa radicular da planta.

Palavras-chave: Agricultura sustentável; Fixação biológica de nitrogênio; Hibisco; Panc; Vinagreira verde.

Abstract

Hibiscus sabdariffa L., known as vinegar plant or sorrel is a vegetable classified as a Non-Conventional Food Plant (PANC), demanding high nitrogen fertility. The use of microorganisms to supply the nutrient demand is a viable alternative. Thus, the objective of this experimental research was to evaluate isolates of diazotrophic bacteria in the vegetative growth of hibiscus. The statistical design used was a randomized block design, with 8 treatments and 5 replications, totaling 40 experimental plots, each plot being a pot containing two plants. The treatments consisted of 6 different bacterial mix (B1, B2, B3, B4, B5 and B6) of strains kept in controlled storage in the Agricultural Microbiology Laboratory-UNIFENAS, plus 2 controls, positive control (PC), without inoculation, plus complete fertilization, negative control (NC), without inoculation and fertilization. The aerial part and roots were harvested 90 days after planting, evaluating the main biometric measurements. The treatment B4 using the strains HNFB3B and HJR3, presented the best result in the biometric variables of height, number of leaves and root biomass of the plant.

Keywords: Sustainable agriculture; Biological nitrogen fixation; Hibiscus; Panc; Green vine.

Resumen

Hibiscus sabdariffa L., conocida como vinagreira o azedinha es una hortaliza clasificada como Planta Alimenticia No Convencional (PANC), que exige una elevada fertilidad nitrogenada. El uso de microorganismos para suplir la demanda de nutrientes es una alternativa viable. Así, el objetivo de esta investigación experimental fue evaluar aislados de bacterias diazotróficas en el crecimiento vegetativo del hibisco. El diseño estadístico utilizado fue un

diseño de bloques al azar, con 8 tratamientos y 5 repeticiones, totalizando 40 parcelas experimentales, siendo cada parcela una maceta que contenía dos plantas. Los tratamientos estuvieron constituidos por 6 mezclas bacterianas diferentes (B1, B2, B3, B4, B5 y B6) de cepas mantenidas en almacenamiento controlado en el Laboratorio de Microbiología Agrícola - UNIFENAS, más 2 controles, control positivo (CP), sin inoculación, más fertilización completa, control negativo (CN), sin inoculación ni fertilización. La cosecha de la parte aérea y de las raíces se realizó 90 días después de la plantación, evaluando las principales medidas biométricas. El tratamiento B4 utilizando las cepas HNFB3B y HJR3, presentó el mejor resultado en las variables biométricas de altura, número de hojas y biomasa radicular de la planta.

Palabras clave: Agricultura sostenible; Fijación biológica del nitrógeno; Hibisco; Panc; Vid verde.

1. Introdução

O Brasil contempla 20% de toda biodiversidade mundial, entretanto as atividades agrícolas estão centradas no cultivo de espécies exóticas, acarretando a subutilização de plantas nativas (Kinupp, Lorenzi, 2014). A produção das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) ainda demandam de mais estudos, entretanto é notório a presença de alta variedade fitoquímica e alto valor nutricional (Silva et al., 2022). Dentre essas plantas, o hibisco *Hibiscus Sabdariffa* L. uma planta medicinal e alimentícia rica em metabólitos secundários como polifenóis e flavonóides vem crescendo no mercado consumidor no Brasil.

Na fertilização, o macronutriente nitrogênio exerce essencialidade no processo de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta (Taiz, Zeiger, 2004; Epstein; Bloom, 2005; Havlin et al., 2005), a demanda do nutriente é alta e a sua fertilização mineral é um processo oneroso. Alternativas sustentáveis de baixo custo já são observadas em diversas plantas, pela substituição parcial e integral do nutriente mineral pelo uso de microrganismos. Esses microrganismos apresentam uma alta diversidade de capacidades bioquímicas, executando processos como de fixação biológica de nitrogênio-FBN, produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes entre outros que direta e indiretamente contribuem com aumento da produtividade, redução de custos com produtos insumos e ganhos ambientais diversos (Hungria et al., 2011; Florentino et al., 2017)

A fixação biológica de nitrogênio é um processo de redução de nitrogênio atmosférico para amônia em condições naturais. Diversos serviços ecossistêmicos já são relatado pelo uso de microrganismos, em diferentes culturas. Avaliando a rizosfera de raízes de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.), Puma Vega (2020), verificou alta ocorrência e diversidade de bactérias promotoras de crescimento de plantas. Em estudos com o uso de rizobactérias em estacas de videira *Vitis vinifera* Bartolini et al., (2017), observou maior taxa de sobrevivência das plantas devido a maior biomassa radicular. Na interação com jojoba *Simmondsia chinensis* em processo de aclimatização, a inoculação com estirpes de rizobactérias do gênero *A. brasilense* obtiveram maior percentual de enraizamento e desenvolvimento morfológico (Larraburu et al., 2016).

Em gramíneas com aumento da taxa de acúmulo de N na planta há maior percentual de proteína maior tolerância a estresses abióticos e bióticos (Miranda et al., 1990; Quesada, 2001; Fukami et al., 2018). Há comprovada eficiência da comunidade bacteriana endofítica de sementes no controle de fungos fitopatogênicos, produção de fito-hormônio ácido 3-indolacético (AIA), solubilização de fosfato (Assumpção et al., 2009; Florentino et al., 2017; Terra et al., 2019). Em pseudofrutos como morango, fixando nitrogênio utilizando gêneros *Pseudomonas* e *Enterobacter* aumentando a biomassa aérea, produção de AIA, (Pereira et al., 2012). Em oliveiras *Olea europaea* L. rizobactérias promotoras do crescimento de plantas produziram índices relevantes de fitormônio ácido 3-indolacético (AIA). (Ramos et al., 2021). Na cultura da alface, Florentino et al., (2017) obtiveram aumento da taxa de germinação de sementes, comprimento radicular e biomassa aérea com uso de rizobactérias produtoras de ácido 3-indol acético (AIA).

Cassimiro et al., (2022), avaliando a interação de bactérias promotoras de crescimento vegetal com o uso de pó de rocha fonolito na produção de hortaliças não convencionais obteve aumento da biomassa área e radicular da capuchinha

(*Tropaeolum majus* L.). Em estudos com e batata (*Solanum tuber*) Ali et al., (2021), avaliando o efeito da inoculação de *Bacillus cereus* no crescimento e absorção de nutrientes, observaram um aumento da disponibilidade de potássio nutrientes no solo e nas folhas. As BPCP vêm se consolidando como uma tecnologia economicamente viável e sustentável na agricultura, entretanto são escassos os trabalhos que avaliassem possíveis bactérias em associações benéficas com *H. sabdariffa*.

Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar isolados de bactérias diazotróficas na produção de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.).

2. Metodologia

2.1 Montagem, Seleção de Plantas E Delineamento.

O experimento foi conduzido na Horta Experimental, no Campus da Agronomia, na Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) em Alfenas, no sul de Minas Gerais, em área do Setor de Olericultura e Experimentação (21025'45"S, 45056'50"W, 880 m de altitude). O clima da região é o subtropical com temperaturas médias anuais entre 18°C e 20°C. O solo trabalhado é Latossolo vermelho, determinado mediante análise química Tabela 1. O experimento foi conduzido em sistema protegido. A irrigação foi realizada por gotejo mantendo-se constante a umidade em capacidade de campo. As mudas foram produzidas no próprio viveiro da universidade, em bandejas de polietileno, de 128 células com substrato comercial Carolina Soil. O semeio foi feito no dia 26 de outubro de 2022 sendo semeadas 1 semente/célula. E o transplantio foi realizado para vasos de 5dm³ em cerca de 30 dias após o semeio. A metodologia de pesquisa foi proposta por Florentino et al., (2017).

2.2 Delineamento experimental e identificação das estirpes

Na pesquisa experimental quantitativa o delineamento estatístico utilizado foi em blocos casualizados, contendo 8 tratamentos e 5 repetições, totalizando-se 40 parcelas experimentais, sendo cada parcela um vaso contendo duas plantas. Os tratamentos foram constituídos por 6 diferentes mix bacterianos (B1, B2, B3, B4, B5 e B6), descritas conforme Figura 1. de estirpes mantidas em armazenamento controlado no Laboratório de Microbiologia Agrícola da UNIFENAS, e também 2 controles (CP e CN), sendo CP o controle positivo, onde não foram inoculadas bactérias sendo adicionados todos os nutrientes indicados para a cultura, e CN o controle negativo, o qual não recebeu bactérias e adubos.

Tabela 1 - Identificação dos diferentes mix bacterianos inoculados na *H. sabdariffa*.

MIX	IDENTIFICAÇÃO	ESTIRPES
01	MIX 01	HLO1B e HFR2F
02	MIX 02	HFR2A e HLS3C
03	MIX 03	HFR2G e HLO2
04	MIX 04	HNF3B e HJR3
05	MIX 05	HFR2D e HFR2C
06	MIX 06	HFS3H e HFR2D

H* planta estudada (Hibisco), L* meio de cultura utilizado (L= LGI; F=FAM; N=NFB; J=JMV), O* parte da planta (O= Cálice da Planta; R=raiz; F=Folha; S=solo); 1* repetição de purificação das bactérias, B* repetição das repetições de purificação (A a H), ocorreu quando encontrada mais de uma bactéria na repetição mencionada acima.

2.3 Análise e correção do solo e condução do experimento

O solo trabalhado foi o Latossolo vermelho, determinado mediante análise química Tabela 1. apresentando as

seguintes caracterizações. O experimento foi conduzido em sistema protegido. A irrigação foi realizada por gotejo mantendo-se constante a umidade em capacidade de campo.

A adubação base em quantidade (gramas) de cada nutriente por vaso foi estabelecida de acordo com análise química do solo experimental (Tabela 2) e com adaptações de indicações da literatura (Reis, 2006; Ribeiro, 1999). Nos tratamentos contendo as estirpes bacterianas a adubação foi realizada com exceção do nutriente Nitrogênio. As bactérias foram inoculadas próximo a cada planta/vaso, utilizado 1ml de solução por planta, resultando em 2ml/vaso.

A calagem foi realizada de forma prévia elevando-se a saturação de bases para 70% e com finalidade também de suprir a quantidade da demanda de Ca e Mg. Na adubação de plantio todo o fósforo foi aplicado, com 20% das recomendações dos demais nutrientes. Posteriormente, em parcelas a cada 15 dias os 80% do restante dos nutrientes foi aplicado.

A adubação base em quantidade (gramas) dos demais cada nutrientes por vaso foi estabelecida de acordo com análise química do solo experimental (Tabela 2) e com adaptações de indicações da literatura (Reis, 2006; Ribeiro, 1999), sendo. a recomendação utilizada de 40 Kg/ha de Nitrogênio (somente nos controles positivos), 360 Kg/ha de P₂O₅, 180 Kg/ha de K₂O e 60 Kg/ha de S, divididos em adubação de plantio (100% do P₂O₅ e 25% de N, K e S) e parcelas (restante dos nutrientes N, K e S). As quantidades, por hectare, de micronutrientes aplicados foram de 0,8 kg de zinco, 1 kg de boro, 10 kg de sulfato de cobre e 0,5 kg de molibdato de amônio.

Nos tratamentos contendo as estirpes bacterianas a adubação foi realizada com exceção do nutriente Nitrogênio. As bactérias foram inoculadas próximo a cada planta/vaso, utilizado 1ml de solução por planta, resultando em 2ml/vaso.

Tabela 2 - Análise química inicial do solo utilizado no experimento.

MO	pH	P-	K+	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC	V	M
	CaCl ₂	Mehlich									
g/dm ³		---mg dm ⁻³ ---			----- mmol _c dm ⁻³ -----					---- % ----	
8	4,7	3	15,6	4	1	0,00	20	5,4	25,4	21	1

MO – matéria orgânica; H+Al – acidez potencial; SB – soma de bases; CTC – capacidade de troca de cátions a pH 7,0; V – saturação por bases; m – saturação por Al³⁺. Fonte: Autores.

2.4 Avaliações

A colheita da parte aérea e das raízes foi realizada em cerca de 90 dias após o plantio sendo realizadas as seguintes avaliações: altura das plantas (cm), número de folhas (n°), peso fresco parte aérea e raízes (gramas), peso seco parte aérea e raízes (gramas). A análise de variância foi realizada por meio do software Sisvar, e as médias como resultados foram submetidas ao teste de Scott Knott (95%).

3. Resultados e Discussão

3.1 Uso do Mix de bactérias promotoras do crescimento vegetal no desenvolvimento da altura e número de folhas *Hibiscus sabdariffa*.

Os tratamentos bacterianos B1, B4, B2, B3 e o tratamento controle positivo + adubação, influenciaram positivamente na altura das plantas conforme a tabela 2. Entretanto, quando avaliado o número de folhas os tratamentos bacterianos B1, B4, B2, B, B6 apresentaram resultados superiores quando ao tratamento controle positivo+ adubação. O aumento da altura da planta associado ao número de folhas está diretamente relacionado desenvolvimento vegetativo pela absorção de nitrogênio na

planta pela fixação biológica de nitrogênio.

Tabela 3 - Altura das plantas e número de folhas utilizando mix bacteriano associado ou não a adubação aplicados ao solo.

Tratamentos	Altura da Planta (cm)	Número de Folhas (n.º)
B1 (HL01B+HFR2F)	10,95 a	5,10 a
B4 (HNFB3B+HJR3)	10,81 a	5,80 a
B2 (HFR2A+HLS3C)	10,75 a	4,90 a
B3 (HFR2G+HL02)	10,71 a	5,30 a
B6 (HFR2D+HFR2C)	9,80 b	5,10 a
B5 (HFR2D+HFR2C)	8,83 b	4,30 b
Controle Positivo (Sem/ Adubação)	10,54 a	4,30 b
Controle Negativo (Sem inoculação/ sem adubação)	8,97 b	3,70 b
CV %	11.19	17.82
Pr>Fc	0.02	0.01

*Médias seguidas pelas mesmas letras em uma mesma coluna não se diferenciam estatisticamente a um nível de 5% pelo teste de Scott Knott.
Fonte: Autores.

O nitrogênio no solo afeta a interação dos microrganismos na planta de acordo com Vieira et al., (2005). Segundo Hungria et al., (2003), o fertilizante quando aplicado na semeadura aumenta a taxa de FBN em feijão-comum o que explicaria o resultado obtido no controle positivo onde foi aplicado os inoculados e a adubação. A inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetativo apresentam efeito no crescimento vegetativo (Moreira, Siqueira, 2006).

Esse resultado corresponde com estudos de Rueda et al., (2016), que observaram maiores índices de área foliar em morango quando inoculado bactérias promotoras de crescimento vegetativo (BPCV). Entretanto, esse resultado distingue de estudos de Cassimiro (2022), quando avaliado a inoculação de bactérias diazotróficas e a fonte de feldspato potássico “fonolito” quando avaliado o crescimento inicial da vinagreira. O rendimento de biomassa é diretamente afetado por influências genéticas físicas e no manejo cultural da cultura, contudo adaptações da planta a determinadas condições de clima e fotoperíodo são determinantes (Martins, 1985). Segundo Castro et al., (2004), ha necessidade de estudos visando recomendações de cultivo e rendimento de biomassa. Gonzáles et al., (2005), avaliando adubação orgânica na vinagreira obteve médias superiores na altura da planta quando aplicado o composto orgânica na dose de 99g planta⁻¹

3.2 Uso do Mix de bactérias promotoras do crescimento vegetal na biomassa radicular *Hibiscus sabdariffa*.

Os diferentes tratamentos no solo influenciaram significativamente na biomassa radicular de *H. sabdariffa*, conforme pode ser observado na Tabela 3. O tratamento B4 com os inoculados HNFB3B e HJR3 obtiveram o melhor resultado na biomassa radicular, quando comparado com as demais estirpes e os controles com inoculação e adubação e sem inoculação e adubação. Contudo, esses mesmos isolados apresentaram resultado significativo quando avaliado a altura da planta e número de folhas. A interação desses isolados com a planta hospedeira pode ter sido direto pela síntese de fitormônios como ácido 3-

indolacético, ou indiretos pela maior taxa de fotoassimilados devido a maior área foliar da planta, contudo mais estudos se faz necessário.

A associação dessas estirpes é potencializada mesmo em condições onde há acréscimo da adubação. O efeito mutualístico da inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) acarreta aumento da densidade dos pelos radiculares, esses microrganismos colonizam a rizosfera, aumentando a área radicular, obtendo assim maior taxa de absorção de nutrientes, em interação sinérgica com outros microrganismos como fungos micorrízicos.

Tabela 4 - Peso fresco e seco radicular utilizando mix bacteriano associado ou não a adubação aplicados ao solo.

Tratamentos	Peso Fresco Raiz (g)	Peso Seco Raiz (g)
B1 (HL01B+HFR2F)	1,48 a	0,10 b
B4 (HNFB3B+HJR3)	1,76 a	0,23 a
B2 (HFR2A+HLS3C)	1,25 b	0,14 b
B3 (HFR2G+HL02)	1,00 b	0,08 b
B6 (HFR2D+HFR2C)	1,67 a	0,13 b
B5 (HFR2D+HFR2C)	1,06 b	0,09 b
Controle Positivo (Sem Inoculação + Adubação)	1,37 b	0,13 b
Controle Negativo (Sem inoculação/ sem adubação)	1,27 b	0,09 b
CV %	8.96	4,31
Pr>Fc	0.003	0.004

*Médias seguidas pelas mesmas letras em uma mesma coluna não se diferenciam estatisticamente a um nível de 5% pelo teste de Scott Knott.
Fonte: Autores.

O aumento da biomassa radicular está diretamente relacionado com a capacidade de produção de fitormônios pelas bactérias. A produção de fitohormônios é relatada por diversos autores, como fator direto no desenvolvimento radicular e dentre esses o ácido 3-indolacético (AIA) está diretamente relacionado com a indução de crescimento, formação raízes e aumento dos pelos radiculares (Caballero-Mellado, 2006; Florentino et al., 2017; Ramos, et al., 2021). Em estudos com o uso de bactérias produtoras de AIA, Florentino et al., (2017) verificou aumento da taxa de germinação e comprimento radicular nas plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). Ramos et al., (2021), em estudos utilizando rizobactérias promotoras de crescimento no enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) observou que isolados com produção de e 20 µg mL⁻¹ de AIA, apresentam potencial de indução. Algumas espécies de vinagreira, como *Hibiscus rosa-sinensis* L. são comercialmente propagados por estaquia. A qualidade das mudas de propagação vegetativa por estaquia é influenciada por diversos fatores, como época de coleta, tamanho da estaca, concentração de auxinas e estado fisiológico da estaca sendo viável conforme os resultados obtidos nesse experimento a utilização de BPCP em estacas.

O aumento da biomassa radicular beneficia a planta em processos de aclimatização e enraizamento, diminuindo assim perdas nesses processos. O uso de rizobactérias nesses processos já foi relatado por diversos autores, pelo aumento da biomassa radicular e maior área de absorção de nutrientes. Em estudos com gengibre-vermelho *Hedychium coccineum* a inoculação promoveu diretamente aumento de massa seca radicular e consequentemente maiores índices de sobrevivência da planta, visto que essa etapa é onerosa devido as altas taxas de mortalidade (Ovando-medina et al., 2017).

O uso de inoculantes bacterianos apresenta resultados distintos em campo, pois a interação bactéria-planta é complexa e sofre influência de fatores bióticos e abióticos como a microbiota presente no solo, manejo químico e biológico do solo e as condições edafoclimáticas (Vacheron et al., 2013; Salvo et al., 2018; Junior et al., 2021; De Pádua et al., 2022).

4. Conclusão

A inoculação com as estirpes HNFB3B+HJR3 apresentou o melhor resultado no desenvolvimento vegetativo do hibisco. Novos estudos devem ser realizados buscando-se verificar essas possíveis influências em ciclo completo da espécie, bem como sob a cultura em campo em condições similares às utilizadas pelos produtores.

Referências

- Ali, A. M., Awad, M. Y. M., Hegab, S. A., EL Gawad, A. M. A., & Eissa, M. A. (2021) Effect of potassium solubilizing bacteria (*Bacillus cereus*) on growth and yield of potato. *Journal of Plant Nutrition*, 44, (3), 411-420.
- Assumpção, L.C., Lacava, P.T., Dias, A.C.F., Azevedo, J.L & Menten, J.O.M. (2009) Diversity and biotechnological potential of endophytic bacterial community of soybean seeds. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(5), 503-510.
- Bartolini, S., Carrozza, G. P., Scalabrelli, G & Toffanin, A. (2010) Effectiveness of *Azospirillum brasilense* Sp245 on young plants of *Vitis vinifera* L. *Open Life Sciences*, 12, (1), 365-372.
- Caballero-Mellado, J (2006) Microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas. *Revista Latino Americana de Microbiologia*, Cidade do México, 48, (2), 154- 161.
- Castro, N. E. A., Pinto, J. E. B. P., Cardoso, M. G., Morais, A. R., Bertolucci, S. K. V., Silva, F. G., & Delú Filho, N. (2004) Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 28(3), 542-551.
- Cassimiro, A.A., Carvalho, G.A., Silva, L.F.L., Florentino, L.A., Oliveira, F.E & Lima, F.M.D (2022). Bactérias promotoras de crescimento vegetal e uso de pó de rocha na produção inicial de hortaliças não convencionais. *Research, Society and Development*, 11(4), e13311426469.
- De Pádua, S. D., & Florentino, L. A. (2022) Uso do fonolito e bactérias solubilizadoras de potássio na cultura do feijoeiro. *Research, Society and Development*, 11(2), e53711226248-e53711226248.
- Epstein, E. & Bloom, A.J. (2005) *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. (2a nd.), Edition, Sinauer Associates, Sunderland.
- Florentino, L. A., Bortolotti, A. S., Landgraf, P. R. C. & Souza, F. R. D. C. (2017) Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). *Revista Colombiana de Ciências Horticolas*, 11(1), 89-96.
- Fukami, J., Cerezini, P. & Hungria, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Expr* 8, 73.
- Flores, J. R. T., Gonzáles, A. P., Amaya, J. C., Ramírez, J. L. M., Ruvalcaba, R.R & Salas, J.F.C (2005). *Niveles de fertilización orgánica mediante vermicomposta en el cultivo de la Jamaica*. XVI Semana de la Investigación Científica en el CUCBA.
- Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L., Tisdale, and Nelson, W.L. (2005). *Soil Fertility and Nutrient Management*. 7th Edition. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey.
- Hungria, M. (2011) Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, Documentos 325.
- Hungria, M., Campo, R. J., & Mendes, I. C. (2003) Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. *Biology and Fertility of Soils*, Florença, 39, 88-93.
- Junior, J. A. M. S., de Freitas, J. M., & Rezende, C. F. A. (2021) Produtividade do milho associado a inoculação com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de adubação nitrogenada. *Research, Society and Development*, 10 (2), e42810212711-e42810212711.
- Kinupp, V.F., & Lorenzi, H. (2014) *Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda.
- Larraburu, E. E., Bususovich, A. C., & Llorente, B. E. (2016). *Azospirillum brasilense* improves in vitro and ex vitro rooting-acclimatization of jojoba. *Scientia Horticulturae*, 209, 139-147.

- Martins, M.A. de S. 1985. *Vinagreira (Hibiscus sabdariffa L.) uma riqueza pouco conhecida*. São Luiz: Emapa. Documentos, 6. 12p.
- Miranda, C.H.B., Urquiaga, S. & Boddey, R.M. Selection of *Panicum maximum* for associated biological nitrogen fixation using the ¹⁵N isotope dilution technique. *Soil Biology & Biochemistry*, Oxford, 22, 657-663, 1990.
- Miranda, E.M., Silva, E. M. R. & Saggin Junior, O., J.;(2016) Inoculação micorrízica e adubação fosfatada na produção de mudas de Amendoim Forrageiro. *Revista Ciência Agronômica*. Fortaleza, 47 (2), 240-246.
- Moreira, F. M. S. & Siqueira, J. O. *Microbiologia e bioquímica do solo*.(2a ed.). Editora da Universidade Federal de Lavras. 729p.
- Oliveira, P., Azenha, M., Rodrigues, P., Alves, T., Lemes, A., & Pedroso, A. D. F. (2020). *Emissão de óxido nitroso em pastagens tropicais de sistemas de produção de bovinos de corte*. Embrapa Pecuária Sudeste-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E).
- Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Chavez-Aguilar, A., Oliva-Llaven, A., Ayora-Tavaler, T., & et al., (2007). *Ex vitro* survival and early growth of *Alpinia purpurata* Plantlets inoculated with *Azotobacter* and *Azospirillum*. *Pakistan Journal Biological Sciences*, 10 (19), 3454-3457.
- Pereira, G. V. de M., Magalhães, K.T., Lorenzetti, E.R., Souza, T.P. & Schwan, R.F. (2012) A multiphasic approach for the identification of endophytic bacterial in strawberry fruit and their potential for plant growth promotion. *Microbial Ecology*, 63 (2),405–417.
- Puma Vega, C.F., Kemmelmeier, K., Rufini, M., Carvalho, T.S., Moreira, F.M.S (2020). Correction to: Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) Nutrition as Related to Soil Chemical and Physical Attributes and Plant Growth-Promoting Microorganisms. *Journal Soil Science Plant Nutrition* 20, 1935–1936.
- Quesada, D.M. (2001). *Seleção de genótipos de capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN)*. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 86f.
- Ramos, P.P., Melloni, R., Silva, N.L.P., Ferreira, G.M.R., Silva, L.F.O. & Silva T. A. C. (2021) Isolation, characterization of rhizobacteria and analysis of indole acetic acid production aiming at the rooting of olive (*Olea europaea* L.) cuttings. *Ciência Florestal*, 31(4).
- Reis, F. D. C. (2006). *Componentes de produção de capuchinha (Tropaeolum majus L.), influenciados pela aplicação de nitrogênio e fósforo em um Latossolo Vermelho Distrófico*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados. 29p.
- Reis, V. M., Olivares, F. L. & Döbereiner, J. (1994) Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its endophytic habitat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Oxford, 10, 401-404.
- Ribeiro, A. C. (1999). *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5a. aproximação*. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 322p.
- Rueda, D., Valencia, G., Soria, N., Rueda, B. B., Manjunatha, B., Kundapur, R. R., & Selvanayagam, M. (2016). Effect of *Azospirillum* spp. and *Azotobacter* spp. on the growth and yield of strawberry (*Fragaria vesca*) in hydroponic system under different nitrogen levels. *Journal Applied Pharmaceutical Science*, 6(01), 48-54.
- Salvo, L.P, Ferrando L, Fernandez-Scavino A, & Salamone I.E.G. (2018). Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant and Soil*. 424(1-2),405-417.
- Silva, W.F.M.; Sousa, I.B.; Ramos, B.C.Z.; & Santos, A.S; (2022) Plantas alimentícias não convencionais: pesquisa sobre conhecimento e consumo da região de Brasília-DF. *Research, Society and Development*, 11 (9), e40511932199.
- Vacheron, J., Desbrosses, G. M.L., Bouffaud, B. Touraine, Y. Moëne-Loccoz, D. Muller, L. Legendre, F. Wisniewski-Dyé, C.P. & Combaret. (2013) Plant growth promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Science.*, 4 (356), 1-19.
- Vieira, R. F., Tsai, S. M. & Texeira, M. A. (2005). Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio em feijoeiro com estirpes nativas de rizóbio, em solo tratado com lodo de esgoto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 40, 1047-1050.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2004) *Fisiologia vegetal*. Artmed, 2004. p.449-484.
- Terra, A. B., Souza, F. R. C., Rezende, A. V. & Florentino, L. A., (2019) Physiological characterization of diazotrophic bacteria isolated from *Brachiaria brizantha* rhizosphere. *Revista Caatinga*, 32(3),658-666.