



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

GABRIEL SOBRINHO SILVA

COINOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E ACTINOBACTÉRIAS EM FEIJÃO-CAUPI

**FORTALEZA
2025**

GABRIEL SOBRINHO SILVA

COINOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E ACTINOBACTÉRIAS EM FEIJÃO-CAUPI

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Claudia Miranda Martins.

Coorientador: Prof. Dr. Wardsson Lustrino Borges.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S58c Silva, Gabriel Sobrinho.

Coinoculação de rizóbio e actinobactérias em feijão-caupi / Gabriel Sobrinho Silva. – 2025.
32 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Biotecnologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins.
Coorientação: Prof. Dr. Wardsson Lustrino Borges.

1. Feijão-caupi. 2. Coinoculação. 3. Bradyrhizobium. 4. Actinobactérias. I. Título.

CDD 661

GABRIEL SOBRINHO SILVA

COINOCULAÇÃO DE RIZÓBIO E ACTINOBACTÉRINAS EM FEIJÃO-CAUPI

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovada em: 23 / 07 / 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Claudia Miranda Martins
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Wardsson Lustrino Borges
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

Dr^a. Vanessa de Abreu Pereira
Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT)

A Deus.

Aos meus pais, Valda e Alexsandro.

À minha irmã, Gisely.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e me conceder força nos momentos difíceis.

À minha família, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem na escolha de cursar biotecnologia.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo conhecimento adquirido durante a graduação e pelo apoio em ensino, pesquisa e extensão.

À Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), pela disponibilização de infraestrutura e recursos que viabilizaram este trabalho.

Aos meus amigos da Embrapa e do Centro de Empreendedorismo da UFC (CEMP), por me acompanharam nessa caminhada de crescimento pessoal e profissional.

À minha orientadora, pelo apoio e orientação.

Ao meu coorientador, pelo acompanhamento e suporte prestados.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Educação gera confiança. Confiança gera esperança. Esperança gera paz.”

- Confúcio

RESUMO

Os rizóbios são bactérias Gram-negativas que, em associação com o sistema radicular de plantas, induzem a formação nódulos e convertem o nitrogênio atmosférico em amônia, um composto importante para o desenvolvimento vegetal. Com a mesma relevância, as actinobactérias são bactérias Gram-positivas capazes de produzir diversos metabólitos secundários biologicamente ativos, como sideróforos e fitohormônios de crescimento. Nesse contexto, a coinoculação desses microrganismos em culturas tem demonstrado maior eficiência em relação a inoculações simples e a fertilizantes nitrogenados no que se refere à produtividade agrícola. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da coinoculação de uma cepa de *Bradyrhizobium* (L47) e 21 estirpes de actinobactérias sobre o crescimento do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), leguminosa amplamente cultivada no semiárido brasileiro, com grande importância socioeconômica e nutricional. Adotou-se o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições para os 24 tratamentos, que abrangeram o controle absoluto, o N-mineral, a inoculação simples de L47 e 21 coinoculações de L47 e estirpes de actinobactérias (SN1, SN2, SN6, SN9, SN11, SN12, SN13, SN16, SN19, SN20, SN23, SN25, SN26, SN29, SN30, SN31, SN32, SN34, SN35, SN36 e SN38). Foram avaliadas as médias de massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e massa seca dos nódulos (MSN) dos tratamentos, expressas em g planta⁻¹. Entre as variáveis analisadas, a MSR e a MSN apresentaram diferença significativa ($p<0,05$). As coinoculações L47SN16, L47SN23, L47SN31 e L47SN36 apresentaram os melhores desempenhos em todos os parâmetros avaliados. Dessa forma, a coinoculação de rizóbio e actinobactérias se apresenta como uma alternativa promissora para o cultivo de feijão-caupi.

Palavras-chave: feijão-caupi; coinoculação; *Bradyrhizobium*; actinobactérias

ABSTRACT

Rhizobia are Gram-negative bacteria that, in association with the root system of plants, induce the formation of nodules and convert atmospheric nitrogen into ammonia, an important compound for plant development. Equally important, actinobacteria are Gram-positive bacteria capable of producing several biologically active secondary metabolites, such as siderophores and phytohormones. In this context, the co-inoculation of these microorganisms in crops has demonstrated greater efficiency compared to single inoculations and nitrogen fertilizers, particularly regarding agricultural productivity. The objective of this study was to evaluate the effects of the coinoculation of a *Bradyrhizobium* strain (L47) and 21 *Streptomyces* strains on the growth of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), a legume widely cultivated in the Brazilian semiarid region and of great socioeconomic and nutritional importance. A randomized block design was adopted, with four replicates for the 24 treatments, which included the absolute control, mineral-N, single inoculation of L47 and 21 co-inoculations of L47 and actinobacteria strains (SN1, SN2, SN6, SN9, SN11, SN12, SN13, SN16, SN19, SN20, SN23, SN25, SN26, SN29, SN30, SN31, SN32, SN34, SN35, SN36 and SN38). The mean shoot dry mass (SDM), root dry mass (RDM), and nodule dry mass (NDM) were evaluated for each treatment, expressed as g plant⁻¹. Among the analyzed variables, RDM and NDM showed significant differences ($p < 0.05$). The co-inoculations L47SN16, L47SN23, L47SN31, and L47SN36 achieved the best performance across all parameters. Therefore, the co-inoculation of rhizobia and actinobacteria emerges as a promising alternative for cowpea cultivation.

Keywords: cowpea; co-inoculation; *Bradyrhizobium*; Actinobacteria

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cultivo de feijão-caupi conduzido em casa de vegetação.....	25
Figura 2 – Raízes de feijão-caupi com nódulos radiculares.....	26
Figura 3 – Linhagens com melhores desempenhos em MSR (L47 e SN16), MSPA (S31 e S36), e em MSPA e MSR (SN23)	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito da coinoculação na MSPA, MSN e MSR dos tratamentos. Os valores correspondem à média de quatro repetições.....	27
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Feijão-caupi	16
2.2 Bactérias promotoras de crescimento de plantas	17
2.2.1 Rizóbios	18
2.2.2 Actinobactérias	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Local de condução do experimento.....	23
4.2 Delineamento experimental.....	23
4.3 Preparo do inóculo	23
4.4 Condução do experimento.....	24
4.5 Análise estatística.....	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*V. unguiculata* (L.) Walp) é uma leguminosa amplamente cultivada no semiárido brasileiro devido à sua adaptação ao clima quente e seco da região (Freire Filho, 2011). Trata-se de uma cultura que tem importância socioeconômica por ser fonte de renda para pequenos produtores rurais, e nutricional por conter micro e macronutrientes essenciais para a saúde humana (Ayalew; Yoseph, 2022). As sementes, folhas e vagens do feijão-caupi são ricas em proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, fibras alimentares, minerais e outros nutrientes essenciais (Abebe; Alemayehu, 2022). Dada a relevância do caupi, torna-se necessário reduzir a dependência da sua produção de fertilizantes nitrogenados, visando mitigar os impactos ambientais negativos.

Diante do aumento da população mundial, estimado em 9,7 bilhões de pessoas em 2050 (ONU, 2022), os fertilizantes nitrogenados têm sido empregados para suprir a necessidade de nitrogênio de culturas e, assim, atender à crescente demanda de alimentos. No entanto, cerca de 30 a 50% do nitrogênio dos fertilizantes é absorvido pelas plantas, enquanto o restante é aproveitado por microrganismos, lixiviado no solo ou disperso por volatilização (Haroon et al., 2019). Como alternativa a essa prática ineficiente e ambientalmente prejudicial, a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é um processo natural que disponibiliza o nitrogênio de forma eficiente e ecológica à planta.

Esse processo constitui um exemplo de relação mutualística, caracterizada como uma associação a longo prazo entre duas espécies, na qual ambas se beneficiam. A FBN é um exemplo desse tipo de relação, na qual bactérias, de vida livre ou associativas, convertem o nitrogênio inerte da atmosfera (N_2) em amônia (NH_3) por meio da enzima nitrogenase (Glass; Rousk, 2024). A amônia, por ser assimilável pela planta, é utilizada na síntese de proteínas, clorofila e ácidos nucleicos (Bhatla et al., 2023). Em contrapartida, a planta fornece carboidratos aos microrganismos, o que favorece seu crescimento (Pankiewicz et al., 2019).

Em comparação a fertilizantes nitrogenados, como a ureia, a FBN promovida por rizóbios é ambientalmente mais segura, tem menor custo e apresenta maior eficiência na melhoria da fertilidade do solo e da produtividade agrícola (Mukherjee; Sen, 2021). Os rizóbios são bactérias fixadoras de nitrogênio associadas a nódulos de leguminosas. No interior dos nódulos, essas bactérias se diferenciam em bacteroides, células com paredes celulares modificadas estrutural e quimicamente, o que as adapta para manter a simbiose e sustentar a atividade da enzima nitrogenase (Wang et al., 2019).

Embora a simbiose entre leguminosas e rizóbios nativos seja a principal via de

FBN em sistemas agrícolas, a nodulação nem sempre ocorre de forma eficaz em razão de fatores adversos no solo e da competição com microrganismos nativos (Maitra et al., 2023). Assim, o melhoramento de inoculantes pode ser atingido pela seleção de linhagens de bactérias mais adaptadas às condições de cultivo, bem como pela coinoculação de bactérias promotoras de crescimento de planta (BPCP) (Garcia et al., 2021). Entre as BPCPs, destacam-se as actinobactérias, que desempenham papel relevante na promoção do crescimento vegetal.

As actinobactérias são bactérias presentes na rizosfera capazes de promoverem o desenvolvimento vegetal por meio da produção de metabólitos secundários, como antibióticos e fitohormônios (Silva et al., 2022). Essas bactérias também promovem o crescimento de rizóbios, o que contribui para o aumento da nodulação e da produtividade de grãos (Xu et al., 2021; Sahur et al., 2018).

Um exemplo desse potencial é evidenciado por Htwe et al. (2022), que observaram que o bioinoculante produzido a partir de cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium elkaniae* BLY3-8 e *Streptomyces griseoflavus* aprimorou a nodulação, produção de sementes e crescimento vegetal em feijão mungo e soja. Dessa forma, a associação entre rizóbios e actinobactérias no solo pode contribuir para a FBN mais eficiente em leguminosas.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de estirpes de rizóbio e actinobactérias no acúmulo de biomassa de feijão-caupi, explorando uma associação microbiana ainda pouco estudada para essa cultura. Ao preencher essa lacuna, os resultados obtidos podem contribuir para o desenvolvimento de inoculantes eficientes e sustentáveis no futuro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Feijão-caupi

O feijão-caupi, também conhecido como feijão-fradinho ou feijão-de-corda, é uma leguminosa de grande importância socioeconômica, caracterizada por ser anual e tolerante a climas quentes e secos (Abebe; Alemayehu, 2022). Essa espécie, pertencente à família Fabaceae e à subfamília Faboideae, é amplamente cultivada em primeira e segunda safra nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, onde corresponde a um dos principais alimentos da dieta familiar (Silva et al., 2016; Oliveira et al., 2021).

Os grãos de feijão-caupi podem suprir a necessidade diária de micro e macronutrientes essenciais para a saúde humana. No estudo sobre a composição nutricional de três variedades geneticamente melhoradas e duas variedades locais da Nigéria, Owolabi et al. (2012) observaram-se os seguintes teores, em média, dos nutrientes de feijão-caupi: 59,74% de carboidratos, 23,41% de proteínas, 1,86% de fibras e 4,03% de lipídios, além de minerais como cálcio (24,60 mg/100 g), magnésio (11,97 mg/100 g) e potássio (17,59 mg/100 g).

Devido à associação das raízes do feijão-caupi com bactérias nativas fixadoras de nitrogênio, essa planta contribui para o aumento de teor do elemento no solo. Além da FBN, a microbiota contribui para o aumento da capacidade produtiva do solo e a desintoxicação de nutrientes (O'Callaghan et al., 2022). Atraídos por exsudatos radiculares, substâncias quimioatraentes liberadas na rizosfera, os microrganismos colonizam as raízes, o que resulta em uma associação que pode ser benéfica às plantas (Zhang et al., 2017). Isso favorece a produção da leguminosa em consórcio com culturas de arroz, milho e mandioca (CONAB, 2024), especialmente na agricultura familiar, na qual o acesso a fertilizantes é limitado (Kyei-Boahen et al., 2017).

Apesar do aumento de nitrogênio do solo promovido pela FBN, a produtividade nacional é considerada baixa no Brasil. Segundo a CONAB (2025), a produtividade média nacional do feijão-caupi na safra 2024/2025 está estimada em 550 kg/ha. Este valor está abaixo do rendimento global, que atingiu 634,6 kg/ha (FAOSTAT, 2025). Diante desse cenário, é necessária a busca por métodos que aumentem a produtividade de maneira sustentável. Nesse sentido, a inoculação de BPCP em feijão-caupi desponta como uma alternativa promissora para incrementar o rendimento da cultura com menor impacto ambiental.

Lima et al. (2011) observaram que a coinoculação de duas estirpes de

Bradyrhizobium sp. (BR 3267+ EI 6) superou a inoculação simples com BR 3267, em relação à fixação de nitrogênio em feijão-caipi. No mesmo estudo, a coinoculação de *Bradyrhizobium* sp. e o fungo micorrízico *Glomus etunicatum* proporcionou maior acúmulo de nitrogênio à planta. Complementarmente, Galindo et al. (2022) verificaram que a coinoculação de *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasiliense* aumentou a absorção de nitrogênio e a produtividade de grãos de caipi em comparação à inoculação simples com *Bradyrhizobium* sp.

2.2 Bactérias promotoras de crescimento de plantas

O solo é a camada superficial da crosta terrestre composta por matéria orgânica e mineral e constitui um habitat com ampla diversidade de microrganismos que interagem entre si em condição de equilíbrio dinâmico (Amule et al., 2018; Cavalcante et al., 2017).

A reciclagem de nutrientes e o aumento da capacidade produtiva de solo estão entre as principais funções de microrganismos rizosféricos (O'Callaghan et al., 2022). Esses microrganismos podem influenciar o desenvolvimento de plantas, da germinação à maturidade, por meio de relações ecológicas como sinergismo e mutualismo (Amule et al., 2018). Atraídos por exsudatos radiculares, substâncias quimioatraentes liberadas no solo, esses microrganismos colonizam as raízes, o que resulta em uma associação que pode ser benéfica (Zhang et al., 2017). Nesse sentido, rizóbios e actinobactérias, por atuarem como BPCP na rizosfera, podem ser utilizadas como bioinoculantes em sistemas agrícolas sustentáveis.

Os bioinoculantes são produtos líquidos ou turfosos que contêm microrganismos benéficos, como bactérias e fungos, capazes de promover o crescimento vegetal e atuar no controle de pragas. Além de aumentarem a disponibilidade de micro e macronutrientes no solo, como nitrogênio e fósforo, esses microrganismos produzem fitohormônios e antibióticos essenciais para a defesa contra patógenos, configurando-se, dessa forma, como alternativas sustentáveis e de baixo custo comparadas a fertilizantes químicos (Kumar et al., 2017).

Logo, a seleção e o estudo da coexistência e coinoculação de bactérias têm o potencial para contribuir com o desenvolvimento de biofertilizantes (Cavalcante et al., 2017). Nesse sentido, a coinoculação de rizóbios e actinobactérias demonstra potencial para estimular o desenvolvimento de leguminosas, como o feijão-caipi.

2.2.1 Rizóbios

O termo rizóbio é utilizado para se referir a bactérias presentes no solo capazes de fixar o nitrogênio atmosférico no interior dos nódulos de leguminosas. Em relação à taxonomia, os rizóbios pertencem a duas classes, a *Alphaproteobacteria* e a *Betaproteobacteria*, nas quais os principais gêneros são *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Sinorhizobium* (Shahrajabian; Sun; Cheng, 2021). Os rizóbios são bactérias Gram-negativas em forma de bastonetes não formadores de endósporos, que podem ser empregadas como inoculantes na agricultura, em alternativa a fertilizantes nitrogenados. (Bhatla; Lal, 2023).

O nitrogênio molecular (N_2), que representa cerca de 78% da atmosfera, precisa ser reduzido à amônia (NH_3) para ser incorporado em biomoléculas. Entretanto, as plantas não possuem mecanismos bioquímicos capazes de realizar essa conversão, pois a quebra da tripla ligação do N_2 exige alta energia ou enzimas específicas, ausentes em seu metabolismo (Cheng, 2008; Wang et al., 2019). Para suprir essa limitação, o processo Haber-Bosch foi desenvolvido no início do século XX, reproduzindo industrialmente essa conversão sob condições de alta temperatura (350–550 °C) e pressão (150–350 atm), com ferro como catalisador (Wang et al., 2023). Essa tecnologia foi essencial para a produção de fertilizantes nitrogenados e para a mitigação da fome mundial, porém sua produção envolve elevado consumo energético e uso de combustíveis fósseis (Rouwenhorst et al., 2021).

Como alternativa aos fertilizantes nitrogenados, os inoculantes, por meio da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), têm se tornado promissores. Esse processo ocorre naturalmente e se baseia na simbiose entre plantas e bactérias fixadoras de nitrogênio presentes nos nódulos das raízes. A redução de N_2 para NH_3 por rizóbios é viabilizada pela enzima nitrogenase, que além de catalisar a reação em condições normais de temperatura e pressão, apresenta 75% de eficiência em termos de seletividade para a redução de N_2 (Milton; Minteer, 2019). Nesse contexto, a BNF é um processo mais sustentável e eficiente comparado a fertilizantes nitrogenados.

Uma das principais etapas da BNF envolve a nodulação. Quando leguminosas apresentam deficiência de nitrogênio, suas raízes liberam flavonoides no solo, o que estimula os rizóbios a produzirem lipo-quito-oligossacarídeos (LCOs) (Concha; Doerner, 2020). Esses compostos, também denominados fatores Nod, são moléculas sinalizadoras reconhecidas pela planta que regulam fatores de transcrição, que promovem a infecção e o início da formação de nódulos (Clúa et al., 2018). Na fase de infecção, os rizóbios adentram a raiz através do cordão de infecção, um túbulo produzido pela planta hospedeira, que os guia do pelo radicular até o

nódulo primordial (Tsyganova et al., 2021). No interior dos nódulos, essas bactérias se diferenciam em bacteroides, células que fornecem condições ideais para a atividade da enzima nitrogenase (Wang et al., 2019).

Com base nesse mecanismo simbótico, diversos estudos têm buscado aprimorar a eficiência de rizóbios como inoculantes em culturas leguminosas. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda o uso de quatro cepas do gênero *Bradyrhizobium* em inoculantes: UFLA3-84 (SEMA 6461), BR 3267 (SEMA 6462), INPA3-11B (SEMA 6463) e BR 3262 (SEMA 6464) (Zilli et al., 2008). Da Silva Júnior et al., (2018) observaram que a inoculação dessas cepas comerciais em feijão-caupi resultou em maior fixação de nitrogênio e incremento na produção de grãos, em comparação a plantas não inoculadas. No entanto, a seleção de cepas mais adaptadas ao cultivo é importante para garantir melhor desempenho da inoculação. Nesse sentido, Farias et al. (2016) demonstraram que as cepas selecionadas UFLA 3-153, UFLA 3-154 e UFLA 3-164 demonstraram maior eficiência que as linhagens UFLA3-84 e INPA3-11B em feijão-caupi.

Ayalew et al. (2021) concluíram que a inoculação de *Bradyrhizobium* em feijão-caupi aumentou substancialmente o número de vagens por planta, a massa e a produção de sementes. Além disso, Kandil e Ünlü (2023) observaram que a inoculação de rizóbios aumentou a produtividade de grãos, além de incrementar o teor de proteínas, fenóis, β-caroteno, vitamina C e outros compostos bioativos da planta. Dessa forma, considerando os benefícios da inoculação de rizóbios e da ação de BPCP em plantas, a coinoculação de cepas desses microrganismos se destaca como uma estratégia promissora para ampliar a eficiência de FBN do feijão-caupi.

2.2.2 *Actinobactérias*

As actinobactérias são BPCP com alta adaptabilidade à rizosfera de diferentes culturas, presentes em habitats terrestres e aquáticos, inclusive sob condições extremas de temperatura, pH e salinidade (Bouizgarne, 2022). As espécies do filo Actinobacteria são Gram-positivas, cujas morfologias variam de formas cocoide, bastonete, bastonete cocoide, hifas ramificadas portadoras de esporo, hifas fragmentadas e micélios ramificados (Yadav et al., 2018).

O filo Actinobacteria abrange um grupo diverso de bactérias, composto por seis classes: *Actinobacteria*, *Acidimicrobiiia*, *Coriobacteriia*, *Nitriliruptorales*, *Rubrobacteria* e *Thermoleophilia*. Essas classes abrangem 391 gêneros, dentre os quais 30 concentram mais de

21 espécies. Esses gêneros são: *Actinomyces*, *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Agromyces*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Bifidobacterium*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Geodermatophilus*, *Gordonia*, *Kitasatospora*, *Kocuria*, *Kribbella*, *Leucobacter*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Nocardoides*, *Nocardiopsis*, *Nonomuraea*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Saccharothrix*, *Streptomyces* e *Streptosporangium* (Yadav et al., 2018; Boukhatem et al., 2022). De acordo com Kaari et al. (2023), 90% das actinobactérias pertencem à classe *Actinobacteria*, da qual 36% dos microrganismos nesse grupo são do gênero *Streptomyces*.

Como BPCP, as actinobactérias promovem o crescimento vegetal por métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos incluem mecanismos como solubilização de fosfato e produção de sideróforos e fitohormônios, enquanto os métodos indiretos abrangem síntese de enzimas líticas e indução de resistência sistêmica induzida de plantas (Boukhatem et al., 2022). Como inoculantes para o crescimento vegetal, as actinobactérias são uma alternativa promissora ao uso de fertilizantes químicos.

Devido à sua habilidade de esporulação e filamentação, as actinobactérias se aderem de forma mais eficiente ao solo rizosférico (Kaari et al., 2023). No início da colonização de raízes, flavonoides, aminoácidos e outros exsudatos radiculares são secretados pela planta, o que induz as actinobactérias a iniciarem a colonização por meio da interação de polissacarídeos presentes em sua parede celular e lactonas ou estrigolactonas da planta hospedeira (Salwan; Sharma, 2020).

Após o nitrogênio, o fósforo é o elemento mais importante para o crescimento vegetal, desempenhando um papel essencial nos processos de fotossíntese, translocação de açúcares e crescimento radicular (Korir et. al, 2017). Todavia, somente 30% de fósforo presente em fertilizantes é aproveitado pela planta, enquanto o restante é convertido em fosfatos insolúveis. (Bouizgarne, 2022). Nesse sentido, actinobactérias, como *Streptomyces*, produzem ácidos orgânicos e inorgânicos, que atuam na solubilização de formas inorgânicas de fósforo presentes no solo, e, paralelamente, sintetizam enzimas, como fosfatase e fitase que mineralizam ortofosfatos e fosfonatos, convertendo-os em H_3PO_4 , composto aproveitado pela planta (Chouyia et al., 2022).

Com a mesma relevância, o ferro é um cofator de diversas enzimas envolvidas em processos celulares, como fotossíntese, respiração celular, transporte de oxigênio e replicação de DNA (De Serrano; Camper; Richards, 2016). Assim como os nutrientes anteriores, o ferro não está biodisponível para a planta devido à sua predominância na forma férrica Fe^{3+} no solo,

que tende a formar hidróxidos e oxi-hidróxidos insolúveis em pH neutro a alcalino (Yadav et al., 2018). Para tornar o ferro disponível para a planta, as actinobactérias produzem sideróforos, que são metabólitos de baixo peso molecular quelantes desse metal, que é então transportado para o interior das células, onde é reduzido à forma ferrosa (Fe^{2+}) (Dimkpa; 2016).

As actinobactérias também produzem fitohormônios responsáveis pelo crescimento vegetal. Embora a síntese de auxinas seja comum a todas as associações com plantas, a produção de giberelinas é rara em associações de actinobactérias com raízes, enquanto as citocininas já foram identificadas em isolados foliares (Harir et al., 2018). O ácido indol-3-acético (IAA), principal auxina em plantas, atua na estimulação da divisão, alongamento e diferenciação celulares, além de aumentar a absorção de nutrientes ao promover a formação de pelos radiculares (Bhatti et al., 2017).

AbdElgawad et al. (2020) inocularam espécies isoladas de *Streptomyces* em soja, feijão-comum, grão-de-bico, lentilha e ervilha, e observaram o aumento no conteúdo de matéria orgânica e nitrogênio nas plantas, o que resultou em maior crescimento da planta e produtividade de grãos. Resultados semelhantes foram encontrados por Lalithesh et al. (2024), que constataram que o consórcio de *Streptomyces fumigatiscleroticus* e *Streptomyces* sp. além de estimular o desenvolvimento vegetal, elevou o número de vagens e grãos. Esses estudos reforçam que as actinobactérias, especialmente do gênero *Streptomyces*, são bioinoculantes promissores no cultivo de caupi por promoverem o crescimento da planta via produção de fitohormônios e mobilização de nutrientes.

Complementarmente, a coinoculação de rizóbios e BPCP, como as actinobactérias, tem o potencial para maximizar a FBN em leguminosas. Diversas BPCP, incluindo espécies de *Azospirillum*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, auxiliam os rizóbios simbióticos, favorecendo a nodulação, a formação de pelos radiculares e a disponibilização de nutrientes essenciais, o que resulta em ganhos produtivos em culturas como feijão-comum, grão-de-bico e soja. (Hassen et al., 2023; Da Silva et al., 2024). Considerando esses benefícios, torna-se relevante avaliar a eficiência agronômica da coinoculação de *Bradyrhizobium* e *Streptomyces* em feijão-caupi.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da coinoculação com rizóbios e actinobactérias sobre a biomassa do feijão-caupi, com o intuito de contribuir para o desenvolvimento de inoculantes sustentáveis.

3.2 Objetivos Específicos

- Preparar e aplicar tratamentos de coinoculação com cepas de rizóbios e actinobactérias em sementes de feijão-caupi;
- Analisar o desempenho dos diferentes tratamentos por meio da massa seca da parte aérea, das raízes e dos nódulos;
- Comparar os resultados das coinoculações com os tratamentos controle absoluto, N-mineral e inoculação simples.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de condução do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical (CNPAT), no município de Fortaleza, Ceará, nas coordenadas geográficas 3°45'04.7" de latitude Sul e 38°34'34.4" de longitude Oeste, a 36 m de altitude. O tipo climático da região é Aw, da classificação de Köppen, caracterizado como clima tropical de savana e inverno seco. O preparo do inóculo foi realizado no Laboratório de Solos (Microbiologia do Solo) da mesma empresa.

4.2 Delineamento experimental

Foi adotado o delineamento em blocos casualizados (DBC), com 24 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos incluíram o controle absoluto (sem inoculação), o N-mineral (adubação nitrogenada), a inoculação simples da estirpe de rizóbio L47 e 21 coinoculações, em que L47 foi associada individualmente às estirpes de actinobactéria SN1, SN2, SN6, SN9, SN11, SN12, SN13, SN16, SN19, SN20, SN23, SN25, SN26, SN29, SN30, SN31, SN32, SN34, SN35, SN36 e SN38.

4.3 Preparo do inóculo

As estirpes de rizóbio e actinobactérias utilizados foram obtidos a partir da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará (UFC), previamente selecionadas, e atualmente depositadas no Laboratório de Solos do CNPAT.

A estirpe de rizóbio foi inicialmente repicada em 5 mL do meio líquido *Yeast Mannitol* (YM), cuja composição para 1000 mL de água deionizada inclui 10 g de manitol, 0,5 g de extrato de levedura, 0,5 g de fosfato dipotássico (K_2HPO_4), 0,2 g de sulfato de magnésio ($MgSO_4$) e 0,1 g de cloreto de sódio ($NaCl$) e 5 mL de azul de bromotimol 0,5% em hidróxido de potássio (KOH) 0,2 N (Vincent, 1970). O pH do meio foi ajustado para 6,8.

Para o cultivo de actinobactérias, foi utilizado em 5 mL o meio líquido *Casein Dextrose* (CD), com a seguinte composição, também por litro de água deionizada: 0,5 g de

K_2HPO_4 , 0,2 g de $MgSO_4$, 2 g de dextrose, 0,01 g de sulfato ferroso ($FeSO_4$), 0,2 g de caseína e 2,5 mL de solução nistatina, adicionada posteriormente à esterilização do meio de cultura (Clark, 1965). O pH do meio foi ajustado para 6,6.

Após a repicagem, as estirpes bacterianas foram cultivadas nos meios de cultura sob velocidade de agitação de 150 rpm, em mesa agitadora, durante sete dias, à temperatura ambiente. Posteriormente, alíquotas de 1 mL desses cultivos foram transferidas para frascos Erlenmeyers contendo 40 mL do mesmo de cultura para a produção do inóculo. Sob as mesmas condições anteriores, as estirpes de rizóbio e actinobactérias foram cultivadas por 48 h. Após essa etapa, os cultivos celulares foram centrifugados a 6.000 por 10 minutos, sendo o sobrenadante descartado em seguida. Em tubos Falcon de 50 mL, as células foram ressuspensas em 20 mL de água deionizada, constituindo os inóculos.

4.4 Condução do experimento

O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 2 L, preenchidos com 2 dm^3 de solo não autoclavado coletado do Campo Experimental de Pacajus (CEP) do CNPAT, posteriormente caracterizado quanto à sua composição química. Esse solo foi peneirado, homogeneizado e então acondicionado nos vasos. Posteriormente, foi realizada a adubação com 80 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de SuperFosfato Simples (SFS), 50 kg ha^{-1} de K_2O na forma de Cloreto de Potássio (KCl) e 35 kg ha^{-1} de fertilizante FTE BR 12. Ao tratamento N-mineral, também foram adicionados 60 kg ha^{-1} de N na forma de ureia.

A cultivar de feijão-caupi utilizada foi a BRS Tumucumaque, cujas sementes foram obtidas do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Departamento de Fitotecnia da UFC. As sementes de feijão-caupi foram previamente esterilizadas superficialmente em solução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por três minutos e, posteriormente, lavadas três vezes seguidas em água destilada.

Foram semeadas cinco sementes por vaso, sendo cada uma inoculada com 1 mL do inóculo. Seis dias após a germinação, foi realizado o desbaste, mantendo-se somente duas plantas por vaso, como se observa na Figura 1. As plantas foram irrigadas a cada 48 h até a colheita, ocorrida 42 dias após o plantio e antes do início da fase reprodutiva das plantas.

Figura 1 – Cultivo de feijão-caupi conduzido em casa de vegetação



Fonte: elaborada pelo autor.

Na colheita, as plantas foram retiradas do vaso e as raízes foram separadas da parte aérea. Em seguida, as raízes foram lavadas em água corrente para a retirada do solo aderido, como mostra a Figura 2, e os nódulos radiculares foram destacados. Na sequência, a parte aérea, a raiz e os nódulos coletados foram transferidos para estufa a 65 °C por 96 h para secagem. Foi realizada a pesagem em balança analítica para determinação da massa seca do material coletado.

Figura 2 – Raízes de feijão-caupi com nódulos radiculares



Fonte: elaborada pelo autor.

4.5 Análise estatística

Por meio do programa de análise estatística SISVAR, os dados de massa seca obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados revelou que houve diferença estatística significativa ($p<0,05$) para as variáveis massa seca dos nódulos (MSN) e massa seca das raízes (MSR). Por outro lado, a massa seca da parte aérea (MSPA) não apresentou diferença significativa ($p>0,05$).

Tabela 1 – Efeito da coinoculação na MSPA, MSN e MSR dos tratamentos. Os valores correspondem à média de quatro repetições.

Tratamento	Média MSPA g planta ⁻¹	Média MSN g planta ⁻¹	Média MSR g planta ⁻¹
Controle Absoluto	8,718 a	0,985 a	1,223 a
N-mineral	9,475 a	1,128 a	3,115 b
L47	8,648 a	0,833 a	1,020 a
L47SN1	8,928 a	0,858 a	1,438 a
L47SN2	9,095 a	0,805 a	1,300 a
L47SN6	9,220 a	0,888 a	1,403 a
L47SN9	9,230 a	0,788 a	1,520 a
L47SN11	9,333 a	0,883 a	1,193 a
L47SN12	7,518 a	0,658 a	1,085 a
L47SN13	8,133 a	0,638 a	1,118 a
L47SN16	9,520 a	0,810 a	2,013 a
L47SN19	9,028 a	0,870 a	1,415 a
L47SN20	9,043 a	0,820 a	1,540 a
L47SN23	9,295 a	0,820 a	1,928 a
L47SN25	8,280 a	0,898 a	1,120 a
L47SN26	8,973 a	0,893 a	1,418 a
L47SN29	9,360 a	0,778 a	1,358 a
L47SN30	9,455 a	0,823 a	1,443 a
L47SN31	9,560 a	0,843 a	1,748 a
L47SN32	8,825 a	0,743 a	1,470 a
L47SN34	9,185 a	0,843 a	1,590 a
L47SN35	8,275 a	0,783 a	1,225 a
L47SN36	9,558 a	0,815 a	1,893 a
L47SN38	8,825 a	0,840 a	1,430 a
Média	8,978	0,8348	1,500
Valor-p	0,2117	0,0349	0,0023
CV (%)	10,09	17,25	36,90

CV: Coeficiente de variação

Fonte: elaborada pelo autor.

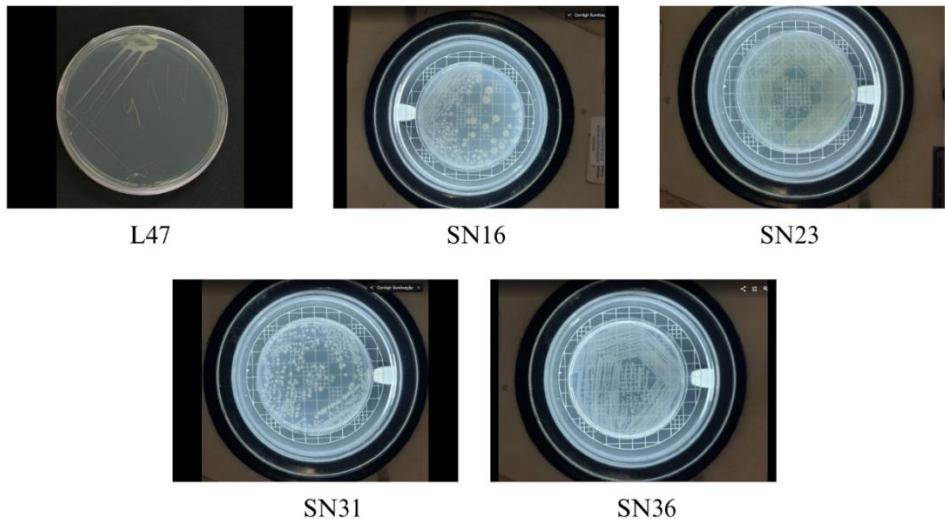
O tratamento N-mineral apresentou maiores resultados de MSN (1,128 g planta⁻¹)

e MSR ($3,115 \text{ g planta}^{-1}$), bem como alto valor de MSPA ($9,475 \text{ g planta}^{-1}$). É possível que os altos valores observados no tratamento estejam atrelados à promiscuidade do feijão-caupi na nodulação e à presença de rizóbios nativos no solo, já que este não foi autoclavado.

Em relação à MSPA, 18 tratamentos envolvendo a coinoculação superaram o controle absoluto e a inoculação L47, com destaque para quatro: L47SN16, L47SN23, L47SN31 e L47SN36 (Figura 3), que obtiveram os melhores desempenhos. Silva (2020) realizou em feijão-caupi a coinoculação duas cepas de *Streptomyces* spp. (UB05 e UB11) e oito cepas de rizóbio, incluindo sete classificadas como *Bradyrhizobium* spp. (L84, L86, L93, L98, L102, L103, L108) e uma (L110), sem classificação. No estudo, apenas o tratamento L86UB05 se aproximou da MSA do controle (BR 3301), enquanto neste trabalho foram observados mais tratamentos com desempenho superior. Por sua vez, Rodrigues et al. (2013) coinocularam em caupi cv. IPA 206 *Bradyrhizobium* sp. (BR 3267) e estirpes de BPCP *Bacillus*, *Brevibacillus* e *Paenibacillus*, e concluíram que a coinoculação com BR3267 e *P. graminis* (MC 04.21) resultou em incremento da MSPA. Nesse sentido, a coinoculação de rizóbios e actinobactérias, na maioria das combinações testadas, resultou em maior biomassa da parte aérea

Os quatro tratamentos destacados em MSPA também apresentaram os melhores desempenhos para MSR, em que 17 tratamentos de coinoculação foram superiores ao controle e à inoculação simples. De forma análoga, Nonato et al. (2021) coinocularam *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasiliense* sob diferentes tensões de água aplicadas no solo, e observaram aumento na área superficial e massa seca de raízes a partir de 50 kPa. No presente estudo, o desempenho de MSR indica que a coinoculação de estirpes de rizóbio e actinobactérias promoveu o crescimento radicular, fator essencial para a absorção de água e nutrientes pela planta.

Figura 3 – Linhagens com melhores desempenhos em MSR (L47 e SN16), MSPA (S31 e S36), e em MSPA e MSR (SN23)



Fonte: elaborada pelo autor.

Em termos de MSN, quatro tratamentos entre as coinoculações obtiverem maior massa (L47SN6, L47SN11, L47SN25 e L47SN26). A coinoculação bacteriana aumentou significativamente a nodulação no feijão-caupi. Esse resultado se assemelha ao achado de Htwe e Yamakawa et al. (2015), em que a interação dos gêneros estudados resultou em aumento tanto na nodulação quanto na MSR em soja, quando comparada a inoculações simples. Os tratamentos L47SN12, L47SN13 e L47SN35 apresentaram os menores valores de MSN, acompanhados por baixos desempenhos em MSPA e MSR.

Em termos gerais, o tratamento L47SN31 apresentou resultados expressivos nas três variáveis analisadas, com destaque para MSPA ($9,560 \text{ g planta}^{-1}$), além de MSN ($0,843 \text{ g planta}^{-1}$) e MSR ($1,748 \text{ g planta}^{-1}$) relativamente elevados. Isso indica que o inoculante proporcionou um desenvolvimento expressivo ao feijão-caupi.

5 CONCLUSÃO

A coinoculação de rizóbio e actinobactérias em sementes de feijão-caupi resultou em efeitos significativos sobre a MSR e a MSN, mas não foi observada diferença significativa na MSPA entre os tratamentos. As coinoculações L47SN16, L47SN23, L47SN31 e L47SN36 apresentaram os melhores desempenhos na maioria dos parâmetros avaliados, superando a inoculação simples com L47 e o controle absoluto. Os resultados obtidos reforçam o potencial da coinoculação como uma estratégia promissora para o incremento da biomassa em caupi. No entanto, são necessários mais estudos com as linhagens utilizadas para validar seus efeitos na fixação de nitrogênio, a fim de contribuir para o desenvolvimento de inoculantes mais eficientes e sustentáveis em leguminosas.

REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, Hamada *et al.* Actinomycetes Enrich Soil Rhizosphere and Improve Seed Quality as well as Productivity of Legumes by Boosting Nitrogen Availability and Metabolism. **Biomolecules**, v. 10, n. 12, p. 1675, 15 dez. 2020.
- ABEBE, Belete Kuraz; ALEMAYEHU, Mulugeta Tesfaye. A review of the nutritional use of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) for human and animal diets. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 10, p. 100383, dez. 2022.
- AMULE, F. C. *et al.* Effect of actinobacterial, Rhizobium and plant growth promoting rhizobacteria consortium inoculation on rhizosphere soil properties in soybean in Jabalpur district of Madhya Pradesh. **International Journal of Chemical Studies**, v. 6, n. 1, p. 583–586, 2018.
- AYALEW, Tewodros *et al.* Yield response of field-grown cowpea varieties to *Bradyrhizobium* inoculation. **Agronomy Journal**, v. 113, n. 4, p. 3258–3268, jul. 2021.
- AYALEW, Tewodros; YOSEPH, Tarekegn. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.): A choice crop for sustainability during the climate change periods. **J. Appl. Biol. Biotechnol**, v. 10, n. 3, p. 154-162, 2022.
- BHATLA, Satish C.; LAL, Manju A. **Plant physiology, development and metabolism.** [S.l.]: Springer Nature, 2023.
- BHATTI, Asma Absar; HAQ, Shamsul; BHAT, Rouf Ahmad. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 458–467, out. 2017.
- BOUZGARNE, Brahim. Phosphate-Solubilizing Actinomycetes as Biofertilizers and Biopesticides: Bioformulations for Sustainable Agriculture. In: ARORA, Naveen Kumar; BOUZGARNE, Brahim (Orgs.). **Microbial BioTechnology for Sustainable Agriculture Volume 1**. Microorganisms for Sustainability. Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. v. 33 p. 407–428.
- BOUKHATEM, Zineb Faiza; MERABET, Chahinez; TSAKI, Hassini. Plant Growth Promoting Actinobacteria, the Most Promising Candidates as Bioinoculants? **Frontiers in Agronomy**, v. 4, p. 849911, 21 mar. 2022.
- CAVALCANTE, Fernando; MARTINS, Claudia; MARTINS, Suzana. INTERAÇÕES BIÓTICAS ENTRE ACTINOBACTÉRIAS E RIZÓBIOS EM SOLOS DA REGIÃO SEMIÁRIDA BRASILEIRA. **Enciclopédia Biosfera**, v. 14, n. 26, p. 1009–1029, 5 dez. 2017.
- CHENG, Qi. Perspectives in Biological Nitrogen Fixation Research. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, n. 7, p. 786–798, jul. 2008.
- CHOUYIA, Fatima Ezzahra; VENTORINO, Valeria; PEPE, Olimpia. Diversity, mechanisms and beneficial features of phosphate-solubilizing Streptomyces in sustainable agriculture: A review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1035358, 6 dez. 2022.
- CLARK, Francis E. Agar-Plate Method for Total Microbial Count. In: NORMAN, A. G.

(Org.). **Agronomy Monographs**. Madison, WI, USA: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 2016. p. 1460–1466.

CLÚA, Joaquín *et al.* Compatibility between Legumes and Rhizobia for the Establishment of a Successful Nitrogen-Fixing Symbiosis. **Genes**, v. 9, n. 3, p. 125, 27 fev. 2018.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 12, safra 2024/25, n. 10 décimo levantamento, julho 2025.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 11, safra 2023/24, n. 7 sétimo levantamento, abril 2024.

CONCHA, Cristobal; DOERNER, Peter. The impact of the rhizobia-legume symbiosis on host root system architecture. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 13, p. 3902–3921, 26 jun. 2020.

DA SILVA, Franquiéle Bonilha *et al.* Species-dependent effect of rhizobacteria co-inoculation in legume plants: A global meta-analysis. **Rhizosphere**, v. 30, p. 100869, 2024.

DA SILVA JÚNIOR, Elson B. *et al.* Rhizobium inoculation of cowpea in Brazilian cerrado increases yields and nitrogen fixation. **Agronomy Journal**, v. 110, n. 2, p. 722-727, 2018.

DE ARAÚJO, Fabio Fernando; DE ARAÚJO, Ademir Sergio Ferreira; DE SOUZA, Marcio Reginaldo. Inoculação do feijão-caupi com rizobactérias promotoras de crescimento e desempenho na produção de biomassa. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 17, n. 1, p. 53-58, 2012.

DE SERRANO, Luis O.; CAMPER, Anne K.; RICHARDS, Abigail M. An overview of siderophores for iron acquisition in microorganisms living in the extreme. **BioMetals**, v. 29, n. 4, p. 551–571, ago. 2016.

DESA, U. N. *et al.* World population prospects 2022: Summary of results. **United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division, Tech. Rep. UN DESA/POP/2022/TR**, n. 3, 2022.

DIMKPA, Christian. Microbial siderophores: Production, detection and application in agriculture and environment. **Endocytobiosis & Cell Research**, v. 27, n. 2, 2016.

FAOSTAT (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - Divisão de Estatística). Dados de produção e cultivo. 2025. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>. Acesso em 15 de maio de 2025.

FARIAS, Thiago Palhares *et al.* Symbiotic efficiency of rhizobia strains with cowpea in southern Maranhão. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 611-618, 2016.

FREIRE FILHO, Francisco Rodrigues. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. 2011.

GALINDO, Fernando Shintate *et al.* Co-Inoculation with Azospirillum brasilense and

Bradyrhizobium sp. Enhances Nitrogen Uptake and Yield in Field-Grown Cowpea and Did Not Change N-Fertilizer Recovery. **Plants**, v. 11, n. 14, p. 1847, 14 jul. 2022.

GARCIA, Marcos Vinicios Conceição; NOGUEIRA, Marco Antonio; HUNGRIA, Mariangela. Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing Bradyrhizobium and Azospirillum for the soybean crop. **AMB Express**, v. 11, n. 1, p. 71, 2021.

GLASS, Jennifer B.; ROUSK, Kathrin. Microbial nitrogen transformation processes across environments: more than just a cycle. **Trends in Microbiology**, v. 32, n. 6, p. 519–521, jun. 2024.

HARIR, Mohammed *et al.* Streptomyces secondary metabolites. In: **Basic biology and applications of actinobacteria**. IntechOpen, 2018.

HAROON, Muhammad *et al.* Nitrogen use efficiency: farming practices and sustainability. **J. Exp. Agric. Int**, v. 36, n. 3, p. 1-11, 2019.

HASSEN, Ahmed Idris; BABALOLA, Olubukola Oluranti; CARLSON, Rene. Rhizobacterial-Mediated Interactions for Enhanced Symbiotic Performance of the Root Nodule Rhizobia in Legumes. In: MAHESHWARI, Dinesh Kumar; DHEEMAN, Shrivardhan (Orgs.). **Sustainable Agrobiology. Microorganisms for Sustainability**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. v. 43 p. 41–56.

HTWE, Aung Zaw *et al.* Effects of Biofertilizer Produced from Bradyrhizobium and Streptomyces griseoflavus on Plant Growth, Nodulation, Nitrogen Fixation, Nutrient Uptake, and Seed Yield of Mung Bean, Cowpea, and Soybean. **Agronomy**, v. 9, n. 2, p. 77, 11 fev. 2019.

HTWE, Aung Zaw; YAMAKAWA, Takeo. Enhanced plant growth and/or nitrogen fixation by leguminous and non-leguminous crops after single or dual inoculation of Streptomyces griseoflavus P4 with Bradyrhizobium strains. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 49, p. 2337-2344, 2015.

KAARI, Manigundan *et al.* Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bio-organic agriculture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 134, n. 2, p. lxac047, 2023.

KANDIL, Ahmet Emre; ÖZDAMAR ÜNLÜ, Halime. Effect of rhizobium inoculation on yield and some quality properties of fresh cowpea. **Cogent Food & Agriculture**, v. 9, n. 2, p. 2275410, 2023.

KORIR, Hezekiah *et al.* Co-inoculation Effect of Rhizobia and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Common Bean Growth in a Low Phosphorus Soil. **Frontiers in Plant Science**, v. 08, 7 fev. 2017.

KUMAR, Vivek *et al.* (ORGs.). **Probiotics in Agroecosystem**. Singapore: Springer Singapore, 2017.

KYEI-BOAHEN, Stephen *et al.* Growth and Yield Responses of Cowpea to Inoculation and Phosphorus Fertilization in Different Environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 3 maio

2017.

LALITHESH, Niveditha Nelamangala *et al.* **Exploring the Potential of Actinobacteria as Plant Growth Promoters in Cowpea.** In Review, 3 dez. 2024.

LIMA, André Suêldo Tavares De *et al.* Triple inoculation with Bradyrhizobium, Glomus and Paenibacillus on cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] walp.) development. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 919–926, set. 2011.

MAITRA, Sagar *et al.* Rhizobium as biotechnological tools for green solutions: An environment-friendly approach for sustainable crop production in the modern era of climate change. **Current Microbiology**, v. 80, n. 7, p. 219, 2023.

MILTON, Ross D.; MINTEER, Shelley D. Nitrogenase bioelectrochemistry for synthesis applications. **Accounts of chemical research**, v. 52, n. 12, p. 3351-3360, 2019.

MUKHERJEE, Rittwika; SEN, Supatra. Role of biological nitrogen fixation (BNF) in sustainable agriculture: A Review. **International Journal of Advancement in Life Sciences Research**, p. 1-7, 2021.

NONATO, Julio José; SILVA, Tonny José Araújo da; BONFIM-SILVA, Edna Maria. Cowpea root growth under water availability and co-inoculation with growth promoting rhizobacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 53, n. 14, p. 1756-1766, 2022.

O'CALLAGHAN, Maureen; BALLARD, Ross A.; WRIGHT, David. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. **Soil Use and Management**, v. 38, n. 3, p. 1340–1369, jul. 2022.

OLIVEIRA, Adolfo Marcito Campos De *et al.* Produção de alimentos na base do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*): importância nutricional e benefícios para a saúde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e56101416054, 24 out. 2021.

OWOLABI, A. O. *et al.* Proximate, antinutrient and mineral composition of five varieties (improved and local) of cowpea, *Vigna unguiculata*, commonly consumed in Samaru community, Zaria-Nigeria. **Asian Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 70-72, 2012.

PANKIEWICZ, Vânia C. S. *et al.* Are we there yet? The long walk towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non-leguminous crops. **BMC Biology**, v. 17, n. 1, dez. 2019.

RIBEIRO, Gabrielly *et al.* IN VITRO ANTAGONISM OF ACTINOBACTERIA AGAINST RHIZOBIA FROM THE SOIL. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, v. 19, n. 41, 30 set. 2022.

RODRIGUES, Artenisa Cerqueira *et al.* Interrelationship of Bradyrhizobium sp. and plant growth-promoting bacteria in cowpea: Survival and symbiotic performance. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 49–55, fev. 2013.

ROUWENHORST, Kevin Hendrik Reindert *et al.* Ammonia production technologies. **Techno-Economic Challenges of Green Ammonia as an Energy Vector**, p. 41-83, 2021.

- SAHUR, Asmiaty *et al.* Effect of seed inoculation with actinomycetes and rhizobium isolated from indigenous soybean and rhizosphere on nitrogen fixation, growth, and yield of soybean. **International Journal of Agronomy**, v. 2018, n. 1, p. 4371623, 2018.
- SALWAN, Richa; SHARMA, Vivek. Molecular and biotechnological aspects of secondary metabolites in actinobacteria. **Microbiological research**, v. 231, p. 126374, 2020.
- SHAHRAJABIAN, Mohamad H.; SUN, Wenli; CHENG, Qi. The importance of Rhizobium, Agrobacterium, Bradyrhizobium, Herbaspirillum, Sinorhizobium in sustainable agricultural production. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 49, n. 3, p. 12183, 10 set. 2021.
- SILVA, Guilherme da Cruz *et al.* The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. **Frontiers in Soil Science**, v. 2, p. 833181, 2022.
- SILVA, K. J. D. *et al.* A cultura do Feijão-Caupi no Brasil. **Teresina: Embrapa Meio-Norte**, 2016.
- SILVA, Valéria Maria Araújo. Facilitação como mecanismo promotor de crescimento vegetal: seleção e avaliação de cepas bacterianas. 2020.
- TSYGANNOVA, Anna V.; BREWIN, Nicholas J.; TSYGANOV, Viktor E. Structure and development of the legume-rhizobial symbiotic interface in infection threads. **Cells**, v. 10, n. 5, p. 1050, 2021.
- VINCENT, J. M. Manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. p. 3-4.
- WANG, Bo; ZHANG, Yifeng; MINTEER, Shelley D. Renewable electron-driven bioinorganic nitrogen fixation: a superior route toward green ammonia? **Energy & Environmental Science**, v. 16, n. 2, p. 404–420, 2023.
- WANG, En Tao *et al.* **Ecology and Evolution of Rhizobia: Principles and Applications**. Singapore: Springer Singapore, 2019.
- YADAV, Ajay Nath *et al.* Actinobacteria from rhizosphere: molecular diversity, distributions, and potential biotechnological applications. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Elsevier, 2018. p. 13-41.
- ZHANG, Ruifu; VIVANCO, Jorge M.; SHEN, Qirong. The unseen rhizosphere root–soil–microbe interactions for crop production. **Current Opinion in Microbiology**, Environmental microbiology * CRISPRcas9. v. 37, p. 8–14, 1 jun. 2017.
- ZILLI, J. E. *et al.* BR 3262: Nova estripe de Bradyrhizobium para a inoculação de Feijão-caupi em Roraima. 2008.